

УДК 579 (092)(477.85)

С.Є. Дейнека,

І.П. Бурденюк,

В.К. Патратій

Буковинський державний медичний
університет, м. ЧернівціЗДОБУТКИ КАФЕДРИ МІКРОБІОЛОГІЇ ТА
ВІРУСОЛОГІЇ БУКОВИНСЬКОГО
ДЕРЖАВНОГО МЕДИЧНОГО
УНІВЕРСИТЕТУ В ПРОВЕДЕННІ
МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Ключові слова: здобутки, кафедра мікробіології та вірусології, Буковинський державний медичний університет, мікробіологічні дослідження.

Резюме. У статті наведено здобутки кафедри мікробіології та вірусології Буковинського державного медичного університету в проведенні мікробіологічних досліджень, а саме висвітлено будову та принцип роботи пристроїв для мікробіологічних досліджень, які запропоновані співробітниками кафедри.

Швидкий розвиток науково-технічного прогресу взагалі і біолого-медичної науки зокрема потребує від наукових працівників та викладачів вищих навчальних закладів практичного володіння останніми її досягненнями. На жаль, крім інформації з мережі Інтернет та доступних джерел літератури, для них залишається проблемним використання новітнього обладнання, пристроїв та апаратури, внаслідок її відсутності.

Часто для вирішення окремих питань при виконанні науково-дослідних робіт та в процесі навчання студентів співробітникам кафедр доводиться творчо працюючи, вносити в роботу елементи новизни і раціоналізації.

Так, для отримання агаризованих блоків з метою визначення екзотоксинів у токсогенних мікроорганізмів *in vitro* при мінімальних їх кількостях, професором Патратієм В.К. та співавторами запропоновано оригінальний, надійний у роботі пристрій, що нагадує собою диск виготовлений із органічного скла товщиною 5,0 мм і діаметром 50,0 мм (рис.1.).

У центрі диска і на вершинах умовного шестикутника радіусом 15,0 мм у просвердлені отвори діаметром 5,0-0,1 мм щільно вмонтовані сім стійких до дії лугів і кислот металеві трубки

довжиною 50,0 мм. Диск поділяє блок трубок на рівні відрізки довжиною 22,5 мм. Робочі кінці зблокованих трубок легко стерилізуються 960 етанолом перед застосуванням пристрою. Для отримання агаризованих блоків за допомогою пристрою зблоковані стерильні трубки кладуть на дно пустої стерильної чашки Петрі, розміщуючи їх у центрі чи по периферії. У горизонтальному положенні чашки в останню заливають розігрітий до 45-500 С агаризований гель в об'ємі 16,0 мл. Гель, обтікаючи блок трубок, швидко застигає при кімнатній температурі. Через 5-7 хвилин з підняттям пристрою в агаризованому блоці залишаються стандартних розмірів циліндричної форми сім робочих лунок готових для сприйняття компонентів досліджуваних матеріалів та діагностикумів.

З метою оптимізації методики з визначення антимікробної активності заново синтезованих хімічних сполук, значного скорочення часу на визначення бактерицидної дії препаратів співробітниками кафедри мікробіології та вірусології запропоновано пристрій - блок бактеріологічних петель для визначення мінімальних бактерицидних концентрацій препаратів (рис. 2).

Будова пристрою: у пустотілому металевому

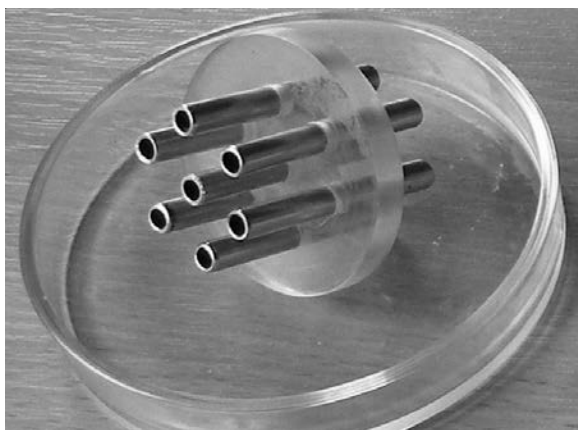


Рис. 1. Пристрій для отримання агаризованих блоків з метою визначення екзотоксинів у токсогенних мікроорганізмів *in vitro*

