

УДК 637.5'65:637.04:579

АЗИРКІНА І.М., e-mail: azirkina@vetlabresearch.gov.ua

*Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи***МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛИШКОВИХ КІЛЬКОСТЕЙ АМІНОГЛІКОЗИДІВ У ПРОДУКЦІЇ ПТАХІВНИЦТВА**

В статті наведені дані щодо апробації та валідації методу «NAT-screening» визначення залишкової кількості аміноглікозидів у продукції птахівництва мікробіологічним методом.

Визначено специфічність, точність та чутливість мікробіологічного методу «NAT-screening», який потребує мінімальної кількості часу та розхідних матеріалів, дозволяє виявляти 1/2 МДР антимікробних препаратів згідно вимог європейського законодавства і забезпечує ідентифікацію залишкових кількостей антимікробних препаратів до груп аміноглікозидів.

Ключові слова: *тест-культура *Bacillus subtilis* ATCC 6633, аміноглікозиди, дигідрострептоміцин, гентаміцин, м'ясо птиці, яйця, NAT-screening, яєчні продукти.*

Вступ. Україна перебуває на шляху інтенсифікації птахівництва. Незважаючи на відсутність єдиної думки щодо механізму стимулюючої та лікувально-профілактичної дії антимікробних препаратів, їх використання у птахівництві постійно збільшується. Літературні дані щодо вмісту залишкових кількостей антимікробних препаратів у продуктах птахівництва далеко не в повному обсязі висвітлюють це питання [1–3].

Використання антимікробних препаратів у птахівництві є невід'ємною частиною технології вирощування і дотримання здорового поголів'я [4].

Аміноглікозиди – це група природних і напівсинтетичних антимікробних препаратів, до складу молекули яких входять аміносахариди, що з'єднані глікозидним зв'язком із агліконовим фрагментом – гексозою. Гексоза в молекулі стрептоміцину представлена стрептидином, у інших аміноглікозидів – 2-дезоксид-стрептаміном. Аміноглікозиди відрізняються також за кількістю аміноглікозидних радикалів – у неоміцину є в наявності три, а в канаміцину і гентаміцину – два.

Залишається відкритою проблема застосування таких продуктів птахівництва в їжу, тому що залишки антимікробних препаратів, потрапляючи до людського організму, можуть викликати сенсibilізацію організму, порушенням обміну речовин, зниженням або підвищенням утворення ферментів в організмі, порушенням балансу гормонів, що призводить до виникнення алергічних захворювань. Також залишки антимікробних препаратів можуть мати канцерогенну, тератогенну, мутагенну, токсичну та імунодепресивну дію [5, 8]. Стрептоміцин володіє токсичною дією на центральну і периферійну нервову систему [6].

Вплив антимікробних препаратів на якість м'яса птиці є гострим питанням сьогодення, тому проведення ветеринарно-санітарної оцінки м'яса

птиці після застосування з лікувально-профілактичною метою комплексних антимікробних препаратів є важливим аспектом попередження негативних впливів продукції птахівництва на здоров'я людства [7].

Проблемі залишкових кількостей антимікробних препаратів у продукції птахівництва, зокрема їх впливу (контамінації) на здоров'я людини і довкілля, приділяють велику увагу практично в усіх країнах Європи, Великобританії, Канаді й США [8].

Залишки антимікробних препаратів у сировині та продукції тваринного походження регламентуються такими нормативними документами ЄС: Регламентом Комісії (ЄС) №37/2010, Директивою Ради №96/23/ЄЕС, САС/MRL 02, Codex Alimentarius Commission, Commission Decision 2002/657/EC, які гармонізовані в Україні в Наказі Міністерства охорони здоров'я № 695 від 06.08.2013 р.

З березня 2004 р. в країнах ЄС з метою визначення залишкових кількостей аміноглікозидів (параміцин, неоміцин, дигідрострептоміцин, канаміцин) використовують скринінговий мікробіологічний метод – «A new microbial screening method for the detection of antimicrobial residues in slaughter animals: The Nouws antibiotic test (NAT-screening)» [9].

