ГОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Министерство здравоохранения Нижегородской области

Управление Роспотребнадзора по Нижегородской области

«Утверждаю»	«Утверждаю»	«Утверждаю»
Ректор ГОУ ВПО «НижГМА Росздрава»	Министр здравоохранения Нижегородской области	Руководитель Управления Роспотребнадзора по Нижегородской области
Б.Е.Шахов	А.В.Карцевский	Е.Ю.Петров

СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИМ СРЕДСТВАМ

(методические рекомендации)

Нижний Новгород, 2010

Способ определения чувствительности микроорганизмов к дезинфицирующим средствам разработан сотрудниками кафедры эпидемиологии и НИИ профилактической медицины Нижегородской государственной медицинской академии:

- заведующим кафедрой эпидемиологии, д.м.н., проф., чл.-корр. РАМН, В.В.ШКАРИНЫМ
- профессором кафедры эпидемиологии д.м.н. О.В.КОВАЛИШЕНОЙ
- доцентом кафедры эпидемиологии к.м.н. А.С.БЛАГОНРАВОВОЙ
- научным сотрудником НИИ профилактической медицины к.м.н. О.Н.ВОРОБЬЕВОЙ
- научным сотрудником НИИ профилактической медицины к.м.н. И.Г.АЛЕКСЕЕВОЙ

Рецензенты:

Заведующий лабораторией микробиологии и дисбиозов ФГУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им.ак. И.Н.Блохиной, д.м.н., проф. В.А.НИКИФОРОВ

Заместитель главного врача по эпидемиологическим вопросам ГУ «Нижегородская областная детская клиническая больница», к.м.н. Л.Ю.ПОСЛОВА

Список сокращений

АДВ – активно-действующее вещество

ВБИ (ИСМП) – внутрибольничные инфекции (инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи)

ДВ – действующее вещество

ДС – дезинфицирующее средство

ИМН – изделия медицинского назначения

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Устойчивость микроорганизмов к применяемым дезинфицирующим средствам (ДС) является одной из актуальных проблем здравоохранения, требующих решения, для предупреждения формирования и распространения резистентных штаммов. Устойчивость к дезинфектантам изучается уже на протяжении ряда десятков лет, установлено наличие резистентных микроорганизмов ко всем группам химических соединений ДС. Отмечена устойчивость госпитальных штаммов, отличная от тест-микроорганизмов. В медицинской литературе описаны случаи недостаточной эффективности применения ДС, вследствие чего патогенная и условно-патогенная микрофлора не только сохранялась длительное время на объектах внешней среды, но и накапливалась в готовых растворах дезинфектантов; отмечались случаи, когда контаминированные микроорганизмами растворы послужили факторами передачи внутрибольничных инфекций (ВБИ) (инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи). Это приводит к резкому снижению эффективности проводимых противоэпидемических мероприятий и способствует поддержанию высокого уровня заболеваемости. В условиях роста заболеваемости ВБИ (ИСМП), их полиэтиологичности, большого адаптационного потенциала условно-патогенных микроорганизмов, нарастания устойчивости к антимикробным препаратам назрела необходимость системного изучения устойчивости к дезинфицирующим средствам (ДС) микрофлоры медицинского учреждения и осуществления мониторинга этого показателя. Актуальность этой проблемы определяется также значительным расширением спектра применяемых ДС, отсутствием определенной стратегии и тактики применения ДС, недостаточным методическим обеспечением вопросов дезинфекции.

Изучение чувствительности (устойчивости) микробной флоры к ДС является одним из важнейших направлений эпидемиологического надзора за инфекциями в медицинских учреждениях. Данное положение определено в СанПин 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к

организациям, осуществляющим медицинскую деятельность», где в разделе II «Организация дезинфекционных и стерилизационных мероприятий» п. 1.9. указывается, что «в целях предупреждения возможного формирования резистентных к дезинфектантам штаммов микроорганизмов следует проводить мониторинг устойчивости госпитальных штаммов с последующей их ротацией…при необходимости».

