



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **142660** (13) **U**
(51) МПК (2020.01)
G01N 33/00
G01N 33/53 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2019 10919	(72) Винахідник(и): Зажарська Надія Миколаївна (UA), Боровик Ірина Володимирівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 05.11.2019	(73) Власник(и): ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО- ЕКОНОМІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Сергія Єфремова, 25, м. Дніпро, 49600 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.06.2020	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.06.2020, Бюл.№ 12	

(54) МЕТОД ВИЯВЛЕННЯ LISTERIA SPP

(57) Реферат:

Метод виявлення *Listeria spp.* Збільшення наважки та зменшення розчинника у вихідній суспензії, використання додаткового первинного збагачення на середовищі триптичний бульйон з екстрактом дріжджового бродіння сої (ТБЕДБС) з серцево-мозковим бульйоном 1:1 та антибіотиками цефалексим, фосфоміцин по 0,1 г, інкубують за 22-25 °С, висів на середовище кров'яний агар з телуритом калію дозволяє виявити навіть ослабленого збудника *Listeria spp.*

UA 142660 U

Корисна модель стосується методу виявлення *Listeria. spp* з біологічного матеріалу, харчових продуктів, продовольчої сировини та кормів тощо.

Галузь застосування: ветеринарія, біологія та медицина.

Завдяки високій летальності, лістеріоз є однією з найчастіших причин смерті через хвороби, пов'язані з харчовими продуктами, посідаючи друге - місце після сальмонельозу. Лістеріоз, як правило, виникає в результаті споживання контамінованих продуктів, у тому числі м'ясних і молочних [3]. Згідно з чинними нормативними документами [1, 2] виявлення харчового патогену *Listeria* проводиться класичним методом та триває 5 діб за негативного результату. У випадку позитивного результату дослідження триває 8 діб.

Стислий опис класичного методу: Готують вихідну суспензію - наважка зразка до розчинника (1:9):25 г проби + 225 см³ половинного бульйону Фрезера → термостатують 30±ГС 24 год. Переносять 0,1 см³ суспензії у 10 см³ бульйону Фрезера → термостатують 37±1 °С 48 год. Отриману культуру пересівають на АЛОА (Аgar *Listeria* по Оттавіані та Агості) та Оксфорд або Палкам → термостатують 37±1 °С 24 год., за відсутності характерного росту - ще 24 год.

На жаль, для збільшення терміну реалізації продукції, недоброчесні виробники оброблюють м'ясо та м'ясопродукти дезінфікуючими засобами, пробіотиками, молочними та оцтовими кислотами тощо. Ці речовини пригнічують ріст патогенів, що ускладнює виділення *Listeria spp.* Саме тому у корисній моделі пропонується збільшити концентрацію досліджуваного зразка у вихідній суспензії - з 1:9 (у класичному методі) до (1:2). Більш того, задля виявлення і накопичення пригнічених мікроорганізмів рекомендується два первинних збагачення вихідної суспензії.

Опис методу, що пропонується (фіг. 1): до 50 г подрібненої наважки додають 100 см³ розчинника. Збільшення маси наважки та зменшення об'єму розчинника проводять з метою збільшення концентрації збудника *Listeria*.

Крім розчинника - половинного бульйону Фрезера використовують другий розчинник - триптичний бульйон з екстрактом дріжджового бродіння сої (ТБЕДБ) та серцево-мозковий бульйон з антибіотиками цефалексим та фосфоміцин (для пригнічення росту *Enterococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas spp.*, *Serratia spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus-pneumoniae*, *Corynebacterium diphtheriae*; *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*).

Потім інкубують 24 години за температурного режиму 22-25 °С, що є максимально сприятливий для збудника. Саме за цієї температури збудник рухливий.

Після первинного збагачення на половинному бульйоні Фрезера проводять дослідження на автоматичному імуноферментному аналізатору VIDAS [4]. За 70 хв прилад дозволяє провести дослідження 24 зразків (фіг. 2).

Такий спосіб виділення *Listeria* скорочує дослідження до однієї доби (у разі негативного результату) замість 5 діб (у класичному методі). Скорочення терміну дослідження дуже важливо для переробних підприємств під час очкування на сертифікат відповідності продукції.

