



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(51) МПК
C12Q 1/04 (2006.01)
C12M 1/34 (2006.01)
G01N 15/02 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2009120352/10, 28.05.2009

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
28.05.2009

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 28.05.2009

(45) Опубликовано: 10.01.2011 Бюл. № 1

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2258921 C2, 20.08.2005. RU 2165081 C2,
10.04.2001. RU 2132070 C1, 20.06.1999.

Адрес для переписки:

194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 3,
кв.75, В.В. Степанову

(72) Автор(ы):

Воробейчиков Владимир Михайлович (RU),
Степанов Валерий Викторович (RU),
Воробейчиков Евгений Владимирович (RU),
Волков Михаил Юрьевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

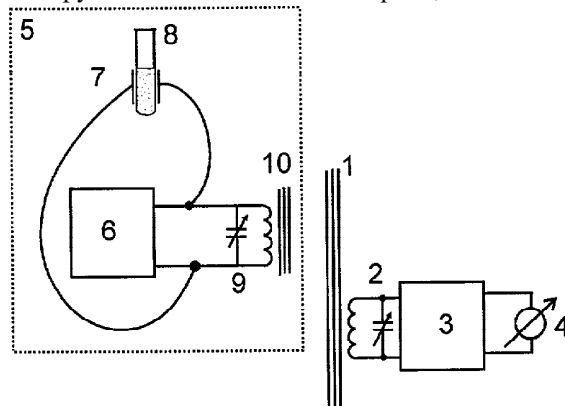
Воробейчиков Владимир Михайлович (RU),
Степанов Валерий Викторович (RU)

(54) СПОСОБ И УСТРОЙСТВО ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области микробиологии, биохимии и иммунологии и может быть использовано для выявления патогенных микроорганизмов при их низкой концентрации в объектах окружающей среды. Способ включает взятие исследуемой пробы, разбавления ее водой. Далее пробу помещают в устройство с индикатором, стрелку которого устанавливают на максимальное значение. Затем в пробу добавляют соответствующие антитела и наличие в пробе искомым микроорганизмов (антигенов) определяют по резкому уменьшению показаний индикатора от установленного максимального значения до минимального значения. Устройство для осуществления способа состоит из индикатора 4, соединенного с выходом заключенного в металлический, изолированный от проникновения радиоволн корпус средневолнового приемника 2, выполненного по супергетеродинной схеме, по крайней мере, с одним гетеродином, в качестве

источника принимаемых сигналов в устройство включен измерительный гетеродин 5, расположенный вблизи приемной антенны, в колебательный контур которого параллельно переменному конденсатору включены токопроводящие изогнутые по размеру пробирки 8 обкладки 7. Изобретение повышает чувствительность и сокращает время обнаружения изменений. 2 н.п. ф-лы, 2 ил.



Фиг. 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.
C12Q 1/04 (2006.01)
C12M 1/34 (2006.01)
G01N 15/02 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2009120352/10, 28.05.2009**

(24) Effective date for property rights:
28.05.2009

Priority:

(22) Date of filing: **28.05.2009**

(45) Date of publication: **10.01.2011 Bull. 1**

Mail address:

**194021, Sankt-Peterburg, ul. Khlopina, 3, kv.75,
V.V. Stepanovu**

(72) Inventor(s):

**Vorobejchikov Vladimir Mikhajlovich (RU),
Stepanov Valerij Viktorovich (RU),
Vorobejchikov Evgenij Vladimirovich (RU),
Volkov Mikhail Jur'evich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Vorobejchikov Vladimir Mikhajlovich (RU),
Stepanov Valerij Viktorovich (RU)**

(54) METHOD OF AND DEVICE TO DETECT PATHOGENIC MICROORGANISMS

(57) Abstract:

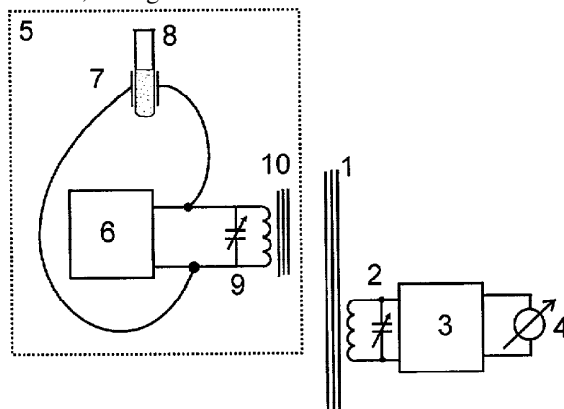
FIELD: medicine.

