



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **155160** (13) **U**  
(51) МПК (2024.01)  
**C12Q 1/04** (2006.01)  
**C12R 1/45** (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: <b>u 2023 02580</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>29.05.2023</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: <b>25.01.2024</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: <b>24.01.2024, Бюл.№ 4</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Чумак Юлія Вікторівна (UA), Лобань Галина Андріївна (UA), Фаустова Марія Олексіївна (UA), Ананьєва Майя Миколаївна (UA), Аветіков Давид Соломонович (UA)</b></p> <p>(73) Володілець (володільці): <b>ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36011 (UA)</b></p>
--	--

## (54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS ДО ДІЇ АНТИСЕПТИКІВ

### (57) Реферат:

Спосіб визначення чутливості *Staphylococcus epidermidis* до дії антисептиків включає проведення дослідження на мікробному інокулюму за стандартом мутності McFarland та інкубування протягом доби при температурі 35-36 °С. Як досліджувані культури мікроорганізмів використовують типові штами *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 та клінічні ізоляти мікроорганізмів *Staphylococcus epidermidis* шляхом приготування мікробного інокулюма, яким просочують стерильний ватний тампон, і рівномірно наносять інокулянт штриховими рухами на всю поверхню агару в трьох напрямках, повертаючи чашку Петрі для отримання суцільного газону. Визначення проводять на середовищі Мюлера-Хінтона. 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.

UA 155160 U

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

Антибіотикорезистентність - є серйозною проблемою всього світу, виникнення якої пов'язане з нераціональним застосуванням, а часом і зловживанням протимікробними препаратами, застосуванням антибіотиків для профілактики місцевих та системних ускладнень при проведенні операційних втручань. Це призвело до еволюції мікроорганізмів з розвитком у них різних механізмів стійкості до дії антибіотиків. 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(аналоги):

1. Спосіб визначення антибактеріальної активності меду по відношенню до *Staphylococcus aureus*, при якому готують однакові за об'ємом розчини меду в м'ясо-пептонному бульйоні 1:5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, засівають культурою тест-штаму *Staphylococcus aureus*, інкубують протягом 24-48 годин при 37 °С. [Патент України на корисну модель 129688, МПК G01N, 33/02(2006.01), G01N 33/554(2006.01), C12Q 1/04(2006.01). СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ МЕДУ ПО ВІДНОШЕННЮ ДО STAPHYLOCOCCUS AUREUS; Заявл. 12.11.2018; Опубл. 12.11.2018, бюл. № 21].

2. Спосіб інгібування активності *Staphylococcus aureus* здійснюють за допомогою ліпосомальної форми бензоїлпероксиду, який знаходиться у мембрані ліпосоми, на основі лецитину в органічних розчинах. [Патент України на корисну модель 78647, МПК A61K 9/00. СПОСІБ ІНГІБУВАННЯ АКТИВНОСТІ STAPHYLOCOCCUS AUREUS БЕНЗОІЛПЕРОКСИДОМ; Заявл. 25.03.2013; Опубл. 25.03.2013. бюл. № 6].

Найближчим аналогом є спосіб визначення антибактеріальної активності наночастинок срібла відносно до *Staphylococcus epidermidis* включає розведення, засів та інкубацію *Staphylococcus*. Дослідження проводять на музейному штамі мікроорганізму *S. Epidermidis*, а 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, причому масова частка срібла (Ag) складає 23,4 %. Як стабілізатор наночастинок срібла у водному середовищі використовують субстанцію 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинату (мексидол) та 6 % розчину полівінілпіролідону (ПВП) низькомолекулярного (Неогемодез). При цьому проводять дослідження на мікробному інокулюму за стандартом мутності McFarland та інкубування протягом доби при температурі 35-36 °С [Патент України на корисну модель 142954, МПК C12Q 1/00, G01N 1/28 (2006.01), C12R 1/45 (2006.01). СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА ВІДНОСНО ДО STAPHYLOCOCCUS; Заявл. 10.07.2020; Опубл. 10.07.2020, бюл. № 13].

