

**(19) A (11) 65968 (13) UA**

(98) вул. Шевченка, 23, м.Полтава, 36024

(85) null

(74) null

(45) [2004-04-15]

(43) null

(24) 2004-04-15

(22) 2003-07-08

(12) null

(21) 2003076352

(46) 2004-04-15

(86)

(30)

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ КЛІНІЧНИХ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ ДО ДЕЗИНФІКУЮЧИХ ЗАСОБІВ СПОСОБ  
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ К ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИМ СРЕДСТВАМ МЕТОД  
FOR ASSESSING SENSITIVITY OF CLINICAL BACTERIAL ISOLATES TO DISINFECTANTS

(56)

(71)

(72) UA Лобань Галина Андріївна UA Лобань Галина Андреевна UA Loban' Halyna Andriivna UA Дегтярь Наталія Які  
вна UA Дегтярь Наталія Яківна UA Дегтярь Наталія Яківна UA Книш Оксана Василівна UA Кныш Оксана Васильевна UA  
Knysh Oksana Vasyivna UA Маційчук Петро Васильович UA Маційчук Петро Васильович UA Маційчук Петро Васильович

(73) UA Лобань Галина Андріївна UA Лобань Галина Андреевна UA Loban' Halyna Andriivna UA Дегтярь Н  
аталія Яківна UA Дегтярь Наталія Яківна UA Дегтярь Наталія Яківна UA Книш Оксана Василівна UA Кныш О  
ксана Васильевна UA Knysh Oksana Vasyivna UA Маційчук Петро Васильович UA Маційчук Петро Васильович  
UA Маційчук Петро Васильович

Способ определения чувствительности клинических штаммов микроорганизмов к дезинфицирующим средствам предусматривает приготовление взвеси, содержащей 2 миллиарда микроорганизмов, экспозицию ее в дезрастворе, посев на питательную среду и инкубацию в термостате на протяжении 24-х часов при 37°C. Действию дезинфицирующего средства подвергают суспензию микроорганизмов, посев осуществляют на поверхность твердой питательной среды с нейтрализатором в чашке Петри, разделенной на сектора. О чувствительности микроорганизмов к дезинфицирующим средствам судят по наличию или отсутствию колоний на поверхности твердой питательной среды соответствующих секторов.

Спосіб визначення чутливості клінічних штамів мікроорганізмів до дезінфікуючих засобів включає виготовлення 2-міліардної зависі мікроорганізмів, експозицію її в дезрозчині, висів на поживне середовище та витримку в термостаті протягом 24-х годин при 37°C. Дії дезінфектанту піддають суспензію мікроорганізмів, їх висів здійснюють на поверхню твердого поживного середовища з нейтралізатором, розміщеного в чашці Петрі і розділеного на сектори. Про чутливість мікроорганізмів до дезінфектантів судять за наявністю чи відсутністю колоній на поверхні твердого поживного середовища відповідних секторів.

The method for assessing the sensitivity of the clinical bacterial isolates to the disinfectants comprises preparing the bacterial suspension containing 2 billions of the bacterial bodies, exposing the suspension to the disinfectant solution, transferring the bacteria to the solid nutrient medium, and incubating Petri dishes seeded with bacteria at the temperature of 37°C for 24 h. The solid nutrient medium in Petri dishes is divided into the sectors with different neutralizing substances. The absence of the colonies upon incubation points to the sensitivity of the bacteria to the disinfectants being assayed.

Спосіб визначення чутливості клінічних штамів мікроорганізмів до дезінфікуючих засобів, що включає виготовлення 2-міліардної зависі мікроорганізмів, експозицію її в дезрозчині, висів на живильне середовище та витримку в термостаті протягом 24-х годин при 37°C, який **відрізняється** тим, що дії дезінфектанту піддають суспензію мікроорганізмів, їх висів здійснюють на поверхню твердого живильного середовища з нейтралізатором, розміщеного в чашці Петрі і розділеного на сектори, а про чутливість мікроорганізмів до дезінфектантів судять по наявності чи відсутності колоній на поверхні твердого живильного середовища відповідних секторів.

