



## **Slovak international scientific journal**

№39, 2020

### **Slovak international scientific journal VOL.1**

The journal has a certificate of registration at the International Centre in Paris – ISSN 5782-5319.

The frequency of publication – 12 times per year.

Reception of articles in the journal – on the daily basis.

The output of journal is monthly scheduled.

Languages: all articles are published in the language of writing by the author.

The format of the journal is A4, coated paper, matte laminated cover.

Articles published in the journal have the status of international publication.

The Editorial Board of the journal:

Editor in chief – Boleslav Motko, Comenius University in Bratislava, Faculty of Management

The secretary of the journal – Milica Kovacova, The Pan-European University, Faculty of Informatics

- Lucia Janicka – Slovak University of Technology in Bratislava
- Stanislav Čerňák – The Plant Production Research Center Piešťany
- Miroslav Výtisk – Slovak University of Agriculture Nitra
- Dušan Igaz – Slovak University of Agriculture
- Terézia Mészárosová – Matej Bel University
- Peter Masaryk – University of Rzeszów
- Filip Kocisov – Institute of Political Science
- Andrej Bujalski – Technical University of Košice
- Jaroslav Kovac – University of SS. Cyril and Methodius in Trnava
- Paweł Miklo – Technical University Bratislava
- Jozef Molnár – The Slovak University of Technology in Bratislava
- Tomajko Milaslavski – Slovak University of Agriculture
- Natália Jurková – Univerzita Komenského v Bratislave
- Jan Adamczyk – Institute of state and law AS CR
- Boris Belier – Univerzita Komenského v Bratislave
- Stefan Fišan – Comenius University
- Terézia Majercakova – Central European University

1000 copies

Slovak international scientific journal

Partizanska, 1248/2

Bratislava, Slovakia 811 03

email: [info@sis-journal.com](mailto:info@sis-journal.com)

site: <http://sis-journal.com>

# CONTENT

## BIOCHEMISTRY AND GENETICS OF ANIMALS

*Kovalenko I., Onufrovych O.,  
Fafula R., Vorobets Z.*

FLUOROQUINOLONES INFLUENCE ON THE L-  
ARGININE/NO SYSTEM ACTIVITY IN BLOOD  
LYMPHOCYTES ..... 3

## BOTANY

*Zabarna T., Pelech L.*

PRODUCTIVITY OF SOYBEAN VARIETIES DEPENDING  
ON THE INFLUENCE OF SOIL AND CLIMATIC  
CONDITIONS OF THE RIGHT-BANK FOREST STEPPE OF  
UKRAINE ..... 6

*Tomchuk V.*

PROSPECTS OF THE STRIP-TILL TECHNOLOGY  
APPLICATION IN THE CONTEXT OF REDUCTION OF  
ANTHROPOGENIC LOAD ON THE SOIL ..... 11

## ELECTRICAL ENGINEERING

*Mandra A.*

ANALYSIS OF ENERGY AND CONSTRUCTION  
PARAMETERS OF THE SYNCHRONIZING GENERATOR  
ON THE AVALANCHE FLIGHT DIODES ..... 21

