



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **21719** (13) **U**  
(51) МПК (2006)  
C12N 1/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ**ОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під  
відповідальність  
власника  
патенту**(54) ЖИВИЛЬНЕ СЕРЕДОВИЩЕ ДЛЯ ВИДІЛЕННЯ ЗБУДНИКА ТУБЕРКУЛЬОЗУ**

1

2

(21) u200613852

(22) 26.12.2006

(24) 15.03.2007

(46) 15.03.2007, Бюл. № 3, 2007 р.

(72) Власенко Володимир Васильович, Власенко  
Ірина Георгіївна, Колодій Світлана Анатоліївна,  
Блащук Віталія Віталіївна, Дзюмак Михайло Ана-  
толійович

(73) Власенко Володимир Васильович

(57) Живильне середовище для виділення збудни-  
ка туберкульозу, що містить сухий ферментатив-ний пептон, агар-агар, воду, яке **відрізняється**  
тим, що воно додатково містить суху адаптовану  
молочну суміш із залізом - Nestogen при такому  
співвідношенні, мас. %:

агар-агар	1-2
сухий ферментативний пеп- тон	8-12
Nestogen	1-3
вода	решта.

Корисна модель стосується медичної та вете-  
ринарної мікробіології і може бути використаний в  
науково-дослідних і виробничих лабораторіях  
медичного та ветеринарного профілю.

У медичній та ветеринарній мікробіології відо-  
мі способи виділення збудника туберкульозу, жи-  
вильні середовища та стимулятори росту для  
виділення збудника туберкульозу.

Відоме живильне середовище для виділення  
збудника туберкульозу, яке містить поживні білко-  
ву та поліцукридну складові, хімічні реагенти, роз-  
чинник [2]. Але воно не містить достатнього набо-  
ру інгредієнтів для прискорення виділення  
збудника.

Найбільш близьким до заявленого живильного  
середовища є живильне середовище для виділен-  
ня збудника туберкульозу, яке містить сухий фер-  
ментативний пептон, агар-агар, воду [1]. Але воно  
також не містить достатнього набору інгредієнтів  
для прискорення виділення збудника.

Завданням заявленої корисної моделі є ство-  
рення живильного середовища для виділення збу-  
дника туберкульозу, в якому за рахунок нового  
складу компонентів, їх кількісного співвідношення  
досягається можливість скоротити тривалість інку-  
бування матеріалу до 24 годин, а час діагностики  
туберкульозу бактеріологічним способом зменши-  
ти у 30-90 раз.

Поставлене завдання вирішується тим, що за-  
пропоновано живильне середовище для виділення  
збудника туберкульозу, що містить сухий фермен-  
тативний пептон, агар-агар, воду, яке, згідно з ко-

рисною моделлю, додатково містить суху адапто-  
вану молочну суміш із залізом - Nestogen при  
такому співвідношенні, мас. %:

агар-агар	1-2
сухий ферментативний пептон	8-12
Nestogen	1-3
вода	решта

Введення до складу середовища Nestogen ак-  
тивізує ріст мікобактерій збагачує його лінолевою  
кислотою та залізом, яких недостатньо в фермен-  
тативному пептоні у кількості заліза - 0,06-0,18мг,  
лінолевої кислоти - 0,04-0,1мг на 100мл готового  
живильного середовища.

Живильне середовище призначене для ефек-  
тивного культивування мікобактерій туберкульо-  
зу, їх прискореного виявлення в інфікованому ма-  
теріалі (кров, мокротиння, сеча та інші). Ефективність  
запропонованого живильного сере-  
довища полягає у його матеріалі. Одночасно з  
цим збільшується вихід - "урожайність" мікроба-  
терій туберкульозу на живильному середовищі, що  
забезпечує більш високу точність діагностики ту-  
беркульозу.

В результаті досліджень встановлено, що на  
середовищі, що використане як прототип, ріст мік-  
робактерій з'явився через 20-60 діб всіх культур,  
які були узяті в дослід. На запропонованому сере-  
довищі через 24 години після термостатування  
відмічався ріст усіх культур. Через 72 години спо-  
стерігався газонний ріст колоній мікобактерій.

Якісний та кількісний вміст усіх компонентів в  
заявлених складах, є необхідними, оптимальними

(13) **U**  
(11) **21719**  
(19) **UA**

для проявлення їх позитивних властивостей та досягнення технічного результату.

