



УКРАЇНА

(19) UA (11) 61284 (13) U
(51) МПК (2011.01)
G01N 33/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИДІЛЕННЯ ПЕНІЦИЛІНРЕЗИСТЕНТНИХ ПНЕВМОКОКІВ

1

2

(21) u201100806

(22) 24.01.2011

(24) 11.07.2011

(46) 11.07.2011, Бюл.№ 13, 2011 р.

(72) ВОЙТОВИЧ ОЛЕКСАНДР ВАСИЛЬОВИЧ,
ПАНТЮШЕНКО ЛЮДМИЛА ІВАНІВНА, КАМИШ-
НИЙ ОЛЕКСАНДР МИХАЙЛОВИЧ(73) ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ, ВОЙТОВИЧ ОЛЕКСАНДР ВАСИ-
ЛЬОВИЧ, ПАНТЮШЕНКО ЛЮДМИЛА ІВАНІВНА,
КАМИШНИЙ ОЛЕКСАНДР МИХАЙЛОВИЧ

(57) Спосіб виділення пеніцилінрезистентних пневмококів шляхом посіву пневмококів на кров'яному агарі, використання дисків з оксациліном та інкубації 18-24 години при 35-37°C в атмосфері 5% CO₂, який **відрізняється** тим, що диск з оксациліном (1 мкг/диск) накладають на первинний посів досліджуваного матеріалу та виявляють колонії пеніцилінрезистентних пневмококів у зоні затримки росту, діаметром 20мм навколо диска.

Корисна модель стосується медицини, а саме - бактеріологічної лабораторної діагностики і може бути використана для виділення пеніцилінрезистентних пневмококів при інфекційних захворюваннях дихальних шляхів.

Streptococcus pneumoniae (пневмокок) колонізує верхні дихальні шляхи, як частина нормальної назофарингеальної мікрофлори людини, і його носійство не супроводжується проявом яких-небудь симптомів. При цьому пневмокок - провідний збудник респіраторних інфекцій, більшість з яких за своєю природою є ендогенними. Якщо нормальні процеси кліренсу назофарингеального секрету порушені, наприклад в результаті хронічного бронхіту або гострої вірусної інфекції, то при проникненні пневмокока в нижні дихальні шляхи може розвинути пневмонія. Пневмококова пневмонія - найбільш важке респіраторне захворювання з високим відсотком смертності, особливо в тих випадках, коли інфекція протікає з бактеріємією. Захворювання виникає тоді, коли локальні і системні імунні механізми порушені, наприклад в разі респіраторних вірусних інфекцій або хронічних бронхітів, і пневмокок досягає нижніх дихальних шляхів, які у нормі є стерильними.

Пневмокок характеризується високою природною чутливістю до бета-лактамічних антибіотиків, макролідів, лінкозамідів, тетрацикліну і помірною чутливістю до глікопептидів, оксазолідонів, а також стійкістю до аміноглікозидів. Але, як і інші бактерії, пневмококи здатні набувати резистентність до багатьох класів антибіотиків. Добре відомо, що

ризик інфекції, викликаній резистентним пневмококом, пов'язаний з близьким і тривалим контактом з носієм інфекції або недавно проведеною антимікробною терапією. Адже вважається, що "селективний тиск" антибіотиків відіграє найбільш важливу роль в формуванні бактеріями резистентності.

Важливою проблемою пневмонії є можлива етіологічна роль пеніцилінрезистентних штамів пневмокока. Упродовж багатьох років і дотепер терапія пневмококових пневмоній ґрунтується на застосуванні бета-лактамічних антибіотиків. Тож, виявлення резистентності до пеніцилінів серед пневмококів і збільшення частоти розповсюдження пеніцилінрезистентних пневмококів останні роки, призвело до значного ускладнення терапії викликаних ними пневмоній. Важливою особливістю пеніцилінрезистентних пневмококів є висока швидкість формування ними резистентності до інших антибіотиків, зокрема макролідів.

Беручи до уваги небезпеку пеніцилінрезистентних пневмококів для здоров'я людини, важливою проблемою бактеріологічної лабораторної діагностики є розробка швидких та надійних методів виявлення пеніцилінрезистентних штамів із застосуванням дисків з таким антибіотиком із групи пеніцилінів, як оксацилін у концентрації 1мкг/диск.

Відомий спосіб виділення пневмококів, що полягає у наступному:

1. Матеріал, отриманий від пацієнта, засівають на кров'яний агар у чашці Петрі, проводять інкубацію 18-24 години при 35-37°C в атмосфері 5% CO₂.

(13) U
(11) 61284
(19) UA

2. Виявляють колонії, подібні на пневмокок, які мають сірий колір, слизисті і проявляють альфа-гемоліз.

3. З первинного посіву відсівають підозрілу колонію і проводять підтвердження виділення пневмокока, стандартним способом.

4. З первинного посіву відсівають колонію пневмокока на агар Гівенталю-Ведьміної і диско-дифузійним методом проводять виявлення чутливості пневмококів до оксациліну у кількості 1мкг/диск.

5. Пневмококи, що мають зону затримки росту ≥ 20 мм характеризують, як чутливі до пеніциліну, при діаметрі зони затримки росту ≤ 19 мм пневмококи характеризують, як помірно резистентні.