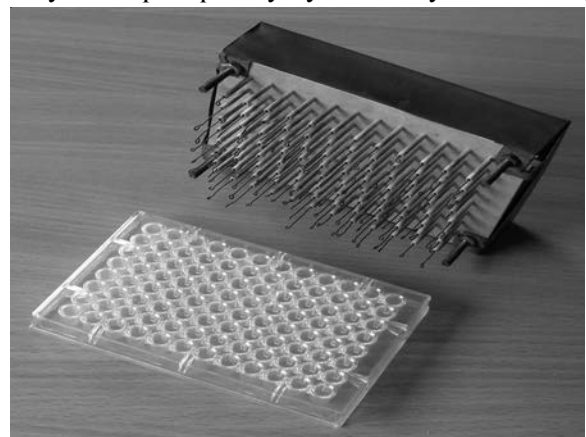


Рис. 2. Пристрій для визначення мінімальних бактерицидних концентрацій заново синтезованих хімічних сполук

паралелепіпеді розмірами 130*90*30 мм вмонтовані в направляючих трубках 96 бактеріологічних петель довжиною 30 мм виготовлених із 0,3 мм ніхромової проволочки. У складі блоку петлі вільно переміщуються в діапазоні 15 мм "вверх-вниз" під дією своєї ваги. У робочому положенні всі 96 бактеріологічних петель опускаючись по направляючих трубках зависають, займаючи свої постійні координати, що відповідають розміщенню лунок у стандартних і призначених для бактеріологічних, вірусологічних та імунологічних досліджень пластин із органічного скла. У вертикальному положенні і при зміні кута нахилу пристрою до 90° петлі залишаються зовні і легко стерилізуються 96% етанолом або ж прожарюванням у полум'ї спиртовки чи газового пальника. Після культивування тест-мікроорганізмів у планшетах із розчиненими антимікробними препаратами для визначення мінімальних бактерицидних концентрацій блок

стерильних петель занурюють у лунки планшету з живильним середовищем, досліджуваним антисептиком та певною дозою тест-мікроорганізмів. Інфіковані таким чином петлі в складі блока повторно вносять у лунки ідентичної робочої пластини з стерильним живильним середовищем або ж контактно наносять на агаризовані пластини живильних середовищ. Засіви інкубують і визначають бактерицидні концентрації препаратів за наявності помутніння ізольованих колоній мікроорганізмів чи їх накопичень.

Для постановки реакцій преципітації в гелі, визначення активності розчинних у воді антимікробних препаратів, їх поєднаної дії, а також для визначення чутливості тест-культур мікроорганізмів до дії антимікробних препаратів к.мед.н. Бурденюком І.П. запропоновано універсальний пристрій з матрицею-блоком пуансонів для виготовлення стандартних блоків в агаризованих середовищах (рис. 3).

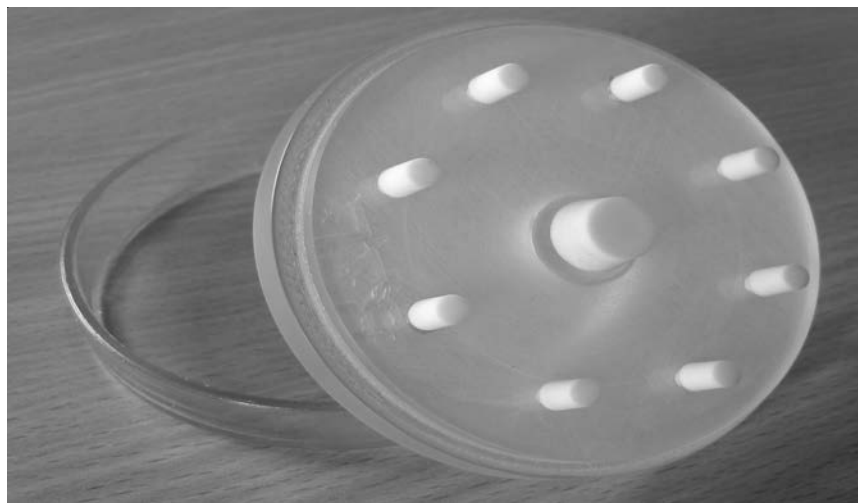


Рис. 3. Пристрій з матрицею-блок пуансонів для виготовлення стандартних блоків в агаризованих середовищах

