



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **50353** (13) **U**
(51) МПК (2009)
C12N 1/02МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**ОПИС**
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту**(54) СПОСІБ ВИДІЛЕННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ РОДУ CAMPYLOBACTER ІЗ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ**

1

2

(21) u200910049

(22) 02.10.2009

(24) 10.06.2010

(46) 10.06.2010, Бюл.№ 11, 2010 р.

(72) КАСЯНЕНКО ОКСАНА ІВАНІВНА

(73) СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ(57) Спосіб виділення мікроорганізмів роду
Campylobacter із харчових продуктів, що включає
попереднє збагачення матеріалу з наступним ви-

сівом культур на селективне поживне середовище для культивування кампілобактерій, який **відрізняється** тим, що як середовище збагачення використовують тіогліколеве середовище з селективною домішкою антибактеріальних препаратів (поліміксин В - 1250 ОД, ванкомицин - 5,0 мг, триметоприм - 5,0 мг, амфотерицин В - 1,0 мг, цефалотин - 7,5 мг) у співвідношенні 1:9, інкубацію пересіяних культур проводять в мікроаерофільних умовах впродовж 24 годин при температурі +42°.

Корисна модель відноситься до ветеринарної мікробіології, а саме до ветеринарної бактеріології і може бути використаний для виділення бактерій роду Campylobacter (C. jejuni, C. coli, C. lari) з харчових продуктів з метою індикації даних мікроорганізмів. Може бути використаний при проведенні ветеринарно-санітарної оцінки харчових продуктів контамінованих збудниками кампілобактеріозу з метою попередження спалахів даного захворювання у людей при вживанні забруднених продуктів харчування мікроорганізмами роду Campylobacter.

В ветеринарній мікробіології відомі методи ізоляції термофільних кампілобактерій з патологічного матеріалу: та метод прямого посіву на селективні поживні середовища та метод фільтрів. Метод прямого посіву на селективні поживні середовища передбачає первинні висіви проб на щільні селективні поживні середовища з додаванням суміші антибіотиків, протимікробних і фунгіцидних препаратів, які пригнічують ріст сторонньої мікрофлори. Метод фільтрів регламентує фільтрування посівного матеріалу через мембранні фільтри (по 2 пари фільтрів) з діаметром пор 0,45-0,65 мкм, через які проникають мікроорганізми роду Campylobacter і відфільтровується стороння мікрофлора. (Рекомендації з діагностики, заходів боротьби та профілактики кампілобактеріозу птиці / П.І. Вербицький, А.В. Березовський, Т.І. Фотіна та ін. - К.: Ветінформ, 2004. - 28 с.).

Однак, відомі методи недостатньо ефективні при ізоляції кампілобактерій з харчових продуктів сумнівної свіжості (м'яса, молока, яєць) за рахунок того, що в матеріалі міститься домінуюча кількість

сторонньої мікрофлори, а в зразках продукції, що містять залишкову кількість антибактеріальних препаратів, кількість Campylobacter spp. досить незначна. В зв'язку з цим при виділенні мікроорганізмів роду Campylobacter з харчових продуктів доцільно проводити збагачення матеріалу.

Найбільш близьким до запропонованого є спосіб ізоляції кампілобактерій з матеріалу, що включає метод попереднього збагачення на селективних поживних середовищах.

В бактеріології відомі способи ізоляції кампілобактерій з патологічного матеріалу, які передбачають застосування методу попереднього збагачення на селективних поживних середовищах.

Відомий спосіб ізоляції кампілобактерій, що включає спосіб збагачення патологічного матеріалу з використанням в якості селективного збагачуючого середовища лужної пептонної води, інкубації посівів в мікроаерофільних умовах впродовж 18-24 годин при температурі +42°С з наступним висівом матеріалу на селективне поживне середовище - агар Skirrow. (Tanner E., Bullm C. // Brit. Med. J. - 1977/ - V. 2 - P/ 579).

Відомий спосіб дослідження індикації кампілобактерій з харчових продуктів та води, що включає спосіб збагачення матеріалу з використанням бульйону Preston у співвідношенні 1:9 кількості проби до об'єму середовища збагачення, інкубації посівів впродовж 18-24 годин при температурі +42 °С з наступним висівом матеріалу на селективне поживне середовище - агар Karmali або Butzler (Інструкція по клінічеському і лабораторній діагностиці кампілобактеріоза / утверджена ГЗУ Минздрава СССР/ - М.: 1989. - 40 с).