## GENETICS AND BIOTECHNOLOGY

*Biliavtseva V.*

THE PRODUCTIVITY OF THE SEPARATED PIGLETS IS AT  
FEEDING OF BVMD "ENERVIC" ..... 26

*Datsyuk I.*

THE EFFECTS OF HETOROSIS IN THE GROWING OF  
COMMERCIAL FISH ..... 33

## INORGANIC CHEMISTRY

*Ved V., Nikolsky V.*

PROSPECTS FOR THE USE OF JET-INJECTION  
TECHNOLOGIES IN THE PRODUCTION OF AMMONIA  
WATER ..... 39

## MATERIALS SCIENCE AND MECHANICS OF MACHINES

*Skorokhod S., Ivanov A., Abashkin I.*

STUDY OF THE ERGONOMIC PROPERTIES OF THE  
ORIGINAL RESPIRATORY HALF MASK DESIGN ..... 43

*Chepurnoi Yu.*

INTEGRATED APPROACH TO VIBROACOUSTIC  
DIAGNOSTICS OF INTERNAL COMBUSTION ENGINE . 45

## PHYSIOLOGY OF ANIMALS

*Voititska O.*

CONSTRUCTION OF A NEW NUTRITIONAL  
ENVIRONMENT FOR THE ACCIDENTAL SELECTION OF  
TUBERCULOSIS ..... 50

*Chudak R., Poberezhets Y.*

AMINO ACID AND CHEMICAL COMPOSITION OF  
QUAIL MEAT USING ECHINACEA PALLIDA DRY  
EXTRACT ..... 54

# PHYSIOLOGY OF ANIMALS

## КОНСТРУЮВАННЯ НОВОГО ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ПРИСКОРЕНОГО ВИДІЛЕННЯ ЗБУДНИКА ТУБЕРКУЛЬОЗУ

*Войціцька О.М.*

*Вінницький національний аграрний університет*

## CONSTRUCTION OF A NEW NUTRITIONAL ENVIRONMENT FOR THE ACCIDENTAL SELECTION OF TUBERCULOSIS

*Voitićska O.*

*Vinnitsia National Agrarian University*

### Анотація

Приведено результати розробки нового щільного середовища та порівняльного дослідження ростових якостей розробленого поживного середовища зі стимулятором росту та традиційного середовища Левенштейна-Єнсена. Встановлено, що швидкість росту мікобактерій на розробленому середовищі вища у порівнянні з традиційними середовищами, що дає змогу скоротити термін інкубації матеріалу у 30-90 разів. Культури мікобактерій під час культивування на запропонованому середовищі зберігають тинкторіальні, культуральні та патогенні властивості.

### Abstract

The results of developing a new dense medium and a comparative study of growth characteristics developed culture medium with growth promoters and conventional Lowenstein- Jensen medium. It was established that the rate of growth of mycobacteria in developed environment is higher in comparison to traditional media, so you can shorten the incubation material in 30-90 times. Culture of mycobacteria during cultivation on the proposed store tynktoryalni environment, cultural and pathogenic properties.

**Ключові слова:** мікобактерії, поживні середовища, бактеріоскопія, прискорені методи виявлення мікобактерій, культуральна діагностика.

**Keywords:** mycobacteria, culture media, bacterioscopy, accelerated methods for detection of mycobacteria culture diagnosis.

**Вступ.** На сьогоднішній день існує велика кількість бактеріологічних прийомів для виявлення мікобактерій туберкульозу в біологічному матеріалі. Однак мікробіологічна діагностика займає одне з головних місць і являється основою для подальших методик в процесі постановки діагнозу [1].

Вважається, що одним з найбільш чутливих методів виділення збудника туберкульозу з матеріалу є культуральний, так як дає можливість отримати результат навіть при малій кількості мікобактерій в досліджуваному матеріалі. Перші штучні поживні середовища для культивування мікобактерій, дріжджів та грибів було розроблено Луї Пастером в 1859-1864 роках. Вони включали в себе джерело вуглецю (органічні кислоти, спирт чи цукор), амонійні солі та необхідні мінеральні елементи.

Живлення бактерій – складний процес, який складається з двох взаємопов'язаних явищ: із синтезу та розпаду, при яких відбувається поглинання та виділення енергії, тому вибір поживних середовищ базується на хімічному складі мікроорганізмів, виходячи з того, які органічні та неорганічні елементи вони потребують для свого росту. В поживних середовищах обов'язково повинні бути такі мінеральні елементи, як фосфор, калій, сірка, марганець, залізо. Дані елементи зазвичай отримували із відповідних мінеральних солей. Крім того, для живлення мікобактерій необхідні вуглець та азот. Головним джерелом вуглецю являється гліцерин, найкращим джерелом азоту – амонійні сполуки та аспарагін.

Частина складових поживних середовищ призначена для живлення, а деякі з них – для забезпечення оптимального окисно-відновного потенціалу: необхідну величину рН, осмотичний тиск та рівновагу іонів. Окисно-відновний потенціал регулюється буферними речовинами чи хлористим натрієм. Необхідними поживними речовинами являються лише ті, які включаються у внутрішньоклітинний обмін мікобактерій. Дані речовини або входять до складу клітини, або розкладаються і окислюються, забезпечуючи клітину необхідною для її життєдіяльності енергією.