SUBSTANCE: method includes taking researched sample and its dissolution with water. Then sample is placed into device with indicator, arrow of which is set for maximum value. Then appropriate antibodies are added to sample, and availability of sought for microorganisms (antigens) is detected by rapid reduction of indicator readings from set maximum value to minimum value. Device to realise the method comprises indicator 4, connected with output of medium wave receiver 2, enclosed into metal casing insulated from penetration of rapid waves 2, and receiver is arranged according to superheterodyne circuit, at least with one heterodyne, device includes metering heterodyne 5 as source of received signals arranged near receiving antenna, oscillating circuit of which includes current-conducting plates 7

parallel to alternating capacitor and bent according to size of test tube 8.

EFFECT: invention increases sensitivity and reduces time required to detect changes.

2 cl, 2 dwg



Фиг. 1

RU 2 408 734 C1

RU 2 408 734 C1

Изобретение относится к области исследования или анализа материалов путем определения их физических свойств, а более конкретно - к выполнению микробиологических, биохимических и иммунных реакций с помощью регистрации изменения диэлектрической проницаемости, и может быть использовано для

выявления патогенных микроорганизмов при их низкой концентрации в воде, продуктах питания, проб земли и т.п.

Известно, что трудности выявления патогенных микроорганизмов в объектах внешней среды (почва, вода, пищевые продукты и т.д.) зачастую обусловлены как их

низкой концентрацией в пробах, так и сложностью выполнения анализа.

Применение лабораторных способов выявления требует длительных манипуляций по выращиванию и выделению чистой культуры. Основным способом выполнению микробиологических, биохимических и иммунных реакций является использование бактериологического посева (выделение культуры и дальнейшего микробиологического исследования), при котором биоматериал, возможно содержащий патогенные микроорганизмы, помещают в благоприятную для размножения этих организмов среду при определенных температурных параметрах. После этого проводится оценка результатов и определения чувствительности к антибактериальным препаратам.

Способ реализован, например, в известном микробиологическом анализаторе ВАХ Q7, продолжительность определения патогенов в котором составляет следующие величины [1].

Искомый патоген	Общие времязатраты до получения результатов
Salmonella	24-33 часа
E.coli O157:H7	18-28 часов
E.coli O157.H7 MP	11-28 часов
Listeria monocytogenes	34,5-64,5 часа
Genus Listeria	26,5-34,5 часа
8-Hour Listeria	8 часов
Enterobacter sakazakii	28 часов
Campilobacter jejuni/coli	28 часов
Staphylococcus aureus	22-24 часа
Плесень и дрожжи	48 часов

Известно также применение способа экспресс-анализа патогенных микроорганизмов DuPont Lateral Flow System (LFS) для Esherichia coli. Использование специальной среды DuPont LFS E.coli O157 уменьшает время обогащения до 8 часов для образцов из говядины (время обогащения может быть продлено до 18 часов) [2].

Известно также применение аппаратных методов экспресс-анализа, например с использованием хемилюминесценции - способа обнаружения антигена в пробе с использованием хемилюминесцентного соединения и способ измерения концентрации и/или относительного содержания специфического антигена в пробе [3]. Способ предусматривает смешивание лигандного антигена, антитела или гаптена, связанных с биотином или его функциональным производным. Антитело, направленное против детектируемого антигена, связанное с парамагнитными частицами, и хемилюминесцентное акридиновое соединение, связанное с авидином, стрептавидином или его функциональным производным, с пробой для образования твердофазного связанного комплекса, проводят магнитное отделение твердой фазы от жидкой фазы, иницирование хемилюминесцентной реакции и анализ отделенной твердой фазы на присутствие хемилюминесцентного комплекса, причем присутствие

хемилюминесценции является указанием на присутствие упомянутого антигена в пробе.

