



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **92381** (13) **U**  
(51) МПК (2014.01)  
**G01N 33/48** (2006.01)  
**C12N 11/00**

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2014 03066</b>	(72) Винахідник(и): <b>Синетар Едіта Олександрівна (UA), Авдєєва Ліля Василівна (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>26.03.2014</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>11.08.2014</b>	(73) Власник(и): <b>ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ТА ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ ІМ. Л.В. ГРОМАШЕВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ", вул. М. Амосова, 5, м. Київ, 03680 (UA)</b>
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>11.08.2014, Бюл.№ 15</b>	

## (54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СТУПЕНЯ ПРИКРІПЛЕННЯ МІКРОБНИХ КЛІТИН ДО ПОВЕРХНІ КАТЕТЕРІВ

### (57) Реферат:

Спосіб визначення ступеня прикріплення мікробних клітин до поверхні катетерів включає забезпечення контакту фрагментів катетера з агаризованим середовищем та досліджуваними мікроорганізмами. Додатково внутрішню поверхню порожнини катетера блокують заповненням розплавленим парафіном, катетер асептично нарізають на фрагменти довжиною 0,8-1,2 см, які на 43-46 хвилин занурюють в суспензію досліджуваного виду мікроорганізмів визначеної концентрації, потім тричі відмивають від надлишку мікробного забруднення в змінюваних ємкостях з 0,9 % розчином хлориду натрію, якому дають стекти на фільтрувальний папір, підсушують в термостаті 15 хвилин, після чого занурюють в охолоджене до 40 °С агаризоване середовище, експонують в термостаті в досліджуваних умовах, після чого мікроскопують, підраховують кількість колоній, виростилих на поверхні катетера і кількість відокремлених колоній, та по рівню визначених показників судять про ступінь прикріплення мікробних клітин до поверхні катетерів в досліджуваних умовах.

UA 92381 U



Корисна модель належить до медицини і стосується мікробіології, та може бути застосована для оцінки здатності катетерів з різних матеріалів накопичувати (адгезувати) та утворювати на своїй поверхні біоплівку з мікроорганізмів.

Використання у клініках різного профілю медичних виробів, що імплантуються в організм людини, призводить до зростання інфекційних ускладнень, так званих "полімерасоційованих інфекцій". Мікробні клітини, які колонізують внутрішні і зовнішні поверхні сечових катетерів, формують біоплівки, що є ключовим моментом в патогенезі катетер-асоційованих інфекцій [Кондратюк В.М. і співавт., 2010]. Встановлено, що 60 % інфекцій (інфекції дихальних і сечовивідних шляхів, остеомієліти, ендокардити тощо) обумовлені сесильними формами бактерій, тобто бактеріями, що входять до складу біоплівок. Але початковим пусковим механізмом утворення біоплівок на поверхні катетерів є адгезія мікроорганізмів. Тому залежно від того, в якій кількості адгезуються мікроорганізми на поверхні катетера, залежить тривалість його безпечного утримання в сечовивідних шляхах, а отже і ефективність лікування.

Як відомо катетери, залежно від матеріалу і способу виготовлення, неоднаково фіксують на своїй зовнішній поверхні мікроорганізми, завдяки чому вони по-різному сприяють виникненню мікробних біоплівок та гнійно-запальних процесів в місцях дотику катетера до слизових оболонок сечовивідних органів людини.

Відомий метод визначення активності окремо розробленого антимікробного покриття катетерів, який полягає у цілодобовому зануренні катетерів, вкритих антимікробною речовиною, у мікробну суспензію з наступним вилученням накопичених на катетерах мікроорганізмів шляхом їх відмивання з застосуванням ультразвуку і висівом та підрахунком колоній на агаризованих середовищах (Ray Hachem, Ruth Reitzel, Agatha Bome et al. Novel antiseptic urinary catheters for prevention of urinary tract infections: correlation of in vivo and in vitro test results // Antimicrobial agents and chemotherapy. - 2009. - 53, № 12. - P. 5145-5149).

Але цей спосіб призначений лише для визначення антибактеріальної дії спеціально розробленого покриття катетерів і не може застосовуватись для оцінки здатності катетерів затримувати (адгезувати) на своїй поверхні мікроорганізми і сприяти утворенню біоплівок.