Запропонований спосіб відноситься до галузі медицини, а саме до мікробіології.

Відомий спосіб визначення чутливості (стійкості) мікроорганізмів до антисептичних (дезінфікуючих) засобів, розроблений на кафедрі мікробіології Мінського державного медичного інституту (Красільніков О.П. Справочник по антисептике // Мінськ: Вышэйшая школа-1995. - 367С.)

Найбільш близьким до запропонованого нами є спосіб визначення чутливості мікроорганізмів до дезінфектантів (Морозова Н.С., Кібардіна Н.Н., Волошенко П. Г. Лабораторный контроль качества дезинфекционных мероприятий в лечебно-профилактических учреждениях // Методичні рекомендації. - Харківський НДІ мікробіології та імунології ім. Мечнікова І.І. - 1989. - 25с.), що здійснюють наступним чином:

з добової культури мікроорганізмів, що досліджується на чутливість до дезінфікуючого засобу, готується 2-х міліардний завис, який використовують для підготовки тест-об'єктів за загальноприйнятою методикою. Тест-об'єкти заливають дезінфектантом (з розрахунку 0,5мл на один тест-об'єкт), через кожні 5 хвилин протягом 2-х годин по два тест-об'єкта виймають з дезінфікуючого розчину, послідовно промивають в гіпосульфаті натрію та стерильній воді перед внесенням у рідке живильне середовище (м'ясо-пептонний бульйон). Після інкубації пробірок з м'ясо-пептонним бульйоном і тест-об'єктами в термостаті 24 години оцінюють чутливість культури до дезінфектанта по наявності (відсутності) її росту в рідкому живильному середовищі.

Недоліками відомого способу є:

1) трудоємність процесу дослідження та затrudнене виконання деяких його етапів (необхідність майже одночасного переносу тест-об'єктів в різні пробірки за допомогою петлі);

2) спосіб потребує великої затрати робочого часу, використання великої кількості лабораторного посуду, реактивів та живильного середовища;

3) під час перебування тест-об'єктів в дезінфектанті і послідовного промивання в розчині гіпосульфату натрію та стерильній воді перед внесенням у м'ясо-пептонний бульйон відбувається зменшення дози тест-культури на тест-об'єкті, що знижує ступінь точності визначення чутливості.

Ці недоліки способу є причиною затrudненого його виконання, а отже, і впровадження в повсякденну роботу бактеріологічних лабораторій, що здійснюють контроль якості дезінфекційних заходів в лікувально-профілактичних закладах.

В основу винаходу поставлене завдання розробити спосіб визначення чутливості клінічних штамів мікроорганізмів до дезінфектантів шляхом удосконалення відомого, досягти спрощення його виконання, зниження трудоємності і затрат часу та забезпечити підвищення ступеню точності визначення чутливості мікроорганізмів до дезінфектантів.

Поставлене завдання вирішують створенням способу визначення чутливості клінічних штамів мікроорганізмів до дезінфектантів, що включає виготовлення 2-х міліардного завису мікроорганізмів, експозицію мікроорганізмів дезрозчині, висів на живильне середовище та витримку в термостаті протягом 24-х годин при 37°C, який, згідно винаходу, відрізняється тим, що дії дезінфектанта піддають суспензію мікроорганізмів, їх висів здійснюють на поверхню твердого живильного середовища з нейтралізатором, розміщеного в чашці Петрі і розділеного на сектори, а про чутливість мікроорганізмів до дезінфектантів судять по наявності чи відсутності колоній на поверхні живильного середовища відповідних секторів.