Известны способы определения физических свойств жидкостей, основанные на измерении электрофизических параметров (диэлектрической проницаемости и/или тангенса угла диэлектрических потерь) жидкостей с применением радиоволновых ВЧ- и СВЧ-резонаторов, содержащих контролируемую жидкость [4-6]. Их недостатком является достаточно низкая чувствительность из-за необходимости выполнения расчетов, вносящих погрешность в косвенное определение тангенса угла диэлектрических потерь.

Заявителям известен способ измерения концентрации смеси веществ [7], основанный на использовании отличия электрофизических параметров жидкостей, образующих смесь с помощью отрезка длинной линии с оконечной нагрузкой в виде контактирующего с контролируемой смесью чувствительного элемента, включенного в частотозадающую цепь автогенератора, соединенного с частотомером.

Известен способ индикации микроорганизмов [8] для выявления патогенных микроорганизмов, взятый за прототип, который включает селективное концентрирование патогенных микроорганизмов на магноиммосорбентах с последующей детекцией реакции антиген-антитело. Недостатком способа является сложность осуществления процесса.

Наиболее близким устройством, взятым за прототип, является фарадметр (патент RU 2258921), содержащий кольцевой емкостный датчик из, по меньшей мере, четыре зондирующих электродов, расположенных по окружности трубопровода [9]. Устройство и способ применяются в трубопроводах. Для каждого кольцевого емкостного датчика выбирают набор измерительных конденсаторов. Измеряют емкость каждого измерительного конденсатора, каждого кольцевого емкостного датчика.

Недостатком способа является необходимость вычисления значений емкостей и их корреляции, что снижает чувствительность. Известное из патента RU 2258921 техническое решение не дает возможности определения в жидкости наличия определенных микробиологических объектов, например бактерий - возбудителей опасных болезней.

Предлагаемое изобретение дает возможность устранить указанные выше недостатки и позволяет получить сведения о наличии в растворах патогенных микроорганизмов при их низкой концентрации.

Основу настоящего изобретения составляет обстоятельство, определенное авторами, что эффективность определения наличия процессов в растворах в значительной степени определяется точностью фиксации момента изменения электрической емкости жидкости, связанной с изменением диэлектрической проницаемости жидкости.

Технической задачей, на решение которой направлено заявленное изобретение, является разработка способа быстрого и экономичного определения патогенов в жидкости, а также создание простого по конструкции и управлению, компактного по габаритам устройства для реализации разработанного способа, обеспечивающего к тому же снижение энергоемкости процесса.

В этом же заключается и технический результат, для достижения которого предназначено данное изобретение.

Указанный результат достигается путем использования эффекта срыва генерации в супергетеродине при изменении емкости в измерительном гетеродине и

осуществляется путем включения в состав известного фарадометра супергетеродинного приемника и связанного с его входным контуром слабой индуктивной связью измерительного гетеродина, в обкладки конденсатора колебательного контура которого устанавливается пробирка с пробами.

Заявители обнаружили, как можно достичь значительного увеличения чувствительности фарадометра по сравнению с известными по прототипу.

Сущность работы предлагаемого способа иллюстрируется чертежами, приведенными на фиг.1 и 2 соответственно. На фиг.1 приведена схема предлагаемого устройства, на котором изображены: 1 - антенна, 2 - супергетеродинный средневолновый радиоприемник, 3 - переменный конденсатор супергетеродинного радиоприемника, 4 - индикатор (микроамперметр), 5 - измерительный гетеродин, 6 - гетеродин, 7 - обкладки конденсатора, 8 - пробирка с пробой, 9 - переменная емкость измерительного гетеродина, 10 - антенна измерительного гетеродина.

В основе работы устройства лежит известное свойство супергетеродинного приемника, заключающегося в том, что при его настройке на несущую частоту сигнала, шумы на его выходе исчезают, и на выходе формируется сигнал огибающей, величина которого может быть измерена [10]. В отсутствие несущей в приемнике формируется шум, который детектируется и на индикаторе дает практически нулевое значение сигнала. Когда появляется несущая, шум пропадает.

На фиг.2 приведена диаграмма работы супергетеродина [11].

Если на входе супергетеродина 11 сигнал отсутствует, то собственные шумы детектора и шумы радиоэфира вызывают в нем нарастание свободных колебаний, которые начинаются возле точки 13, и супергетеродин перестает усиливать сигнал, поддерживая автоколебания. Супергетеродинный приемник переходит в состояние свободных колебаний, которое продолжается до тех пор, пока генератор гашения не срывает режим автогенерации (точка 15).