Недоліками аналогів є вузький спектр вивчення чутливості *Staphylococcus epidermidis* 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 epidermidis*.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб визначення чутливості *Staphylococcus epidermidis* до дії антисептиків, що включає проведення дослідження на мікробному інокулюму за стандартом мутності McFarland та інкубування протягом доби при температурі 35-36 °С, згідно з корисною моделлю, що як досліджувані культури мікроорганізмів використовують типові штами *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 та клінічні ізоляти мікроорганізмів *Staphylococcus epidermidis* шляхом приготування мікробного інокулюма, яким просочують стерильний ватний тампон і рівномірно наносять інокулят штриховими рухами на всю поверхню агару в трьох напрямках, повертаючи чашку Петрі для отримання суцільного газону, визначення проводять на середовищі Мюлера-Хінтона, 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.

Спосіб здійснюють наступним чином: антибактеріальну дію досліджують 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, використовують його 5 % спиртовий розчин, який готують *ex tempore*.

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

У дослідженні використовують 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, просочують стерильний ватний тампон і рівномірно наносять 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 наносять 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 вимірюють 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 Стьюдента.

В результаті, зона затримки росту культури *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 під дією Декасану складає 20,0±0 мм. Хлоргексидину - 17,0±0 мм, а зона гальмування росту під дією 5 % спиртового розчину йодоформу - 15,0±0 мм, яка в свою чергу менша на 5 мм від зони затримки росту під дією Декасану і на 2 мм менша від зони затримки росту під впливом Хлоргексидину. Найбільшу зону затримки росту спостерігають під дією препарату Декасан, а найменшу - під впливом 5 % спиртового розчину йодоформу.

Порівнюючи дію антисептиків, щодо клінічного ізоляту *Staphylococcus epidermidis* (таблиця) тенденція залишається не змінною стосовно антисептичного препарату Декасан порівняно з іншими досліджуваними антисептиками. Зона затримки росту культури під дією Декасану на 3,0 мм більше (*p*<0,05), порівняно з зоною затримки викликаної Хлоргексидином і на 4,4 мм більше (*p*<0,05) порівняно з діаметром зони пригнічення росту під дією 5 % спиртового розчину йодоформу. Таким чином, найбільшу антистафілококову активність виявляється у Декасану, найменша - у 5 % спиртового розчину йодоформу. Антистафілококова дія антисептика Хлоргексидин займає проміжний результат.

Таблиця

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

Антисептики Культури	Декасан	Хлоргексидин	5 % спиртовий розчин йодоформу &
<i>S.epidertnidis</i> ATCC 14990 типовий штам	20,0±0	17,0±0	15,0±0
<i>S.epidermidis</i> клінічний ізолят	19,6±0,5 *#	16,6±0,5	15,2±0,4

Примітка: & - різниця показників зон затримки росту мікроорганізмів під дією 5 % спиртового розчину йодоформу і 96 % розчину етилового спирту; \* - достовірність різниці зон затримки росту мікроорганізмів під дією Декасану порівняно з Хлоргексидином (*p*<0,05); # - достовірність різниці зон затримки росту мікроорганізмів під дією Декасану порівняно з 5 % спиртовим розчином йодоформу (*p*<0,05).

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

## ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5 Спосіб визначення чутливості *Staphylococcus epidermidis* до дії антисептиків, що включає проведення дослідження на мікробному інокулюму за стандартом мутності McFarland та інкубування протягом доби при температурі 35-36 °С, який **відрізняється** тим, що як досліджувані культури мікроорганізмів використовують типові штами *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 та клінічні ізоляти мікроорганізмів *Staphylococcus epidermidis* шляхом приготування мікробного інокулюма, яким просочують стерильний ватний тампон, і рівномірно наносять інокулянт штриховими рухами на всю поверхню агару в трьох напрямках, повертаючи чашку Петрі для отримання суцільного газону, визначення проводять на середовищі Мюлера-Хінтона, 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.

15