



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **117991** (13) **U**

(51) МПК (2017.01)

C12N 1/00

C12N 1/14 (2006.01)

C12N 1/20 (2006.01)

C12M 1/00

C12M 1/22 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2017 02953**

(22) Дата подання заявки: **28.03.2017**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.07.2017**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.07.2017, Бюл.№ 13**

(72) Винахідник(и):

**Якубчак Ольга Миколаївна (UA),
Солодка Лариса Олександрівна (UA),
Застулка Ольга Олександрівна (UA)**

(73) Власник(и):

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ,
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ-41, 03041
(UA)**

(54) СПОСІБ ОДНОЧАСНОГО ВИЯВЛЕННЯ ЕНТЕРОБАКТЕРІЙ ТА ГРИБІВ-НЕЙТРОФІЛІВ У БДЖОЛИНОМУ ОБНІЖЖІ

(57) Реферат:

Спосіб одночасного виявлення ентеробактерій та грибів-нейтрофілів у бджолиному обніжжі включає відбір 1 см³ суспензії обніжжі в розведенні 1:10, внесення її в чашки Петрі у 3-х повторах, змішування внесеного мікробного матеріалу з розплавленим та охолодженим до температури (50±5)°C агаром, інкубацію посівів у термостаті. Для змішування мікробного матеріалу використовується агар Мак-Конкі M081, посіви інкубують 2 доби при температурі (35±2)°C, після чого отримані ізоляти ентеробактерій пересівають для проведення мікроскопічних та біохімічних досліджень, а висіви інкубують ще 5-7 діб при температурі 35 °C або 10-12 діб при температурі 25 °C для ідентифікації виділених культур грибів-нейтрофілів та обліку потенційних токсиноутворювачів.

UA 117991 U

Корисна модель належить до ветеринарної медицини, зокрема ветеринарно-санітарної експертизи, призначена для потреб діагностичних лабораторій під час визначення мікробіологічної безпеки харчової добавки - бджолиного обніжжя.

Відомі аналоги (ДСТУ ГОСТ 30726-2002 "Продукти харчові. Методи виявлення та визначення кількості бактерій виду *Escherichia coli*" - стандартний спосіб виділення ентеробактерій з використанням агару Ендо; ГОСТ 10444.12-88 "Продукти харчові. Метод визначення дріжджів і пліснявих грибів" - стандартний спосіб виділення цвілевих грибів на агарі Сабура) дозволяють проводити обрахунки кількості бактерій та грибів після глибинного висіву відповідно розведеної проби. Для цього відбирають 1 см³ суспензії, вносять в чашки Петрі, заливають розплавленим та охолодженим до температури (50±5)°C агаром. Посіви витримують у термостаті при 25 °C (мікроскопічні гриби) та 35-37 °C (ентеробактерії). Облік типових колоній бактерій-проводять через 1-2 доби, грибів - через 3-5 діб.

Недоліками аналогів є те, що для одночасного виявлення ентеробактерій та грибів потрібне використання двох різних поживних середовищ, кислотність агару Сабура дозволяє виділяти кислотоерантні ізоляти грибів, а виявлення їх здатності розвиватись за нейтральних умов pH потребує додаткових досліджень, нормативний аналіз кількості грибів на агарі Сабура (7-14 доба росту) неможливий через інтенсивний розвиток колоній певних видів.

Задачею корисної моделі є оптимізація процесу мікробіологічного дослідження бджолиного обніжжя для сумісного виявлення ентеробактерій та певних родів грибів-нейтрофілів в зразках.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі одночасного виявлення ентеробактерій та грибів-нейтрофілів у бджолиному обніжжі включає відбір 1 см³ суспензії обніжжя в розведенні 1:10, внесення її в чашки Петрі у 3-х повторах, змішування внесеного мікробного матеріалу з розплавленим та охолодженим до температури (50±5)°C агаром, інкубацію посівів у термостаті, згідно з корисною моделлю, для змішування мікробного матеріалу використовується агар Мак-Конкі M081, посіви інкубують 2 доби за температури (35±2)°C, після чого отримані ізоляти ентеробактерій пересівають для проведення мікроскопічних та біохімічних досліджень, а висіви інкубують ще 5-7 діб при температурі 35 °C або 10-12 діб при температурі 25 °C для ідентифікації виділених культур грибів-нейтрофілів та обліку потенційних токсинуотворювачів.

Приклад здійснення способу: проводиться глибинний висів 1 см³ суспензії бджолиного обніжжя (розведення 1:10, паралельно 3 чашки Петрі) на агар Мак-Конкі M081. Посіви інкубують за температури (35±2)°C впродовж 2 діб, після чого здійснюють видову ідентифікацію виділених ентеробактерій. Остання проводиться при фарбуванні мікробного матеріалу за Грамом та порівнянні культуральних ознак отриманих колоній з характеристиками референс-штамів: *E.coli* - червоний або рожевий колір з преципітатом жовчних солей та інтенсивний ріст, *spp. Salmonella* та *Proteus vulgaris* - безбарвні при інтенсивному рості, *Shigella flexneri* - безбарвні при середньому або інтенсивному рості, *Enterococcus faecalis* - блідо-рожеві або червоні, середній чи інтенсивний ріст. Виявлення колоній бактерій родів *Escherichia* та *Salmonella* дозволяє відбракувати партію обніжжя.

Попередній облік цвілевих грибів та опис їх ізолятів в чашках Петрі здійснюють на 3-4 добу. Надалі висіви інкубують за температури 25 °C ще 10-12 діб або 5-7 діб за температури 35 °C, після чого проводять остаточний облік та родову ідентифікацію колоній грибів. Це зробить можливим виявлення грибів певних родів, які за нейтральних умов кислотності здатні існувати в травних шляхах людини та тварини, а за певних обставин - і виділяти токсини (*pp. Alternaria, Aspergillus, Mucor, Penicillium* тощо).

Технічне рішення корисної моделі дозволяє впродовж 1-2 діб виявити умовно-патогенні грамнегативні ентеробактерії 5 родів, полегшити облік результатів та ідентифікацію грибів завдяки утворенню колоній середнього діаметру, з чіткими культуральними ознаками, зекономити поживні середовища та лабораторний посуд під час дослідження бджолиного обніжжя за рахунок сумісного виділення мікробів різних морфологічних груп.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб одночасного виявлення ентеробактерій та грибів-нейтрофілів у бджолиному обніжжі, що включає відбір 1 см³ суспензії обніжжя в розведенні 1:10, внесення її в чашки Петрі у 3-х повторах, змішування внесеного мікробного матеріалу з розплавленим та охолодженим до температури (50±5)°C агаром, інкубацію посівів у термостаті, який **відрізняється** тим, що для змішування мікробного матеріалу використовується агар Мак-Конкі M081, посіви інкубують 2 доби при температурі (35±2)°C, після чого отримані ізоляти ентеробактерій пересівають для проведення мікроскопічних та біохімічних досліджень, а висіви інкубують ще 5-7 діб при

температурі 35 °С або 10-12 діб при температурі 25 °С для ідентифікації виділених культур грибів-нейтрофілів та обліку потенційних токсиноутворювачів.

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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