

УКРАЇНА

UKRAINE



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 65594

**СПОСІБ СЕЛЕКТИВНОЇ ІЗОЛЯЦІЇ МІКРООРГАНІЗМІВ
РОДУ SAMRYLOVASTER ІЗ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ**

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі 12.12.2011.

Голова Державної служби
інтелектуальної власності України

М.В. Паладій



(11) 65594

(19) UA

(51) МПК (2011.01)
С12N 1/00

(21) Номер заявки:	u 2011 06159	(72) Винахідники:	Фотіна Тетяна Іванівна, UA, Березовський Андрій Володимирович, UA, Касьяненко Оксана Іванівна, UA
(22) Дата подання заявки:	17.05.2011	(73) Власник:	СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Кірова, 160, м. Суми, 40021, UA
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	12.12.2011		
(46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня:	12.12.2011, Бюл. № 23		

(54) Назва корисної моделі:

СПОСІБ СЕЛЕКТИВНОЇ ІЗОЛЯЦІЇ МІКРООРГАНІЗМІВ РОДУ САМПУЛОБАСТЕР ІЗ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ

(57) Формула корисної моделі:

Спосіб селективного виділення мікроорганізмів роду *Samrulobacter* із харчових продуктів, який включає висів проб досліджуваного матеріалу на селективне поживне середовище для культивування кампілобактерій, який відрізняється тим, що як поживне середовище використовують середовище поживне щільне для культивування кампілобактерій (ТУ У 24.4.-14332579-056:2010), а як селективні домішки - суміш антибактеріальних препаратів вітчизняного виробництва у складі: гентаміцин 2 мг/1л; цефалексин 156 мг/1л; рифампіцин 250 мг/1л, інкубації в мікроаерофільних умовах впродовж 24-48 годин при температурі +37-42 °С.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 65594 (13) U
(51) МПК (2011.01)
C12N 1/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

**ОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ СЕЛЕКТИВНОЇ ІЗОЛЯЦІЇ МІКРООРГАНІЗМІВ РОДУ САМПУЛОБАКТЕР ІЗ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ

1

2

(21) u201106159
(22) 17.05.2011
(24) 12.12.2011
(46) 12.12.2011, Бюл.№ 23, 2011 р.
(72) ФОТІНА ТЕТЯНА ІВАНІВНА, БЕРЕЗОВСЬКИЙ
АНДРІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ, КАСЬЯНЕНКО ОК-
САНА ІВАНІВНА
(73) СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ
(57) Спосіб селективного виділення мікрооргані-
змів роду *Campylobacter* із харчових продуктів, який
включає висів проб досліджуваного матеріалу на

селективне поживне середовище для культиву-
вання кампілобактерій, який відрізняється тим,
що як поживне середовище використовують сере-
довище поживне щільне для культивування кампі-
лобактерій (ТУ У 24.4.-14332579-056:2010), а як
селективні домішки - суміш антибактеріальних
препаратів вітчизняного виробництва у складі:
гентаміцин 2 мг/л; цефалексин 156 мг/л; рифам-
піцин 250 мг/л, інкубації в мікроаерофільних умо-
вах впродовж 24-48 годин при температурі +37-
42°C.

Корисна модель належить до ветеринарної мі-
кробіології, а саме до ветеринарної бактеріології і
може бути використаний для виділення бактерій
роду *Campylobacter* (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*) з хар-
чових продуктів з метою індикації даних мікроор-
ганізмів. Може бути використаний при проведенні
ветеринарно-санітарної оцінки харчових продуктів
контамінованих збудниками кампілобактеріозу
з метою попередження спалахів даного захворю-
вання у людей при вживанні забруднених продуктів
харчування мікроорганізмами роду
Campylobacter.

В ветеринарній мікробіології відомі методи се-
лективної ізоляції термофільних кампілобактерій:
додавання до складу поживних середовищ селек-
тивних домішок антибактеріальних препаратів, що
мають пригнічуючі властивості для росту ентеро-
бактерій та супутньої мікрофлори.