Если радиосигнал приложен ко входу супергетеродина, динамика затененной области меняется. Нарастание колебаний теперь начинается раньше - в точке 12. Это увеличивает время нарастания t , на которое автоколебания начинаются раньше в присутствии сигнала на входе, и это время будет называться временем опережения. Чем больше амплитуда входного сигнала, тем больше будет время опережения. В свою очередь, увеличение времени опережения приводит к увеличению периода усиления (от точки 12 до точки 13). Слабые источники шума требуют больше времени для возникновения собственных автоколебаний, чем более сильные источники сигнала. Следовательно, задавая ограниченное время между интервалами гашения, входные радиосигналы можно усилить значительно сильнее, чем собственные шумы схемы. Время опережения определяет чувствительность сверхрегенеративного детектора и зависит от величины приложенного к входу сигнала, а также от частоты и формы напряжения гашения.

Область (автоколебания) от точки 13 до точки 15 составляет значительно большую часть времени работы сверхрегенератора, при этом абсолютно не участвуя в усилении сигнала. Интервал времени без регенерации (от точки 15 до точки 16) является периодом, когда генератор гашения полностью останавливает автоколебания схемы.

Выходной сигнал сверхрегенеративного детектора определяется заштрихованной зоной (от точки 12 до точки 14). При отсутствии входного сигнала шумы инициируют нарастающие автоколебания случайным образом, поэтому время опережения (заштрихованная область) и выходное напряжение сверхрегенератора также будут носить шумовой характер. Этот шум очень заметен при отсутствии сигнала и

практически полностью пропадает при входном сигнале.

Сверхрегенеративный каскад позволяет входному сигналу усиливаться снова и снова до достижения точки возникновения собственных колебаний, при этом достигается коэффициент усиления одиночного каскада около 1000000 (120 дБ).

Способ с используемым устройством работает следующим образом.

В чистую стерильную пробирку 8 помещается проба с объектов среды, растворенная в 2-3 мл воды. Затем пробирка помещается в обкладки конденсатора 7 и настраивают гетеродинную приставку плавным поворотом ручки настройки конденсатора 9 так, чтобы стрелка индикатора 4 показывала максимальное значение.

Затем в раствор добавляют около 1 мл раствора, содержащего тот или иной вид антитела. Если в пробирке имеется антиген, соответствующий добавленному антителу, то через несколько секунд стрелка индикатора 4 резко уйдет на показание минимального значения. Данная ситуация показывает наличие определяемого микроорганизма. Если в пробирке не содержится антигена, соответствующего добавленному антителу, то изменений в показаниях индикатора не произойдет.

Источники информации

1. Supplement 2 to MFLP-30 November 2006. Health products and food branch. Ottawa.

Supplement 2 to method MFLP-30. The use of the BAX E. COLI O157:H7 MP ASSAY.

2. Laboratory Procedure MFLP-19 March 2006. Health products and food branch. Ottawa. The DuPont™ Lateral Flow System™ method for detecting E.coli O157 in raw ground and raw boneless beef.

3. Нильс Йохансен, Ханс-Генрик Ипсен. Способ обнаружения антитела в пробе с использованием хемилюминесцентного соединения и способ измерения концентрации и/или относительного содержания специфического антитела в пробе. Патент РФ №2132070 // Бюллетень Изобретения. Полезные модели от 20.06.1999.

4. Брандт А.А. Исследование диэлектриков на сверхвысоких частотах. М.: Физматгиз, 1963, с.37-144.

5. Викторов В.А., Лункин Б.В., Совлуков А.С. Радиоволновые измерения параметров технологических процессов. М.: Наука, 1989, с.168-177.

6. Викторов В.А., Лункин Б.В., Совлуков А.С. Высокочастотный метод измерения неэлектрических величин. М.: Наука. 1989. С.42-43, 87-88.

7. Гагарин М.А., Бакулин В.П., Жиров М.В., Совлуков А.С, Фатеев В.Я., Кононов А.С., Жиров В.М. Устройство для измерения концентрации смеси веществ. Патент РФ на изобретение №2246118 // Бюл. Изобретения. Полезные модели от 20.05.2004.