Конструктивно пристрій являє собою блок із двох дисків, виготовлених із органічного скла різного діаметру і товщини. Основою пристрою є базовий диск діаметром 100,0 мм і товщиною 11,0 мм, що в нижній частині має виточку товщиною 3,0 мм та діаметром 93,0 мм (внутрішній діаметр стандартної бактеріологічної чашки Петрі). За допомогою центрального гвинта-ручки з різьбою m 20 основний диск з'єднується з одним із робочих дисків. У тіла робочих дисків вмонтовані вісім периферійних (діаметром 6,0 мм) та центральній (діаметром 15,0 мм) фторопластових пуансони. Базовий диск своїм 3,0 мм виступом легко опускається в чашку Петрі і займає стійке координатне положення в ній. Гвинтом-ручкою, змінюючи висоту по відношенню до внутрішньої поверхні пустої чашки Петрі робочого диска із гідрофобними пуансанами, визначають товщину

агарованого дна сформованих лунок, зводячи до нуля капілярність сформованих блоків. Стерилізацію блоку пуансонів перед його використанням проводять зануренням останніх у чашку Петрі з 96% етанолом. Для отримання агаризованих блоків з лунками в сухі стерильні чашки, що розміщені на горизонтальній поверхні, вносять 18,0 - 20,0 мл розігрітого до 45-50°С агаризованого середовища. У середовище занурюють пристрій - блок пуансонів і після охолодження при кімнатній температурі протягом 5-7 хвилин із підняттям пристрою в агаризованому середовищі залишаються сформованими та готовими до подальшої роботи дев'ять стандартних лунок. Швидка заміна робочих дисків із різною кількістю тефлонових пуансонів та різними координатами розміщення дає можливість варіабельного, до певної міри, використання пристрою.

К.мед.н. Бурденюком І.П. запропоновано очищення розчинів антибіотиків, а також збільшення концентрації мікроорганізмів з досліджуваних матеріалів за допомогою електродіалізу в оригінальній блок - камері (рис. 4).

Пристрій зблокований із двох різного об'єму циліндричної форми камер, що поділяються між собою напівпроникливою мембраною. Об'єм камер становить 150,0 та 50,0 мл. Камери виготовлені з хімічно-нейтрального матеріалу - фторопласту. З дистальних кінців камер, згідно їх внутрішньому діаметру, вмонтовані дископодібні, стійкі до дії лугів і кислот, металеві електроди з вивідними клемми для підключення до джерела електроживлення. Залежно від режиму роботи на

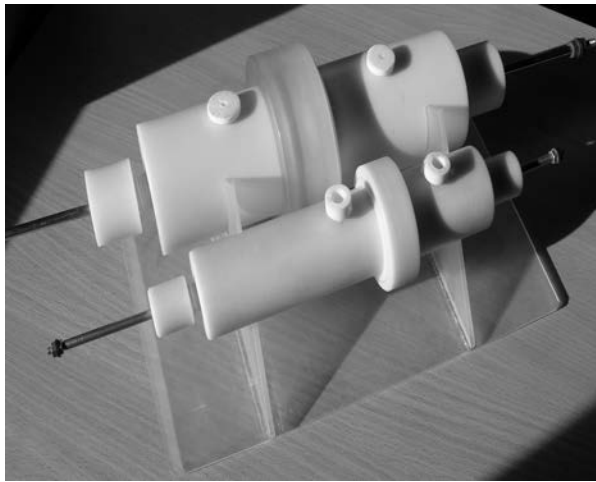


Рис. 4. Блок-камера для очищення розчинів антибіотиків, а також збільшення концентрації мікроорганізмів із досліджуваних матеріалів за допомогою електродіалізу

хворих умовно-патогенних мікроорганізмів до дії антимікробних препаратів *in vitro* к.мед.н Бурденюком І.П. запропоновано модифікацію стандартних паперових індикаторних дисків, бінарні диски та спосіб їх виготовлення (рис.5).

