



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 121 000** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) МПК⁶ **C 12 Q 1/04, C 12 N 1/20//C**
12 Q 1/04, C 12 R 1:32)

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 95111841/13, 11.07.1995

(46) Дата публикации: 27.10.1998

(56) Ссылки: Самилло Г.К., Ромашева Е.Н. Пути повышения высеваемости и ускорения роста микобактерий туберкулеза на модифицированной среде Финн II. - Проблемы туберкулеза, 1988, N 12, с. 62 - 63.
Коронелли Т.В., Федеева Н.И. Культивирование туберкулезных и условно-патогенных микобактерий на среде с Н-алканами. - Проблемы туберкулеза, 1986, N 9, с. 44 - 46.
SU 325879 A, 16.04.73. SU 575888 A, 30.06.79. SU 839254 A, 15.09.82.

(71) Заявитель:

Прикаспийский зональный
научно-исследовательский ветеринарный
институт

(72) Изобретатель: Нуратинов Р.А.

(73) Патентообладатель:

Прикаспийский зональный
научно-исследовательский ветеринарный
институт

(54) ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ МИКОБАКТЕРИЙ

(57) Реферат:

Изобретение предназначено для бактериологической диагностики туберкулеза у животных и людей. Среда создана на основе модификации среды Финн-II. Среда обогащена легко усвояемым азотом и углеродом, исключены остродефицитные ингредиенты (глутаминово-кислый натрий, L-аспарагин). В качестве пленкообразующего

вещества и дополнительного источника углерода в состав среды включен жидкий парафин (Н-алканы). Такое изменение состава среды позволило повысить как скорость роста, так и высеваемость микобактерий из патматериала от животных и мокроты от больных туберкулезом людей. 2 табл.

RU 2 1 2 1 0 0 0 C 1

RU 2 1 2 1 0 0 0 C 1



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 121 000** ⁽¹³⁾ **C1**

(51) Int. Cl.⁶ **C 12 Q 1/04, C 12 N 1/20/(C
12 Q 1/04, C 12 R 1:32)**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 95111841/13, 11.07.1995

(46) Date of publication: 27.10.1998

(71) Applicant:
Prikaspijskij zonal'nyj
nauchno-issledovatel'skij veterinarnyj institut

(72) Inventor: Nuratinov R.A.

(73) Proprietor:
Prikaspijskij zonal'nyj
nauchno-issledovatel'skij veterinarnyj institut

(54) **NUTRIENT MEDIUM FOR MYCOBACTERIUM CULTURING**

(57) Abstract:

FIELD: microbiology. SUBSTANCE: medium is made by modification of Finn-11 medium. Medium is enriched with easily assimilable nitrogen and carbon but very deficient components (sodium glutamate, L-asparagine) are excluded. Medium has liquid paraffin as an additional carbon source (n-alkanes) and

as a film-forming substance. This change of composition ensures to increase both the growth rate and sowing out of mycobacteria from pathological material from animals and sputum of patient with tuberculosis. Medium is used for bacteriological tuberculosis diagnosis in animals and human. EFFECT: enhanced effectiveness of medium. 2 tbl

RU 2 1 2 1 0 0 0 C 1

RU 2 1 2 1 0 0 0 C 1

Изобретение относится к ветеринарии и может быть использовано в медицине, в частности для высевания патологического материала и выращивания микобактерий при диагностике туберкулеза крупного рогатого скота и человека.

В практике ветеринарных и медицинских лабораторий для бактериологической диагностики туберкулеза наиболее широко применяют плотные питательные среды Левенштейна-Йенсена, Финн II, картофельная, "Новая" (Г.Г.Мордовский), среды 6 и 9, предложенные В.А.Аникиным и соавт. и т.д. Все перечисленные среды мало отличаются по химическому составу, физическим свойствам одна от другой и состоят из солевой основы с добавлением желтков куриных яиц. Соответственно, высеваемость и скорость роста микобактерий на разных средах незначительно расходятся в ту или иную сторону.

Недостатками данных питательных сред являются низкая высеваемость патологического материала и малая скорость роста чистых культур.

