

УДК 636.09:57.063.8:[57.083.1+602]

СЕМКО К.Р., e-mail: semko_k@ukr.net

ПІНЧУК Н.Г., канд.вет.наук, ст. наук. сп., e-mail:nat_pinchuk@mail.ru

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів

ВИВЧЕННЯ ТЕРМОСТІЙКОСТІ СПОРОУТВОРЮЮЧИХ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ ДЛЯ ВИКОРИСТАННЯ ЇХ, ЯК БІОІНДИКАТОРІВ ЯКОСТІ ПРОЦЕСУ СТЕРИЛІЗАЦІЇ

Проведені дослідження визначення термостійкості спороутворюючих штамів мікроорганізмів Bacillus licheniformis G, Bacillus stearotherophilus B-718 ВКМ, Bacillus stearotherophilus var.calidolactis c.953, Bacillus stearotherophilus ATCC 7953, Bacillus cereus (var.mycoides) 537 та Bacillus subtilis.

Проведені ретельні перевірки термовластивостей найбільш термочутливих штамів в лабораторних умовах в процесі автоклавування та сухожарової стерилізації.

Розроблено набір біологічних індикаторів на основі визначених термовластивостей досліджуваних штамів мікроорганізмів, який визначає ефективність процесу стерилізації по відношенню до медичних та ветеринарних об'єктів.

Ключові слова: *тест-штами, мікроорганізми, індикатор, контроль, стерилізація, біотест.*

Вступ. Стерилізація – це процес, результатом якого являється повне руйнування всіх мікроорганізмів, включаючи віруси, гриби та стійкі бактеріальні спори. Вважають, що об'єкт стерильний, якщо вірогідність його не стерильності рівна або менша 10^{-6} .

Контроль якості стерилізації посідає одне із провідних місць у сучасній медичній та ветеринарній практиці.

Якість процесу стерилізації можна підтвердити лише за допомогою різних видів контролюючих тестів, які вказують, що все стерилізаційне обладнання працює в запланованому стандартному режимі, що забезпечує умови для повної стерилізації всіх виробів у стерилізаторі.

На сьогодні існує три методи моніторингу парової стерилізації: фізичний; хімічний; біологічний.

В обладнанні нового покоління наявне ще й електронне контролювання.

Фізичний метод найбільш доступний, оскільки сучасні стерилізатори мають контрольно-вимірювальні пристрої: манометри, термометри, таймери.

До позитивних переваг фізичного методу контролювання можна віднести його низьку собівартість та оперативність, до негативних – необхідність регулярної кваліфікованої сертифікації вимірювальних пристроїв.

Неточний результат такого контролювання може бути отриманий внаслідок зношення обладнання, неправильного калібрування, недоліків у технічному обслуговуванні. Проте найголовніший недолік фізичного методу- він контролює лише стан камери.

Більш поширеним у світі методом контролювання стерилізаційного процесу являється застосування хімічних індикаторів.

Хімічний метод контролювання стерилізації здійснюється за допомогою різних індикаторів, які являють собою хімічні речовини, нанесені на паперові носії. Індикаторна

фарба змінює свій колір під дією стерилізуючих агентів. За допомогою хімічних індикаторів фіксуються лише кінцеві параметри, а не сам стерилізаційний процес.

Золотим стандартом контролю стерильності являються біологічні індикатори.

В основі біологічного методу контролювання процесу стерилізації лежить загибель визначеного числа тестових стійких до дії стерилізуючого агенту мікроорганізмів.

По інформативності про перебіг процесу стерилізації результат біологічного контролю має перевагу над усіма вище згаданими методами, так як він є засобом прямого контролю і дає відповідь про загибель мікроорганізмів при стерилізації, тобто визначає ефективність процесу стерилізації.

Біологічний контроль роботи стерилізаційного обладнання за допомогою біотестів здійснюється після монтажу та ремонту обладнання, під час планового контролю в процесі експлуатації, а також під час контролю за показанням при виявленні незадовільних результатів контролю стерильності матеріалу, що був підданий стерилізації.

Під біологічним індикатором розуміють тестову систему, яка містить життєздатні мікроорганізми, які забезпечують визначену чутливість до заданого процесу стерилізації.

Метою даної роботи було вивчити термостійкість спор тест-штамів *Bacillus licheniformis* G (для контролю повітряних стерилізаторів), *Bacillus stearothermophilus* B-718 ВКМ, *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* c.953, *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953, *Bacillus cereus* (var. *mycoides*) 537 та *Bacillus subtilis* (для контролю парових стерилізаторів) та розробити систему біологічних індикаторів на основі спороутворюючих мікроорганізмів.

Матеріали і методи досліджень. Завданням методу стерилізації є досягнення стерильності обробляемого матеріалу. Стерильність у відношенні медичних та ветеринарних об'єктів означає, що вони повинні бути вільні від будь-яких життєздатних форм мікроорганізмів.

Для проведення досліджень щодо розробки біологічних індикаторів для контролювання ефективності стерилізаційного процесу та функціонування стерилізуючого обладнання нами були визначені такі напрямки:

1. Вивчення термостійкості спор здійснювали шляхом піддавання суспензії спор тест-штамів впливу температур (104⁰С, 112⁰С та 121⁰С, 127⁰С, 160-180⁰С) за різних експозицій в автоклаві та повітряному стерилізаторі. Рівень збереження життєздатності спор визначали шляхом висіву десятикратних розведень 10⁻⁵, 10⁻⁶ на м'ясо-пептонний агар (МПА) з наступним підрахунком кількості КУО (концентрації живих клітин після автоклавування).

2. Оптимізація складових набору біологічних індикаторів для оцінки ефективності парових та повітряних стерилізаторів з використанням різних температурних режимів та експозицій (див. таблицю 1).