В основі мікробіологічного методу визначення аміноглікозидів лежить принцип дифузії в агар, тобто здатності антибіотиків дифундувати в щільне поживне середовище, інокульоване специфічним чутливим тест-мікроорганізмом, викликаючи затримку його росту. Це проявляється появою в агарі чітко окреслених, чистих від росту тест-культури зон [10].

«NAT-screening» був валідований і затверджений відповідно до 2002/657/EC та акредитований за Dutch Accreditation Council в ISO 17025. Чутливість цього методу для аміноглікозидів відповідає максимально допустимим рівням (МДР), що визначені в нормативних документах ЄС. Перевагою цього методу є те, що забезпечується ідентифікація залишкових кількостей антимікробних препаратів до групи, тим самим полегшуючи подальше підтвердження методом рідинної хроматографії [8–14].

Мета нашої роботи полягала у порівняльному аналізі національних та європейських нормативних документів щодо визначення залишкових кількостей антимікробних препаратів у продукції птахівництва, проведенні апробації, валідації якісного скринінг-мікробіологічного методу «NAT-screening» визначення аміноглікозидів в м'ясі птиці, яйцях та яєчних продуктах.

Матеріали та методи досліджень. Аналіз національної та європейської мікробіологічної нормативної документації залишкової кількості антимікробних препаратів у продуктах птахівництва проводили згідно нормативно-законодавчої бази і доступних літературних джерел.

Для встановлення межі чутливості мікробіологічного методу «NAT-screening» з визначення залишків аміноглікозидів було проведено дослідження на модельованих пробах м'яса птиці, яєць та яєчних продуктів: вільних від антибіотиків (негатив) та в пробах із внесеними стандартними розчинами

антибіотиків у концентраціях $\frac{1}{2}$ МДР і МДР [14]. Дослідження проводились у 20 повторюваностях (табл. 1).

Таблиця 1

Концентрація антибіотиків, внесених у проби, $M \pm m$, $n=20$

Антибіотики	М'ясо, мкг/кг		Яйця та яєчні продукти, мкг/кг	
	$\frac{1}{2}$ МДР	МДР	$\frac{1}{2}$ МДР	МДР
Парамоміцин	250 \pm 1	500 \pm 1	Не досліджують	Не досліджують
Дигідрострептоміцин	250 \pm 1	500 \pm 1	Не досліджують	Не досліджують
Канаміцин	50 \pm 1	100 \pm 1	Не досліджують	Не досліджують
Неоміцин	250 \pm 1	500 \pm 1	250 \pm 1	500 \pm 1

Для визначення специфічності до проб було внесено антимикробні препарати у концентрації: дигідрострептоміцин – 0,5 мкг/кг, тилозину – 0,5 мкг/кг, флюомеквіну – 0,4 мкг/кг, сульфадіазину – 0,5 мкг/кг.

Готування тест-культури *Bac.subtilis* ATCC 6633 та чашок з тестовим агаром. Для дослідження використовували музейний штам тест-культури *Bac.subtilis* ATCC 6633, чутливої до аміноглікозидів, у концентрації 10^5 КУО/см³. Використовували поживне середовище Plate count Agar (HIMEDIA, Індія) з рН 8,0. Агар заливали в чашки Петрі шаром 2,5 мм.

Стандарт антибіотика. Використовували стандарт «Дигідрострептоміцин» (Sigma Aldrich, США) – основний розчин антибіотика розводили 0,1 М фосфатним буферним розчином з рН 8,0. Розчин дигідрострептоміцина з активністю 0,05 мкг/см³ вносили по 100 мкл в чашки з тестовим агаром на диск 12,7 мм (Whatman, Schleicher & Schuell, Hertogenbosch, Нідерланди).

Готування проб до дослідження. Проби м'яса виймали з морозильника за кілька хвилин перед дослідженням, клали їх на піднос, поверхню м'яса вирівнювали і робили поперечні надрізи скальпелем, в які вкладали диски з фільтрувального паперу діаметром 12,7 мм на 30 хв з метою просочування м'ясною рідиною.

При дослідженні яєць відбирали жовток, яким також просочували диски діаметром 12,7 мм.