Наиболее близкой по технической сущности к заявляемому изобретению является среда, предложенная Г.К.Самилло и Е.Н.Ромашевой (1988), содержащая в качестве источника азота дрожжевой аутолизат и аммоний щавелевокислый, а в качестве источника углерода - глицерин в следующем составе:

магний сернокислый - 0,15 г
натрий лимоннокислый - 0,3 г
железоаммиачные квасцы - 0,015 г
калий фосфорнокислый 1 зам. - 6,0 г
щавелевокислый аммоний - 1,5 г
дрожжевой аутолизат - 3,0 мл
глицерин - 6 мл

дистиллированная вода - 300 мл
яйца куриные - 12 шт.

малахитовая зелень - 10 мл 2% р-ра

Недостатками данной среды являются низкий процент высеваемости из патологического материала и мокроты, малая скорость роста микобактерий. Кроме того, в процессе длительного термостатирования среда высыхает, в связи с чем прекращаются рост и размножение микобактерий. Это явление особенно проявляется при высеве гомогенатов биоматериалов на выделение микобактерий.

Целью изобретения является повышение эффективности использования питательной среды для выделения и выращивания микобактерий за счет изменения химического состава среды.

Поставленная цель достигается тем, что среда Финн II, содержащая в качестве источника азота глутаминовокислый натрий, аммония - цитрат однозамещенный, содержит в качестве источника азота дрожжевой аутолизат и аммоний щавелевокислый (Г.К.Самилло, Е.Н.Ромашева, 1988), дополнительно в качестве источника углерода - смесь Н-алканов в следующих количествах:

куриные яйца - 12 шт.
дрожжевой аутолизат - 30 мл
магний сернокислый - 0,15 г
натрий лимоннокислый - 0,3 г
железоаммиачные квасцы - 0,015 г
калий фосфорнокислый 1 зам. - 6,0 г
щавелевокислый аммоний - 1,5 г
глицерин - 6 мл

дистиллированная вода - до 300 мл
Н-алкилы (C₁₂-C₁₇) - 4-5 капель на поверхность среды в пробирке

Сопоставительный анализ с прототипом позволяет сделать вывод, что заявляемый состав среды отличается от известной с введением нового компонента, а именно Н-алканов (C₁₂-C₁₇) и количественным составом компонентов. Таким образом, заявляемое техническое решение соответствует критерию "новизна". Анализ известных составов сред, используемых для выделения и выращивания микобактерий, показывает, что некоторые введенные в заявляемое решение вещества известны, например Н-алканы. Однако их применение в этих средах в сочетании с другими компонентами не обеспечивает средам такие свойства, которые они проявляют в заявляемом решении, а именно значительное обогащение легкоусвояемым азотом и углеродом плотной яичной среды с одновременным покрытием поверхности среды слоем жидкого парафина и, как следствие, длительное сохранение влажности среды в процессе термостатирования. Таким образом, данный состав компонентов придает среде новые свойства, что позволяет сделать вывод о соответствии заявляемого решения критерию "существенные отличия".

Для экспериментальной проверки заявляемого состава среды были подготовлены 8 серий в различных вариантах, отличающиеся количественным содержанием добавляемых компонентов. Для этого предварительно готовили солевой состав, растворяли в теплой дистиллированной воде и стерилизовали при 1 атм. в течение 20 мин. Стерильный дрожжевой аутолизат добавляли к солевому раствору перед смешиванием со сбитыми яйцами. В стерильную колбу с бусами выливали 12 куриных яиц, встряхивали после добавления каждого яйца до образования однородной массы, доливали 10 мл 2% водного раствора малахитового зеленого и 300 мл приготовленного солевого раствора. Затем фильтровали через марлю, разливали по пробиркам и выдерживали в аппарате свертывания в наклонном положении при температуре 85°C в течение 45 мин. Готовые серии сред засеивали микобактериями разных видов лабораторных штаммов (одномоментно, из одного разведения бакмассы), одна из которых показала оптимальные результаты (см. табл. 1). В таблице представлены полученные свойства образцов сред с внесением различных соотношений компонентов и известных составов.

Из таблицы следует, что на предлагаемой среде (N 8) микобактерии лабораторных штаммов растут значительно быстрее, чем на всех остальных модификациях сред, в т.ч. чем на аналоге и прототипе (N 2, N 7).

Аналогичные результаты при посевах патматериала от животных и мокроты больных туберкулезом людей. Эти результаты отражены в таблице 2.

Таким образом, на предлагаемой среде сроки получения как первичной культуры, так и обильной бакмассы сокращаются на 15-20 суток. В то же время, на 16-19% повышается высеваемость микобактерий из патматериала от животных и почти в 2 раза из мокроты больных туберкулезом людей.

