



УКРАЇНА

(19) UA (11) 36641 (13) U

(51) МПК (2006)

C12N 1/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) ПОЖИВНЕ СЕРЕДОВИЩЕ ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ КАМПІЛОБАКТЕРІЙ

1

2

(21) а200712445

(22) 09.11.2007

(24) 10.11.2008

(46) 10.11.2008, Бюл.№ 21, 2008 р.

(72) ФОТІНА ТЕТЯНА ІВАНІВНА, UA, КАСЯНЕНКО  
ОКСАНА ІВАНІВНА, UA, ФОТІНА ГАННА АНАТО-  
ЛІЇВНА, UA(73) СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІ-  
ВЕРСИТЕТ, UA

(57) Поживне середовище агар для кампілобакте-  
рій, що містить протеозопептон, печінковий відвар,  
дріжджовий екстракт, натрію хлорид, агар-агар,  
яке **відрізняється** тим, що до складу поживного  
середовища внесено 0,5 % ростозабезпечуючої  
домішки (0,5 г/л), а вміст агар-агару складає 0,35  
% (3,5 г/л).

Корисна модель відноситься до ветеринарної мікробіології, а саме до ветеринарної бактеріології і може бути використана для виділення і культивування бактерій роду *Campylobacter* з метою індикації даних мікроорганізмів з патологічного матеріалу, харчових продуктів і об'єктів зовнішнього середовища. Може бути використана для визначення поширення кампілобактеріозної інфекції та прогнозування спалахів даного захворювання.

Для використання при бактеріологічних дослідженнях збудників кампілобактеріозу запропоновані різні вітчизняні поживні середовища: сафраніно-залізоновобіоцинове [Голиков А.В., Зенин Й.В. - Селективная среда для выделения термофильных кампилобактеров. Ветеринария, 1981. - №4. С.66-67]; щільне селективне середовище для ізоляції термофільних кампілобактерій, в якому застосовували сукцинат натрію для стимуляції росту *C. jejuni* [Голиков А.В. Вибриоз животных и птицы. - М., 1978, 154с.]; залізо-еритрит кров'яний агар [Демченко А.Г. Методы выделения *Campylobacter jejuni* из молока и его биологические свойства. - Автореферат дисертации к. вет. н., М., 1995, 25с.]; еритрит агар Дагестанського НДІ [Чайка Н.Л., Хазенсон Л.Б., Бутцлер Ж.П. и др. - Кампилобактериоз. - М.: Медицина. - 1988. - 352с.]; «Поживне середовище для виділення кампілобактерів» [Минаев В.И., Черкаський Б.Л., Минаева Н.З. и др. - Лабораторная диагностика кампилобактериоза в современных условиях. - ЖМЭИ, 1991, С.37-38]; напівщільні і щільні м'ясо-пептонні печінкові агари, щільні диференціально-діагностичні середовища Ендо, Левіна, Симонса [Антонов В.Я., Блинов П.Н. «Лабораторные исследования в ветеринарии». -

1986. - С.210-211]. Також відомі комерційні поживні середовища: агар для кампілобактерій фірми „Himedia", еритрит агар, колумбійський кров'яний агар.

Відомі поживні середовища для культивування кампілобактерій мають різні рістозабезпечуючі домішки щодо кампілобактерій різних видів і містять в своєму складі компоненти збагачення білкового складу (5-10% дефібринованої крові, сироватки крові, амінопептид, еритроцити), що сприяє більш швидкій появі перших ознак росту колоній даних мікроорганізмів при культивуванні за умов мікроаерофільності. [Чайка Н.А., Хазенсон Л.Б., Бутцлер Ж.П. и др. - Кампилобактериоз. - М.: Медицина. - 1988. - 352с.].

Відомі поживні середовища недостатньо ефективні за рахунок того, що виготовляються безпосередньо в лабораторіях, оскільки вітчизняна біологічна промисловість не здійснює виробництво елективних поживних середовищ для кампілобактерій. В зв'язку з використанням при цьому вихідної сировини низької якості такі середовища не стандартні і часто не мають належних рістозабезпечуючих властивостей. Окрім того, контроль цих властивостей в лабораторіях не проводиться.

