



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 75116

(13) U

(51) МПК

G01N 33/18 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2012 04629**

(22) Дата подання заявки: **12.04.2012**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **26.11.2012**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **26.11.2012, Бюл.№ 22**

(72) Винахідник(и):

**Алексєєнко Володимир Васильович
(UA),**

Мурашко Олена Валентинівна (UA)

(73) Власник(и):

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ
ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ТА ІНФЕКЦІЙНИХ
ХВОРОБ ІМ. Л.В. ГРОМАШЕВСЬКОГО
АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ",
вул. М. Амосова, 5, м. Київ, 03038 (UA)**

(54) СПОСІБ ДОСЛІДЖЕННЯ ОБ'ЄКТІВ ДОВКІЛЛЯ НА ВІБРІОФЛОРУ

(57) Реферат:

Спосіб дослідження об'єктів довкілля на вібріофлору включає відбір проби води у посудину, додання основного пептону до проби, інкубація середовища збагачення у термостаті, висів із середовища збагачення на елективне середовище. Проби води набирають з різних точок у місці відбору в посудини, рідину перемішують. В кожную посудину додають 10 % основний пептон до кінцевої концентрації його в досліджуваній пробі. Посудини поміщають в термостат як перше середовище збагачення та інкубують.

UA 75116 U

Корисна модель належить до області медичної мікробіології і може використовуватись для етіологічної діагностики гострих кишкових інфекцій, зокрема вібріофлори.

У комплексі заходів з охорони від забруднення відкритих водойм особливе місце належить якісному бактеріологічному контролю за об'єктами зовнішнього середовища. Терміни і кратність дослідження води відкритих водойм регламентовані відповідними директивними документами МОЗ України. У цих документах не передбачається необхідність дослідження стічних вод.

Відомий спосіб [Инструкция по организации и проведению противохолерных мероприятий N О1-19/50-11 (утв. Госкомсанэпиднадзором РФ и Минздравмедпромом РФ 9 июня 1995 г., Россия)] Господарчо-побутові стічні води для дослідження беруть тампонами, приготованими із марлевих серветок розміром 10 × 10 см, складених в 10-15 шарів. Останні закріплюють у місці забору води, через добу поміщають в стерильну банку і доставляють в лабораторію. Такий спосіб займає багато часу на підготовку матеріалів та зростають витратні матеріали та середовища.

Відомий спосіб [Инструкция по организации та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери, затверджена наказом МОЗ України "Про удосконалення протихолерних заходів в Україні" від 30.05.1997 р.№ 167] - одна проба в кількості 1 літр відбирається у 2 стерильні пляшки по 500 мл, в кожен з яких добавляють 50 мл основного пептону до кінцевої концентрації його 1 % (перша лептонна вода), інкубують перше середовище збагачення у термостаті, висівають із першого середовища збагачення на елективне середовище та друге середовище збагачення, висівають із другого середовища збагачення на елективне середовище. Таким чином для дослідження однієї проби потрібні пляшки по 500 мл, а на 10 проб - 20 пляшок, які в заповненому вигляді важать 20 кг. Такий спосіб є громіздким. Значні труднощі в практичному плані виникають у зв'язку з відбором та доставкою проб у лабораторію. Виникають ускладнення із стерилізацією пляшок, з умовами транспортування великої їх кількості тощо, потребують іншого підходу до методики відбору проб води.

Ці труднощі зростають у літній час в польових умовах, коли проби часто відбирають в місцях, недоступних для під'їзду санітарного транспорту та в осередках холери, коли по епі드показаннях зростає кількість контрольних точок і, відповідно, й кількість досліджень.

В основу корисної моделі поставлена задача охопити більший об'єм і площу води, що досліджується завдяки тому, що проби води набирають з різних точок у місці відбору, спростити відбір та доставку матеріалу для дослідження завдяки набору проб у невеликі посудини, переважно по 100 мл, по 50-90 мл рідини в кожен посудину, а також зменшення витрати основного пептону та зменшення часу інкубації у термостаті з 6-8 годин до 4-5. Завдяки перемішуванню рідини у посудині збільшується вірогідність попадання мікроорганізму у досліджувану пробу.

Поставлену задачу вирішують у способі дослідження об'єктів довкілля на вібріофлори, який включає відбір проби води у посудину, додання основного пептону до проби, інкубація першого середовища збагачення у термостаті, висів із першого середовища збагачення на елективне середовище та друге середовище збагачення, висів із другого середовища збагачення на елективне середовище. Новим є те, що проби води набирають з різних точок у місці відбору проби по 50-90 мл рідини в кожен посудину, далі рідину у посудині перемішують, в кожен посудину добавляють 10 % основний пептон до кінцевої концентрації його в досліджуваній пробі 1 %, посудини поміщають в термостат як перше середовище збагачення та інкубують 4-5 годин.

Завдяки тому, що пробу відбирають не в одній точці забору, а в декількох, охоплюється більший об'єм і площа води, що досліджується.