Відомий спосіб оцінки активності антимікробного покриття катетерів різними антимікробними рецептурами, який полягає у тому, що фрагменти оброблених катетерів накладались на попередньо засіяний мікроорганізмами поживний агар і по зоні пригнічення росту визначалась антимікробна дія (Кондратюк В.М. Мікробіологічне обґрунтування деяких способів профілактики гнійно-запальних ускладнень, пов'язаних з використанням катетерів: автореф. дис. канд. мед. наук: 03.00.07 // В.М. Кондратюк; Вінниц. нац. мед. ун-т ім. М.І. Пирогова МОЗ України, ДУ "Ін-т мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України". - Х., 2009. - 17 с.).

Але цей спосіб також не дає змоги визначити здатність катетера затримувати (адгезувати) на своїй поверхні мікроорганізми і формувати біоплівки, які сприяють виникненню катетер-асоційованої інфекції.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробки способу визначення ступеня прикріплення мікробних клітин до поверхні катетерів, в якому шляхом застосування нових дій, умов виконання дій та нових застосовуваних в способі визначення ступеня прикріплення мікробних клітин до поверхні катетерів речовин забезпечується можливість оцінки прикріплення мікробних клітин до поверхні різних марок катетерів.

Поставлена задача вирішується способом визначення ступеня прикріплення мікробних клітин до поверхні катетерів, що включає забезпечення контакту фрагментів катетера із агаризованим середовищем та досліджуваними мікроорганізмами.

Новим у способі є те, що внутрішню поверхню порожнини катетера блокують заповненням розплавленим парафіном, катетер асептично нарізають на фрагменти довжиною 0,8-1,2 см, які на 43-46 хвилин занурюють в суспензію досліджуваного виду мікроорганізмів визначеної концентрації потім тричі відмивають від надлишку мікробного забруднення в змінюваних ємкостях з 0,9 % розчином хлориду натрію, якому дають стекти на фільтрувальний папір, підсушують в термостаті 15 хвилин, після чого занурюють в охолоджене до 40 °С агаризоване середовище, експонують в термостаті в досліджуваних умовах, після чого мікроскопують, підраховують кількість колоній, вирослих на поверхні катетера і кількість відокремлених колоній, та по рівню визначених показників судять про ступінь прикріплення мікробних клітин до поверхні катетерів в досліджуваних умовах.

Нові ознаки способу разом з відомими забезпечують можливість оцінювати катетери по здатності накопичувати (адгезувати) на собі і утворювати біоплівку з мікроорганізмів. Це дає змогу добирати марки катетерів найбільш безпечні для лікування, а виробникам дає критерій для підвищення якості і конкурентоздатності продукції.

Спосіб ілюструється прикладами його застосування.

У наведених нижче прикладах, у випробуваних катетерах, наприклад, силіконових та латексних, спочатку блокується внутрішній просвіт розплавленим парафіном. Вимірюється діаметр катетера з точністю до 0,01см, після чого катетер нарізається на фрагменти довжиною 1 см. Паралельно вирощують культуру тестового мікроба в рідкому поживному середовищі при оптимальній температурі до максимальної концентрації, наприклад дріжджоподібного гриба виду *S.albicans*. Посівом розведень рідкої культури на агаризовані середовища визначають її мікробну концентрацію. Готують розведення культури у рідкому поживному середовищі, наприклад триптиказо-соевому бульйоні, з розрахунку  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  КУО на мл.

Для дослідження здатності до затримування (адгезії) мікробів та біоплівкоутворення фрагменти силіконових та латексних катетерів занурюють у флакони з наведеними, або іншими концентраціями тестового мікроба. Через 45 хвилин експозиції кожний фрагмент тричі промивається у 0,9 % розчині хлориду натрію, підсушується в термостаті і занурюється у чашку Петрі з розтопленим не застиглим (температура 40 °С) агаровим середовищем, наприклад - агар Сабура так, щоб було покрито всю поверхню фрагменту. Чашки ставлять в термостат на термін, достатній для виростання видимих під мікроскопом, або неозброєним оком, колоній тест-мікроба. Підраховувалось кількість колоній, щільно зв'язаних з катетером (фракція щільнозв'язаних) і окремо кількість близько розташованих, але не зв'язаних з катетером (фракція нещільнозв'язаних) (таблиця).

