



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **100794** (13) **U**

(51) МПК (2015.01)

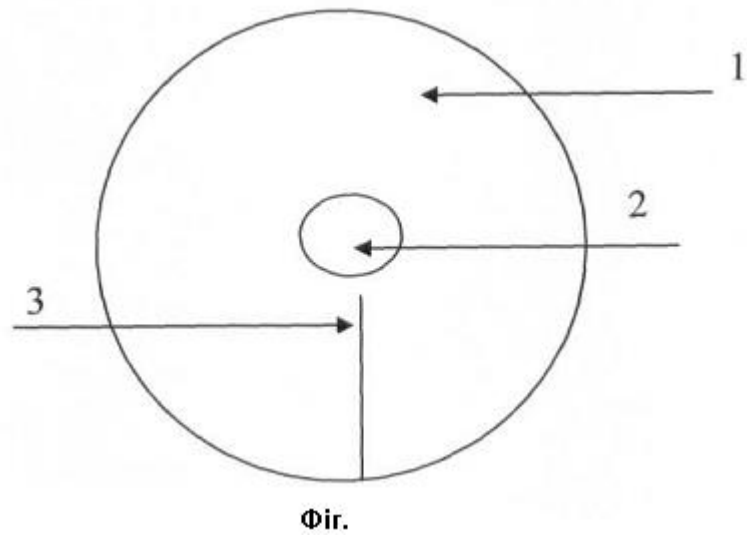
C12Q 1/00**C12R 1/285** (2006.01)**C12M 1/22** (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: u 2015 01661	(72) Винахідник(и):
(22) Дата подання заявки: 25.02.2015	(73) Власник(и):
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.08.2015	НАЦІОНАЛЬНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ ІМЕНІ П.Л. ШУПИКА,
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.08.2015, Бюл.№ 15	вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112 (UA)

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ЛІЗОЦИМНОЇ АКТИВНОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ**(57) Реферат:**

Спосіб визначення лізоцимної активності мікроорганізмів шляхом змиву добової культури *Micrococcus lysodeikticus*, що виростає на м'ясопептонному агарі, стерильним 0,5 % водним розчином натрію хлориду, вбивання її в автоклаві при 1 атмосфері протягом 15 хвилин, внесення зависі вбитого нагріванням *Micrococcus lysodeikticus* у розтоплений живильний агар із розрахунку створення концентрації *Micrococcus lysodeikticus* 10^8 клітин на 1 мл живильного агарового середовища, виливання живильного середовища з вбитим *Micrococcus lysodeikticus* в стерильну чашку Петрі, застигання живильного середовища при кімнатній температурі, підсушення чашки Петрі при 37 °C протягом 2 годин, нанесення на поверхню підсушеного живильного агару з вбитим *Micrococcus lysodeikticus* у вигляді п'ятчків або крапель культур досліджуваних штамів мікроорганізмів та визначення результату за наявністю через 24-48 годин інкубації при 37 °C зони лізису клітин внесеного у шар живильного агарового середовища, вбитого *Micrococcus lysodeikticus* досліджуваним штамом мікроорганізму. При цьому розтоплене агарове живильне середовище наливають в стерильну чашку Петрі і дають йому застигнути і підсохнути при кімнатній температурі протягом 15 хвилин, після чого на середовище бактеріальною петлею засівають у вигляді диска діаметром 0,8-1,0 см культуру досліджуваного штаму мікроорганізму, а потім, відступивши від краю диска на 1-2 мм, радіальним штрихом підсівають суспензію живих клітин *Micrococcus lysodeikticus*, що містить 10^6 клітин на 1 мл розчину за оптичним стандартом помутніння, чашку Петрі інкубують при 37 °C протягом 18-24 годин і враховують результати по наявності чи відсутності зони лізису *Micrococcus lysodeikticus*.

UA 100794 U



Корисна модель належить до галузі мікробіології, а саме до визначення лізоцимної активності мікроорганізмів і може бути використаний мікробіологічними лабораторіями наукових медичних і лікувально-профілактичних закладів для визначення лізоцимної активності мікроорганізмів.