Розрішення багатьох питань культивування мікобактерій туберкульозу стало можливим після того, як була детально вивчена біохімія живлення мікробної клітини, потреби її в тих чи інших поживних речовинах, які являються необхідним будівельним матеріалом та джерелом енергії. Дані потреби найбільш великі для одержання першої генерації мікобактерій туберкульозу, так як мікроорганізм при цьому здійснює перший крок з умов тваринного організму в нові, незвичні для нього пробіркові умови.

Ріст мікроорганізмів характеризується двома основними показниками: швидкістю та масивністю росту. Різні середовища можуть неоднаково впливати на ці показники.

Мікобактерії не розвиваються без додаткових речовин – факторів росту. Поряд з речовинами, які обов'язково потрібні для росту, виявлені речовини, які стимулюють ріст та розвиток мікобактерій. Фактори росту інколи прирівнюють до вітамінів,

тобто до поживних речовин екзогенного походження. Речовини, які стимулюють ріст мікобактерій, не мають нічого спільного ні з гормонами тварин, ні з ростковими речовинами вищих рослин.

Багато факторів росту мікроорганізмів належать до водорозчинних вітамінів групи В, інші являються нуклеїновими кислотами. Мікроорганізми можуть самостійно будувати перераховані сполуки із звичайних джерел вуглецю, азоту, сірки та інших елементів.

Робота по вдосконаленню середовищ була розпочата ще в 30-40-і роки нашого століття, однак до теперішнього часу залишається актуальною. Одним із шляхів покращення поживних середовищ являється підбір нових компонентів, які володіють стимулюючим чи інгібуючим впливом на мікобактерії туберкульозу. Крім того, дуже важливо підібрати ряд компонентів середовища, які позитивно впливають на швидкість росту та частоту висіваємості мікобактерій при стабільності джерела азотистого живлення. Також поживні середовища для бактеріальних культур повинні задовольняти економічні вимоги і не являтися дефіцитними.

Відомо, що деякі речовини, такі як мідь сірчанокисла, залізо сірчанокисле, триполіфосфат натрію пригнічують всі поживні властивості дослідних середовищ (за основу взято середовище Фінн-2, де джерело азоту – глутаміновокислий натрій був замінений кукурудзяним екстрактом і сольовий розчин змінювали за рахунок додавання окремих компонентів чи їх комбінації). Також встановлено, що стимулюючий вплив на ріст мікобактерій туберкульозу мають слідуючі компоненти: кальцій хлористий, цинк сірчанокислий, амоній лимоннокислий, калій фосфорнокислий двозаміщений, натрій хлористий. Поєднання сірчанокислого заліза і сірчанокислої міді, а також триполіфосфата натрію і 5%-го розчину хлориду натрію пригнічує життєдіяльність культур мікобактерій туберкульозу. Натрій лимоннокислий, амоній лимоннокислий, калій фосфорнокислий двозаміщений, натрій хлористий, поєднання солей кальцію і сірчанокислому цинку мають стимулюючий вплив на життєдіяльність мікобактерій туберкульозу, що проявляється у збільшенні відсотка висіваємості колоній і скороченні інкубаційного періоду росту мікобактерій на 2 - 4 дні. При одночасній наявності в поживному середовищі стимулюючих та інгібуючих компонентів переважаючу дію на мікобактерії мають останні. Амонійні солі янтарної і винної кислот можуть застосовуватись в твердих поживних середовищах в якості єдиного (без амінокислот) додаткового джерела азотистого живлення мікобактерій [1].

Деякі дослідники [2] висказали гіпотезу, відповідно до якої швидкість росту збудника туберкульозу залежить від його генотипу і його прискорення можливе тільки при його штучній зміні, що являється мало ймовірним. Перспективним напрямом в даній ситуації може бути конструювання нових поживних середовищ, які б завдяки своєму складу давали можливість прискорити ріст збудника.

Термін появи росту культури збудника на класичних середовищах становить від 3-х тижнів до 3-х місяців. Тому створення нових поживних середовищ, які б дозволили скоротити термін інкубації, являється актуальним завданням, так як прискорює кінцеву постановку діагнозу шляхом виділення збудника, що надзвичайно важливо для подальших дій стосовно профілактики та лікування хвороби.