Суттєвими ознаками найближчого аналога і корисної моделі, що збігаються, є посів пневмококів на кров'яному агарі, використання дисків з оксациліном та інкубація 18-24 години при 35-37°C в атмосфері 5% CO₂.

Не зменшуючи значення вказаного способу для виділення пеніцилінрезистентних пневмококів, слід зауважити, що популяція пневмококів, виділених з певного біотопу людини, неоднорідна за багатьма ознаками і зокрема за чутливістю до антибіотиків. Серед цих пневмококів зустрічаються як чутливі, так і резистентні до пеніцилінів бактерії. У первинному посіві матеріалу, отриманого від пацієнта на кров'яному агарі, колонії цих бактерій не відрізняються за своєю морфологією. Тож, дослідник цілком випадково відбирає колонії пневмококу для подальшого пересіву і визначення чутливості до оксациліну. Таким чином, відсутність селекції пневмококів за чутливістю до пеніциліну при первинному посіві негативно позначається на точності та достовірності виділення пеніцилінрезистентних пневмококів.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу виділення пеніцилінрезистентних пневмококів шляхом виявлення резистентних до оксациліну колоній пневмококів у первинному посіві, що дозволить підвищити точність і достовірність виділення пеніцилінрезистентних пневмококів.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі виділення пеніцилінрезистентних пневмококів шляхом посіву пневмококів на кров'яному агарі, використання дисків оксациліном та інкубації 18-24 години при 35-37°C в атмосфері 5% CO₂ новим є те, що диск з оксациліном (1 мкг/диск) накладають на первинний посів досліджуваного матеріалу та виявляють колонії пеніцилінрезистентних пневмококів у зоні затримки росту, діаметром 20мм навколо диска.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, та технічним результатом полягає у наступному: диск з оксациліном застосовується на первинному посіві матеріалу, отриманого від пацієнта, на кров'яному агарі. При цьому через 18-20 годин вже можна отримати попередні дані про наявність у досліджуваному матеріалі пеніцилінрезистентних пневмококів. У подальшому, для підтвердження виділення пневмокока, підозрілі на пневмокок колонії досліджують

із застосуванням оптохімового тесту і тесту лізису у присутності солей жовчних кислот. Таким чином, застосування диска з оксациліном на первинному посіві дозволяє точно, достовірно і швидко виділяти пеніцилінрезистентний пневмокок у матеріалі, отриманому від пацієнта.

З урахуванням вищевказаного, виділення пеніцилінрезистентних пневмококів у первинному посіві клінічного матеріалу на кров'яному агарі з оксациліновим диском, яке проведене уперше, дозволить підвищити точність, достовірність і швидкість виділення пеніцилінрезистентних пневмококів.

Спосіб здійснюють таким чином:

1. Матеріал, отриманий від пацієнта, засівають на кров'яний агар у чашці Петрі, накладають на посів диск з оксациліном (1мкг/диск), проводять інкубацію 18-24 години при 35°C в атмосфері 5% CO₂.

2. У зоні діаметром 20мм навколо диска з оксациліном виявляють подібні на пневмокок резистентні до оксациліну колонії, які мають сірий колір, слизисті і проявляють альфа-гемоліз.

3. Виділяють чисту культуру і проводять тести для підтвердження виділення пневмокока, стандартним способом.

Приклад: До бактеріологічної лабораторії Запорізької обласної дитячої клінічної лікарні надійшов матеріал (харкотиння) пацієнта Т. з пневмонією. Матеріал був досліджений з метою виділення пеніцилінрезистентного пневмокока способом, викладеним у найближчому аналозі і запропонованим нами способом. Результати дослідження проведеного за методом, викладеним у аналозі показали наявність у матеріалі рясного росту колоній, морфологічно подібних на пневмокок. Подальші дослідження підозрілих на пневмокок колоній із застосуванням оптохімового тесту і тесту лізису у присутності солей жовчних кислот підтвердили наявність пневмокока. Окреме дослідження п'яти відібраних колоній пневмокока на чутливість до оксациліну, показало, що пневмококи у чотирьох колоніях були чутливими до антибіотика із зонами затримки росту, відповідно, 21, 20, 22, 22мм, а одна колонія пневмокока була резистентна до оксациліну із зоною затримки росту 11мм.

Дослідження, проведене запропонованим нами способом дозволило у первинному посіві на кров'яному агарі виявити резистентні до оксациліну колонії з морфологією, характерною для пневмококів. Подальші дослідження підозрілих на пневмокок колоній із застосуванням оптохімового тесту і тесту лізису у присутності солей жовчних кислот підтвердили наявність пневмокока.

Порівняння найближчого аналога і запропонованого нами способу виділення пеніцилінрезистентних пневмококів показало, що запропонований нами спосіб дозволяє точно і, до того ж, у двічі швидше виділяти пеніцилінрезистентні пневмококи у разі наявності їх у досліджуваному матеріалі.

Таким чином, використання способу, що пропонується, дозволяє швидше, більш точно і достовірно проводити виділення пеніцилінрезистентних пневмококів.

Література:
(Кречикова О.И., Козлов Р.С., Богданович Т.М,
Стецюк О.У., Суворов М.М., Катосова Л.К., Вишня-
кова Л.А., Фаустова М.Е. Выделение, идентифика-

ция и определение чувствительности к антибиоти-
кам *Streptococcus pneumoniae*// Клиническая мик-
робиология и антимикробная терапия.-2000.-№1.-
С.88-98.).