В теперішній час визначення лізоцимної активності мікроорганізмів здійснюється наступним чином: добову культуру *Micrococcus lysodeikticus*, що виросла на м'ясопептонному агарі, змивають стерильним 0,5 % водним розчином натрію хлориду і вбивають в автоклаві при 1 атмосфері протягом 15 хвилин. Завись вбитого нагріванням *Micrococcus lysodeikticus* вносять в розтоплений живильний агар із розрахунку створення концентрації *Micrococcus lysodeikticus* 10^8 клітин на 1 мл живильного агарового середовища і виливають живильне середовище з вбитим *Micrococcus lysodeikticus* в стерильну чашку Петрі. Після застигання живильного середовища при кімнатній температурі чашку Петрі підсушують при 37 °C протягом 2 годин. На поверхню підсушеного живильного агару з вбитим *Micrococcus lysodeikticus* наносять у вигляді п'ятчків або крапель досліджувані штами мікроорганізмів. Результат визначають через 24-48 годин інкубації при 37 °C. Навколо колоній вирослого лізоцимактивного штаму досліджуваного мікроорганізму утворюється зона лізису клітин внесеного у шар живильного агарового середовища вбитого *Micrococcus lysodeikticus* (Афанасьєва Т.И., Шевякова О.И. Чашечный метод определения лизоцимной активности стафилококков. 1970).

Суттєвим недоліком цього відомого способу визначення лізоцимної активності, прийнятого нами за прототип, є складність його виконання, пов'язана з необхідністю автоклавування *Micrococcus lysodeikticus*, приготування конкретної концентрації його клітин у живильному середовищі, підсушування живильного середовища при 37 °C протягом 2 годин та тривалі до 48 годин строки отримання результатів. Крім того використання вбитого *Micrococcus lysodeikticus* знижує достовірність отриманих результатів.

Задачею заявленої корисної моделі є усунення вказаного вище недоліку.

Задача вирішується тим, що у відомому Способі визначення лізоцимної активності мікроорганізмів шляхом змиву добової культури *Micrococcus lysodeikticus*, що виросла на м'ясопептонному агарі, стерильним 0,5 % водним розчином натрію хлориду, вбивання її в автоклаві при 1 атмосфері протягом 15 хвилин, внесення завись вбитого нагріванням *Micrococcus lysodeikticus* у розтоплений живильний агар із розрахунку створення концентрації *Micrococcus lysodeikticus* 10^8 клітин на 1 мл живильного агарового середовища, виливання живильного середовища з вбитим *Micrococcus lysodeikticus* в стерильну чашку Петрі, застигання живильного середовища при кімнатній температурі, підсушення чашки Петрі при 37 °C протягом 2 годин, нанесення на поверхню підсушеного живильного агару з вбитим *Micrococcus lysodeikticus* у вигляді п'ятчків або крапель досліджуваних штамів мікроорганізмів та визначення результату за наявністю через 24-48 годин інкубації при 37 °C зони лізису клітин внесеного у шар живильного агарового середовища вбитого *Micrococcus lysodeikticus* досліджуваним штамом мікроорганізму, розтоплене агарове живильне середовище наливають у стерильну чашку Петрі і дають йому застигнути і підсохнути при кімнатній температурі протягом 15 хвилин. Після цього на поверхню застиглої і підсушеної агарової живильної середовища бактеріальною петлею засівають у вигляді дисків діаметром 0,8-1,0 см культури досліджуваних штамів мікроорганізмів, а потім, відступивши від краю диска на 1-2 мм радіальним штрихом підсівають суспензію живих клітин *Micrococcus lysodeikticus*, що містить 10^6 клітин на 1 мл розчину за оптичним стандартом помутніння. Після підсіву *Micrococcus lysodeikticus* чашку Петрі інкубують при 37 °C протягом 18-24 годин і враховують результати. При цьому наявність зони лізису *Micrococcus lysodeikticus* більше 5-6 мм свідчить про наявність лізоцимної активності в досліджуваному штамі мікроорганізму.