Разработка способа определения чувствительности микроорганизмов к ДС вызвана необходимостью создания упрощенных методов определения чувствительности (устойчивости) микроорганизмов к дезинфицирующим средствам, доступных для проведения в бактериологических лабораториях медицинских учреждений и ФГУЗ «Центров гигиены и эпидемиологии». Определение чувствительности (устойчивости) необходимо для оптимизации дезинфекционного режима и своевременной смены дезинфектантов на более эффективные в отношении резистентной микрофлоры.

Данная методика запатентована: Патент на изобретение №2378363 Российская Федерация, «Способ определения чувствительности микроорганизмов к дезинфицирующему средству (варианты)». Авторы: Шкарин В.В., Ковалишена О.В., Благонравова А.С., Ермольева С.А., Воробьева О.Н., Алексеева И.Г., Усачева С.Ю.; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО НижГМА- №2008123115; заявл. 10.06.2008; зарег.10.01.2010, опубл. Бюл.№1 10.01.2010.

«Способ определения чувствительности микроорганизмов к дезинфицирующим средствам»:

- имеет целью оценку состояния чувствительности микроорганизмов – возбудителей инфекций, выделенных от больных, носителей, из внешней среды, к различным дезинфицирующим средствам в применяемых режимах;
- основан на оценке роста микроорганизмов на твердой питательной среде после экспозиции дезинфицирующего средства в заданном режиме; режим воздействия определяется методическими рекомендациями по применению дезинфицирующего средства;

- является количественным, упрощенным, микрометодом;
- имеет варианты определения чувствительности микроорганизма к дезинфицирующему средству при его применении в растворе или для обработки поверхности;
- позволяет выявлять состояние устойчивости микроорганизма к конкретному дезинфицирующему средству – состояние, при котором микроорганизм не погибает при воздействии данного средства в применяемом для дезинфекции режиме. Дезинфицирующее средство не оказывает на данный микроорганизм бактерицидного действия (в соответствии с принятыми критериями эффективности действия дезинфицирующего средства);
- позволяет оценивать степень чувствительности микроорганизма к дезинфицирующему средству; при наличии у микроорганизма состояния неполной чувствительности к дезинфицирующему средству оно оказывает на микроорганизм неполное бактерицидное действие или суббактерицидное действие;
- предназначен для применения в микробиологических лабораториях медицинских учреждений, ФГУЗ «Центров гигиены и эпидемиологии» в условиях рутиной практической деятельности;
- применяется для оценки состояния чувствительности к дезинфицирующим средствам патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, вызывающих различные инфекционные заболевания, включая и возбудителей внутрибольничных инфекций (инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи), кишечных инфекций, вспышечных штаммов микроорганизмов; микроорганизмов, циркулирующих в медицинских учреждениях, в том числе госпитальных штаммов;
- используется для осуществления мониторинга устойчивости микроорганизмов к дезинфектантам в медицинском учреждении как компонента эпидемиологического надзора за внутрибольничными инфекциями;

- результаты, полученные при применении данной методики, могут использоваться для коррекции дезинфекционного режима; обоснования ротации и выбора дезинфицирующих средств для профилактической и очаговой дезинфекции в медицинском учреждении; выбора средств для дезинфекции на других эпидемиологически значимых объектах и в домашних эпидемических очагах.

МИКРООРГАНИЗМЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИМ СРЕДСТВАМ

1. Клинические штаммы микроорганизмов разных таксономических групп: штаммы микроорганизмов, выделенные из клинического материала от пациентов и персонала; штаммы микроорганизмов, выделенные из смывов с объектов внешней среды.
2. Тест-штаммы микроорганизмов

В соответствии с Российскими требованиями в качестве тест-штаммов для оценки бактерицидной активности применяются Staphylococcus aureus шт. 906, Escherichia coli шт. 1257; для оценки туберкулоцидной активности Mycobacterium B5; для оценки спороцидной активности: Bacillus cereus шт.96; для оценки фунгицидной активности: Candida albicans шт.15.

