



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **40921** (13) **U**
(51) МПК (2009)
C12N 1/02

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ЦИТРАТНОСОЛЬОВЕ СЕРЕДОВИЩЕ ДЛЯ ВИДІЛЕННЯ САЛЬМОНЕЛ ТА ІНШИХ ЕНТЕРОБАКТЕРІЙ

1

(21) u200814472

(22) 15.12.2008

(24) 27.04.2009

(46) 27.04.2009, Бюл.№ 8, 2009 р.

(72) ДРАГУТЬ СВІТЛАНА СЕРГІЙВНА, UA, СТЕГНІЙ БОРИС ТИМОФІЙОВИЧ, UA, СТЕГНІЙ АНТОН БОРИСОВИЧ, UA, ДОЦЕНКО ВАЛЕРІЙ ОЛЕКСАНДРОВИЧ, UA, БАБКІН МИХАЙЛО ВАЛЕРІЙОВИЧ, UA, ДОЦЕНКО РОМАН ВАЛЕРІЙОВИЧ, UA
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ", UA

(57) Цитратносольове середовище для виділення сальмонел та інших ентеробактерій, що містить

2

натрій фосфорнокислий, глюкозу або сорбіт (цукри), воду дистильовану, яке **відрізняється** тим, що додатково містить як стимулятори: хлорид натрію, магнію сульфат, натрію цитрат, як джерело азотистого живлення - амоній фосфорнокислий при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

натрій фосфорнокислий	0,1-0,5
глюкоза або сорбіт (цукри)	0,01-0,05
натрію хлорид	0,5-0,9
магнію сульфат	0,01-0,05
натрію цитрат	0,1-0,5
амоній фосфорнокислий	0,1-0,5
дистильована вода	решта.

Корисна модель відноситься до ветеринарної медицини, а саме до засобів діагностики ентеробактеріозів, зокрема сальмонельозу тварин та птиці, а також контролювання продукції тваринництва та птахівництва.

На даний час розроблена і використовується велика кількість селективних, диференційно-діагностичних середовищ і середовищ накопичення для виділення сальмонел та інших ентеробактерій. Це такі середовища, як тіоглюколеве, хлор-магнієве та інші. [Коровин Р.Н., Зеленский В.П., Грошева Г.А. Лабораторная диагностика болезней птиц // Справочник - М.: «Агропромиздат», 1989. - 256 с; Ассон Н.Р. Микробиология // М.: «Агропромиздат», 1989. - 351 с].

Але більшість з них потребує дорогих матеріалів та реактивів, а також містить тваринні або рослинні білки, що заважає диференціювати мікроорганізми такими чутливими методами, як імуноферментний аналіз. Недоліком використання зазначених середовищ є і те, що вони кольорові. Тому при обліку результатів висівів на них не завжди можна визначити наявність росту мікроорганізмів.

Найбільш близьким до рішення, що заявляється є селенітове середовище, що дозволяє виявляти грамнегативні мікроорганізми, зокрема сальмонели. Середовище містить: 0,4 % натрію селеніт 1-заміщений кислий, 0,5 % пепетон, 0,7 % натрію фосфат 2-заміщений, 0,3 % натрію фосфат

1-заміщений, 0,4 % лактоза, до 100 % дистильована вода. (Коровин Р.Н., Зеленский В.П., Грошева Г.А. Лабораторная диагностика болезней птиц) Це середовище може бути прототипом. Але воно є кольоровим, містить рослинні або тваринні білки, що заважає диференціювати мікроорганізми.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити цитратносольове середовище для виділення сальмонел та інших ентеробактерій, що містить натрій фосфорнокислий, сахари, воду дистильовану шляхом додавання як стимуляторів: натрію хлорид, магнію сульфат, натрію цитрат, як джерела азотистого живлення - амоній фосфорнокислий при наступному співвідношенні компонентів мас. % ,

натрій фосфорнокислий	0,1- 0,5
глюкоза або сорбіт(сахари)	0,01- 0,05
натрію хлорид	0,5- 0,9
магнію сульфат	0,01- 0,05
натрію цитрат	0,1- 0,5
амоній фосфорнокислий	0,1- 0,5
дистильована вода	решта
щоб забезпечити ефективність середовища	

Цитратносольове середовище не пригнічує рост грамнегативних мікроорганізмів, зокрема сальмонел. Його використання дозволяє накопичувати мікрофлору у необхідній кількості для проведення подальшої ідентифікації при висіві від десяти до ста мікробних клітин. Середовище є

(13) **U**

(11) **40921**

(19) **UA**

прозорим, не має кольору; у промені світла з легкістю визначається наявність або відсутність росту мікроорганізмів. До того ж, відмічається простота та дешевизна виготовлення запропонованого середовища. За допомоги свіжовиготовленого середовища можна виділити сальмонели без стерилізації, а головне - його можна використовувати для подальшої індикації мікроорганізмів імуноферментним методом, тому що воно містить лише мінеральні речовини, до складу яких входить азот.