Також однією з причин низької ефективності боротьби з захворюванням тварин та людей є застаріле уявлення про біологію збудника туберкульозу, оскільки останнім часом всі науково-дослідні розробки з проблем туберкульозу проводились на мікобактеріях, що знаходились на заключній стадії біологічного розвитку, яка являється найбільш захищеною і стійкою до різних факторів впливу.

Протягом тривалого періоду вивчення збудників туберкульозу ссавців були накопичені дані про значний поліморфізм мікобактерій. Однак через складності культивування, і виявлення змінених форм збудника туберкульозу ці дані не знайшли достойного практичного застосування. Завдяки дослідженням В.В. Власенко (1998) і розробці поживного середовища ВКГ з'явилась можливість культивування і виявлення збудника туберкульозу зі зниженою життєздатністю і ферментативною активністю [3]. Встановлено, що на поживному середовищі ВКГ мікобактерії туберкульозу проходять декілька морфологічно відмінних стадій розвитку – фільтрувальні форми, шароподібні, амебоподібні утворення, коки і поліморфні палички, які не фарбуються по Ціль-Нільсену [4,5]. У зв'язку з актуальністю даної проблеми багато вчених працюють над удосконаленням і винаходом більш ефективних поживних середовищ, які б могли компенсувати всі негативні сторони застосування відомих на сьогодні поживних середовищ.

Однак, не зважаючи на всі недоліки, широке застосування в гуманній і ветеринарній медицині отримало середовище Левенштейна-Єнсена, яке рекомендоване ВООЗ для всіх координаційних лабораторій і вважається «золотим стандартом» в Україні. Дане середовище ще в 1965 році було прийняте як міжнародне, оскільки на ньому найбільш часто спостерігалась підвищена висіваємість мікобактерій туберкульозу.

Спроби створити поживне середовище не менш чутливе, ніж середовище Левенштейна – Єнсена, закінчилось розробкою середовища Фінна-2. Воно відрізняється від середовища Левенштейна-Єнсена тим, що не містить висококошторисну складову L-аспарагін. На цьому середовищі ріст мікобактерій, як правило, з'являється на декілька днів раніше, ніж на середовищі Левенштейна-Єнсена. Використання двох середовищ одночасно підвищує відсоток виділення *M. tuberculosis* з патологічного матеріалу і є обов'язковим.

**Матеріал і методи.** Дослідження проведені у проблемній лабораторії з вивчення туберкульозу Вінницького національного аграрного університету.

Основними методичними прийомами постановки дослідів були підбір різних поживних компонентів в оптимальних концентраціях, які б за допомогою свого складу давали можливість прискорити ріст колоній збудника на новому експериментальному середовищі. Окрім вивчення хімічного складу експериментальних компонентів, також брали до уваги їх органолептичні показники. А саме, досліджували як кожен з компонентів розчиняється у дистильованій воді, який вигляд має середовище після змішування всіх компонентів у сухому вигляді, рН середовища після розчинення у воді, його прозорість.

Основним критерієм була оцінка ростових якостей середовища після внесення нового компонента у порівнянні із контрольним середовищем. Контрольним слугувало середовище Левенштейна-Єнсена.

Для дослідження ростових якостей розробленого середовища використовували тест-культури *M. tuberculosis*H37Rv( колекція РИСК ім. Л. А.Тарасевича), *M. bovis* 8, *M. bovis* BCG, *M. avium* 2282 ( колекція ВГНКИ ), які висівали з ліофілізованого стану спочатку на середовище Левенштейна – Єнсена. Біомасу досліджуваних штамів мікобактерій з поверхні середовища Павловського знімали в кількості 1 мг за загальноприйнятою методикою і вносили їх в 1 мл стимулятора росту.

Отриману суспензію гомогенізували електромагнітною мішалкою протягом 15 хв. У такий спосіб отримували робочі суспензії, які в подальшому розводили в стимуляторі росту у співвідношенні 1:10, ставили на 48 год. у термостат при температурі 36-37 С, а потім у кількості 1,0 мл засівали газонем на розроблене середовище. Контролем служило середовище Левенштейна – Єнсена, посів на яке проводили загальноприйнятою методикою. Для контролю якості середовищ використовували тест-культуру *Staphylococcus epidermidis* 1225.