Яєчний порошок попередньо розводили дистильованою водою та прогрівали у водяній бані за температури $65 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 10 хвилин. Просочували диски діаметром 12,7 мм суспензією зразка.

В кожній чашці з тестовим агаром робили по 2 лунки діаметром 14 мм, в які заливали 0,1 М Трис буферний розчин (рН 8,5) до межі луночки, після чого в них вкладали, диски, які просочені рідиною однієї проби, один навпроти одного.

Чашки інкубували протягом 16–18 годин за температури $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Після інкубації чашки оглядали на наявність зон інгібування тест-культури *B.subtilis* ATCC 6633 навколо лунок. Наявність зон > 15 мм вказують на присутність залишків антибіотика в пробах.

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням програми «Microsoft Excel 2015» із обчисленням середнього арифметичного (M), стандартної похибки (m) та рівня вірогідності (p) за таблицею Стюдента. Різницю між двома величинами вважали вірогідною при $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,001$.

Також визначали точність, специфічність, чутливість методу згідно ДСТУ ISO 16140 : 2006.

Результати дослідження та їх обговорення. Встановлено, що на даний час в Україні продукцію птахівництва мікробіологічним методом не досліджують на залишкові кількості аміноглікозидів [13]. Проте з вересня 2016 р. в зв'язку з набуттям чинності Наказу МОЗ України «Про затвердження Параметрів безпечності м'яса птиці» від 06.08.2013 р. №695, розширилися критерії дослідження продукції птахівництва в рамках періодичного контролю на залишкові кількості антибіотиків (табл. 2).

Таблиця 2

Порівняння показників та МДР аміноглікозидів у продукції птахівництва за діючими нормативними документами України та ЄС

Антибіотики	CAC/MRL 02 Codex Alimentarius Commission, мкг/кг	Регламент Комісії (ЄС) №37/2010, мкг/кг	Обов'язковий мінімальний перелік досліджень, МБТ (національне законодавство)	Наказ №695 від 06.08.2013 р., мкг/кг
М'ясо птиці				
Парамоміцин	–	500	–	500
Дігидрострепто міцин	600	500	–	500
Канаміцин	–	100	–	100
Неоміцин	500	500	–	500
Яйця				
Неоміцин	–	500	–	–

Тому, нами було проведено серію дослідів з використанням мікробіологічного методу. Встановлено, що навколо луночок із внесеним стандартом спостерігаються чітко окреслені, чисті від росту тест-культури *B. subtilis* ATCC 6633 зони інгібування, які коливаються в межах від $17,01 \pm 0,01$ мм до $20,03 \pm 0,03$ мм.

Всі негативні проби не давали зони із затримкою росту навколо дисків.

В пробах продукції птахівництва, в які було внесено антибіотики групи аміноглікозидів, спостерігали навколо дисків, просочених рідиною проби, чітко окреслені зони затримки росту тест-культури *Bac.subtilis* ATCC 6633. Результати щодо діаметрів зон інгібування для різних продуктів та різних антибіотиків наведені в табл. 3 та 4.

Аналізуючи одержані результати, спостерігали, що навколо проб м'яса з $\frac{1}{2}$ МДР канаміцину мали найнижчі зони інгібування і становили $17,01 \pm 0,01$ мм,

а найвищі $18,05 \pm 0,03$ мм спостерігали навколо дисків, просочених рідиною проб із додаванням неоміцину на рівні $\frac{1}{2}$ МДР.

Таблиця 3

Діаметри зон затримки росту тест-культури *Bac. subtilis* ATCC 6633 навколо проб м'яса з додаванням аналітів, $M \pm m$, мм, $n=20$

Антибіотики	Концентрація антибіотика в пробах			
	Негативний контроль	Контроль (стандарт)	Проба з додаванням аналіту на рівні $\frac{1}{2}$ МДР	Проба з додаванням аналіту на рівні МДР
Парамоміцин	Відсутні зони затримки росту тест-культури навколо дисків, просочених рідиною проби	$18 \pm 0,05$ мм	$18,01 \pm 0,01$	$20,03 \pm 0,02$
Дігидрострептоміцин			$18,01 \pm 0,02$	$20,01 \pm 0,01$
Канаміцин			$17,01 \pm 0,01$	$18,03 \pm 0,03$
Неоміцин			$18,05 \pm 0,03$	$19,03 \pm 0,02$