Найбільш близьким до запропонованого є поживне середовище агар для кампілобактерій М 994 фірми „Himedia", яке у своєму складі містить протеозопептон - 15,00г/л, печінковий відвар - 2,50г/л, дріжджовий екстракт 5,00г/л, натрію хлорид - 5,00г/л, агар-агар 12,00г/л. Розмішати 39,50г порошку в 1000мл дистильованої води. Підігріти до температури кипіння для повного розчинення частинок. До охолодженого після стерилізації по-

(13) U

(11) 36641

(19) UA

живного середовища (40-50°C) асептично додають 5-7% стерильної лізованої крові коня або 10% стерильної дефібринованої крові барана. Суміш ретельно перемішують і розливають середовище в чашки Петрі. Культивування кампілобактерій здійснюється при температурі 37-38°C в мікроаерофільних умовах. Поява перших ознак росту колоній кампілобактерій спостерігається через 20 годин після посіву.

Однак, дане поживне середовище недостатньо ефективне за рахунок того, що консистенція його щільна і колонії кампілобактерій, які виростають на його поверхні світлого кольору, прозорі, округлі, слабо помітні при дослідженні. Колонії не мають характерних морфологічних ознак, що знижує достовірність їх виявлення серед колоній мікроорганізмів супутньої мікрофлори. Ідентифікація культур має першочергове значення, оскільки ріст колоній бактерій роду *Salmonella* та *Campylobacter* мають подібні ознаки при культивуванні на більшості поживних середовищах.

В основу корисної моделі поставлена задача створити поживне середовище для індикації термофільних кампілобактерій шляхом удосконалення відомого агару для кампілобактерій фірми M 994 „Himedia”, скоротити терміни появи перших ознак росту культур мікроорганізмів, забезпечити достовірність виявлення росту характерних колоній та дослідження їх морфологічних особливостей, добитися попереджаючого росту колоній кампілобактерій в порівнянні з колоніями супутньої мікрофлори.

Поставлену задачу вирішують шляхом збагаченням поживного середовища агару для кампілобактерій M 994 фірми „Himedia” домішкою 0,5% сукцинату натрію, що має рістзабезпечує та стимулює властивості по відношенню до кампілобактерій *C.jejuni*, та зменшенням вмісту агар-агару до 0,35%, Згідно корисної моделі, модифіковане середовище набуває напіврідку консистенцію і відрізняється тим, що ріст колоній бактерій має більш характерні ознаки - сірувато-блакитний диск під поверхнею поживного середовища товщиною

1-4мм, гелеутворюючі речовини в напіврідкому середовищі розшаровують його таким чином, що конвекційні потоки не здатні перемішувати багаті на кисень верхні прошарки середовища з нижніми, що створює додаткові оптимальні умови для культивування *C.jejuni*. Культивування кампілобактерій на даному середовищі скорочує термін появи ознак росту колоній кампілобактерій на 1-2 години.

Запропонований спосіб здійснюється таким чином:

Приготування поживного середовища здійснюється за складом інгредієнтів: протеозопептон - 15,00г/л, печінковий відвар - 2,50г/л, дріжджовий екстракт - 5,00г/л, натрію хлорид - 5,00г/л, агар-агар - 3,50г/л, 0,5г сукцинату натрію. Суміш масою 31,50г розмішувати в 1000см<sup>3</sup> дистильованої води та підігрівати до температури кипіння для повного розчинення частинок. Стерилізацію поживного середовища здійснюють шляхом автоклавування при 1,1атм (121°C) протягом 15 хвилин. Середовище ретельно перемішують і розливають в чашки Петрі.

Висів патологічного матеріалу проводять за допомогою пастерівської піпетки, занурюючи її на 2/3 частини пробірки. Культивування кампілобактерій здійснюється при температурі 37-38°C в мікроаерофільних умовах.

Включення лише 0,35% агару забезпечує напіврідку консистенцію поживного середовища. Ріст кампілобактерій в напіврідкому середовищі має більш характерні ознаки - сірувато-блакитний диск під поверхнею поживного середовища товщиною 1-4мм. Гелеутворюючі речовини в напіврідкому середовищі розшаровують його таким чином, що конвекційні потоки не здатні перемішувати багаті на кисень верхні прошарки середовища з нижніми, що створює додаткові оптимальні умови для культивування *C.jejuni* і дозволяє скоротити термін появи ознак росту колоній на 1-2 години. Додавання до складу поживного середовища крові або будь-яких домішок не потрібне, що сприяє підвищенню ефективності досліджень.