Розроблене нами середовище застосовують для прискореного виявлення мікобактерій туберкульозу. Додатково до нього у наборі додається стимулятор росту мікобактерій, який представляє собою стерильну, прозору, безбарвну рідину, що містить макро- та мікроелементи. Для приготування запропонованого середовища брали наважку сухого середовища у кількості 90 г, вносили в 1 л стерильної дистильованої води, кип'ятили 2-3 хв. До повного розчинення агару, фільтрували через ватно-марлевий фільтр, розливали у флакони і стерилізували при  $121 \pm 1.0$  С протягом 15 хв. в автоклаві.

Готове середовище мало жовте забарвлення з рН  $7,2 \pm 0.2$ . Перед використанням середовище розплавляли на водяній бані й розливали по 18-20 мл у стерильні чашки Петрі діаметром 90 мм.

Крім тест-мікроорганізмів для дослідження якості середовищ використовували біологічний матеріал від гвінейських свинок з експериментальною мікобактеріальною інфекцією. Забір і підготовку біологічного матеріалу для бактеріологічних досліджень здійснювали за загальноприйнятими методами.

Підготовлений до посіву біологічний матеріал у кількості 1,0 мл за допомогою стерильного шприца вносили у стимулятор росту, інкубували у термостаті за температури  $37,0 \pm 1,0$  С протягом 24-48 год. Після цього 1,0 мл наносили на поверхню поживного середовища, розлитого у чашки Петрі. Рівномірно розподіляли по її площі, чашки поміщали в поліетиленові пакети і не перевертаючи інкубували при  $37,0 \pm 1,0$  С впродовж 10 діб. Паралельно зазначену кількість біологічного матеріалу висівали на середовище Левенштейна – Єнсена. Чашки з посівами продилялись щоденно, візуально визначали і підраховували характерні для мікобактерій колонії. З отриманих культур готували препарати і фарбували їх за методом Ціль – Нільсена.

Для відтворення морфологічної картини туберкульозу проводили модельні досліди на морських свинках і кролях методом внутрішньочеревного введення культур мікобактерій, виділених з біологічного матеріалу і вирощених на розробленому середовищі. Контрольних тварин заражали суспензією культур *M. tuberculosis*H37Rv, *M. bovis* 8, які вирощували на запропонованому середовищі.

Через 41 добу після зараження виводили тварин з досліду і виконували їм патологоанатомічний розтин. Із серця відбирали проби крові у стерильні пробірки з гепарином, додавали рівний об'єм стимулятора росту і поміщали в термостат при 37-38 С на 24 год., потім висівали на розроблене поживне середовище, МПА і МПБ. З культур, що виростили на розробленому середовищі, готували препарати для мікроскопії та фарбували їх за Ціль – Нільсеном.

Для подальшого дослідження від морських свинок відбирали пахові лімфовузли, печінку, селезінку й легені, а від кролів – лише печінку, селезінку і легені. Патологічний матеріал обробляли за А. Алікаєвою і суспензію кожного органу висівали на середовище Левенштейна – Єнсена. Також суспензію кожного органу обробляли стимулятором росту, після чого висівали на запропоноване середовище. Облік якості і швидкості росту культур на середовищах проводили щодня протягом перших 5 діб, далі – з інтервалом 5 діб до закінчення терміну інкубації. З отриманих культур готували препарати для мікроскопії і фарбували їх по методу Ціль – Нільсена.

Мікробіологічні дослідження проводили відповідно Наказу №45 МОЗ України.

#### Результати дослідження.

Вивчення ростових якостей запропонованого середовища проводили порівняно з яєчним середовищем Левенштейна – Єнсена. Результати досліджень приведено у табл. 1.

Як видно з табл. 1, на розробленому середовищі на 2-4 добу культивування почали реєструвати ріст культур референтних штамів *M. tuberculosis* H37Rv, *M. bovis*, *M. avium* 2282, *M. Bovis* BCG, які дали ріст у вигляді напівпрозорих колоній сіро-білого кольору, іноді з жовтуватим

Таблиця 1

Порівняльна кількісна характеристика ростових якостей середовища Левенштейна – Єнсена і розробленого середовища.