Таблиця

Прикріплення мікробних клітин *S. albicans* до поверхні фрагментів катетерів

Вид катетера	Концентрація мікробної зависі <i>S. albicans</i> КУО/мл	Кількість щільно-зв'язаних клітин на поверхні фрагмента катетера					Кількість нещільно-зв'язаних клітин навколо поверхні фрагмента катетера				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Силіконовий	$10^3$	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	$10^4$	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	$10^5$	3	0	1	0	1	0	2	0	0	0
	$10^6$	9	1	0	0	2	0	0	8	0	7
	$10^7$	10	20	25	35	#	0	0	0	14	18
Латексний	$10^3$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$10^4$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$10^5$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	$10^6$	0	3	0	2	0	1	0	2	1	2
	$10^7$	3	8	4	6	6	0	1	2	1	0

Примітка: # - суцільний ріст мікроколоній; 0 - відсутній ріст.

Результат визначали за формулою:  $c = \frac{n}{s}$ , де  $c$  - рівень прикріплення (адгезії) мікробів до поверхні катетера,  $n$  - кількість КУО – підрахованих щільнозв'язаних, або нещільнозв'язаних мікроорганізмів,  $s$  - площа зовнішньої поверхні фрагмента катетера. За підрахунком  $s = \pi Dh = 1,57$  де  $\pi = 3,14$ ,  $D$  (діаметр) = 0,5 см,  $h$  (довжина) = 1 см

Приклад 1 здійснення корисної моделі полягав у дослідженні фрагментів силіконових катетерів широко застосованих в медичних закладах України. Дослід показав, що на поверхні фрагментів катетера щільнозв'язана адгезія реєструється, починаючи з найменших мікробних концентрацій в суспензії. Нещільнозв'язана реєструється в меншому обсязі починаючи з концентрації  $10^5$  КУО/мл. Див. таблицю, графу "Силіконовий катетер".

Приклад 2 здійснення корисної моделі полягав у порівняльному дослідженні широко вживаних латексних катетерів. Дослідження виявило, що щільнозв'язана адгезія мікробів реєструється, починаючи з гранично високих концентрацій мікробів  $10^6$  КУО/мл і в наочні менших кількостях, ніж у силіконових катетерів. Нещільнозв'язана адгезія також спостерігається, починаючи з  $10^5$  КУО/мл. Див. таблицю, графу "Латексний катетер".

Отримані результати дають підстави вважати силіконові катетери не пристосованими для тривалої катетеризації. Вони можуть використовуватись лише для нетривалих лікувальних

процедур. В той час, як латексні катетери при тривалій катетеризації вочевидь мають істотні переваги.

5 Як показано в прикладах, а також в описі аналогів і найближчих аналогів, корисна модель, не вдаючись до випробувань на хворих не вдаючись до обробки антимікробними речовинами дає пряму кількісно виважену відповідь на те чи здатні катетери певної марки накопичувати на собі мікрофлору, в якій мірі і залежно від якої мікробної концентрації. Ця відповідь корисна лікарям для диференційованого вибору марок катетерів і має цінність для виробників, як приводу для вдосконалення технологій.

10

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення ступеня прикріплення мікробних клітин до поверхні катетерів, який включає забезпечення контакту фрагментів катетера з агаризованим середовищем та досліджуваними мікроорганізмами, який **відрізняється** тим, що внутрішню поверхню порожнини катетера 15 блокують заповненням розплавленим парафіном, катетер асептично нарізають на фрагменти довжиною 0,8-1,2 см, які на 43-46 хвилин занурюють в суспензію досліджуваного виду мікроорганізмів визначеної концентрації, потім тричі відмивають від надлишку мікробного забруднення в змінюваних ємкостях з 0,9 % розчином хлориду натрію, якому дають стекти на фільтрувальний папір, підсушують в термостаті 15 хвилин, після чого занурюють в охолоджене 20 до 40 °C агаризоване середовище, експонують в термостаті в досліджуваних умовах, після чого мікроскопують, підраховують кількість колоній, вирослих на поверхні катетера і кількість відокремлених колоній, та по рівню визначених показників судять про ступінь прикріплення мікробних клітин до поверхні катетерів в досліджуваних умовах.

---

Комп'ютерна верстка В. Мацело

---

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