

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ З
ПИТАНЬ БЕЗПЕЧНОСТІ
ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ ТА
ЗАХИСТУ СПОЖИВАЧІВ
ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-
КОНТРОЛЬНИЙ ІНСТИТУТ
БІОТЕХНОЛОГІЙ
І ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ
(ДНКІБШМ)
03151, м. Київ, вул. Донецька, 30,
телефон: (044) 245-76-84, факс: (044) 245-76-08
e-mail: admin@biocontrol.com.ua,
<http://www.biocontrol.com.ua>



STATE SERVICE OF
UKRAINE ON FOOD SAFETY
AND CONSUMER
PROTECTION
STATE SCIENTIFIC CONTROL
INSTITUTE OF BIOTECHNOLOGY
AND STRAINS OF
MICROORGANISMS
(SSCIBSM)
30, Donetska st., Kyiv, 03151, Ukraine
tel/fax: +38-044-245-76-84, tel. 245-76-08
e-mail: admin@biocontrol.com.ua,
<http://www.biocontrol.com.ua>

15.06.2018 № 537

**Протокол изучения термостабильности препарата «Тиамикс»
производства «ООО Биофарм» г. Харьков Украина.**

В современных условиях производства мяса свинины при интенсивном воздействие химических, физических, биологических агентов и их комплексов, нерациональное кормление, чрезмерное использование антибиотиков в животноводстве создало условия для возникновения устойчивых штаммов патогенных микроорганизмов и снижения эффективности лечения инфекционных заболеваний.

Основным путём преодоления резистентности микроорганизмов традиционно считается создание новых антимикробных препаратов. Одним из эффективных способов их получения являются фармацевтические композиции из антибиотиков с различным механизмом действия, оказывающие влияние на различные структуры и физиологические процессы микробной клетки.

Сотрудниками научного отдела «ООО АТ Биофарм» разработан и зарегистрирован новый комплексный антибактериальный препарат «Тиамикс», содержащий в своём составе тиамулина гидроген фумарат 225 мг, линкомицина 44 мг, спектиномицина 44 мг. (регистрационный номер в Украине –AB-06800-01-17 от 03.02.2017 г., в РК –ВП-4-3473-17 от 23.11.2017 г.)

Комбинация тиамиулина гидрогенфумарата линкомицина и спектиномицина обладает выраженным синергическим действием.

Тиамулин представляет собой полусинтетический антибиотик дитерпенового ряда. Механизм его антибактериальной активности заключается в подавлении синтеза бактериального белка на уровне 50 S - субъединицы рибосом. Тиамулин активен в отношении грамположительных бактерий (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Erysipelothrrix spp.*, *Listeria spp.*) и некоторых грамотрицательных микроорганизмов (*Haemophilus influenzae*, *Pasteurella*

multocida, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Campylobacter spp.*), спирохет (*Serpulina hyodysenteriae*, *S. innocens*, *S. pilosicoli*, *S. suis*), а также *Lawsonia intracellularis*. Тиамулин быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта и проникает во все органы и ткани организма. Максимальная концентрация антибиотика в организме свиней наблюдается через 2 часа после введения препарата. Тиамулин выводится из организма преимущественно с фекалиями.

Линкомицин – антибиотик из группы линкозамидов. Он угнетает синтез белка в микроорганизмах, связывая 50 S рибосомальные субъединицы бактериальных клеток. Оказывает бактериостатическое или бактерицидное действие в зависимости от концентрации. Действует преимущественно на грамположительные микроорганизмы, включая *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacillus anthracis*, *Corynebacterium spp.*, а также на грамотрицательные бактерии: *Actinobacillus spp.*, *Bordetella spp.*, некоторые виды *Nocardia* и *Actinomyces spp.* Особенно эффективен против *Serpulina hyodysenteriae* и *Mycoplasma spp.*

Спектиномицин – антибиотик трициклической структуры из группы аминогликозидов. Эффективность его действия связана с угнетением синтеза белков в микробной клетке. Связывая 30S рибосомную субъединицу микроорганизмов, он блокирует удлинение полипептидной цепи на этапе транслокации. Действует преимущественно на грамотрицательные микроорганизмы, включая *E. coli*, *Pasteurella multocida*, *Salmonella spp.*, *Clostridium spp.*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Haemophilus spp.*, *Vibrio spp.*, а также на некоторые грамположительные микроорганизмы и *Mycoplasma spp.* *Vibrio spp.*, а также на некоторые грамположительные микроорганизмы и *Mycoplasma spp.*

Препарат推薦ован для лечение свиней при следующих заболеваниях : лавсониоз, энзоотическая пневмония, сальмонеллётз, дизентерия, актинобациллярная плевропневмония, эперитрозооноз, синдром мастит-метрит-агалактия (ММА), некротический энтерит, колибактериоз, микоплазмоз, а так же при других заболеваниях пищеварительного тракта и органов дыхания, вызванных микроорганизмами, чувствительными к тиамулину, линкомицину и спектиномицину.

Результаты лечения свиней при кормлении гранулами, включающими этот антибактериальный препарат, подтверждают лучшую конверсию корма и более высокие приросты, и сохранность по сравнению с потреблением рационов без препарата «Тиамикс».

Одной из технологических операций при производстве кормов является термическая обработка при различных температурных режимах, поэтому термостабильность добавок, вводимых в корма, имеет важное прикладное значение.