Тест-мікроорганізм	Кількість проб	Термін реєстрації росту мікобактерій на середовищах, доба		
		Левенштейна-Єнсена	Розроблене	P
M. tuberculosis H37Rv	10	42±0,4	3±0,58	<0,001
M. bovis 8	15	40±0,93	4±0,88	<0,001
M. avium 2282	10	41±0,49	2±0,58	<0,001
M. bovis BCG	12	35±0,9	2±0,56	<0,001
S. epidermidis	10	Ріст відсутній	Ріст відсутній	

Колонії зливалися і до 5 – 6 доби давали суцільний ріст на поверхні агаризованого середовища. При пересіві отриманих на даному середовищі культур середовище Левенштейна-Єнсена без малахітового зеленого досліджувані штами мікобактерій зберігали тинкторіальні та морфологічні ознаки.

Слід зазначити, що на запропонованому середовищі темпи росту досліджуваних штамів мікобактерій перевищували такі на традиційному середовищі Левенштейна-Єнсена у 10-20 разів. При мікроскопії препаратів, виготовлених з культур M. Tuberculosis H37Rv, M. bovis 8, M. Bovis BCG, M. avium 2282, які виростили на цьому середовищі протягом 2-4 діб, пофарбованих за Ціль-Нільсеном, спостерігали характерні для мікобактерій коки, овоїди, амeboподібні форми з порожнім центром і зернистістю рожевого або червоно-фіолетового кольору.

У забарвлених препаратах цих самих культур, які культивували на розробленому середовищі, виявляли коки, диплококи, тетракоки, овоїди. Велику кількість паличок різної величини із зернистістю, що засвідчує їхню здатність до трансформації у морфологічні форми клітин, які спостерігали також за тривалого культивування досліджуваних штамів на класичному середовищі.

Таким чином, результати вивчення тинкторіальних і морфологічних ознак мікобактерій, які росли на досліджуваних середовищах, вказують на придатність розробленого середовища для культивування мікобактерій. Крім того, можливість реєстрації росту досліджуваних мікроорганізмів вже на 2-4 добу культивування на даному середовищі може бути використано для вирішення питання можливої прискореної діагностики туберкульозу.

Встановлення ідентичності за чинниками патогенності мікобактерій, вирощених на розробленому і традиційному середовищах, проводили *in vivo* при відтворенні інфекційного процесу при зараженні лабораторних тварин. В яких, при подальшому патолого-анатомічному розтині, виявляли характерні для туберкульозу зміни в органах, а при

бактеріологічному дослідженні виділяли збудника туберкульозу.

Таким чином, попереднє оброблення патологічного матеріалу у стимуляторі росту, а також сукупність усіх складових запропонованого середовища дає змогу отримати позитивний результат, а саме, скоротити термін бактеріологічних досліджень на туберкульоз.

#### Висновки.

1. Запропоноване середовище просте у приготуванні, що дає змогу заощадити час на підготовці до дослідження.

2. Ріст тест-культур збудників туберкульозу людського, бичачого видів як референтних штамів, так і з патологічного матеріалу на запропонованому середовищі зі стимулятором росту спостерігається на 2-4 добу.

Прискорене виявлення мікобактерій туберкульозу є перспективним напрямом покращення бактеріологічної діагностики туберкульозу.

#### Список літератури

1. Гольшевская В.И., Корнеев А.А., Черноусова Л.Н., Селина Л.Г., Казарова Т.А., Гришина Т.Д., Сафонова С.Г., Пузанов В.А., Николаева Г.М., Фадеева Н.И. Применение новых микробиологических технологий в диагностике туберкулеза // Проблемы туберкулеза. – 1996. - №6. – С. 45 – 47.
2. Гольшевская В.И., Фадеева Н.И. Совершенствование методов микробиологической диагностики туберкулеза // Сб. науч. Тр. ЦНИИ туберкулеза. – М., 1987. – Т. 45. - С. 77 – 82.
3. Власенко В.В. Микробиология туберкулеза в фокусе проблем современности. – Винница: «Гипанис». – 1998 – 224 с.
4. Власенко В.В. Сучасні підходи до діагностики туберкульозу (методичні рекомендації) / В.В. Власенко, І.Г. Власенко, І.В. Березовський, та ін. – Київ: МОЗ України, 2006. – 39 с.
5. Власенко В.В. Микробиологічна експрес-діагностика туберкульозу / В.В. Власенко, І.Г. Конопко, С. П. Василенко. – Вінниця, 2000. – С. 41-45.