(13) **U**
(11) **50353**
(19) **UA**

Відомі способи недостатньо ефективні за рахунок того, що матеріал для дослідження повинен бути тільки свіжим, в якості середовищ збагачення використовуються рідкі поживні середовища, що затримує результати бактеріологічного дослідження на 1-2 доби, а частота ізоляції збудника при цьому не збільшується.

Найбільш близьким до запропонованого є спосіб виділення мікроорганізмів роду *Campylobacter*, що включає спосіб збагачення матеріалу з використанням напіврідкого селективно-збагачуючого середовища з 7 % лізованих еритроцитів коня та домішками антибактеріальних препаратів (ванкоміцин - 10 мг; поліміксин В - 50000 МО; триметоприм - 5 мг, цефалотин - 30 мг), інкубації посівів впродовж 24 годин при температурі +42 °С з наступним висівом матеріалу на чашки Петрі з селективним поживним середовищем. Автори виявили більш інтенсивний ріст колоній, а частоту ізоляції кампілобактерій вдалося збільшити на 6% за рахунок того, що в якості селективно-збагачуючого середовища використовували напіврідке поживне середовище. (Chan F., Mackenzie A. // J. Clinical Microbiology - 1982. - V. 15. -P. 12-15.).

Однак, відомий спосіб недостатньо ефективний за рахунок того, що в якості матеріалу для дослідження використовується патологічний матеріал (фекалії), а використання комерційних селективно-збагачуючих поживних середовищ закордонного виробництва аргументують значні матеріальні витрати досліджень.

В основу корисної моделі поставлена задача створити спосіб виділення мікроорганізмів роду *Campylobacter* з харчових продуктів шляхом удосконалення відомого способу, забезпечити достовірність та ефективність досліджень, добитися збільшення частоти ізоляції кампілобактерій з харчових продуктів.

Поставлену задачу вирішують створенням способу дослідження харчових продуктів, з метою виділення мікроорганізмів роду *Campylobacter*, що включає попереднє збагачення матеріалу з використанням напіврідкого тіогліколевого середовища збагачення з домішкою антибактеріальних препара-

тів у співвідношенні 1:9 кількості досліджуваної проби до об'єму середовища збагачення, інкубації посівів в мікроаерофільних умовах впродовж 18-24 годин при температурі +42 °С з наступним висівом матеріалу на селективне поживне середовище для культивування кампілобактерій, який, згідно винаходу, відрізняється тим, що використовують тіогліколеве поживне середовище в якості середовища збагачення, а замість комерційних поживних середовищ для кампілобактерій закордонного виробництва - напіврідке поживне середовище для кампілобактерій (патент на корисну модель № 36641 від 10.11.2008).

Запропонований спосіб здійснюється таким чином:

Висів проб харчових продуктів в тіогліколеве середовище з селективною домішкою антибактеріальних препаратів (поліміксин В - 1250 ОД, ванкоміцин - 5,0 мг, триметоприм - 5,0 мг, амфотеріцин В - 1,0 мг, цефалотин - 7,5 мг) проводять за допомогою пастерівської піпетки, занурюючи її на 2/3 частини пробірки. Співвідношенні кількості досліджуваної проби до об'єму середовища збагачення складає 1:9. Посіви інкубують в мікроаерофільних умовах впродовж 18-24 годин при температурі +42 °С з наступним висівом матеріалу на поживне середовище для культивування кампілобактерій. Інкубацію пересіяних культур проводять в мікроаерофільних умовах впродовж 18-24 при температурі +37 -+42 °С.

Напіврідка консистенція тіогліколевого середовища збагачення забезпечує додаткові мікроаерофільні умови для росту мікроорганізмів роду *Campylobacter*, відзначається більш інтенсивний ріст колоній кампілобактерій в порівнянні з прямим висівом проб харчових продуктів на селективний агар, ріст культур кампілобактерій має більш характерні ознаки - сірувато-блакитний диск під поверхнею поживного середовища товщиною 1-4 мм, що дозволяє ідентифікувати дані мікроорганізми за характерними морфологічними ознаками колоній та сприяє підвищенню ефективності досліджень.