Таблиця 4

Діаметри зон затримки росту тест-культури *Bac. subtilis* ATCC 6633 навколо проб яєць з додаванням неоміцину, $M \pm m$, мм, $n=20$

Антибіотики	Концентрація антибіотика в пробах			
	Негативний контроль	Контроль (стандарт), мм	Проба з додаванням аналіту на рівні $\frac{1}{2}$ МДР, мм	Проба з додаванням аналіту на рівні МДР, мм
Неоміцин	Відсутні зони затримки росту тест-культури навколо дисків, просочених рідиною проби	$18 \pm 0,05$	$18,04 \pm 0,03$	$20,04 \pm 0,03$

За додавання каноміцину в проби м'яса на рівні 1 МДР зони інгібування становили $18,03 \pm 0,03$ мм, найвищі ж зони затримки росту були $20,03 \pm 0,02$ мм та спостерігалися навколо дисків, просочених рідиною проб із додаванням парамоміцину на рівні 1 МДР.

В пробах яєць найнижчі зони затримки росту $18,04 \pm 0,03$ мм були навколо проб із додаванням неоміцину в дозі $\frac{1}{2}$ МДР.

Проте, в пробах яєць на рівні 1 МДР найнижчі зони затримки росту $20,04 \pm 0,04$ мм були навколо дисків проб із неоміцином.

Виходячи з отриманих результатів, можна зробити висновок, що найнижчий рівень визначення ($\frac{1}{2}$ МДР) залишкових кількостей аміноглікозидів для *Bac. subtilis* ATCC 6633 за допомогою якісного мікробіологічного скринінг-методу «NAT-screening», тобто чутливість методу для м'яса, становить 50 мкг/кг канаміцину, для яєць та яєчних продуктів – 250 мкг/кг неоміцину.

Специфічність. Щодо проб із вмістом окситетрацикліну, тилозину, флюомеквіном, сульфадіазином. Зони інгібування навколо луночок із внесеними антимікробними препаратами, які згадуються, були відсутні.

Точність. При виконанні дослідження спостерігали 100% узгодженість між результатами досліджень та пробами із різними способами та рівнями контамінації.

Висновки та перспективи подальших досліджень:

1. З вересня 2016 року продукція птахівництва повинна обов'язково досліджуватись на залишкові кількості аміноглікозидів. Проте в Україні відсутній мікробіологічний метод визначення цих антимікробних препаратів.

2. Встановлено, що чутливість скринінгового мікробіологічного методу «NAT-screening» залишкових кількостей аміноглікозидів для м'яса становить для парамоміцину – 250 мкг/кг, дигідрострептоміцину – 250 мкг/кг, неоміцину 250 мкг/кг, канаміцину – 50 мкг/кг, для яєць та яєчних продуктів – 250 мкг/кг неоміцин, що відповідає МДР, які визначені європейським законодавством та наказом МОЗ України №695 від 06.08.2013 р.

3. Встановлено, що специфічність, точність та чутливість «NAT-screening» становить 100%.

У зв'язку з розширенням критеріїв дослідження продукції птахівництва на залишкові кількості аміноглікозидів у рамках періодичного контролю слід впровадити в роботу лабораторій ветеринарної медицини метод «NAT-screening».