В качестве тест-микроорганизмов также могут быть использованы штаммы, применяемые в соответствии с методами испытаний, утвержденными в Республике Беларусь, а также Европейскими требованиями: Staphylococcus aureus ATCC 6538, Escherichia coli ATCC 11229, Pseudomonas aeruginosa ATCC 15412, ATCC 15442, Proteus mirabilis ATCC 14153, Enterococcus hirae ATCC 10541, Candida albicans ATCC 10231/

ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Выбор питательных сред, условий и сроков культивирования определяется видовыми особенностями исследуемых микроорганизмов.

Для выращивания микроорганизмов при их подготовке к определению чувствительности к дезинфицирующим средствам, применяются питательные среды и условия, оптимальные для культивирования микроорганизмов каждого вида / рода / группы.

При проведении исследований по оценке чувствительности микроорганизмов к ДС высев производится на плотные питательные среды общего назначения. Рекомендуется использовать агар Мюллера-Хинтона,

если видовые особенности микроорганизма не требуют специальных питательных сред.

При оценке результатов исследования следует ориентироваться на сроки, необходимые для размножения и роста бактерий каждого вида, с учетом возможного бактериостатического воздействия ДС (удлинение лаг-фазы роста), что может вызвать необходимость более длительного культивирования.

НЕЙТРАЛИЗАТОРЫ

Использование химических нейтрализаторов дезинфицирующих средств является обязательным. Для нейтрализации антимикробного действия ДС из различных групп химических соединений применяют следующие нейтрализаторы:

- для средств из группы окислителей (галоидсодержащие, окислители, средства, содержащие надуксусную кислоту, озон) – 0,5 – 1% растворы тиосульфата натрия;
- для альдегид- и фенолсодержащих средств – универсальный нейтрализатор, содержащий твин-80 – 3%, сапонин – 3%, гистидин – 0,1% и цистеин – 0,1%;
- для катионных поверхностно-активных веществ – 0,1 – 1% растворы сульфонола или 0,5 – 1% растворы сульфонола с 10% обезжиренного молока.

ТЕСТ-ОБЪЕКТЫ

В качестве тест-объектов используются любые виды поверхностей, в частности:

- металл
- клеенка
- пластик
- керамическая плитка

- деревянные поверхности, окрашенные краской
- резиновые объекты
- другие

Для оценки чувствительности микроорганизмов к ДС, применяемым для дезинфекции поверхностей, в качестве тест-объектов выбираются материалы, типичные для обстановки ЛПУ (наиболее часто встречающиеся в качестве декоративно-отделочных и конструктивных материалов).

Поверхность тест-объекта расчерчивается на квадраты площадью 10х10 $см^2$, количество которых зависит от числа испытываемых штаммов. Тест-поверхности должны быть чистыми, неповрежденными, стерильными.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РАСТВОРОВ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ

Рабочим раствором ДС для исследования чувствительности микроорганизмов считается раствор в концентрации, применяемой в данном ЛПУ для целей дезинфекции в соответствии с методическими рекомендациями по применению ДС.

Для определения чувствительности микроорганизмов к ДС рабочие растворы готовят по активно-действующему веществу (АДВ) на стерильной дистиллированной воде непосредственно перед проведением исследований.

Необходимо строгое соблюдение сроков и условий хранения ДС в соответствии с требованиями производителя; периодические исследования на активность действующих веществ (ДВ).

Недопустимо использование рабочих растворов ДС, приготовленных в ЛПУ, т.к. они могут содержать заниженные или завышенные концентрации АДВ, неправильно храниться; готовятся на нестерильной водопроводной воде, что может привести к искажению результатов исследования.

ОСНОВНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИМ СРЕДСТВАМ

При проведении исследований чувствительности микроорганизмов к ДС следует соблюдать следующие требования:

- исследования проводятся в условиях микробиологической лаборатории, имеющей разрешение на работы с патогенными биологическими агентами III-IV групп патогенности;
- температура растворов испытываемых дезинфектантов должна быть в пределах от +18є до +20єС (если по условиям исследования не рекомендована другая температура), независимо от температуры окружающей среды;
- при испытании ДС, производимых в форме гранул, порошков, таблеток и др. использовать рабочие растворы только после полного растворения дезинфектанта;
- приготовление рабочих растворов ДС производить непосредственно перед проведением исследований; не допускается изучение чувствительности к рабочим растворам, приготовленным вне лаборатории (в отделениях ЛПУ);
- кратность постановки экспериментов должна быть не менее трех (при условии получения однотипных результатов); при получении неоднородных результатов – до получения однозначного ответа (три и более однотипных результата); при необходимости статистической обработки результатов – не менее восьми;
- все опыты должны сопровождаться контролями (перечислены в разделах, посвященных методике проведения исследований);
- тестируемые ДС до, во время и после испытаний должны храниться в соответствии с требованиями технических условий;

– при проведении исследований следует строго соблюдать меры индивидуальной защиты персонала (использование спецодежды, перчаток, средств защиты органов дыхания).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИМ СРЕДСТВАМ

Вариант 1 – в растворе

I. Приготовление бактериальной взвеси.

1. Культуры микроорганизмов, выращенные на плотной питательной среде в течение 18 – 24 часов, смыть стерильным изотоническим раствором хлорида натрия.

2. Микробные взвеси каждого вида довести до 5 единиц ($5X10^8$ КОЕ/мл) по стандарту мутности для оптической стандартизации бактерий (ГИСК им. Тарасевича Л.А.).

II. Проведение исследования

1. Растворы дезинфектантов в рабочей концентрации (0,9 мл) разлить в стерильные пробирки с резиновыми пробками.

2. В пробирки с растворами дезинфектантов внести по 0,1 мл микробной взвеси и перемешать встряхиванием несколько секунд.

3. Экспозиция в течение времени, указанного в методических рекомендациях по применению ДС для данной концентрации при требуемом режиме обработки.

4. После действия дезинфектанта в указанной в методических рекомендациях по использованию препарата (или необходимой для эксперимента) экспозиции, внести по 0,5 мл раствора нейтрализатора и перемешать встряхиванием.

5. Посеять на плотную питательную среду по 0,1 мл смеси и поместить чашки с посевами в термостат.

6. Параллельно с проведением опыта поставить контроли:

   1) Контроль жизнеспособности микроорганизма (посев микробной культуры на питательную среду);

   2) Контроль стерильности раствора дезинфектанта без добавления культуры (посев приготовленного раствора дезинфектанта на питательную среду);

3) Контроль полноты нейтрализации дезинфектанта (1 - к раствору ДС добавляется нейтрализатор, 2 – в полученную смесь вносится микробная суспензия, 3 – выдерживается необходимая экспозиция, 4 – высев смеси на питательную среду);

4) При наличии устойчивости – контроль чувствительности тест-штаммов микроорганизмов к тестируемым ДС в бактерицидном режиме.

III. Учет результатов

По истечении времени, необходимого для культивирования микроорганизмов данного вида, провести учет результатов по количеству выросших на чашке Петри колоний. При отсутствии роста увеличивают сроки культивирования микроорганизмов в 2 раза (так, при сроках культивирования 24 ч., оставляют в термостате до 2-х суток).

Выросшие колонии подвергают микроскопии.

Вариант 2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИМ СРЕДСТВАМ ПРИ ДЕЗИНФЕКЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ПОВЕРХНОСТЕЙ

I. Приготовление бактериальной взвеси

1. Культуры микроорганизмов, выращенные на плотной питательной среде при температуре 37°С в течение 18 – 24 часов, смыть стерильным изотоническим раствором хлорида натрия.

2. Микробные взвеси каждого вида довести до 5 единиц ($5X10^8$ КОЕ/мл) по стандарту мутности для оптической стандартизации бактерий (ГИСК им. Тарасевича Л.А.).

