



УКРАЇНА

(19) UA (11) 21720 (13) U
(51) МПК (2006)
C12N 1/02
C12N 1/20

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИДІЛЕННЯ ЗБУДНИКА ТУБЕРКУЛЬОЗУ

1

(21) u200613854

(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, Блашук Віталія Віталіївна, Березовський Ігор Васильович, Дзюмак Михайло Анатолійович

(73) Власенко Володимир Васильович

(57) 1. Спосіб виділення збудника туберкульозу, що включає приготування живильного середовища, підготовку патологічного матеріалу,

2

висів патологічного матеріалу на живильне середовище з наступним термостатуванням, який **відрізняється** тим, що підготовку патологічного матеріалу здійснюють шляхом обробки антисептиком та електромагнітним опроміненням протягом 30-60 хв. з наступним інкубуванням при температурі 36 ± 1 °C протягом 22-24 годин з отриманням посівної суспензії, яку вносять на живильне середовище.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що масове співвідношення антисептика та патологічного матеріалу складає 1:1.

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

У медичній та ветеринарній мікробіології відомі способи виділення збудника туберкульозу, живильні середовища та стимулятори росту для виділення збудника туберкульозу.

Найбільш близьким до заявленого способу виділення збудника туберкульозу на живильному середовищі є спосіб, який передбачає приготування середовища, підготовку патологічного матеріалу, висів патологічного матеріалу на живильне середовище з наступним термостатуванням. Підготовку патологічного матеріалу здійснюють шляхом подрібнення, обробки 5-ти% сірчаною кислотою з подальшим промиванням водою [1].

Недоліком найближчого аналогу є тривалість зростання культур на живильному середовищі (30-90 діб) та довгий строк очікування результатів аналізу.

Завданням заявленої корисної моделі є створення способу виділення збудника туберкульозу, в якому за рахунок зміни прийомів підготовки патологічного матеріалу досягається можливість скоротити тривалість інкубування

матеріалу до 24 годин, не допускати ріст супутньої мікрофлори та значно прискорити видачу аналізу (у 30-90 разів) при бактеріологічній діагностиці туберкульозу.

Поставлене завдання вирішується тим, що запропонований спосіб виділення збудника туберкульозу, що включає приготування живильного середовища, підготовку патологічного матеріалу, висів патологічного матеріалу на живильне середовище з наступним термостатуванням, у якому згідно з корисною моделлю, підготовку патологічного матеріалу здійснюють шляхом обробки антисептиком та електромагнітними опроміненням протягом 30-60 хвилин з подальшим інкубуванням 24 годин при температурі 36 ± 1 °C з метою знищення спорових форм мікроорганізмів в посівній суспензії, яку вносять на живильне середовище.

В переважному варіанті масове співвідношення антисептика та патологічного матеріалу складає 1:1.

За рахунок нових ознак у способі виділення збудника туберкульозу: попередньої обробки патологічного матеріалу антисептиком та електромагнітним опроміненням, нового складу живильного середовища для виділення збудника туберкульозу створюється синергетичний ефект, який обумовлює скорочення тривалості

(13) U

(11) 21720

(19) UA

інкубування матеріалу з одночасним підвищенням чутливості методу, і як результат - значне скорочення тривалості та обсягу бактеріологічних досліджень у 30 - 90 разів.

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

Спосіб виділення збудника туберкульозу на живильному середовищі відповідно до заявленого вина вина здійснюють у такий 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.

Контролем служили тест-культури 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 тест-культури *E. coli* (K 12), *B. subtilis*, *S. epidermidis* (1225).

Підготовлений контрольний посівний матеріал перед висівом обробляють антисептиком та електромагнітним опроміненням протягом 30-60хв. з послідуочим 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 тест-культури мікроорганізмів, перед висівом обробляють антисептиком та електромагнітним опроміненням. До підготовленого згідно із загальноприйнятим методом патологічного матеріалу додають антисептик у масовому 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.

Конкретний приклад виконання способу.

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 тест-культури 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°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 тест-культурами *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 тест-культури *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.

Джерела інформації:

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).

2. Патент України №18613 від 27.07.93, м.кл. С120 1/02, публ. 25.12.97, бюл. № 6.