



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **31172** (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) СПОСІБ МІКРОБІОЛОГІЧНОГО АНАЛІЗУ**

1

2

(21) u200714159

(22) 17.12.2007

(24) 25.03.2008

(46) 30.12.1899, Бюл.№ , 1899 р.

(72) ВЕРЕМЧУК ОКСАНА ДМИТРІВНА, UA, ГУДА
НАТАЛЯ ВОЛОДИМИРІВНА, UA(73) ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ "ІНСТИТУТ БІОМЕДИЧНИХ
ТЕХНОЛОГІЙ", UA

(56)

(57) Спосіб мікробіологічного аналізу, що включає
проведення аналізу за характером росту колоній

висіяної культури мікроорганізму на твердому живильному середовищі, який **відрізняється** тим, що посів культури здійснюють на тверде живильне середовище на предметному склі, а вирощені колонії мікроорганізму досліджують методом поляризаційної флуоресценції у полі зору люмінесцентного мікроскопа за якісними й кількісними параметрами, у тому числі з реєстрацією спектрального складу флуоресценції колоній мікроорганізму.

Корисна модель стосується медицини, зокрема, мікробіології, і може бути використана в мікробіологічних дослідницьких і діагностичних лабораторіях, а також при здійсненні контролю за дотриманням технологічних умов на підприємствах мікробіологічної промисловості.

Відомий спосіб мікробіологічного аналізу за характером росту колоній висіяної культури мікроорганізму на твердому живильному середовищі [1]. За відомим способом, колонії висіяної культури мікроорганізму на твердому живильному середовищі оцінюють візуально за формою, кольором, характером крайової зони, висотою колонії над рівнем поверхні живильного середовища тощо.

Недоліком відомого способу є недостатній рівень інформативності і точності аналізу, що впливає з описового характеру дослідження мікробних колоній, при якому не враховують біофізичних властивостей множинного скопичення мікроорганізмів у колонії.

В основу корисної моделі покладено завдання вдосконалити відомий спосіб, в якому шляхом визначення якісних і кількісних фототропних реакцій мікробів в колонії досягають підвищення інформативності і точності мікробіологічного аналізу.

При вирішенні технічного завдання було взято до уваги те, що до складу мікробної клітини входять макромолекулярні структури з рідкокристалічними властивостями, наприклад, ліпіди мембран, нуклеїнові кислоти та ін. [2].

Останні завдяки анізотропним властивостям щодо світла, особливо, поляризованого [3], характеризуються здатністю до поляризаційної флуоресценції, яку можна виразити як в якісному - візуальному, так і в кількісному форматі, зокрема, шляхом реєстрації інтенсивності флуоресценції мікробної колонії та її спектрального складу.

Поставлене завдання вирішують тим, що у відомому способі мікробіологічного аналізу за характером росту колоній висіяної культури мікроорганізму на твердому живильному середовищі відповідно до корисної моделі посів культури здійснюють на тверде живильне середовище на предметному склі, а вирощені колонії мікроорганізму досліджують методом поляризаційної флуоресценції у полі зору люмінесцентного мікроскопу за якісними і кількісними параметрами, у тому числі з реєстрацією спектрального складу флуоресценції колоній мікроорганізму.

Перелік фігур.

Фіг.1. Загальний вигляд колоній мікроорганізму – золотистого стафілококу (*Staphylococcus pps.*) на твердому живильному середовищі.

Фіг.2. Світіння (поляризаційна флуоресценція) одно добової колонії *Staphylococcus pps.* у полі зору люмінесцентного мікроскопу (об'єктив 15х).

Фіг.3. Спектральний склад поляризаційної флуоресценції одностовової колонії *Staphylococcus pps.* в центральній (1) і крайовій (2) зонах.

Фіг.4. Світіння мікродочірніх колоній *Staphylococcus pps.* у складі материнської (8-

(13) **U**(11) **31172**(19) **UA**

добової) колонії в полі зору люмінесцентного мікроскопу ($\approx 10 \times 15$).

Фіг.5. Спектральний склад поляризаційної флуоресценції 8-добової колонії *Staphilococcus* rps. в центральній (1) і крайовій (2) зонах, та у відповідних ділянках (3-4) свіжої - однодобової колонії.