Таким чином, площа води, з якої відбиралася проба, значно збільшується, що забезпечує можливість попадання достатньої кількості вібріонів в пробу, що відбирається. Спрощується відбір та доставка матеріалу для дослідження, скорочуються витратні матеріали та поживні середовища, зменшується навантаження на термостати і автоклави. Строки інкубації першої лептонної води скорочуються з 6-8 годин за інструкцією до 4-5 годин, внаслідок швидкого прогріву малих об'ємів проб води в термостаті.

Приклад: Проби з відкритих водоймищ, а також стічних вод з відстійників відбирають у флакони ємністю 100 мл за допомогою піпетки на 10 мл в із різних місць по 50-90 мл. Пробу відбирають не в одній точці забору, а в декількох. При цьому охоплюється більший об'єм і площа води, що досліджується.

Для прискорення процесу наповнення скляної піпетки водою, її кінчик треба відбити. Для цього кінчик піпетки розігрівають на вогні і швидко занурюють у холодну воду і відламують. Крім того на піпетку при роботі необхідно надіти гумову грушу об'ємом 30-50 мл, кінчик якої обрізають так, щоб піпетка щільно входила в грушу. При слабкому стисканні груші вибирають 8-10 мл досліджуваної води і виливають її у флакон. За декілька закачувань буде набрано 50-90

мл необхідної для дослідження проби води. Після відбору у флакони проби води - піпетки змінюють.

Для відбору 30-40 проб, людині, яка здійснює таку операцію необхідно мати 2 бікси. В один кладуть стерильні флакони, гумову грушу та комплект стерильних скляних піпеток. В другий бікс ставлять вже наповнені флакони, а також використані піпетки (для цього необхідно мати поліетиленовий мішечок).

Після доставки в лабораторію в кожний флакон добавляють 10 % основний пептон до кінцевої концентрації його в досліджуваній пробі 1 %. Поміщають в термостат як перше середовище збагачення. Далі інкубують перше середовище збагачення у термостаті, висівають із першого середовища збагачення на елективне середовище та друге середовище збагачення, висівають із другого середовища збагачення на елективне середовище. При цьому строки інкубації першої лептонної води можна скоротити з 8 годин за інструкцією до 4-5 годин, внаслідок швидкого прогріву малих об'ємів проб води в термостаті.

Проведені паралельні дослідження з використанням обох методик (загальноприйнятої та удосконаленої нами) показали ідентичність результатів.

Із 250 досліджуваних паралельно проб води, виділення вібріонів по удосконаленій методиці, було вищим на 3 % від існуючої. Крім того значно (в 10 разів) скорочено використання основного пептону. Менше навантажено термостати.

Спосіб простий, надійний і ефективний. При 1589 паралельних дослідженнях проведених класичним методом (1 літр води + 100 мл основного пептону) і запропонованим методом "малих об'ємів", не встановлено статистично достовірних відмінностей у висіві вібріонів тим і іншим методом. При цьому методом "малих об'ємів" вібріони не О1 були виділені в 52,8 % досліджуваних зразків, а загальноприйнятим методом - в 50,3 % проведених аналізів. Методом "малих об'ємів", при дослідженні води в ряді місць південних областей, виділення вібріонів становила 68,5 % у той час як при звичайному методі тільки 47,8 %.

У зв'язку з тим, що в звичайних умовах (без епідускладень) виділення вібріонів О1 Ельтор це рідкий випадок, який в Україні в роки без холерних епідускладень становив $0,17 \pm 0,28$, необхідно було дослідити 5-6 тис. проб, щоб виділити 1 штаб *V.cholerae* О1. В наших дослідженнях тільки в двох випадках вдалось виділити вібріони О1 групи з річкової води. Причому ізольовані вони були як при звичайному методі, так і в паралельних повторях при використанні "малих об'ємів". Головним чином метод орієнтований на виділення вібріонів не О1 групи.

При використанні методу "малих об'ємів" в масштабах України, де за рік роблять до 40 тис. досліджувальних з об'єктів довкілля можна скоротити витратні матеріали в сотні разів. Крім того багатократно зменшується об'єм роботи для дезінфекції, стерилізації пляшок для відбору проб, а також значно полегшується робота лаборантів, які відбирають проби.

Повністю виключається можливість випадкової контамінації проб між собою, бо за існуючим способом, обробка рук людини, що відбирає пробу води, залежить від його сумлінності, а за методом "малих об'ємів" контамінація повністю виключена.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб дослідження об'єктів довкілля на вібріофлору, що включає відбір проби води у посудину, додання основного пептону до проби, інкубація першого середовища збагачення у термостаті, висів із першого середовища збагачення на елективне середовище та друге середовище збагачення, висів із другого середовища збагачення на елективне середовище, який **відрізняється** тим, що проби води набирають з різних точок у місці відбору проби по 50-90 мл рідини в кожну посудину, далі рідину у посудині перемішують, в кожну посудину добавляють 10 % основний пептон до кінцевої концентрації його в досліджуваній пробі 1 %, посудини поміщають в термостат як перше середовище збагачення та інкубують 4-5 годин.

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601