



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **155159** (13) **U**
(51) МПК (2024.01)

C12Q 1/00

C12N 1/20 (2006.01)

C12R 1/445 (2006.01)

G01N 1/28 (2006.01)

G01N 33/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2023 02579</p> <p>(22) Дата подання заявки: 29.05.2023</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 25.01.2024</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 24.01.2024, Бюл.№ 4</p>	<p>(72) Винахідник(и): Чумак Юлія Вікторівна (UA), Лобань Галина Андріївна (UA), Фаустова Марія Олексіївна (UA), Ананьєва Майя Миколаївна (UA), Аветіков Давид Соломонович (UA)</p> <p>(73) Володілець (володільці): ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36011 (UA)</p>
--	--

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ДО ДІЇ АНТИСЕПТИКІВ

(57) Реферат:

Спосіб визначення чутливості *Staphylococcus aureus* до дії антисептиків включає використання середовища Мюлера-Хінтона та проведення дослідження на мікробному інокулюмі, який еквівалентний 0,5 за стандартом мутності McFarland, шляхом просочування стерильного ватного тампона і рівномірного нанесення інокуляту. Як досліджувані культури мікроорганізмів використовують типові штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та клінічні ізоляти мікроорганізмів *Staphylococcus aureus*. Як антисептики використовують розчини Декасану, Хлоргексидину, 5% спиртовий розчин Йодоформу, якими просочують паперові диски, і наносять стерильним пінцетом не пізніше 15 хв після інокуляції агару з подальшим інкубуванням протягом доби при температурі 35-36 °С.

UA 155159 U

Корисна модель належить до медицини, зокрема мікробіології, та може бути використана для вивчення чутливості *Staphylococcus aureus* до дії різних груп антисептиків, в стоматологічній практиці.

Ротова порожнина є резервуаром для існування багатьох мікроорганізмів, як патогенних так і умовно-патогенних. Завдяки здатності бактерій утворювати біоплівки, дані групи мікроорганізмів можуть спричинити появу різноманітних патологічних процесів у ротовій порожнині, для лікування яких лікарі-стоматологи застосовують антибіотики. Але разом з тим кожного року з'являються дослідження науковців про появу нових штамів мікроорганізмів, які проявляють стійкість до антибіотиків під час лікування останніми. Враховуючи цей факт, виникає потреба при лікуванні інфекційно-запальних постекстракційних ускладнень застосовувати альтернативні антисептичні препарати, до яких рідко розвивається резистентність з боку мікроорганізмів, що надає їм перевагу над антибіотиками.

Серед тих, що відомі, є такі способи дослідження мікроорганізмів на чутливість:

1. Спосіб визначення антибактеріальної активності наночастинок срібла відносно до *Staphylococcus aureus*, що включає розведення, засів та інкубацію *Staphylococcus aureus*. Для антибактеріальної дії використовують рідкі дисперсні системи на основі конденсату наночастинок срібла розміром 10 нм, що осаджені на кристали натрію хлориду шляхом електронно-променевої технології у вакуумі. При цьому масова частка срібла (Ag) складає 23,4 %, а як стабілізатор наночастинок срібла у водному середовищі використовують субстанцію 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинату (мексидол) та 6 % розчину полівінілпіролідону низькомолекулярного. [Патент України на корисну модель № 142948, МПК С12Q 1/00, С12R 1/445 (2006.01), G01N 1/28 (2006.01)]. Спосіб визначення антибактеріальної активності наночастинок срібла відносно до *Staphylococcus aureus* / Автори: Лобань Галина Андріївна (UA); Фаустова Марія Олексіївна (UA); Басараб Ярослав Олексійович (UA); Ананьєва Майя Миколаївна (UA); заявник та патентовласник: Українська медична стоматологічна академія, [патентний відділ, вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36011 (UA). - Заявка № u201911022; Заявл. 10.07.2020; опубл. 10.07.2020, Бюл. № 13].