Порівняльний аналіз із прототипом дозволяє зробити висновок - рішення, яке заявляється, відповідає критерію „новизна”.

Середовище готують простим змішуванням компонентів. Потім компоненти розчиняють у 100 см дистильованої води і автоклавують за температури 112 °С впродовж 30 хвилин. Після застигання середовище готове до використання, не має кольору, повністю прозоре, рН 7,0-7,4. В чашках Петрі на диференційно-діагностичні середовище Ендо та вісмут-сульфідний агар роблять подальші висіви у об'ємі 0,1 см³, які культивують за температури 37 °С протягом 24 та 48 годин, відповідно. Потім відбирають типові колонії сальмонел вивчають їх біохімічні властивості та типують до виду за допомоги комерційних сальмонельозних сироваток в реакції аглютинації на склі. Приклад 1.

Середовище готували при наступному співвідношенні компонентів мас.%,

натрій фосфорнокислий	0,1
глюкоза або сор-	
біт(сахари)	0,01
натрій хлорид	0,5
магній сульфат	0,01
натрій цитрат	0,1
амоній фосфорнокислий	0,1
дистильована вода	Решта

Використовували для дослідів комбікорм та питну воду.

У флакони ємністю 120 см з розлитими підготовленими пропонованим та селенітовим середовищами вносили (по 5-7 грамів) проби комбікорму та питної води з птицефабрики, на якій реєстрували захворювання птиці на сальмонельоз. Висіви інкубували за температури 37 °С впродовж 18-24 годин, після чого у стовпчику запропонованого середовища спостерігали наявність каламутності. Подальшу ідентифікацію мікроорганізмів проводили за вище значеною схемою.

При дослідженні комбікорму та питної води (по 45 проб) у одному випадку (2,2 %) була виділена та типована культура *Salmonella enteritidis*. За допомоги селенітового середовища (прототип) ні в одному випадку сальмонели не були виділені.

Приклад 2.

Середовище готували при наступному співвідношенні компонентів мас.%,

натрій фосфорнокислий	0,3
глюкоза або сор-	
біт(сахари)	0,03
натрію хлорид	0,7
магнію сульфат	0,03
натрію цитрат	0,3
амоній фосфорнокислий	0,3
дистильована вода	решта

Методику досліджень проводили за схемою, що у прикладі 1, але використовували поверхні шкаралупи та жовтки курячих яєць, які витримували за температури 37 °С впродовж 7 діб.

При дослідженні змивів з поверхонь шкаралупи та жовтків курячих яєць (по 120 проб) у одному випадку (0,8 %) з останніх була виділена та типована культура *Salmonella enteritidis*. За допомоги селенітового середовища (прототип) ні в одному випадку сальмонели не були виділені.

Приклад 3.

Середовище готували при наступному співвідношенні компонентів мас.%,

натрій фосфорнокислий	0,5
глюкоза або сор-	
біт(сахари)	0,05
натрій хлорид	0,9
магній сульфат	0,05
натрій цитрат	0,5
амоній фосфорнокислий	0,5
дистильована вода	решта

Методику досліджень проводили за схемою, що у прикладі 1, але використовували для дослідів патматеріал від птиці з птицеводства неблагополучного щодо сальмонельозу.

При дослідженні 495 проб патматеріалу за допомоги селенітового середовища у семи випадках (1,4 %) були виділені та типовані культури *Salmonella enteritidis*. За допомоги пропонованого цитратносульфатового середовища сальмонели даного виду виділили у 10 випадках (2,0 %), що на 17,6 % більше у порівнянні з прототипом.

Заявлене накопичувальне середовище просте у виготовленні, економічне, не потребує спеціального обладнання і спеціальної підготовки персоналу, а також дозволяє уникнути недоліків, що мають місце при використанні існуючих середовищ. Цитратносульфатове середовище може використовуватися у лабораторіях для діагностики сальмонельозу та ентеробактеріозів, а також контролювання продукції тваринництва та птицеводства.