Спосіб здійснюють наступним чином. Розплавлене стерильне тверде живильне середовище виливають тонким шаром на попередньо вміщене всередину чашки Петрі предметне скло. На поверхню застиглої твердого живильного середовища на предметному склі висівають стандартизовану суспензію мікробної культури і вирощують в термостаті при 37°C впродовж 24 год. Вирощені колонії мікроорганізму досліджують методом поляризаційної флуоресценції, для чого на предметне скло з мікробними колоніями спрямовують потік поляризованого світла. Змінюючи площину поляризації світлового потоку обертанням одного із поляризаційних фільтрів, контрастують у полі зору флуоресцентне зображення мікробної колонії, звертаючи увагу на її форму, колір та інші якісні ознаки. Користуючись фотометричною насадкою, досліджують інтенсивність світіння мікробної колонії та спектр її поляризаційної флуоресценції.

Приклад 1. На попередньо вміщене всередину чашки Петрі предметне скло розлили тонким шаром розплавлене стерильне тверде живильне середовище, а після його застигання висіяли стандартизовану суспензію мікробної культури і вирощували при 37°C впродовж 24 год. Мікропрепарат у вигляді предметного скла з мікробними колоніями досліджували у полі зору люмінесцентного мікроскопу. При цьому, змінюючи площину поляризації світлового потоку шляхом обертання у горизонтальній площині поляризаційного фільтру - поляризатора, встановили оптимальний рівень контрастності флуоресцентного зображення мікробної колонії. Оцінювали форму колонії, оптичну рівномірність консистенції та її колір. Фотометрію здійснювали за допомогою насадки до люмінесцентного мікроскопу ФМЭЛ-1. Для прикладу реєстрували інтенсивність світіння колонії *Staphilococcus* rps. та її спектральний склад в центральній частині колонії та по її краю. При візуальному спостереженні (Фіг.1) для мікробної колонії на твердому живильному середовищі характерною є відносна рівномірність її оптичної консистенції, проте при фотометричному аналізі виявлено помітнішу інтенсивність світіння крайової зони колонії, порівняно з центральною (Фіг.2), при тому, що характер спектрального складу центральної і крайової зон колонії залишився практично ідентичним (Фіг.3).

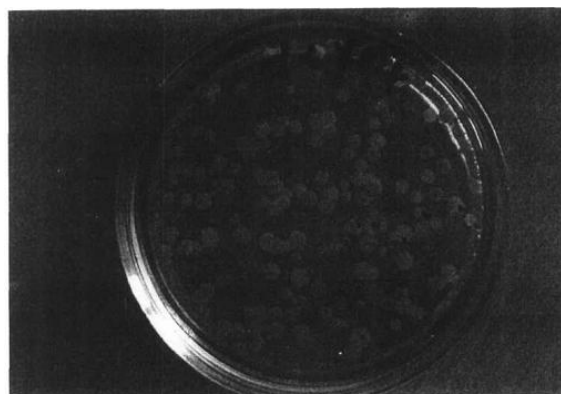
Приклад 2. На високий рівень інформативності і точності запропонованого способу вказують результати порівняльного дослідження характеру світіння колоній мікроорганізму (*Staphilococcus* rps.) різного віку: свіжої – одне добової та на 8 добу після посіву. Так, у полі зору люмінесцентного мікроскопу чітко проявляється фрагментарність 8-добової колонії, що, очевидно,

є наслідком утворення дочірніх мікроколоній всередині материнської (Фіг.4). З наведених на Фіг.5 даних реєстрації спектрального складу видно як з постарінням мікробних колоній різниця характеру світіння в центрі колонії (Фіг.5-1) та по краю (Фіг.5-2) стає помітнішою, ніж у свіжої - однодобової колонії (Фіг.5-3 і Фіг.5-4) - відповідно, що може бути наслідком зміни метаболізму мікроорганізму в колонії в часі, становлячи таким чином додаткове джерело високоточної кількісної інформації як складової мікробіологічного аналізу.