8. Ефременко В.И., Тюменцева И.С., Жилченко Е.Б., Маркова Т.В., Соколова И.А., Касторная М.Н., Абгарян А.Г., Урусбамбетов З.Г-Х, Мезенцева О.Н., Еременко Е.И., Брюханов А.Ф., Афанасьев Е.Н., Сон Д.Д. Способ индикации микроорганизмов. Патент РФ №2165081 // Бюллетень Изобретения. Полезные модели от 10.04.2001.

9. Хаас М.К., Ван дер Спек А.М. Фарадметр. Патент РФ на изобретение №2258921 // Бюллетень Изобретения. Полезные модели от 20.04.2004.

10. Титорский О.Г. Простейшие любительские передатчики и приемники УКВ. 1952. 56 с.

11. Carles Kitchin. New Super regenerative Circuits for Amateur VHF and UHF Experimentation // QEX September / October 2000, p.18-32.

Формула изобретения

1. Способ обнаружения патогенных микроорганизмов в объектах внешней среды, включающий взятие пробы объектов среды, добавление в нее воды и антитела и

детекцию патогенного микроорганизма по результатам реакции антиген-антитело, отличающийся тем, что перед добавлением антитела пробу помещают в устройство для обнаружения патогенных микроорганизмов, устанавливают стрелку индикатора на максимальное значение, затем добавляют антитело и наличие в пробе антигена, соответствующего добавляемому антителу, определяют по резкому уменьшению показаний индикатора устройства от установленного максимального значения до минимального значения.

2. Устройство для обнаружения патогенных микроорганизмов, состоящее из индикатора, соединенного с выходом заключенного в металлический, изолированный от проникновения радиоволн корпус средневолнового приемника, выполненного по супергетеродинной схеме, по крайней мере, с одним гетеродином, отличающееся тем, что оно включает в качестве источника принимаемых сигналов измерительный гетеродин, расположенный вблизи приемной антенны, в колебательный контур которого параллельно переменному конденсатору включены токопроводящие изогнутые по размеру пробирки обкладки.

20

25

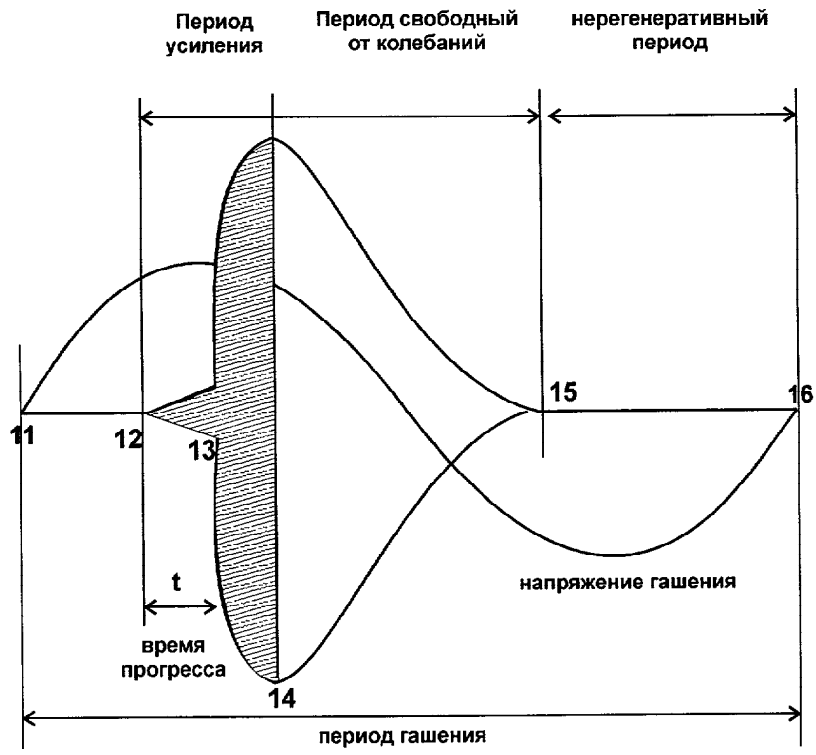
30

35

40

45

50



ФИГ.2