Спосіб пояснюється кресленням.

На кресленні зазначено:

1 - чашка Петрі з агаровим живильним середовищем; 2 - посів культури досліджуваного штаму мікроорганізму у вигляді диска; 3 - посів культури *Micrococcus lysodeikticus* радіальним штрихом.

Спосіб здійснюють згідно з формулою і додаткових пояснень не потребує.

Технічним результатом запропонованого способу є спрощення технології визначення лізоцимної активності мікроорганізмів, скорочення строків отримання та підвищення достовірності результатів дослідження.

Приклад виконання запропонованого способу

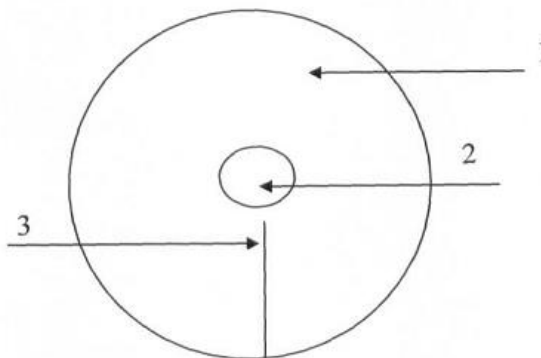
Розтоплений на водяній бані м'ясопептонний агар наливають у стерильну чашку Петрі і дають йому застигнути і підсохнути при кімнатній температурі протягом 15 хвилин. Після цього на поверхню застиглої і підсушеної агарової живильної середовища бактеріальною петлею

засівають у вигляді диска діаметром 0,8-1,0 см культуру *Staphylococcus aureus*, а потім, відступивши від краю диска на 1-2 мм, радіальним штрихом підсівають суспензію живих клітин *Micrococcus lysodeikticus*, що містить 10 клітин на 1 мл розчину за оптичним стандартом помутніння. Після підсіву *Micrococcus lysodeikticus* чашку Петрі інкубують при 37 °С протягом 18-24 годин і враховують результати.

При цьому наявність зони лізису *Micrococcus lysodeikticus* більше 5-6 мм свідчить про наявність лізоцимної активності в досліджуваного штаму *Staphylococcus aureus*.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення лізоцимної активності мікроорганізмів шляхом змиву добової культури *Micrococcus lysodeikticus*, що виросла на мясопептонному агарі, стерильним 0,5 % водним розчином натрію хлориду, вбивання її в автоклаві при 1 атмосфері протягом 15 хвилин, внесення зависі вбитого нагріванням *Micrococcus lysodeikticus* у розтоплений живильний агар із розрахунку створення концентрації *Micrococcus lysodeikticus* 10^8 клітин на 1 мл живильного агарового середовища, виливання живильного середовища з вбитим *Micrococcus lysodeikticus* в стерильну чашку Петрі, застигання живильного середовища при кімнатній температурі, підсушення чашки Петрі при 37 °С протягом 2 годин, нанесення на поверхню підсушеного живильного агару з вбитим *Micrococcus lysodeikticus* у вигляді п'ятчків або крапель культур досліджуваних штамів мікроорганізмів та визначення результату за наявністю через 24-48 годин інкубації при 37 °С зони лізису клітин внесеного у шар живильного агарового середовища вбитого *Micrococcus lysodeikticus* досліджуваним штамом мікроорганізму, який **відрізняється** тим, що розтоплене агарове живильне середовище наливають в стерильну чашку Петрі і дають йому застигнути і підсохнути при кімнатній температурі протягом 15 хвилин, після чого на середовище бактеріальною петлею засівають у вигляді диска діаметром 0,8-1,0 см культуру досліджуваного штаму мікроорганізму, а потім, відступивши від краю диска на 1-2 мм, радіальним штрихом підсівають суспензію живих клітин *Micrococcus lysodeikticus*, що містить 10^6 клітин на 1 мл розчину за оптичним стандартом помутніння, чашку Петрі інкубують при 37 °С протягом 18-24 годин і враховують результати по наявності чи відсутності зони лізису *Micrococcus lysodeikticus*.



Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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