Для пригнічення попереджаючого росту супут-
ньої мікрофлори до поживних середовищ додають
селективні агенти (ванкоміцин, цефалексин, напі-
диксову кислоту, біселтол, рифампіцин, полімікси-
ни М і В, амфотерицин В, триметоприм, цефсупо-
дин і ін.) як окремо, так і в різних поєднаннях.
Черкаським Б.Л. з співавторами (1987, 1989) пока-
зана ефективність селективного виділення бакте-
рій роду *Campylobacter* на середовищах ЗЕКУ (Че-
хословакія) з додаванням амфотерицину В,
фузидину, цефалотину і рифампіцину. Сафронова
Н.В. та ін., (1987) запропонувала з метою селектив-
ної ізоляції кампілобактерій додавати до складу
поживних середовищ антибактеріальні компоненти

(мг/л): поліміксин В - 2, рифампіцин - 10, ристомі-
цин - 10, амфотерицин В - 2, фузидин - 2. Матвее-
ва З.Н. в 1989 році запропонувала селективну до-
мішку антибактеріальних препаратів наступного
складу (мг/л): поліміксин В - 2, рифампіцин - 10,
ристоміцин - 10, амфотерицин В - 3. (Інструкція
по клинической и лабораторной диагностике кам-
пилобактериоза, 1989).

Голіков разом зі співавторами у 1980 році за-
пропонував селективне поживне середовище на
основі серцево-мозкового відвару, селективними
компонентами її є рифампіцин, що пригнічує ріст
грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів;
поліміксин М, активний відносно до грамнегатив-
них мікроорганізмів та протигрибковий препарат
ністатин. Ці селективні компоненти не пригнічують
ріст термофільних кампілобактерій (МІК більше
100 мкг/мл) (Чайка Н.А., Хазенсон Л.Б., Бутцлер
Ж.-П. и др.

Bolton F. et з співавт. досліджували селектив-
ний спосіб ізоляції кампілобактерій на середовищі
Fennell з амфотерицином (Bolton F.J., Wareing
D.R.A., Skirrow M.B., Hutchinson D.N. Identification
and biotyping of campylobacters // Identification
Methods in Applied and Environmental Microbiology,
Academic Press, London. - 1992. - р. 151-161.).

Goossens H. et al., зі співавт. 1989 році до
складу селективного живильного середовища SSM
включали 30 мкг/мл цефалепаразону і 50 мкг/мл
триметоприму (Gonzales V.A. and Abuxarqui, J.J.F.
Poultry as *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter*

(19) UA (11) 65594 (13) U

coli contamination source // Rev. Lat. Amer. Microbiology. - 1989. - Vol. 31. - P. 271-273).

На даний час за кордоном випускаються комерційні селективні домішки, що містять різні за складом та вмістом антибактеріальні речовини: "Охoid" за складом бацитрацин - 5000 ОД, циклогексимід - 25 мг/л, колістин 5000 ОД, цефазолін - 7,5 мг/л, новобіоцин 2,5 мг/л; Blaser Wang FD 006: поліміксин В - 1250 ОД, ванкоміцин - 5,0 мг/л, триметоприм - 5,0 мг/л, амфотерицин В - 1,0 мг/л, цефалотин - 7,5 мг/л; Preston: поліміксин В - 5000 ОД, рифампіцин - 10 мг/л, триметоприм - 10 мг/л, циклогексимід - 100 мг/л; Karmali: піруват натрію - 100 мг/л, цефоперазон - 32 мг/л, ванкоміцин 20 мг/л, циклогексамід - 100 мг/л. Найбільш популярна комбінація по Skirrow: 10 мг/л ванкоміцину, 2500 МЕ/л поліміксину В, 5 мг/л триметоприму (Фотіна Т.І., Березовський А.В., Касяненко О.І., Дворська Ю.Є. Кампілобактеріоз птиці / Монографія - Суми. -2010.-140 а).

Відомі методи селективної ізоляції недостатньо ефективні при виділенні кампілобактерій з харчових продуктів за рахунок того, що більшість компонентів селективних домішок не випускаються вітчизняною фармакологічною промисловістю, а закордонного виробництва, що обумовлює значні матеріальні затрати на витратні матеріали.

Найбільш близьким до запропонованого є спосіб селективної ізоляції мікроорганізмів роду *Campylobacter* (Іванов В.П. з співавт. в 1991 році), що включає спосіб включення до складу поживних середовищ селективної домішки наступного складу (мг/л): цефалексин - 30, рифампіцин - 10, три-

метоприм - 5, амфотерицин В - 2, інкубації посівів впродовж 24 годин при температурі +42 °С. Автори виявили більш інтенсивний ріст колоній, а частоту ізоляції кампілобактерій вдалося збільшити на 11-16 %. (Інструкція по клинической и лабораторной диагностике кампилобактериоза, 1989).