Для виготовлення дисків беруть звичайний фільтрований папір (краще беззольний папір типу "Фільтрак"). Після просочення його розчином антибіотика або ж антимікробного хіміопрепарату певної концентрації та шляхом штампування і наступного висушення отримують стандартні паперові диски. Штмп дозволяє отримувати диски діаметром 5,0 та 10,0 мм. Характерною особливістю у виготовленні дисків є те, що робочою частиною штампу є бінарна композиція - пуансон-матриця. При штампуванні ручним методом одночасно отримують зовнішнє кільце і внутрішній диск у співвідношенні їх площ 1:1. Виготовлені диски позначаються і зберігаються в пеніцилінових щільно закритих флаконах. При визначенні чутливості мікроорганізмів

електроди подається постійна напруга в межах 6-32 V. Форма напруги на електродах може змінюватися від постійного до прямокутного, трапецевидного чи пилкоподібного фронту імпульсу. У ході діалізу іонізовані певних розмірів і молекулярної ваги молекули фільтруються напівпроникною мембраною і переходять у нейтральну камеру. Мікроорганізми, як від'ємнозаряжені об'єкти осідають на робочій поверхні мембрани і концентруються на ній. Перенесенням мембран після електродіалізу на тверді живильні середовища з подальшим їх культивуванням в умовах термостату отримуємо ріст колоній та ідентифікуємо мікроорганізми.

Для визначення чутливості виділених від



Рис. 5. Модифікація стандартних паперових індикаторних дисків, бінарні диски

до дії антибіотиків користуються класичною методикою. Раціональність використання запропонованих дисків полягає в можливості їх отримання з розчинів існуючих антибіотиків або ж антисептичних хіміопрепаратів швидко та в необхідних кількостях. З іншого боку, змінюючи компоновку нанесених на тест-культуру в чашці Петрі дисків у складі зовнішнє кільце - диск, отримують інформацію про поєднану дію максимумно трьох препаратів.

Вказані наукові розробки дозволили суттєво покращити якість та ефективність наукових досліджень на кафедрі мікробіології та вірусології Буковинського державного медичного університету, розширити перелік нових хімічних сполук, що підлягають вивченню з огляду на їх можливу антимікробну активність, оптимізувати рутинні мікробіологічні дослідження, що широко використовуються в практиці мікробіологічних лабораторій.

**ДОСТИЖЕНИЯ КАФЕДРЫ МИКРОБИОЛОГИИ И
ВИРУСОЛОГИИ БУКОВИНСКОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА В ПРОВЕДЕНИИ
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

С.Е. Дейнека, И.П. Бурденюк, В.К. Патратий

Резюме. В статье приведены достижения кафедры микробиологии и вирусологии Буковинского государственного медицинского университета в проведении микробиологических исследований, а именно освещено строение и принцип работы устройств для микробиологических исследований, которые предложены сотрудниками кафедры.

**ACHIEVEMENTS OF THE DEPARTMENT OF
MICROBIOLOGY AND VIROLOGY OF BUKOVINIAN
STATE MEDICAL UNIVERSITY IN CARRYING OUT
MICROBIOLOGICAL INVESTIGATIONS**

S.Ye.Deineka, I.P.Burdeniuk, V.K.Patratii

Abstract. Achievements of the department of microbiology and virology of Bukovinian state medical university in carrying out microbiological investigations, namely, the structure and the principle of work of the devices for microbiological investigations, suggested by the executives of the department are elucidated in the paper.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2014. - Vol.13, №3 (49). - P.247-250.

Надійшла до редакції 15.09.2014

Рецензент – проф. І.Й. Сидорчук

© С.Е.Дейнека, І.П. Бурденюк, В.К. Патратій, 2014