2. Спосіб інгібування активності *Staphylococcus aureus* ліпосомальним антибіотиком з визначенням мінімальної пригнічувальної концентрації, що включає використання лінкоміцину або суміші негативно заряджених ліпідів з мінімальною пригнічувальною концентрацією лінкоміцину протягом періоду інкубації стафілокока. [Патент України на корисну модель № 78590, МПК А61К 39/085 (2006.01), А61К 9/00, С12R 1/445 (2006.01)]. Спосіб інгібування активності *Staphylococcus aureus* лінкоміцином / Автори: Іванова Ніна Миколаївна (UA); Мавров Геннадій Іванович (UA); Деркач Світлана Андріївна (UA); Коцар Олена Василівна (UA); заявник та патентовласник: [Державна Установа "Інститут дерматології та венерології АМНУ", вул. Чернишевського, 7/9, м. Харків, 61057 (UA). - Заявка № u201210640; заявл. 10.09.2012; опубл. 25.03.2013, Бюл. № 6].

Найбільш близьким аналогом корисної моделі є використання штаму *Staphylococcus aureus* 2708 для визначення стійкості клінічних штамів *S. aureus* до оксациліну. [Патент України на корисну модель № 44415. МПК А61К 39/085, С12N 1/20]. Використання штаму *Staphylococcus aureus* 2708 для визначення стійкості клінічних штамів *S. aureus* до оксациліну / Автори: Макушенко Олександр Сергійович (UA); Поліщук Олена Іванівна (UA); Авдєєва Лілія Василівна (UA); В'ялих Жанна Едуардівна (UA); Покас Олена Вікторівна (UA); Галагуза Юрій Петрович (UA); заявник та патентовласник: Макушенко Олександр Сергійович (UA); Поліщук Олена Іванівна (UA); Авдєєва Лілія Василівна (UA); В'ялих Жанна Едуардівна (UA); Покас Олена Вікторівна (UA); Галагуза Юрій Петрович (UA). – [Заявка № u200900258; заявл. 14.01.2009; опубл. 12.10.2009. Бюл. № 19/2009].

Недоліками відомих методів є вузький спектр вивчення чутливості *Staphylococcus aureus* до певних видів інгібіторів, антисептиків, які зрідка використовуються в стоматологічній практиці.

В основу корисної моделі поставлена задача виявлення і порівняння впливу популярних антисептиків на чутливість *Staphylococcus aureus*.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі визначення чутливості *Staphylococcus aureus* до дії антисептиків, що включає використання середовища Мюлера-Хінтона та проведення дослідження на мікробному інокулюмі, який еквівалентний 0,5 за стандартом мутності McFarland, шляхом просочування стерильного ватного тампона і рівномірного нанесення інокуляту, згідно з корисною моделлю, як досліджувані культури мікроорганізмів використовують типові штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та клінічні ізоляти мікроорганізмів *Staphylococcus aureus*, а як антисептики використовують розчини Декасану, Хлоргексидину, 5 % спиртовий розчин йодоформу, якими просочують паперові диски і наносять

стерильним пінцетом не пізніше 15 хв після інокуляції агару з подальшим інкубуванням протягом доби при температурі 35-36 °С.

Спосіб здійснюють наступним чином: антибактеріальна дія досліджується за допомогою антисептичних препаратів Декасан (форма випуску - розчин декаметоксину 0,2 мг/мл); Хлоргексидин (форма випуску - 0,05 % розчин хлоргексидину біглюконату); Йодоформ (форма випуску - дрібнокристалічний порошок). Враховуючи, що йодоформ погано розчиняється у воді, використовується його 5 % спиртовий розчин, який готують ex tempore.

Визначення проводиться на середовищі Мюлера-Хінтона, застосовуються стандартні стерильні тампони без просочування, самостійно їх просочуючи розчинами Декасану, Хлоргексидину та 5 % спиртовим розчином йодоформу.

