



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 139 344** ⁽¹³⁾ **C1**

(51) МПК⁶ **C 12 N 1/20, C 12 Q 1/10//A 61
K 39/112, C 12 Q 1/04, (C 12 N
1/20, C 12 R 1:42)**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21), (22) Заявка: 97122257/13, 23.12.1997

(24) Дата начала действия патента: 23.12.1997

(46) Дата публикации: 10.10.1999

(56) Ссылки: SU 1708834 A, 30.01.92. US 5194374 A, 16.03.93.

(98) Адрес для переписки:
690087, Владивосток, ул.Сельская 1, НИИЭМ
СО РАМН, Бузولةвой Л.С.

(71) Заявитель:

Научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии СО РАМН

(72) Изобретатель: Бузولةва Л.С.,
Сомов Г.П.

(73) Патентообладатель:

Научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии СО РАМН

(54) СПОСОБ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ САЛЬМОНЕЛЛ

(57) Реферат:

Изобретение относится к микробиологии.
Питательная среда содержит бентонитовую
глину и фосфатный буфер с рН 7,4.
Благодаря наличию активных центров на

поверхности бентонитов происходит
адсорбция органических веществ,
легкоусвояемых бактериями. Применение
среды позволит повысить выход
бактериальной массы. 1 табл.

RU 2 1 3 9 3 4 4 C 1

RU 2 1 3 9 3 4 4 C 1



(19) **RU**⁽¹¹⁾ **2 139 344**⁽¹³⁾ **C1**

(51) Int. Cl.⁶ **C 12 N 1/20, C 12 Q 1/10//A**
61 K 39/112, C 12 Q 1/04, (C 12 N
1/20, C 12 R 1:42)

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 97122257/13, 23.12.1997

(24) Effective date for property rights: 23.12.1997

(46) Date of publication: 10.10.1999

(98) Mail address:
690087, Vladivostok, ul.Sel'skaja 1, NIIeHM
SO RAMN, Buzolevoj L.S.

(71) Applicant:
Nauchno-issledovatel'skij institut
ehpidemiologii i mikrobiologii SO RAMN

(72) Inventor: Buzoleva L.S.,
Somov G.P.

(73) Proprietor:
Nauchno-issledovatel'skij institut
ehpidemiologii i mikrobiologii SO RAMN

(54) **METHOD OF PREPARING NUTRIENT MEDIUM FOR SALMONELLA CULTURING**

(57) Abstract:
FIELD: microbiology. SUBSTANCE: nutrient
medium has bentonite clay and phosphate
buffer at pH 7.4. An adsorption of organic
substances that are easily assimilated by

bacteria occurs owing to the presence of
active centers on bentonites surface.
EFFECT: increased yield of bacterial mass. 1
tbl, 3 ex

RU 2 139 344 C 1

RU 2 139 344 C 1

Изобретение относится к микробиологии, в частности к способам приготовления питательных сред для культивирования сальмонелл.

Известен способ приготовления питательной среды для культивирования сальмонелл (Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. М., 1978, С.362). Среда обогащения "М" (магниевая среда с малахитовым зеленым в прописи Г.П.Калины и В.Л.Шигановой). При этом поэтапно готовят три раствора:

Раствор А:

Пептон отечественный (семипалатинский) - 0,42 г

Хлорид Na - 0,7 г

Фосфат К - 0,15 г

Дрожжевой диализат - 0,9 мл

Дистиллированная вода - 89 мл

Раствор Б:

Хлорид Mg - 0,36 г

Дистиллированная вода - 9 мл

Раствор В:

Бриллиантовый зеленый (водный р-р 0,5%) - 0,09 мл

Затем эти растворы смешивают и стерилизуют при $t=100^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин.

Недостатком данного способа приготовления питательной среды является ее многокомпонентность, сложность приготовления и использование в качестве питательной основы ценных пищевых продуктов (пептон, дрожжи).

Наиболее близким к заявляемому решению является способ приготовления питательной среды для культивирования энтеробактерий (SU а.с. N 1708834, МПК С 12 1/20, 1990). При этом берут следующие компоненты:

Фосфорнокислый двузамещенный Na, г - 8,2 - 8,7

Фосфорнокислый однозамещенный K, г - 2,2 - 2,7

Гуминовая кислота, г - 0,01- 0,04

разводят в 100 мл дистиллированной воды, затем доводят объем до 1000 мл и стерилизуют в автоклаве при 0,5 атм в течение 30 минут.

В качестве питательной основы здесь используют непищевое сырье - гуминовую кислоту. Однако получение гуминовой кислоты требует больших технических затрат, поэтому данный способ дорогостоящий, а ростовые свойства в отношении сальмонелл недостаточно высокие.

Задача, решаемая изобретением - получение недорогой питательной среды из непищевого сырья с повышенными ростовыми свойствами в отношении сальмонелл.

Поставленная задача решается следующим образом: при приготовлении питательной среды бентонитовую глину смешивают с фосфатным буфером, имеющим рН 7,4, настаивают раствор 3-5 часов, затем фильтруют его и дистиллированной водой доводят до 1 л. Стерилизуют текучим паром дважды (100°C 30 мин). При этом для приготовления 1 л питательной среды исходные компоненты берут в следующем соотношении, г/л:

Na фосфорнокислый двузамещенный - 8,2 - 8,7

K фосфорнокислый однозамещенный - 2,2 - 2,7

Бентонитовая глина - 100 - 150

Дистиллированная вода - До 1 л

Питательная среда слегка опалесцирует, не имеет специфического запаха, рН среды 7,4. В полученную питательную среду дозированно вносят суспензию бактерий с целью накопления биомассы. Заражающая доза 1000 микробных клеток в 1 мл среды. Пробирки с инокулированной питательной средой инкубируют в термостате при 37°C . Затем, для определения прироста бактериальной массы, производят серийные высевы бактерий на чашки Петри с дифференциально-диагностическими средами (Плоскирева, висмут-сульфитный агар) с учетом необходимых разведений.

