

**ОПИСАНИЕ
ИЗОБРЕТЕНИЯ
К ПАТЕНТУ**

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) **ВУ** (11) **9286**

(13) **С1**

(46) **2007.06.30**

(51)⁷ **С 12Q 1/04,
С 12N 1/20//
(С 12Q 1/04,
С 12R 1:32)**

(54) **ПЛОТНАЯ ЯИЧНО-ОВОЩНАЯ ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА
С ЛИЗИНОМ И РИБОФЛАВИНОМ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ
МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА**

(21) Номер заявки: а 20040656

(22) 2004.07.12

(43) 2006.02.28

(71) Заявитель: Учреждение образования
"Гродненский государственный ме-
дицинский университет" (ВУ)

(72) Авторы: Кузнецов Олег Евгеньевич;
Гельберг Илья Самуилович (ВУ)

(73) Патентообладатель: Учреждение обра-
зования "Гродненский государствен-
ный медицинский университет" (ВУ)

(56) Яценко Т.Н. и др. Руководство по ла-
бораторным исследованиям при тубер-
кулезе.- М.: Медицина, 1973. - С. 149-
150.

RU 2059715 С1, 1996.

RU 92014100 А, 1996.

RU 2059728 С1, 1996.

RU 2215039 С2, 2003.

RU 2193061 С1, 2002.

RU 2115733 С1, 1998.

SU 575888, 1979.

(57)

Плотная яично-овощная питательная среда с лизином и рибофлавином для выращивания микобактерий туберкулеза, содержащая яйцо куриное цельное, фильтрат отвара, приготовленного из 300 г фасоли белой, 300 г картофеля, 300 г моркови и 2 л воды, солевой раствор, состоящий из калия двусосновного фосфорнокислого, магнeзии сернокислой, натрия лимоннокислого, лизина, глицерина и воды дистиллированной, рибофлавин и 2 % раствор малахитовой зелени, при следующем соотношении компонентов:

яйцо куриное цельное, шт.	10-15
фильтрат отвара, мл	300
солевой раствор, мл	300
рибофлавин, мг/200 мл среды	20
2 % раствор малахитовой зелени, мл	20,

при этом солевой раствор содержит компоненты в следующем соотношении:

калий двусосновной фосфорнокислый, г	0,13
магнeзия сернокислая, г	0,13
натрий лимоннокислый, г	0,13
лизин, г	1,91
глицерин, мл	38,3
вода дистиллированная, мл	600.

Изобретение относится к области медицины, а именно к физиатрии, и может использоваться для культивирования микобактерий туберкулеза.

ВУ 9286 С1 2007.06.30

Трудности выделения микобактерий туберкулеза (МБТ) из патологического материала связаны с биологическими особенностями возбудителя (медленность роста), а также со снижением жизнеспособности микобактерий в результате применения антибактериальных препаратов для лечения туберкулеза и различных методов обработки при посеве материала. В настоящее время существует большое количество питательных сред для культивирования микобактерий. Однако именно большое количество питательных сред, предлагаемых для выделения микобактерий туберкулеза из патологического материала, говорит о том, что среды далеко не всегда отвечают необходимым требованиям. Это и явилось поводом для создания предлагаемого изобретения.

Известна среда Гельберга для выращивания микобактерий туберкулеза, состоящая из 6 цельных яиц, 4 желтков, молока, картофельного отвара и раствора солей, содержащего калий двухосновной фосфорнокислый, натрий лимоннокислый, магнезию серноокислую, пептон и глицерин (Ященко Т.Н., Мечева И.С. Руководство по лабораторным исследованиям при туберкулезе. - М.: Медицина, 1973. - С. 150-151).

Недостатком данной среды является трудоемкость в ее производстве и высокая стоимость.

Известна среда "Новая" (Г. Мордовского), состоящая из равных объемов желтков куриных яиц и питательного раствора, в который входят калий одноосновной фосфорнокислый, натрий лимоннокислый, магний серноокислый, гликокол, глицерин (Ященко Т.Н., Мечева И.С. Руководство по лабораторным исследованиям при туберкулезе. - М.: Медицина, 1973. - С. 151).

Недостатком данной среды является высокая стоимость.

Наиболее близкой к предлагаемой является среда Левенштейна-Йенсена. Среда состоит из 1 л яичной массы, полученной из 10-15 яиц, к которой добавляют 600 мл солевого раствора и 20 мл 2 % стерильного раствора малахитовой зелени. Солевой раствор содержит калий однозамещенный фосфорнокислый - 2,4 г, магнезию серноокислую - 0,24 г, магнезия лимоннокислая - 0,6 г, L-аспарагин - 3,6 г, глицерин - 12 мл, вода дистиллированная - 600 мл (Ященко Т.И. и др. Руководство по лабораторным исследованиям при туберкулезе. - С. 149-150).