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Буяров В.С. Эффективность современных технологий производства мяса бройлеров и практика их внедрения / [В.С. Буяров, В. В. Крайс, А.В. Буяров и др.] // Вестник Орел ГАУ. – 2010. – № 2. – С.7–15.
2. Нурланова А.А. Определение остаточных антибиотиков в продуктах животного происхождения / [А.А. Нурланова] // ЕНУ им. Л.Н. Гумилева. – 2007. – №6. – С. 93–95.
3. Бияшев К.Б. Экспериментальные данные о содержании антибиотиков в органах и тканях / [К.Б. Бияшев, Н.Б. Сансербаева, Ш.А. Мустафина] // Ветеринарлық ғылымдар. – 2009. – № 5. – С. 103–106.
4. Мелихов С.В. Применение комплексных антибактериальных препаратов в птицеводстве и животноводстве / [С.В. Мелихов, В.Н. Радионов] // Ветеринария Кубани. – 2012. – №6. – С. 6–8.
5. Выявление остаточных количеств антибиотиков в мясе убойных животных и птицы / [Ю.А. Сосина, Е.А. Карцева, Е.И. Карамышева, Е.А. Ляшенко] // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии. – 2012. – № 6. – С.178–180.
6. Nachkebia J.V. Casual Conditionality of Pathogen Features of Escherichia due to their Joint Inhabitation with Oxygenic Clostridia / J.V. Nachkebia, E.J. Nachkebia, K.J. Nachkebia // Annals of Agrarian Science. – 2006. – Vol. 3. – № 4 – P. 195–197.
7. Клетикова Л.В. Эколого-гигиенические аспекты применения антибиотиков / [Л.В. Клетикова, Б.Ф. Бессарабов, А.Б. Козлов] // Научный поиск. – 2013. – № 1 – С. 36–39.
8. Приліпко Т. Показники безпеки тваринницької продукції [Електронний ресурс] – Режим доступу: http://www.nbuu.gov.ua/old_jrn/chem_biol/Piapk/2012_2/12ptyisa.pdf
9. A new microbial screening method for the detection of antimicrobial residues in slaughter animals: The Nouws antibiotic test (NAT – screening) [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://www.elsevier.com/locate/foodcont>.
10. Наказ Державного департаменту ветеринарної медицини №87 від 18.11.2003 року «Обов'язковий мінімальний перелік досліджень сировини, продукції тваринного та рослинного походження, комбікормової сировини, комбікормів, вітамінізованих препаратів

та ін., які слід проводити в державних лабораторіях ветеринарної медицини» [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://document.ua/obovjakovii-minimalnii-perelik-doslidzhen-sirovini-produkciy-nor8259.html>.

11. Gondova Zuzana. The NAT test – screening for antibiotic residues in the tissues of food-producing animals / Zuzana Gondova, Ivona Kozarova.//Institute of Meat Hygiene and Technology University of Veterinary Medicine and Pharmacy Kosice, Slovak Republic. [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://www.maso-international.cz/download/maso-international-2012-2-page-095-100.pdf>.

12. Nico COPPENS. Microbial screening tests for antibiotic residues in meat: compared with the European technologies / Ghent university veterinary faculty [Електронний ресурс] – Режим доступу: http://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/001/893/681/RUG01-001893681_2012_0001_AC.pdf.

13. Commission Regulation (EU) № 37/2010 // Official journal of the European Commission. – 2010. – L 15. – P. 72.

14. Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. Official Journal of the European Commission, L 221, P. 8–28.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНОГО КОЛИЧЕСТВА АМИНОГЛИКОЗИДОВ В ПРОДУКЦИИ ПТИЦЕВОДСТВА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ МЕТОДОМ / Азыркина И.М.

В статье приведены данные по апробации и валидации метода «NAT-screening» определение остаточного количества аминогликозидов в продукции птицеводства микробиологическим методом.

Определены специфичность, точность и чувствительность микробиологического метода «NAT-screening», который позволяет исследовать большое количество проб, требует минимального количества времени и расходных материалов и обеспечивает идентификацию остаточных количеств антимикробных препаратов к группе аминогликозидов.

Ключевые слова: *тест-культура Bac. subtilis ATCC 6633, аминогликозиды, дигидрострептомицин, гентамицин, мясо птицы, яйца, NAT-screening, яичные продукты.*

DETERMINATION OF THE RESIDUAL AMOUNT OF AMINOGLYCOSIDES IN POULTRY PRODUCTS BY MICROBIOLOGICAL METHOD / Azyrkina I.M.