Спосіб здійснюють наступним чином чашку Петрі з м'ясо-пептонним агаром і нейтралізатором ділять на 6 секторів (відповідно до кількості посівів). Із добової культури мікроорганізмів готують 2-х міліардний завис в ізотонічному розчині натрію хлориду та дезінфектанті. 0,4мл завису після певної експозиції із пробірки з дезінфектантом переносять мікропіпеткою та розподіляють бактеріологічною петлею по поверхні відповідного сектора чашки Петрі. Кількість посівів (а відповідно і секторів на чашці Петрі) може варіювати, але ми вважаємо за доцільне здійснювати 3 посіви до встановленої для даного дезінфектанта експозиції та 2 посіви після встановленої експозиції. Якщо встановлена експозиція становить 60 хвилин, то посіви здійснюють через 5(10), 20, 40, 60, 90 хвилин, якщо встановлена експозиція 30 хвилин, то посіви здійснюють через 5, 15, 20, 30, 60 хвилин. Контрольним має бути посів на відповідний сектор чашки 0,4-х мл завису досліджуваних мікроорганізмів у фізіологічному розчині натрію хлориду. Чашку з посівами ставлять в термостат на 24 години при 37°C. Через добу проводять облік та оцінку результатів дослідження.

Відсутність росту мікроорганізмів на відповідному секторі м'ясо-пептонного агару свідчить про загибель мікроорганізмів у дезінфектанті при даній експозиції.

Наявність росту мікроорганізмів на секторі м'ясо-пептонного агару свідчить про нечутливість мікроорганізмів до дезінфектанта при даній експозиції.

Високочутливими до даного дезінфектанта вважаємо мікроорганізми при відсутності їх росту на м'ясо-пептонному агарі після експозиції в дезінфектанті 5-10 хвилин.

Чутливою - при відсутності росту на м'ясо-пептонному агарі після встановленої для даного дезінфектанта експозиції.

Нечутливими - при наявності росту на м'ясо-пептонному агарі після встановленої для даного дезінфектанта експозиції.

Запропонований нами спосіб відрізняється від відомого способу визначення чутливості мікроорганізмів до дезінфектантів наступним:

1) дії дезінфектанта піддається не тест-об'єкт, а суспензія мікроорганізмів, тому етап приготування тест-об'єктів опускається;

2) після експозиції в дезінфектанті посів мікроорганізмів здійснюють на поверхню твердого живильного середовища, а не у рідке живильне середовище, як при використанні способу-прототипу;

3) тверде живильне середовище, на яке здійснюють посів мікроорганізмів, містить гіпосульфат натрію чи інший нейтралізатор (в залежності від дезінфектанта), що позбавляє наш спосіб трудоємкого етапу промивання тест-об'єктів в гіпосульфаті натрію та стерильній воді перед посівом на живильне середовище;

4) кількість посівів мікроорганізмів на живильне середовище при використанні нашого способу менша: 3 посіви до встановленої для даного дезінфектанта експозиції, 2 посіви після встановленої експозиції та 1 контрольний, на відміну від 24-х посівів при виконанні способу-прототипу;

5) про чутливість мікроорганізмів до дезінфектанта судять не по наявності (відсутності) помутніння м'ясо-пептонного бульйону, а по наявності (відсутності) колоній мікроорганізмів на відповідних секторах м'ясо-пептонного агару, тобто, результати дослідження більш наочні, ніж при виконанні способу-прототипу.

Приклад:

Необхідно визначити чутливість виділеної культури стафілококу до 3% розчину хлораміну. Чашку Петрі ділять на 6 секторів. Готують 2-х мільярдний завис стафілококу у фізіологічному розчині натрію хлориду та 3%-му розчині хлораміну. Для даного дезінфектанта встановлена експозиція 30 хвилин. Через 5, 15, 20, 30, 60 хвилин здійснюють посіви на відповідні сектори чашки Петрі 0,4-х мл завису стафілококу у розчині хлораміну та у фізіологічному розчині (контрольний посів). Через добу після інкубації чашки в термостаті проводять облік результатів дослідження. Ріст культури наявний на секторі, що відповідає експозиції у дезінфектанті 5 хвилин та на контрольному секторі. На решті секторів ріст стафілококу відсутній. Отже, виділена культура стафілококу чутлива до 3% розчину хлораміну.

Висновок: виходячи з вищевказаного, позитивний ефект від використання запропонованого нами способу визначення чутливості клінічних штамів мікроорганізмів до дезінфікуючих засобів полягає в спрощенні виконання, зменшенні затрат робочого часу, лабораторного посуду, реактивів, у збільшенні ступеню точності визначення чутливості, у більшій наочності результатів дослідження.