Запропоноване рішення дозволяє при високому рівні чутливості скоротити бактеріологічні дослідження у 30-90 разів.

Спосіб виділення збудника туберкульозу на живильному середовищі відповідно до заявленого рішення здійснюють у наступній послідовності.

Для виділення збудника туберкульозу готують живильне середовище, здійснюють підготовку патологічного матеріалу для його подальшого висіву на живильне середовище, при цьому посівний матеріал обробляють за загальновідомою методикою і, крім того, його обробляють запропонованим антисептиком з подальшим електромагнітним опроміненням і посівом на живильне середовище.

За контрольне беруть живильне середовище за прототипом

Контролем служили тесткультури мікроорганізмів: *Mycobacterium tuberculosis* H37 RV - збудник туберкульозу людей, *Mycobacterium tuberculosis* - клінічний штам, резистентний до всіх протитуберкульозних препаратів, *Mycobacterium tuberculosis* - клінічний штам, чутливий до всіх протитуберкульозних препаратів, *Mycobacterium bovis* - збудник туберкульозу великої рогатої худоби.

Як супутню мікрофлору використовували тесткультури *E. coli*

(K 12), *B. subtilis*, *S. epidermidis* (1225).

Підготовлений контрольний посівний матеріал перед висівом обробляють антисептиком та електромагнітним опроміненням протягом 30-60 хв. з послідовним інкубуванням при температурі  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ . протягом 22-24 годин і висівали на поживне середовище.

Потім патологічний матеріал (посівний матеріал - мокротиння, кров, спинномозкова рідина, частини тканин та інше), так само як і тесткультури мікроорганізмів, перед висівом обробляють антисептиком та електромагнітним опроміненням. До підготовленого згідно співвідношенні 1:1, з подальшою обробкою електромагнітним опроміненням, з потужністю 8 герц, 50Вт. протягом 30-60 хвилин, після чого термостатують протягом 24-48 годин при температурі  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  і висівають отриману посівну суспензію в чашки Петрі на живильне середовище у дозі 1мл. Засіяні чашки Петрі не перевертають і розташовують в термостаті кришками догори, термостатують при температурі  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  протягом 1-5 діб. Поява росту колоній на 1-5 добу вказує на позитивний результат, а відсутність росту мікобактерій після 5 діб вважається негативним результатом, що підтверджує відсутність захворювання. Відсутність росту тест-культури *E. coli*, *B. subtilis*, *S. epidermidis* на середовищі протягом 10 діб вказує на бактерицидну дію антисептика і при цьому допускається хороший ріст збудника туберкульозу.

Практичне здійснення заявленого рішення ілюструється наступними прикладами.

#### Приклад 1

Досліди проводили при мінімальних концентраціях всіх компонентів живильного середовища, мас. %:

агар-агар	1,0
сухий ферментативний пептон	8,0

Nestogen

1,0

вода

решта

Живильне середовище готували розмішуючи компоненти (які попередньо були перемелені в лабораторному млину протягом 10-55 хвилин) в 100мл очищеної води і кип'ятили 3-5 хвилин до повного розплавлення агару, фільтрували через ватно-марлевий фільтр, розливали у відповідний посуд, стерилізували при температурі  $120 \pm 1^\circ\text{C}$  протягом 15 хвилин в автоклаві і після охолодження при кімнатній температурі до  $40-50^\circ\text{C}$  живильне середовище розливали в асептичних умовах в стерильні чашки Петрі по 20мл. Через 7-10 хвилин, як правило, проходить застигання середовища, на яке проводять посів. Готове живильне середовище має білувате забарвлення з рН  $7,2 \pm 0,2$ .

Підготовлений антисептик також автоклавували при температурі  $120 \pm 1^\circ\text{C}$  протягом 15 хвилин в автоклаві.

Підготовленим стерильним антисептиком обробляли тесткультури мікроорганізмів та патологічний матеріал у співвідношенні 1:1 з подальшою обробкою електромагнітним опроміненням, з потужністю 8 герц, 50Вт. протягом 30 хвилин, після чого термостатували 24 години при температурі  $36^\circ\text{C}$  і висівали отриману посівну суспензію в чашки Петрі на живильне середовище у дозі 1мл.

Засіяні чашки не перевертали і ставили в термостат при температурі  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  протягом 5 діб.