Introduction. *An urgent problem today remains the effective control of poultry products for the residual amounts of aminoglycosides, as they able to get through the food chain to the human body, and cause overgrowth, toxemia, carcinogenia, teratogenia, mutagenia allergia allergic reactions, secondary fungal infections, violation of mineral metabolism. They characterize as osteotropic and promote the development of antibiotic-resistant microorganisms in humans.*

The goal of the work *was to conduct comparison of the national and European microbiological screening methods for antibiotic residual detection in poultry meat and eggs, and testing and validation of qualitative microbiological “NAT-screening” method of determination of aminoglycosides in poultry, eggs and egg products.*

Materials and methods. *The sensitivity and specificity limits were established by the microbiological method “NAT-screening” to determine the residues of aminoglycosides. The study was carried out in 20 repetitions on simulated samples of poultry meat, eggs and egg products that are free from antibiotics, and also in samples with introduced antibiotic’s standards in concentrations of 1/2 MRL and MRL.*

Results were treated by variation statistics methods using "Microsoft Excel – 15.0" software with calculating the arithmetic mean (*M*), standard deviation (*m*) and the level of probability (*p*) by Student's table. We determined the accuracy, specificity, sensitivity of the method.

Results of research and discussion. We found clearly defined growth inhibition zone of pure test culture *B.subtilis* ATCC 6633, which ranged from 17.01±0.01 mm to 20.04±0.03 mm. The result of the study of microbiological screening method "NAT-screening" of low detection ($1/2$ MRL) of aminoglycosides residual amounts for meat 50 µg/kg for eggs and egg products – 250 µg/kg, corresponded of 100% specificity, accuracy and sensitivity.

Conclusions and prospects for further research. Established that sensitivity of European microbiological method "NAT-screening" for residual aminoglycosides in meat was for paramomycin – 250 µg/kg, DHstreptomycin – 250 µg/kg, neomycin – 250 µg/kg, kanamycin – 50 µg/kg; for eggs and egg products – neomycin – 250 µg/kg corresponded MDR European law and order №695 from 06.08.2013

Keywords: test culture, *Bac.subtilis* ATCC 6633, paramomycin, DHstreptomycin, neomycin, kanamycin, eggs, egg products, NAT-screening.

REFERENCES

1. Buyarov, V.S., Krays, V.V. & Buyarov, A.V. (2010). Efektivnost sovremennykh tekhnologiy proizvodstva m'ysa broylerov i praktika ih vnedreniya [The efficiency of modern production of broiler meat technologies and their practical implementation]. *Vestnik Orel GAU – Bulletin Eagle GAU*, Vol 2, 7-15 [in Russian].
2. Nurlanova, A.A. (2007). Opredelenie ostatochnykh antibiotikov v produktakh zhivotnogo proishozhdeniya [Determination of residual antibiotics in animal products]. *ENU im. L.N. Gumileva – ENU. LN Gumilyov*, Vol 6, 93-95 [in Russian].
3. Biyashev, K.B., Sanserbaeva, N.B. & Mustafina, Sh.A. (2009). Eksperimentalnyye dannyye o sodержanii antibiotikov v organakh i tkanyah [Experimental data on the content of antibiotics in tissues and organs]. *Veterinariya – Veterinary Sciences*, Vol 5, 103-106 [in Russian].
4. Melihov, S.V. & Radionov, V.N. (2012). Primenenie kompleksnykh antibakterialnykh preparatov v ptitsevodstve i zhivotnovodstve [The use of complex antibacterial drugs in poultry and livestock]. *Veterinariya Kubani – Kuban Veterinary*, Vol 6, 6-8 [in Russian].
5. Sosina, Yu.A., Kartseva, E.A., Karamyisheva, E.I. & Lyashenko, E.A. (2012). Vyyavlenie ostatochnykh kolichestv antibiotikov v myase uboynykh zhivotnykh i ptitsy [Identification of residues of antibiotics in the meat of slaughtered animals and poultry]. *Aktualnyye problemy infektsionnoy patologii i biotekhnologii – Actual problems of infectious pathology and biotechnology*, Vol 6, 178-180 [in Russian].
6. Nachkebia, J.V., Nachkebia, E.J. & Nachkebia, K.J. (2006). Casual Conditionality of Pathogen Features of Escherichia due to their Joint Inhabitation with Oxygenic Clostridia. *Annals of Agrarian Science*, Vol. 3, 4, 195-197.
7. Kletikova, L.V., Bessarabov, B.F. & Kozlov, A.B. (2013). Ekologo-gigienicheskie aspekty primeneniya antibiotikov [Environmental and hygienic aspects of the use of antibiotics]. *Nauchnyy poisk – Scientific search*, Vol. 1, 36-39 [in Russian].
8. Prylipko, T. Pokaznyky bezpeky tvarynnyts'koyi produktsiyi [Safety parameters livestock production]. www.nbu.gov.ua Retrieved from: http://www.nbu.gov.ua/old_jrn/chem_biol/Piapk/2012_2/12ptyisa.pdf [in Ukrainian].
9. A new microbial screening method for the detection of antimicrobial residues in slaughter animals: The Nouws antibiotic test (NAT – screening). www.elsevier.com. Retrieved from <http://www.elsevier.com/locate/foodcont>.
10. Obov'yazkovyy minimal'nyy perelik doslidzhen' syrovyny, produktsiyi tvarynnoho ta roslynnoho pokhodzhennya, kombikormovoyi syrovyny, kombikormiv, vitaminizovanykh preparativ ta in., yaki slid provodyty v derzhavnykh laboratoriyakh veterynaranoi medytsyny [Mandatory minimum list of research materials, products of animal and vegetable origin, animal feed raw materials, feed, medicines and fortified al., Which should be in public veterinary laboratories]. Order of the State Department of Veterinary Medicine №87 from 18.11.2003.