II. Проведение исследования

1. На стерильную поверхность тест-объекта площадью 10х10 $см^2$ дозатором нанести микробную взвесь в количестве 0,1 мл и распределить стерильным шпателем по всей площади квадрата.

2. После подсыхания микробной взвеси на поверхность мерно нанести 0,9мл раствора дезинфектанта в рабочей концентрации и распределить по поверхности квадрата стерильным шпателем. Дезинфектант применять в концентрациях, указанных в методических рекомендациях по использованию средства (или необходимых для исследования).

3. Экспозиция в течение времени, указанного в методических рекомендациях по применению ДС для данной концентрации при требуемом режиме обработки (на отдельном столе в лабораторном боксе или в ламинарном боксе класса биологической защиты II А).

4. После воздействия дезинфектанта в требуемой экспозиции, на тест-объекты дозатором нанести по 0,5 мл раствора нейтрализатора и равномерно растереть по поверхности. Экспозиция нейтрализатора – 1-3 секунды.

5. Смыв произвести сухим стерильным тампоном с поверхности тест-объекта.

6. Высев на чашки с плотной питательной средой произвести немедленно этим же тампоном (по 0,1 мл). Чашки с посевами помещаются в термостат.

6. Параллельно с проведением опыта ставят контроли:

1) Контроль жизнеспособности микроорганизма (посев микробной культуры на питательную среду);

2) Контроль дезинфектанта без добавления культуры (посев приготовленного раствора дезинфектанта на питательную среду);

3) Контроль полноты нейтрализации дезинфектанта;

4) Контроль контаминации тест-объекта (после нанесения микробной взвеси на тест-поверхность произвести с нее смыв стерильным тампоном с последующим высевом на питательную среду);

5) Контроль стерильности тест-объекта (до нанесения микробной взвеси произвести смыв стерильным тампоном с тест-поверхности с последующим высевом на питательную среду).

6) При наличии устойчивости – контроль чувствительности тест-штаммов микроорганизмов к тестируемым ДС в бактерицидном режиме.

IV. Учет результатов

По истечении времени, необходимого для культивирования микроорганизмов данного вида, провести учет результатов по количеству выросших на чашке Петри колоний. При отсутствии роста увеличивают сроки культивирования микроорганизмов в 2 раза (так, при сроках культивирования 24 ч., оставляют в термостате до 2-х суток).

Выросшие колонии подвергают микроскопии.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оценка результатов изучения чувствительности микроорганизмов к ДС проводится в зависимости от назначения дезинфектанта (таблица 1).

1. При использовании ДС для обеззараживания поверхностей в помещениях, санитарно-технического оборудования, выделений

Штамм считать *чувствительным* при отсутствии роста или при росте не более 300 КОЕ/мл, что соответствует требуемой эффективности ДС (гибель 99,99% микроорганизмов).

При росте менее 300 КОЕ/мл штамм оценивать степень чувствительности:

1. полная чувствительность – при отсутствии роста;
2. неполная чувствительность – при наличии роста:
    - 100 – 299 КОЕ/мл – дезинфектант оказывает суббактерицидное действие;
    - от 1 до 99 КОЕ/мл – неполное бактерицидное действие

Штамм считать *устойчивым* к данному дезинфектанту в изучаемом режиме при росте 300 КОЕ/мл и более.

2. При использовании ДС для обеззараживания ИМН, посуды, белья, одежды, обуви, игрушек, предметов ухода за больными

Штамм считать *чувствительным* при отсутствии роста микроорганизмов, что соответствует требуемой эффективности ДС (гибель 100% микроорганизмов).

Штамм считать *устойчивым* к данному дезинфектанту в изучаемом режиме при наличии роста микроорганизмов (1 КОЕ/мл и более).

Таблица 1

Интерпретация результатов изучения чувствительности микроорганизмов к дезинфицирующим средствам.