Цель исследований — обоснование возможности включения лекарственного препарата «Тиамикс» в корма, подвергающиеся термической обработке, изучение его антимикробной активности до и после прогревания при повышенной температуре.

Материалы и методы.

Изучение антимикробной активности препарата серии №3700281 (от 28.03.18) проведено в микробиологической лаборатории испытательного центра ГНКИБШМ (атестат об акредитации по ГСТУ ISO/IEC 17025:2006, № 2Н1200) до и после его инкубации при 90° С в течение 30 минут в электрошкафу сушильном *Ecocell* модель 111 фирмы «BMT MMM Group» (Чешская Республика).

Исследования осуществлены в соответствии с рекомендациями Методических указаний макрометодом серийных разведений в бульоне.

Использованы питательные среды производства Himedia, Индия: казеиново-соевый бульон LOT 0000316093.

Тест-штаммы. В работе применяли культуры ПБА (патогенные биологические агенты), представленные в таблице 1.

Таблица 1. Перечень культур ПБА

Тест-штамм	Источник получения
S. aureus ATCC 6538P (209P)	Референтные штаммы микроорганизмов из коллекции Национального центра штаммов микроорганизмов ГНКИБШМ
Ps. aeruginosa ATCC 2853 (F)	
E. Coli ATCC 25922 (F-55)	

Приготовление растворов. Навески препарата массой 1000 мг до и после прогревания растворили в 9 мл стерильной воды, очищенной с последующими серийными разведениями на питательной среде казеиново-соевый бульон LOT 0000316093 (табл. 2).

Таблица 2. Разведение исследуемого препарата.

Концентрация препарата, мг/мл	1000	10	5	0,3	0,15	0,7	0,03	0,015
Объём препарата, мл	1 г	0,1	6	6	6	6	6	6
Среда: казеиново-соевый бульон LOT 0000316093, мл	-	9,9	6	6	6	6	6	6

Примечание: В числителе — число пробирок с ростом ПБА, в знаменателе — число пробирок, используемых в опыте.

Посевные культуры тест-штаммов обогащали при 32,5° С в жидкой среде казеиново-соевый бульйон LOT 0000316093 в течение 22-24 ч, после чего готовили на этой же среде десятикратные разведения суточной культуры до 1:107.

Разведение 1:10000 использовали как инокулюм. При проведении исследования инокулюм вносили по 0,5 мл в пробирки с 0,5 мл образца препарата в разведении 1:10ⁿ с последующим определением инокулируемой дозы титрованием на казеиново-соевом бульйоне LOT 0000316093.

Результаты исследования.

Титрование обогащённых культур тест-штаммов показало, что биологическая активность суточных культур (концентрация живых бактериальных клеток) составила от 10^{6,0} до 10^{7,5} КОЕ/мл (табл. 3).

Таблица 3. Результат определения биологической активности (БА) суточных культур тест-штаммов

Тест-штамм	Разведен культуры тест-штамм, 10 ⁻ⁿ				БА, КОЕ/мл
	-4	-5	-6	-7	
S. aureus	4/4	4/4	4/4	4/4	107,5
Ps. Aeruginosa	4/4	4/4	4/4	4/4	106,0
E. coli	4/4	4/4	4/4	4/4	107,5

Примечание: В числителе — число пробирок с ростом ПБА, в знаменателе — число пробирок, используемых в опыте.

Результаты оценки антимикробной активности препарата методом серийных разведений показаны в таблицах 4-6. Данные таблиц подтверждают наличие антимикробной активности препарата по отношению к грамположительной (S. aureus) и грамотрицательной микрофлоре (Ps. aeruginosa, E. coli).

Таблица 4. Антимикробная активность препарата до термообработки

Тест-штамм ПБА	Концентрация препарата, мг/мл								
	2,5	1,25	0,6	0,3	0,15	0,07	0,03	0,015	0,007
S. aureus	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ps. aeruginosa	-	-	-	-	-	-	-	-	+
E. coli	-	-	-	-	-	+	+	+	+

Примечание: Здесь и далее + означает рост культуры в пробирке, - отсутствие роста. Биологическая активность инокулюма (EDSO/мл) составила для:

S. aureus — 10^{3,5};

Ps. aeruginosa — 10^{4,0};

E. coli — 10^{3,5}.

Таблица 5. Антимикробная активность препарата после термообработки

Тест-штамм ПБА	Концентрация препарата, мг/мл								
	2,5	1,25	0,6	0,3	0,15	0,07	0,03	0,015	0,007
S. aureus	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ps. aeruginosa	-	-	-	-	-	-	-	-	+
E. coli	-	-	-	-	-	+	+	+	+

Прогревание при 90° С в течение 30 минут не влияет на антимикробную активность препарата «Тиамикс», что даёт возможность вводить его в состав кормов, технология производства которых включает термообработку.

Заключение. Ветеринарный препарат «Тиамикс» серии 3700281 обладает *in vitro* выраженной антимикробной активностью по отношению к вегетативным формам бактерий (E. coli, S. aureus, Ps. aeruginosa).

Прогревание препарата «Тиамикс» при 90°C в течение 30 минут не оказывает отрицательного влияния на его антимикробную активность. Данные исследования гарантируют содержание активного комплексного антибактериального препарата в комбикорме после термической обработки при высоких температурах.

Директор
доктор ветеринарных наук
академик НААН



А.Н. Головко