



МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 122180

(13) U

(51) МПК

G01N 33/24 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2017 07168**

(22) Дата подання заявки: **07.07.2017**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **26.12.2017**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **26.12.2017, Бюл.№ 24**

(72) Винахідник(и):

**Рубленко Ірина Олександрівна (UA),
Скрипник Валерій Григорович (UA),
Рубленко Сергій Васильович (UA)**

(73) Власник(и):

**Рубленко Ірина Олександрівна,
прос. Олександрійський, 20, кв. 34, м. Біла
Церква, Київська обл., 09100 (UA),
Скрипник Валерій Григорович,
вул. Васильківська, 16, кв. 225, м. Київ,
03040 (UA),
Рубленко Сергій Васильович,
прос. Олександрійський, 20, кв. 34, м. Біла
Церква, Київська обл., 09100 (UA)**

(54) СПОСІБ ОЧИЩЕННЯ СПОР BACILLUS ANTHRACIS У СУСПЕНЗІЇ

(57) Реферат:

Спосіб очищення спор Bacillus anthracis у суспензії включає її приготування, витримання, центрифугування. Відбирають 3 см³ з поверхні надосадової рідини суспензії у стерильну пробірку, додають 5 см³ етилового спирту та витримують 65 хв. при кімнатній температурі, потім центрифугують при 5000 об/хв. протягом 10 хв.

UA 122180 U

Корисна модель належить до сільського господарства, зокрема до ветеринарної медицини, і може бути використана для виявлення спор збудника *Bacillus anthracis* при лабораторній діагностиці сибірки тварин, індикації збудника з біологічного матеріалу та об'єктів навколишнього середовища у бактеріологічних відділах державних лабораторій ветеринарної

медицини. За результатами цього способу можна отримати кількісні показники очищення спор *Bacillus anthracis* у суспензії.

Аналогом корисної моделі є спосіб виявлення чисельності мікроорганізмів у суспензії методом посіву на щільне поживне середовище згідно ДСТУ 7847:2015 [1], який базується на особливості приготування розведень суспензії (1:10). Із кожної проби ґрунту проводять посів не менше двох об'ємів суспензії по 0,1 см³ на поверхню живильного середовища у бактеріологічні чашки. Шпателем розтирають по всій поверхні середовища. Культивують чашки з посівами при температурі 30 °С протягом 72 год. Результати отримують шляхом підрахунку колоній на чашках, враховуючи розведення суспензії ґрунту. Недоліком даного методу є те, що він довготривалий, громіздкий, дозволяє виявити малу кількість спор, має значні затрати на поживне середовище, посіви містять велику кількість сторонньої мікрофлори. Крім цього, даний метод має похибку від 15 до 25 %.

За прототип до корисної моделі вибрано спосіб виявлення збудника *Bacillus anthracis* у ґрунті [2], у якому застосовують для приготування суспензії центрифугуванням 6 см³ БСА/ФСБ (фільтрованого 1 % бичачого сироваткового альбуміну у 0,01 моль/см³ фосфатно-сольовому буфері, рН 7,2). Недоліком даного методу є те, що він громіздкий, потребує економічних витрат на електроенергію та приготування БСА/ФСБ, потребує використання більшого об'єму розчинів. Крім цього даний спосіб дає похибку у 30 %.

В основу даної корисної моделі поставлена задача розробити спосіб очищення спор *Bac. anthracis* у суспензії.

Поставлена задача вирішується шляхом додавання 100 % етилового спирту при експозиції 65 хв. при кімнатній температурі, що забезпечує очищення спор у суспензії та скорочення часу ідентифікації збудника.

Спосіб полягає у наступному: беруть 2,5 г ґрунту і заливають розчином суспензії для екстракції (100 см³ дистильованої води, 1,22 г/см³ сахарози-тритону Х-80). Потім струшують протягом 1 хв., після чого збовтують на шейкері протягом 15 хв. при 75 об/хв. для осадження піни з поверхні суспензії. Відбирають 3 см³ рідини з поверхні надосадової рідини у стерильну пробірку, додають 5 см³ 100 % етилового спирту, витримують 65 хв. при кімнатній температурі для забезпечення осадження спор шляхом центрифугування. Зразки відцентрифугують при 5000 об/хв. протягом 10 хв. Надосадову рідину зливають та знищують. Потім проводять посів на поживне середовище.

Порівняльна оцінка результатів випробування вищезазначених способів очищення спор *Bacillus anthracis* у суспензії корисної моделі до прототипу наведені у таблиці.

Таблиця

Порівняння способів очищення спор *Bac. anthracis* у суспензії до прототипу

№п/п	Показники, що порівнюються	Прототип	Корисна модель
1.	Приготування дослідної суспензії:		
	1.1 Кількість ґрунту, г	2,5	2,5
	1.2 Розчин для отримання	розчин для екстракції	розчин для екстракції
	1.3 Кількість розчину, см ³	12	12
2.	Час струшування, хв.	1	1
3.	Час відстоювання, хв.	15 (шейкер)	15 (шейкер)
4.	Кількість суспензії для дослідження, см ³	3	3
5.	Додаткове підвищення ефективності	6 см ³ БСА/ФСБ	5 см ³ 100 % етилового спирту
6.	Час центрифугування, хв.	10	10
7.	Центрифугування, об/хв.	5100	5100
8.	Очищення проби:		
	- прогрівання на водяній бані при температурі, °С	60	-
	- час прогрівання, хв.	20	-
	- час, експозиції при кімнатній температурі, хв.	-	65

Продовження таблиці

9.	Стабільність показників по способу очищення спор <i>Bac. anthracis</i> у суспензії, %	98,2	99,9
----	---	------	------

Спосіб забезпечує виявлення та очищення спор *Bacillus anthracis* у суспензії, скорочення часу дослідження суспензії, виділення збудника та його ідентифікацію.

5 Джерела інформації:

1. ДСТУ 7847:2015. Якість ґрунту. Визначення чисельності мікроорганізмів у ґрунті методом посіву на тверде (агаризоване) живильне середовище [Текст]. - Чинний від 2016-07-01. - Київ: УкрНДНЦ, 2016. - III, 12 с - (Національний стандарт України). - Бібліогр.: с. 11.

10 2. Скрипник В.Г. Лабораторна діагностика сибірки тварин, індикація збудника з патологічного та біологічного матеріалу, сировини тваринного походження та об'єктів навколишнього середовища (Науково-методичні рекомендації для забезпечення практичної та самостійної роботи фахівців лабораторій та науково-дослідних установ ветеринарної медицини, викладачів та студентів факультетів ветеринарної медицини ВНЗ. Затверджені науково-методичною радою ДВФССУ протокол № 1 від 25.12.2014) / В.Г. Скрипник, І.О. Рубленко, Т.О. Гаркавенко та ін. - м. Київ, 2015. - 78 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

20 Спосіб очищення спор *Bacillus anthracis* у суспензії, що включає її приготування, витримання, центрифугування, який **відрізняється** тим, що відбирають 3 см³ з поверхні надосадової рідини суспензії у стерильну пробірку, додають 5 см³ етилового спирту та витримують 65 хв. при кімнатній температурі, потім центрифугують при 5000 об/хв. протягом 10 хв.

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601