Однак, відомий спосіб недостатньо ефективний за рахунок того, що не враховані дані резистентності циркулюючих збудників до антибактеріальних препаратів.

В основу корисної моделі поставлена задача створити спосіб селективної ізоляції 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 селективної ізоляції мікроорганізмів роду *Campylobacter* з харчових продуктів, що включає додавання до складу середовища поживного цільного для культивування кампілобактерій (ТУ У 24.4.-14332579-056:2010) домішки антибактеріальних препаратів, інкубації посівів в мікроаерофільних умовах впродовж 18-24 годин при температурі +37-42 °С, який, згідно з корисною моделлю, відрізняється тим, що замість комерційних селективних домішок закордонного виробництва додають суміш антибактеріальних препаратів вітчизняного виробництва, виготовлені за технологією і на обладнанні науково-виробничої фірми «Бровафарма» з урахуванням резистентності циркулюючих збудників даних препаратів (табл.).

Таблиця

Результати визначення бактеріостатичних концентрацій антибактеріальних препаратів до циркулюючих штамів мікроорганізмів

№ пробірки ряду	Концентрація препарату, мкг/мл	Дослід (культура мікроорганізмів)					Контроль (культура мікроорганізмів)					
		C. jejuni	L. monocitogenes	S. enteritidis	E. coli	P. multocida	МПА	C.jejuni+МПА	L. monocitogenes +МПА	S. enteritidis + МПА	E. coli + МПА	P. multocida + МПА
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
основний розчин гентаміцину з концентрацією 1000 мкг/1 мл												
7	7,81	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+
8	3,91	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+
9	1,95	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
основний розчин колістину сульфату з концентрацією 3333 мкг/мл												
4	208,312	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
5	104,156		-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
6	52,078	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
7	26,039	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
8	13,019	+		+	+	+	-	+	+	+	+	+
основний розчин триметоприму з концентрацією 3333 мкг/мл												
1	1666,50	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+
2	833,25		+	-	-	+	-	+	+	+	+	+
3	416,625	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+
4	208,312	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+

Продовження таблиці

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
основний розчин цефалексин з концентрацією 20000 мкг/1 мл												
3	2500	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
4	1250		+	-				+	+	+	+	+
5	625	+	+	-				+	+	+	+	+
6	312,5	+	+	-	-	+		+	+	+	+	+
7	156,25	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+
8	78,125	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
основний розчин рифампіцину з концентрацією 1000 мкг/1мл												
1	500	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
2	250	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
3	125	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+

Примітка: 1. «-» - ріст колоній бактерій відсутній; 2. «+» - ріст колоній бактерій на поверхні поживного середовища.

Отримані дані дозволяють підібрати ефективну селективну домішку для поживних середовищ з метою селективної ізоляції *Campylobacter* spp. з харчових продуктів, води та об'єктів зовнішнього середовища. Для селективної ізоляції *Campylobacter* spp. до складу поживних середовищ рекомендовано включати комбінацію антибактеріальних препаратів за складом: гентаміцин 2 мг/1 л для пригнічення росту *L. monocitogenes*; цефалексин 156 мг/1 л для пригнічення росту *S. enteritidis* та *E. coli* та рифампіцин 250 мг/1л для пригнічення росту *P. multocidae*.

Запропонований спосіб здійснюється таким чином:

Висів проб харчових продуктів на середовища поживного щільного для культивування кампілобактерій (ТУ У 24.4.-14332579-056:2010) з селективною домішкою антибактеріальних пре-

паратів (гентаміцин 2 мг/1 л; цефалексин 156 мг/1л; рифампіцин 250 мг/1л) проводять за допомогою бактеріологічної петлі. Посіви інкубують в мікроаерофільних умовах впродовж 24-48 годин при температурі +37 °С.

Спосіб селективної ізоляції мікроорганізмів роду *Campylobacter* із харчових продуктів з використанням домішки антибактеріальних препаратів запропонованого складу і концентрації забезпечує бактеріостатичну дію відносно до *L. monocitogenes*, *S. enteritidis*, *E. coli* *P. multocidae* та кокової мікрофлори та забезпечує тим додаткові умови для росту мікроорганізмів роду *Campylobacter* на поживних середовищах, що сприяє ізоляції та ідентифікації даних мікроорганізмів за характерними морфологічними ознаками колоній та сприяє підвищенню ефективності досліджень.