Использование заявляемой среды в бактериологии туберкулеза позволит ускорить постановку диагноза; за короткий срок получить обильную бакмассу; повысить высеваемость микобактерий из патматериала от животных и мокроты от больных туберкулезом людей; укоротить сроки термостатирования высеянных пробирок; исключить из состава среды остродефицитные ингредиенты.

Формула изобретения:

Питательная среда, используемая в бактериологии туберкулеза, содержащая куриные яйца, дрожжевой аутолизат, магний сернокислый, натрий лимоннокислый, железоаммиачные квасцы, калий фосфорнокислый однозамещенный, щавелевокислый аммоний, глицерин,

малахитовую зелень и дистиллированную воду, отличающаяся тем, что она дополнительно содержит смесь Н-алканов (C₁₂-C₁₇) с количественным составом ингредиентов:

- 5 Куриные яйца, шт. - 12
 Дрожжевой аутолизат, мл - 30
 Магний сернокислый, г - 0,15
 Натрий лимоннокислый, г - 0,3
 Железоаммиачные квасцы, г - 0,015
- 10 Калий фосфорнокислый однозамещенный, г - 6,0
 Щавелевокислый аммоний, г - 1,5
 Глицерин, мл - 6
 Малахитовая зелень, 2%-ный раствор, мл - 10
- 15 Дистиллированная вода, мл - До 300
 Н-алканы, капель на поверхность среды в пробке - 4 - 5ш

20

25

30

35

40

45

50

55

60

Таблица 1

Характеристика роста микробактерий разных видов на средах, испытанных вариантов

№№ пп	Среда	Вид засеянной культуры	К-во пробирок	Первичный рост (сутки)	Рост во всех пробирках (сутки)	Качество роста		
						слабый (сутки)	средн. (сутки)	обильн. (сутки)
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	Левенштейна- Йенсена	M. bovis	160	20	35	25	36	50
		M. avium		5	8	7	10	20
		M. BЦЖ		18	30	22	31	45
		M. seroful.		5	7	7	10	20
		M. tubercul		21	37	25	38	53
2.	Финн II	-"	150	5	18	19	25	45
		4		5	5	7	11	
		4		8	8	20	30	
		3		5	6	8	20	
		5		17	18	21	40	
3.	Модифиц. (замена глутамата →гликоколом)	-"	1650	5	14	15	25	43
		3		5	6	8	10	
		4		7	10	16	21	
		3		5	7	10	15	
		5		16	18	22	40	
4.	Модифиц. (замена цитрата аммония →аммон. щевелевокисл.)	-"	150	7	19	14	24	46
		5		6	5	7	20	
		5		10	10	21	31	
		3		6	8	11	30	
		6		18	15	25	42	
5.	Модификац. (зам. глутамата Na→дрожжевым аутолизатом)	-"	100	5	13	14	23	42
		4		5	6	8	10	
		3		5	5	7	19	
		5		8	8	17	28	
		6		12	15	20	40	

13 0001212 РУ

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
6.	Модификац. (зам. глутам. Na гликолом; цитрата аммония →амм.щевел.)	-"	50	3	6	15	16	24
7.	Модифиц. (глутамат Na→дрожжев. аутолизат; цитрат аммон. →аммон.щевел)	-"	50	3	4	4	5	7
8.	Модифиц. предлагаем. (№7+4-5 капель Н-алканов)	-"	300	3	5	13	15	20
				5	12	13	16	30
				3	4	5	7	9
				3	5	6	8	10
				3	6	8	10	15

RU 2121000 C1

Т а б л и ц а 2

Высеваемость микобактерий из патологического материала и мокроты

№№ пп	Количество исследованного материала	Выделено культур на среде:			
		Финн II	Левеншт. Иенсена	Модифиц. № 3	Примедлагае- мая (№ 8)
1.	42 патматериала ж-х	16 38,1%	-	15 35,7%	23 54,8%
	M±m (в сутках)	28,5±3,5	-	29,7±3,04	25,04±2,8
2.	80 проб мокроты от больн. туб. людей	-	13 16,3%	-	26 32,7%
	M±m (в сутках)				

Примечание: 1. M±m указывает скорость роста выделенных культур независимо от вида микобакт.
2. Определение высеваемости мокроты на предлагаемой среде в сравнении со средой Левенштейна-Иенсена проводили в лаборатории туберкулезной больницы.

RU 2121000 C1

RU 2121000 C1