Характеристика чувствительности к ДС	Назначение	
	обеззараживание поверхностей в помещениях, санитарно-технического оборудования, выделений	**обеззараживание ИМН, посуды, белья, одежды, обуви, игрушек, предметов ухода за больными**
	Оценка роста микроорганизмов	
Устойчивый	рост 300 КОЕ/мл и более	Наличие роста (1 КОЕ/мл и более)
Чувствительный	от «роста нет» до 299 КОЕ/мл	Отсутствие роста («роста нет»)
Степени чувствительности*		
Полностью чувствительный (полное бактерицидное действие ДС)	роста нет	-
Неполностью чувствительный (неполное бактерицидное действие ДС)	рост 1-99 КОЕ/мл	-
Неполностью чувствительный (суббактерицидное действие ДС)	рост 100-299 КОЕ/мл	-
Нормативные показатели эффективности дезинфекции	**99,99%**	**100%**

*Степени чувствительности оцениваются при использовании ДС для обеззараживания поверхностей в помещениях, санитарно-технического оборудования, выделений

ОЦЕНКА МЕТОДИКИ

Проведена оценка разработанной методики (вариантов – в растворе и на поверхности) по следующим стандартам:

- Чувствительность
- Специфичность
- Точность теста
- Положительное прогностическое значение
- Отрицательное прогностическое значение
- Воспроизводимость

В качестве методики сравнения («Золотого стандарта») использовались «Методы определения эффективности дезинфицирующих средств, предназначенных для обеззараживания поверхностей в помещениях, санитарно-технического оборудования, транспортных средств, дорожных покрытий, других объектов окружающей среды, посуды, белья, одежды, выделений, изделий медицинского назначения, предметов ухода за больными, игрушек, антимикробных тканей, лаков, красок и др., обеззараживания воздуха» (М.Г. Шандала, Л.Г. Пантелеева, Н.Ф. Соколова и др.). Был проведен анализ результатов исследований 200 культур: оценка устойчивости данных культур к дезинфицирующим средствам согласно разработанной методике и оценка эффективности дезинфицирующего средства в отношении этих же культур согласно «золотому стандарту», при действии дезинфицирующего средства в растворе и на поверхностях (табл.2,3).

Таблица 2

Оценка методики в сравнении с «золотым стандартом» при действии дезинфицирующего средства в растворе

Результаты изучения устойчивости культур к дезинфицирующим средствам, согласно предлагаемой методики	**устойчивость микроорганизмов (рост более 300 КОЕ/мл), согласно «золотому стандарту»**		**Всего**
	есть	**нет**	
Результат положительный (устойчивость есть – рост 300 КОЕ/мл и более)	a = 75	b = 1	76
Результат отрицательный (устойчивости нет – рост до 299 КОЕ/мл)	c = 1	d= 123	124
Всего	76	124	200

Таблица 3

Оценка методики в сравнении с «золотым стандартом» при действии дезинфицирующего средства на поверхностях

Результаты изучения устойчивости культур к дезинфицирующим средствам, согласно предлагаемой методики	**устойчивость микроорганизмов (рост более 300 КОЕ/мл), согласно «золотому стандарту»**		**Всего**
	есть	**нет**	
Результат положительный (устойчивость есть – рост 300 КОЕ/мл и более)	a = 81	B = 2	83
Результат отрицательный (устойчивости нет – рост до 299 КОЕ/мл)	c = 2	d = 115	117
Всего	83	117	200

a – количество истинноположительных результатов: культуры обнаруживали рост более 300 КОЕ/мл после действия дезинфектантов при тестировании их по указанным методикам

b – количество ложноположительных результатов: культуры проявляли устойчивость согласно разработанной методике, но при тестировании их согласно «золотому стандарту», дезинфицирующие средства были эффективны в 99,99%

c - количество ложноотрицательных результатов: культуры были чувствительны при тестировании их по разработанной методике, но согласно «золотому стандарту» обнаружили значительный рост, который свидетельствовал о наличии устойчивости к ДС – более 300 КОЕ/мл

d – количество истинноотрицательных результатов отсутствие устойчивости культур при тестировании по обеим методикам

Согласно вышеприведенным данным, были вычислены следующие показатели:

1. Оценка методики при действии дезинфицирующего средства в растворе:

- чувствительность методики составила 98,7 ± 1,2%

чувствительность = $\frac{a}{(a+c)} \times 100 = \frac{75}{(75+1)} \times 100 = 98{,}7\%$

Чувствительность методики в данном случае – это процент истинно устойчивых штаммов среди всех исследуемых культур, которые позволяет выявить данный тест.