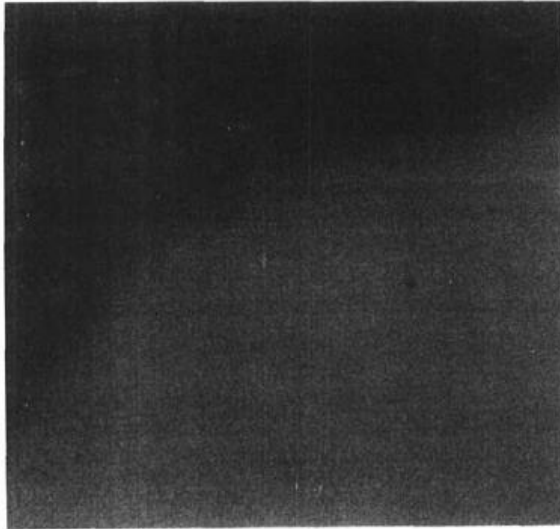
Отже, запропонований спосіб забезпечує вищий, ніж за способом-прототипом, рівень інформативності і точності мікробіологічного аналізу, і може бути використаний як в практиці мікробіологічних лабораторій, так і в мікробіологічному виробництві для контролю за дотриманням умов технологічного процесу.

Джерела інформації, які слід взяти до уваги:

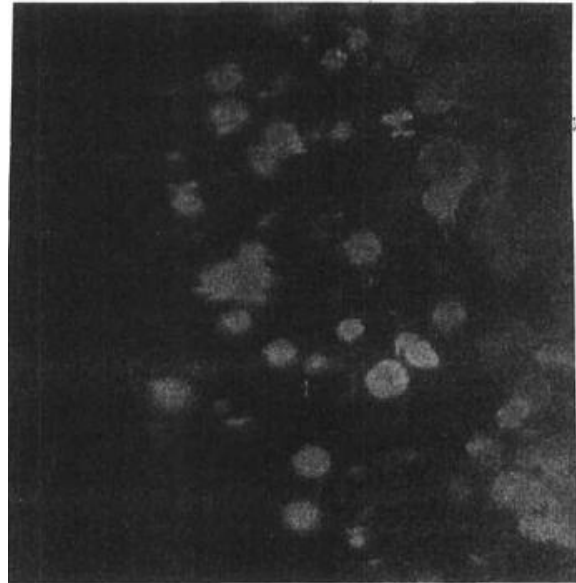
1. Теппер Е.З. и др. Практикум по микробиологии. М: Колос, - 1979.
2. Сонин А.С. Жидкие кристаллы и физика жизни. М: Знание, 1983.
3. Жевандров Н.Д. Поляризация света. М: Наука, 1967. - С. 125-141.



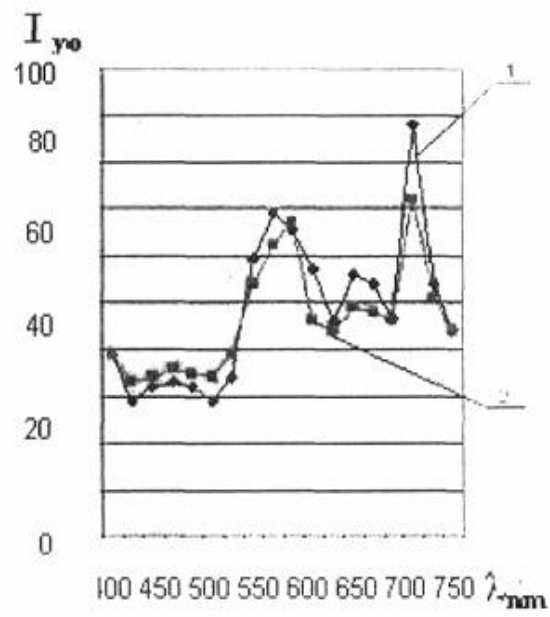
Фіг. 1



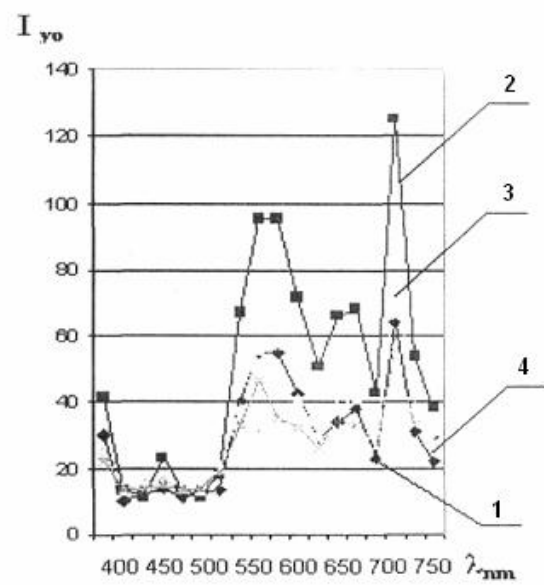
Фиг. 2



Фиг. 4



Фиг. 3



Фиг. 5