Облік результатів проводили після 24 годин інкубування в термостаті, а в подальшому щоденно до закінчення строку.

В результаті проведених досліджень встановлено, що ріст колоній через 24 години спостерігався на чашках з тесткультурами *Mycobacterium tuberculosis* H37 RV - збуднику туберкульозу людей та *Mycobacterium bovis* - збуднику туберкульозу великої рогатої худоби і дослідженим патологічним матеріалом.

Слід визначити, що на третю добу з'явився на вищезазначених чашках газонний ріст, характерний для збудника туберкульозу. На чашках Петрі, де висівали *Mycobacterium tuberculosis* - клінічний штам, резистентний до всіх протитуберкульозних препаратів, спостерігався також через 24 години пригнічений ріст колоній, після 72 годин спостерігався газонний ріст. Тоді як на чашках Петрі, де висівали *Mycobacterium tuberculosis* - клінічний штам, чутливий до всіх протитуберкульозних препаратів, спостерігався газонний ріст колоній як через 24 години, так й після 5 діб. Результати досліджень із патологічним матеріалом були аналогічними обраним тест-культурам збудника туберкульозу, що підтверджує якість обраних компонентів. Результати досліджень росту тесткультури *E. coli*, *B. subtilis*, *S. epidermidis* на середовищі були відсутні протягом 10 діб, що вказує на бактерицидну дію антисептика і при цьому допускається хороший ріст збудника туберкульозу на запропонованому середовищі.

#### Приклад 2

Методика досліджень проводилась по схемі, як в прикладі 1, але кількість компонентів була середньою в межах зазначених інтервалів. Так для живильного середовища ця кількість складала, мас. %:

5	21719	6
агар-агар	1,5	Мycobacterium tuberculosis H37 RV - збуднику туберкульозу людей та Mycobacterium bovis - збуднику туберкульозу великої рогатої худоби і дослідженим патологічним матеріалом. Газонний ріст з'явився на другу добу на чашках Петрі, де висівали Mycobacterium tuberculosis - клінічний штам, резистентний до всіх протитуберкульозних препаратів, спостерігався ріст колоній через 24 години - більш інтенсивний, ніж у прикладі 1. На чашках Петрі, де висівали Mycobacterium tuberculosis - клінічний штам, чутливий до всіх протитуберкульозних препаратів, спостерігався газонний ріст колоній як через 24 години, так й після 5 діб; також як і у прикладі 1 дослідями із патологічним матеріалом підтверджена якість обраних компонентів (відсутність росту супутньої мікрофлори та хороший ріст на запропонованому середовищі збудника туберкульозу).
сухий ферментативний пептон	10,0	Запропоноване поживне середовище просте за способом його приготування, зручне при зберігання і транспортуванні. Всі компоненти заявлених складових продаються в Україні, що є досить зручним для виробничих, науково-дослідних лабораторій ветеринарного та медичного профілю.
Nestogen	2,0	Джерела інформації:
вода	решта	1. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. Под ред. М.О. Биргера. - 3-е изд., переработанное и дополненное. М., Медицина, 1982, с.79-80 (прототип для способу виділення збудника туберкульозу, живильного середовища).
Антисептик був обраний із середньою концентрацією компонентів:		2. Патент України №18613 від 27.07.93, м.кл. С120 1/02, публ. 25.12.97, бюл. №6.
глюгіцир	20,0	
фенол	0,4	
Вода	до 1000,0	
Дія електромагнітного опромінення була протягом 40хв. при 8 герц і 50Вт.		
Результати досліджень в порівнянні з прикладом 1 суттєвої різниці не мали.		
Приклад 3		
Методика досліджень проводилась по схемі, як в прикладі 1, але кількість компонентів в живильному середовищі та антисептика була максимальною в межах зазначених інтервалів. Так для живильного середовища ця кількість складала, мас. %:		
агар-агар	2,0	
сухий ферментативний пептон	12,0	
Nestogen	3,0	
вода	решта	
Антисептик також був обраний із максимальною концентрацією компонентів:		
глюгіцир	30,0	
фенол	0,5	
Вода	до 1000,0	
Дія електромагнітного опромінення була протягом 60хв. при 8 герц і 50Вт.		
В результаті досліджень встановлено, що ріст колоній через 24 години був більш інтенсивний, ніж у прикладі 1 на чашках із тест-культурами		