Недостатком данной среды является ее высокая стоимость.

Задача изобретения - создание более дешевой питательной среды с сохранением качества исследования микобактерий туберкулеза.

Поставленная задача решается путем создания яично-овощной плотной питательной среды с лизином и рибофлавином, содержащей яйцо куриное цельное, фильтрат отвара, приготовленного из 300 г фасоли белой, 300 г картофеля, 300 г моркови и 2 л воды, солевой раствор, состоящий из калия двухосновного фосфорнокислого, магнезии серноокислой, натрия лимоннокислого, лизина, глицерина и воды дистиллированной, рибофлавин и 2 % раствор малахитовой зелени, при следующем соотношении компонентов:

яйцо куриное цельное, шт.	10-15
фильтрат отвара, мл	300
солевой раствор, мл	300
рибофлавин, мг/200 мл среды	20
2 % раствор малахитовой зелени, мл	20.

при этом солевой раствор содержит компоненты в следующем соотношении:

калий двухосновной фосфорнокислый, г	0,13
магнезия серноокислая, г	0,13
натрий лимоннокислый, г	0,13
лизин, г	1,91
глицерин, мл	38,3
вода дистиллированная, мл	600.

BY 9286 C1 2007.06.30

При подборе ингредиентов для предлагаемой питательной яично-овощной среды с лизином и рибофлавином исходили из того, чтобы обеспечить нужное количество и качество белкового состава за счет фасоли и яиц, углеводов за счет картофеля и витаминов за счет моркови и рибофлавина.

Смесь приготавливают следующим образом. Фасоль (300 г) замачивают в 1 л дистиллированной воды (на 20 часов). Затем доводят объем воды до 2,0 литров и кипятят 20 минут на малом огне с закрытой крышкой. К кипящему отвару добавляют в измельченном виде 300 г картофеля и 300 г моркови и продолжают кипятить еще 20 минут. Горячий отвар фильтруют через стерильный марлевый фильтр в стерильный флакон. 300 мл стерильного остывшего фильтрата прибавляют к 10 гомогенизированным в стерильной колбе яйцам, приливают солевой раствор, витаминную добавку (рибофлавин) в соотношении 20 мг рибофлавина на 200 мл среды и 20 мл 2 % малахитового зеленого. Тщательно размешав полученный яично-овощно-солевой раствор, фильтруют его через стерильный марлевый фильтр в стерильный флакон. Готовую среду разливают в стерильные пробирки (4-5 мл) и сворачивают в свертывателе (трижды доводя температуру до 80 °С). Предлагаемая среда хорошо сворачивается, не отстает от стенок пробирок и по внешним свойствам (цвет) напоминает среду Левенштейна-Йенсена, что положительно сказывается на работе врача и фельдшера: не создает никаких трудностей при дифференцировке выросших колоний МБТ. Кроме того, приготовленный фильтрат отваров белой фасоли, картофеля и моркови может храниться при $t = 0-4$ °С в течение 3-х месяцев, не меняя своих свойств, как отдельно от солевого раствора, так и вместе с ним.

Были проведены сравнительные испытания в отношении роста МБТ яично-овощной среды с лизином и рибофлавином и среды Левенштейна-Йенсена. Провели 30 сравнительных посевов чистой культуры *M. Tuberculosis* на среду яично-овощную среду с лизином и рибофлавином и на среду Левенштейна-Йенсена. Было установлено, что чистая культура МБТ растет на яично-овощной среде с лизином и рибофлавином так же хорошо, как и на среде Левенштейна-Йенсена (70 % роста на 7-ой день, 100 % роста на 8-9-ый день инкубации). Цвет и форма колоний МБТ на обеих средах идентичны друг другу. Массивность роста оценивалась по 3-х бальной системе (в плюсах) и отражена в таблице.

Среда	7 день инкубации	8 день инкубации
Яично-овощная питательная среда с лизином и рибофлавином	+, ++	++, +++
Левенштейна-Йенсена	+, ++	++, +++

До 20 колоний МБТ на поверхности среды +, выраженный рост ++, сплошной рост по поверхности среды +++.

Было произведено 53 сравнительных посева мокроты от пациентов, страдающих туберкулезом (бактериовыделителей), и установлено следующее:

скорость первичного роста МБТ на испытуемой яично-овощной среде с лизином и рибофлавином значительно опережала скорость первичного роста МБТ на среде Левенштейна-Йенсена ($25,3 \pm 0,33$ сутки и $33,86 \pm 0,87$ сутки соответственно).

Таким образом, предлагаемая плотная яично-овощная питательная среда с лизином и рибофлавином обеспечивает культивирование МБТ значительно лучше среды Левенштейна-Йенсена, и при этом стоимость яично-овощной питательной среды с лизином и рибофлавином в 2,0-2,5 раза ниже стоимости среды Левенштейна-Йенсена.