- специфичность методики составила 99,2 ± 0,8%

специфичность = $\frac{d}{(b+d)} \times 100 = \frac{123}{(123+1)} \times 100 = 99{,}2\%$

Специфичность методики – это процент истинно чувствительных штаммов среди всех исследуемых культур, которые данная методика позволяет выявить.

- точность теста 99 ± 0,9%

точность теста = $\frac{a+d}{(a+b+c+d)} \times 100 = \frac{75+123}{(75+1+1+123)} \times 100 = 99\%$

- положительное прогностическое значение составило 98,7 ± 1,2%.

Положительное прогностическое значение =

$$\frac{a}{(a+b)} \times 100 = \frac{75}{(75+1)} \times 100 = 98{,}7\%$$

Таким образом, вероятность наличия устойчивости при положительном результате методики составляет 98,7 ± 1,2%.

- отрицательное прогностическое значение составило 99,2 ± 0,8%.

Отрицательное прогностическое значение =

$$\frac{d}{(c+d)} \times 100 = \frac{123}{(123+1)} \times 100 = 99{,}2\%$$

Таким образом, вероятность полной чувствительности штаммов к дезинфицирующему средству при отрицательном результате методики составляет 99,2 ± 0,8%.

2. Оценка методики при действии дезинфицирующего средства на поверхностях:

- чувствительность методики составила 97,6 ± 2,2%

чувствительность = $\frac{a}{(a+c)} \times 100 = \frac{81}{(81+2)} \times 100 = 97{,}6\%$

Чувствительность методики в данном случае – это процент истинно устойчивых штаммов среди всех исследуемых культур, которые позволяет выявить данный тест.

- специфичность методики составила 98,3 ± 1,6%

специфичность = $\frac{d}{(b+d)} \times 100 = \frac{115}{(115+2)} \times 100 = 98{,}3\%$

Специфичность методики – это процент истинно чувствительных штаммов среди всех исследуемых культур, которые данная методика позволяет выявить.

- точность теста 98 ± 2%

точность теста = $\frac{a+d}{(a+b+c+d)} \times 100 = \frac{81+115}{(81+2+2+115)} \times 100 = 98\%$

- положительное прогностическое значение составило 97,6 ± 2,2%

Положительное прогностическое значение =

$$\frac{a}{(a+b)} \times 100 = \frac{81}{(81+2)} \times 100 = 97{,}6\%$$

Таким образом, вероятность наличия устойчивости при положительном результате методики составляет 97,6 ± 2,2%

- отрицательное прогностическое значение составило 98,3 ± 1,6%

Отрицательное прогностическое значение =

$$\frac{d}{(c+d)} \times 100 = \frac{115}{(115+2)} \times 100 = 98{,}3\%$$

Вероятность полной чувствительности штаммов к дезинфицирующему средству при отрицательном результате методики составляет 98,3 ± 1,6%.

3. Оценка воспроизводимости результатов методики:

1) Вариант – в растворе

Проанализированы результаты исследований на чувствительность к ДС в растворе 323 культур (табл.4). Было выявлено, что воспроизводимость результатов составила 95,4 ± 2,4%.

Таблица 4

Воспроизводимость результатов исследований на чувствительность микроорганизмов к ДС в растворе

Количество культур	Общее количество опытов ∑	Количество однородных результатов ∑
323	952	908
Воспроизводимость результатов = 95,4 ± 2,4%		

2) Вариант – на поверхностях

Проанализированы результаты исследований на чувствительность к ДС на различных тест-поверхностях 187 культур (табл.5). Было выявлено, что воспроизводимость результатов составила 93,9 ± 3,6%.