Испытания среды проведены со штаммом *Salmonella enteritidis* и *Salmonella typhimurium*.

Результаты роста сальмонелл на различных питательных средах приведены в таблице. Из приведенных данных видно, что прирост сальмонелл в заявляемой питательной среде, содержащей Na фосфорнокислого двузамещенного 8,2 - 8,7 г, K фосфорнокислого однозамещенного 2,2 - 2,7 г, бентонитовую глину 100 - 150 г на 40-50% выше по сравнению с прототипом. Процесс приготовления питательной среды прост, не требует специального оборудования и реактивов. Применение предлагаемой среды для культивирования сальмонелл в микробиологической промышленности и микробиологических исследованиях позволяет снизить себестоимость целевого продукта и повысить выход бактериальной массы.

Бентонитовые глины относятся к минералам группы монтмориллонита, которые характеризуются как присутствием в их составе большого разнообразия химических элементов: Si, Al, Mg, Ca, Na, K, Fe, P и в меньших количествах: Ba, Cu, B, Mn, Ag, Sr и т.д., так и являясь хорошим природным адсорбентом, значительно обогащены органическими веществами. В медицинской микробиологии благодаря их адсорбционным свойствам их используют в качестве коагулянтов бактерий (SU, а.с. N 1585335, НИ С 12 1/04, "Способ выделения иерсиний").

В предлагаемом изобретении бентонитовые глины применяют в качестве основы для питательных сред, т.к. благодаря наличию большого количества активных центров на поверхности минерала природные бентониты способны адсорбировать простые органические вещества (аминокислоты, липиды, углеводы) легкоусвояемые бактериями в отличие от гуминовых кислот, представляющих собой непостоянного состава смесь простых и сложных органических веществ, не всегда доступных для питания бактерий.

Сущность изобретения поясняется примерами.

Пример 1.

Для приготовления 1 л питательной среды 125 г измельченной бентонитовой глины заливают до 1 л фосфатно-буферным раствором, содержащим г/л: Na фосфорнокислый двузамещенный - 8,5, K фосфорнокислый однозамещенный - 2,5, настаивают 4 часа. Полученный настой фильтруют, доводят до 1 л дистиллированной водой. Стерилизуют текучим паром дважды

(100°C в течение 30 минут).

Полученная питательная среда слегка опалесцирует, не имеет специфического запаха, рН среды 7,4.

За сутки культивирования количество *S. enteritidis* составило 480±48, *S. typhimurium* - 364±28.

Пример 2.

Питательную среду готовят аналогично примеру 1. Состав питательной среды: г/л Na фосфорнокислый двузамещенный - 8,2; K фосфорнокислый однозамещенный - 2,2; бентонитовая глина - 100; дистиллированная вода - до 1 л. Бентонитовую глину настаивают 3 часа. Полученная питательная среда слегка опалесцирует, не имеет специфического запаха, рН среды 7,4. За сутки культивирования количество *S. enteritidis* составило 565±34, *S. typhimurium* - 512±30.

Пример 3.

Питательную среду готовят аналогично примеру 1. Состав питательной среды: г/л Na фосфорнокислый двузамещенный - 8,7; K фосфорнокислый однозамещенный - 2,7; бентонитовая глина - 150, дистиллированная вода - до 1 л. Бентонитовую глину настаивают

5 часов. Питательная среда слегка опалесцирует, не имеет специфического запаха, рН среды 7,4. Испытание среды аналогично примеру 1. За сутки культивирования количество *S. enteritidis* составило 572±16, *S. typhimurium* - 515±25.

Формула изобретения:

Способ приготовления питательной среды для культивирования сальмонелл, включающий смешивание компонентов среды и ее стерилизацию, отличающийся тем, что приготовление питательной среды ведут путем смешивания бентонитовой глины с фосфатным буфером, имеющим рН 7,4, настаиванием в течение 3 - 5 ч с последующим фильтрованием, при этом для приготовления 1 л питательной среды исходные компоненты берут в следующем соотношении, г/л:

Натрий фосфорнокислый двузамещенный - 8,2 - 8,7

Калий фосфорнокислый однозамещенный - 2,2 - 2,7

Бентонитовая глина - 100 - 150

Дистиллированная вода - До 1 л

RU 2139344 C1

RU 2139344 C1

Таблица,

Вариант	питательная среда, г/л			кол-во бактерий в 1 мл среды через 24 часа $\times 10^6$	
	бентонит	натрий- фосфор- ноксид- ЛЫЙ двуза- мещен- ный	калий- фосфор- ноксид- ЛЫЙ одноза- мещен- ный	Salmonella enteritidis	Salmonella typhimurium
1.	125	8,5	2,5	480 ± 48	364 ± 28
2.	100	8,2	2,2	565 ± 34	512 ± 30
3.	150	8,7	2,7	572 ± 16	515 ± 25
4.	125	8,2	2,5	292 ± 24	200 ± 42
5.	125	8,7	2,2	316 ± 40	298 ± 15
6.	125	8,7	2,7	126 ± 18	158 ± 26
7.	Магниева среда			235 ± 29	
8.	Гуминовая среда			226 ± 21	

RU 2139344 C1

RU 2139344 C1