У дослідженні використовується мікробний інокулюм, який еквівалентний 0,5 за стандартом мутності McFarland. Мікробна суспензія отримується з добових культур досліджуваних мікроорганізмів. Готовим мікробним інокулюмом, протягом 15 хв з моменту його приготування, просочується стерильний ватний тампон і рівномірно наноситься інокулянт штриховими рухами на всю поверхню агару в трьох напрямках, повертаючи чашку Петрі для отримання суцільного газону. Не пізніше 15 хв після інокуляції агару, стерильним пінцетом наносяться паперові диски, просочені розчинами Декасану, Хлоргексидину, 5 % спиртовим розчином йодоформу. Враховуючи те що, розчин йодоформу спиртовий, окремі паперові диски просочують 96 % етиловим спиртом як контроль щодо спиртового розчину йодоформу.

Готові чашки Петрі, які містять в собі просочені паперові диски, інкубуються протягом доби при температурі 35-36 °С, після чого визначаються результати. Для цього за допомогою лінійки вимірюються зони затримки росту, що виникли під дією кожного антисептика. Дослідження повторювали п'ять разів. Варіаційно-статистична обробка результатів дослідження виконується за допомогою програми Microsoft Excel з визначенням основних варіаційних показників: середні величини (M), середні похибки (m), середньоквадратичні відхилення (p). Достовірність отриманих результатів визначається за допомогою критерію Ст'юдента.

Дослідження показало, що зона затримки росту *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 під дією Декасану складала 17,0±0 мм, Хлоргексидину - 17,0±0 мм, а 5 % спиртового розчину йодоформу - 15,0±0 мм. Таким чином, антистафілококова активність Декасану та Хлоргексидину на типовий штам не відрізнялась, тоді як антибактеріальна дія 5 % спиртового розчину йодоформу була меншою (Таблиця).

Порівнюючи дію антисептиків, щодо клінічного ізоляту *Staphylococcus aureus*, слід відзначити, що зона затримки росту під впливом Декасану була більшою на 2,4 мм, ніж зона гальмування росту під дією Хлоргексидину, і на 3,4 мм більшою порівняно із зоною затримки росту під впливом 5 % спиртового розчину йодоформу.

Таблиця

Діаметр зон затримки росту типових штамів та клінічних ізолятів *Staphylococcus aureus* під дією антисептиків, мм (M±m)

Антисептики Культури	Декасан	Хлоргексидин	5 % спиртовий розчин йодоформу &
<i>S.aureus</i> ATCC 25923 типовий штам	17,0±0	17,0±0	15,0±0
<i>S.aureus</i> клінічний ізолят	17,6±0,5	15,2±0,4	14,2±0,4

Примітка: & - різниця показників зон затримки росту мікроорганізмів під дією 5 % спиртового розчину йодоформу і 96 % розчину етилового спирту.

В результаті дослідження виявлено, що антисептик Декасан має більшу антистафілококову дію щодо типових штамів та клінічних ізолятів стафілококів порівняно з іншими антисептичними препаратами, які часто застосовують в стоматології. Найменшу антистафілококову дію на досліджувані мікроорганізми виявили у 5 % спиртового розчину йодоформу, а дія антисептика Хлоргексидин займала проміжне місце.

Дані способу можуть бути використані в подальшому вивченні антибактеріальної дії антисептичних препаратів Декасану, Хлоргексидину, Йодоформу на клінічні штами мікроорганізмів та для вдосконалення підходу медикаментозного лікування ускладнень в хірургічній стоматології.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення чутливості *Staphylococcus aureus* до дії антисептиків, що включає використання середовища Мюлера-Хінтона та проведення дослідження на мікробному інокулюмі, який еквівалентний 0,5 за стандартом мутності McFarland, шляхом просочування стерильного ватного тампона і рівномірного нанесення інокуляту, який **відрізняється** тим, що як досліджувані культури мікроорганізмів використовують типові штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та клінічні ізоляти мікроорганізмів *Staphylococcus aureus*, а як антисептики використовують розчини Декасану, Хлоргексидину, 5 % спиртовий розчин Йодоформу, якими просочують паперові диски, і наносять стерильним пінцетом не пізніше 15 хв після інокуляції агару з подальшим інкубуванням протягом доби при температурі 35-36 °С.