www.document.ua. Retrieved from: <http://document.ua/obovjakovii-minimalnii-perelik-doslidzhen-sirovini-produkciy-nor8259.html> [in Ukrainian].

11. Gondova, Zuzana (2012). The NAT test – screening for antibiotic residues in the tissues of food-producing animals – Institute of Meat Hygiene and Technology University of Veterinary Medicine and Pharmacy Kosice, Slovak Republic. *www.maso-international.cz*. Retrieved from: <http://www.maso-international.cz/download/maso-international-2012-2-page-095-100.pdf>.

12. Nico, Coppens (2012). Microbial screening tests for antibiotic residues in meat: compared with the European technologies – Ghent university veterinary faculty. *www.lib.ugent.be*. Retrieved from: http://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/001/893/681/RUG01-001893681_2012_0001_AC.pdf.

13. Commission Regulation (EU) № 37/2010. (2010). *Official journal of the European Commission*, 15, 72.

14. Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. *Official Journal of the European Commission*, L 221, 8-28.

УДК 619:616.98:579

АКИМЕНКО Л.І., канд. біол. наук, e-mail: larisa_akimenko@mail.ru

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів

НИЧИК С.А., д-р вет. наук, професор, чл-кор., e-mail: ivm_naan@ukr.net,

БОЙКО П.К., д-р вет. наук, ст. наук. сп., e-mail: pkboyko@ukr.net

Інституту ветеринарної медицини НААН

БОЙКО О.П., канд. вет. наук, ст. наук. сп., e-mail: 1bor_ua@rambler.ru

Дослідна станція епізоотології Інституту ветеринарної медицини НААН

АССОПІ О.Ю., директор, e-mail: sgbiofabrika@gmail.com

Державне підприємство «Сумська біологічна фабрика»

ПЕРЕВІРКА ТИПОВОСТІ ВИРОБНИЧОГО ШТАМУ *CLOSTRIDIUM CHAUVOEII* R-15 ЗА МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ

Наведено результати аналізу міжнародної нормативної бази щодо підготовки штамів мікроорганізмів для впровадження у виробництво, контролю стабільності їхніх властивостей у разі довготривалого зберігання відповідно до паспортних характеристик з метою виготовлення ветеринарних імунобіологічних засобів, а також проміжного та кінцевого контролю якості готового препарату.

*Показано найважливіші етапи стандартизації основних показників якості гідроксид алюмінієвої формолвакцини проти емфізематозного карбункулу великої рогатої худоби та овець на прикладі вакцинного штаму *Clostridium chauvoeii* R-15, зокрема результати перевірки типовості за морфологічними ознаками, тинкторіальними, культуральними, біохімічними, імунологічними та вірулентними показниками.*

Ключові слова: *Clostridium chauvoeii*, емфізематозний карбункул, стандартизація, якість вакцини.