Таблица 5

Воспроизводимость результатов исследований на чувствительность микроорганизмов к ДС на различных тест-поверхностях

Количество культур	Общее количество опытов ∑	Количество однородных результатов ∑
187	531	499
Воспроизводимость результатов = 93,9 ± 3,6%		

Таким образом, при проведении исследований, согласно предлагаемой методике, мы получаем достоверные результаты с высокой чувствительностью при опытах в растворе и на поверхности (98,7 ± 1,6% и 97,6 ± 2,2% соответственно), высокой специфичностью (99,2 ± 1,2% и 98,3 ± 1,8% соответственно) (табл.6). Методика характеризуется также высокими значениями прогностичности (положительное прогностическое значение - 98,7 ± 1,6% и 97,6 ± 2,2% соответственно, отрицательное прогностическое значение - 99,2 ± 1,2% и 98,3 ± 1,8% соответственно), которые свидетельствуют о высокой вероятности наличия или отсутствия устойчивости у исследуемых культур при положительном или отрицательном результате постановки методики. Методика характеризуется высокими значениями воспроизводимости результатов исследований: воспроизводимость результатов при исследованиях в растворе 95,4 ± 2,4%; при исследованиях на различных тест-поверхностях - 93,9 ± 3,6%.

Таблица 6

Результаты оценки разработанной методики согласно общепринятым стандартам

Стандарты	**Вариант 1 – в растворе**	**Вариант 2 – на поверхности**
чувствительность	98,7 ± 1,2 %	97,6 ± 2,2 %
специфичность	99,2 ± 0,8 %	98,3 ± 1,6 %
точность теста	99 ± 0,9 %	98 ± 2 %
положительное прогностическое значение	98,7 ± 1,2 %	97,6 ± 2,2%
отрицательное прогностическое значение	99,2 ± 0,8 %	98,3 ± 1,6 %
воспроизводимость	95, 4 ± 2,4 %	93,9 ± 3,6 %

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Методы испытания противомикробной активности дезинфицирующих средств: временная инструкция. Утверждены заместителем министра здравоохранения, главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 24 декабря 1998г.
2. Патент на изобретение №2378363 Российская Федерация, «Способ определения чувствительности микроорганизмов к дезинфицирующему средству (варианты)». Авторы: Шкарин В.В., Ковалишена О.В., Благонравова А.С., Ермольева С.А., Воробьева О.Н., Алексеева И.Г., Усачева С.Ю.; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО НижГМА- №2008123115; заявл. 10.06.2008; зарег.10.01.2010, опубл. Бюл.№1 10.01.2010.
3. Результаты мониторинга устойчивости к дезинфектантам микрофлоры лечебно-профилактических учреждений / А.С.Благонравова, О.В.Ковалишена. – Главная медицинская сестра. – 2009. - №9. – с.79-82.
4. СанПин 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность».
5. Характеристика микробного пейзажа внешней среды родильных домов/В.В.Шкарин, А.С.Благонравова, О.В.Ковалишена и др. – Дезинфекционное дело. – 2009. - №3. – с.55-60.
6. Эпидемиологический надзор за внутрибольничными инфекциями: учебное пособие / В.В.Шкарин, О.В.Ковалишена, А.С.Благонравова. – Н.Новгород: Издательство Нижегородской гос.медицинской академии, 2009. – 124 с.
7. Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative carrier test for the evaluation of bactericidal activity for instruments used in the medical area – Test method and requirements (phase 2, step 2), 2004/
8. Chapman J.S. Disinfectant resistance mechanisms, cross-resistance and co-resistance // International Biodeterioration&Biodegradation, 2003. – V.51. – 1.4. – P.271-276.
9. Russel A.D. Bacterial adaptation and resistance to antiseptics, disinfectants and preservatives is not a new phenomenon. J. Hosp. Infect., 2004, Vol. 57, Is. 2, p. 97.
10. Russel A.D. Mechanisms of bacterial insusceptibility to biocides // Infect. Control. – 2001. – Vol.29. – P.259-261.