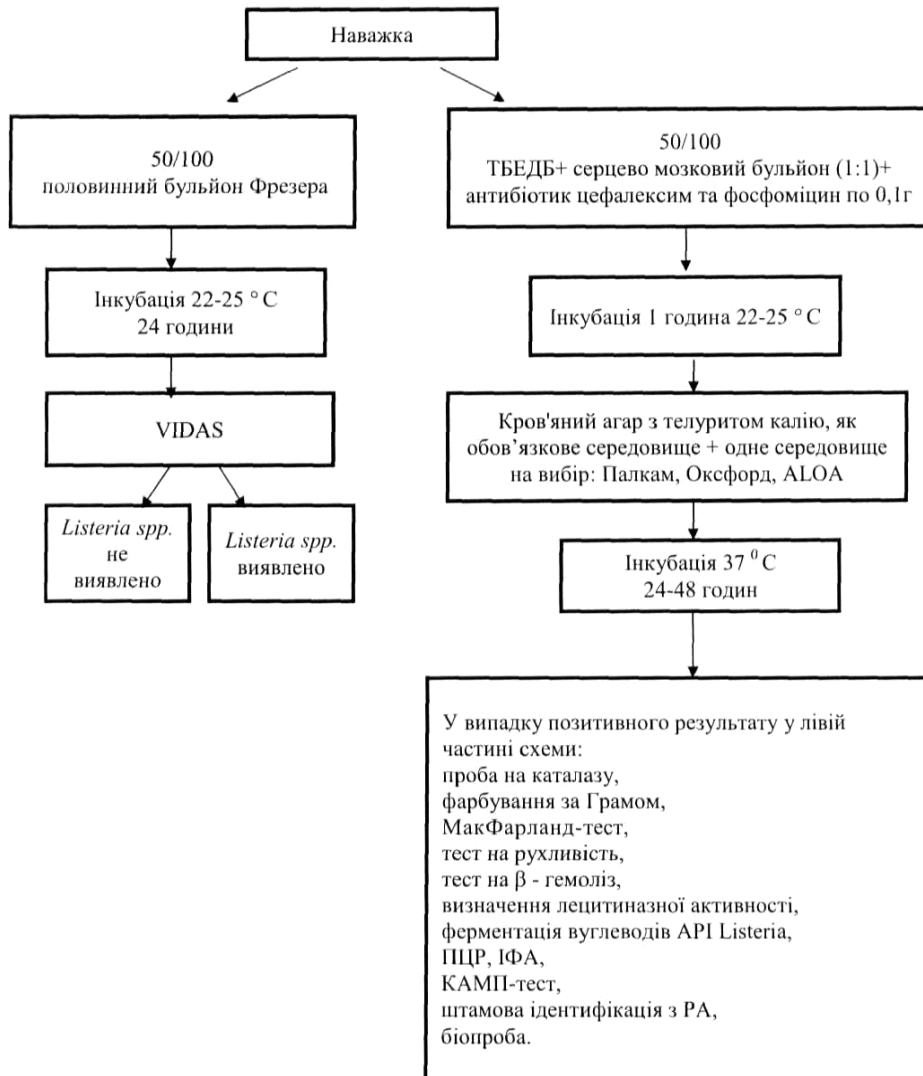
У разі позитивного результату на автоматичному імуноферментному аналізаторі VIDAS проводиться подальша диференціація *Listeria* за видами.

Джерела інформації:

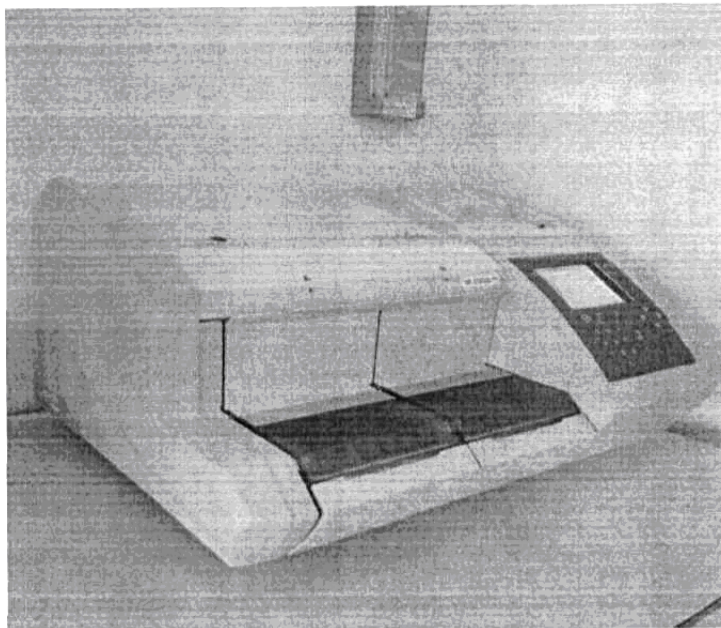
1. ISO 11290-1:2017 Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria spp.* - Part 1: Detection method
2. ДСТУ ISO 11290-1:2003 Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення та підрахування *Listeria monocytogenes*. Частина 1. Метод виявлення
3. Why some *Listeria* strains survive good food hygiene standards. The perils of detecting pathogenic bacteria food. (2018) Journal NEW FOOD. 24-26.
4. Методичні рекомендації щодо методів детекції бактерій роду *Salmonella*, *Listeria* (*L.monocytogenes*) із харчових продуктів, продовольчої сировини та кормів для тварин з використанням автоматичних аналізаторів VIDAS. [Т.О. Гаркавенко, В.О. Загребельний, А.О. Меженський, Н.Я. Мех, І.В. Семенчукова, А.Б. Слободянюк]. - К., ДНДІЛДВСЕ, 2011. - 34 с.

55 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Метод виявлення *Listeria spp*, який **відрізняється** тим, що збільшують концентрацію досліджуваного зразка у вихідній суспензії, використовують два первинних збагачення вихідної суспензії, інкубують за 22-25 °С, застосовують автоматичний імуноферментний аналізатор VIDAS.



Фіг. 1



Фіг. 2

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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