3. Підготовка нормативно-технічної документації на засоби стандартизації технологічних процесів стерилізації та проведення процедури реєстрації в Україні.

4. Випробування на державних біологічних підприємствах засобів стандартизації технологічних процесів стерилізації та оцінка ефективності їх використання.

Результати досліджень та їх обговорення. На сьогодні як в Україні, так і за кордоном розроблено і запропоновано широкий спектр біологічних індикаторів для контролю стерилізації. Це Attest 1261 для контролю процесу парової стерилізації за температури 132 °С та Attest 1262 за температури 121 °С- виробництва «ЗМ» Canada Company, БІК-ІЛЦ виробництва «ВІНАР» Росія, БІКСТ «МЕДТЕСТ» для контролю процесів парової та повітряної стерилізації, в яких використовують культури тест-штамів *Bacillus subtilis* та *Bacillus stearothermophilus* та інші. Перед нами стояла задача створити вітчизняний економічно вигідний та простий у використанні набір біологічних індикаторів.

Вивчення термостійкості спор тест-штамів проводили за різних температурних режимів та експозицій, а саме *Bacillus licheniformis* G (для контролю повітряних стерилізаторів) – за 160-180°C – (30± 2)хв та (60±2) хв, *Bacillus stearotherophilus* B-718 ВКМ, *Bacillus stearotherophilus* var.*calidolactis* с.953, *Bacillus stearotherophilus* ATCC 7953, *Bacillus cereus* (var.*mycooides*) 537 та *Bacillus subtilis* (для контролю парових стерилізаторів) - 104 °С-30 хв та 60 хв, 112 °С-30 хв та 60 хв, 121 °С- 5 хв , 10 хв, 15 хв, 20 хв, 30 хв, 127 °С- 5 хв', 127 °С- 10 хв', 127 °С- 15 хв'.

Результати термостійкості спор вище згаданих тест-штамів наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Визначення термостійкості спор тест-штамів за різних температурних режимів й експозицій при автоклавуванні та повітряної стерилізації

Температурний режим та експозиція при автоклавуванні (хвилини)	Концентрація живих клітин, КУО/см ³						
	1	2	3	4	5	6	7
Вихідна суспензія	2,9x10 ⁸ ±0,1	1,4x10 ⁸ ±0,1	1,4x10 ⁸ ±0,1	3,7 x 10 ⁸ ±0,1	3,7x10 ⁸ ±0,1	1,7x10 ⁸ ±0,1	
Назва штаму	<i>Bacillus stearotherm. B-718 ВКМ</i>	<i>Bacillus stearotherm. var.calidolactis с. 953</i>	<i>Bacillus stearothermophilus</i> ATCC 7953	<i>Bacillus cereus</i> (var. <i>mycooides</i>) 537	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus licheniformis</i> G	
104 ⁰ С-30	2,5±0,1x10 ⁸	2, ±0,1x10 ⁷	2,6±0,1x10 ⁸	2,2±0,1x10 ⁷	2,7±0,1x10 ⁷	-	
104 ⁰ С-60	1,9±0,1x10 ⁸	0,5±0,1 x10 ⁷	2,5±0,1x10 ⁸	1,0±0,1x10 ⁵	1,5±0,1x10 ⁵	-	
112 ⁰ С-30	2,0±0,1x10 ⁸	3,4±0,1 x10 ⁶	2,0±0,1x10 ⁸	2,6±0,1x10 ³	2,8±0,1x10 ³	-	
112 ⁰ С-60'	0,5±0,1x10 ⁷	0,8±0,1 x10 ³	1,5±0,1x10 ⁸	ріст відсутній	ріст відсутній	-	
121 ⁰ С-5	3,7±0,1 x10 ³	0,5±0,1 x10 ⁶	2,1±0,1x10 ⁶	не досліджували	не досліджували	-	
121 ⁰ С-10	1,5±0,1 x10 ³	ріст відсутній	4,9±0,1x10 ⁴	не досліджували	не досліджували	-	
121 ⁰ С-15	ріст відсутній	ріст відсутній	2,6±0,1x10 ²	не досліджували	не досліджували	-	
121 ⁰ С-20	ріст відсутній	ріст відсутній	не досліджували	не досліджували	не досліджували	-	
121 ⁰ С-30	ріст відсутній	ріст відсутній	не досліджували	не досліджували	не досліджували	-	
127 ⁰ С-5	не досліджували	не досліджували	не досліджували	не досліджували	не досліджували	-	
127 ⁰ С-10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	не досліджували	не досліджували	-	
127 ⁰ С-15	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	2,1±0,1x10 ²	
160-180 ⁰ С-(30±2)	не досліджували	не досліджували	не досліджували	не досліджували	не досліджували	ріст відсутній	
160-180 ⁰ С-(60±2)	не досліджували	не досліджували	не досліджували	не досліджували	не досліджували	ріст відсутній	

Найбільш стійкими до дії температури виявилися тест-штами *Bacillus stearothermophilus* B-718 ВКМ, *Bacillus licheniformis* та *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953, концентрація живих клітин яких після автоклавування за температури 121⁰ С протягом 10 хвилин становила 1,5±0,1x10³, 121⁰ С 15 хвилин 2,6±0,1x10², за температури 127⁰ С 15 хвилин 2,1±0,1x10²- відповідно. А найменш термостійкими були *Bacillus cereus* (var.mycoides) 537 та *Bacillus subtilis*, оскільки за температури 112⁰С 60 хвилин ріст клітин був відсутній у обох штамів.

Виходячи з отриманих результатів щодо термостійкості спор вище зазначених тест-штамів мікроорганізмів було відібрано штами у біологічні індикатори.

Проводили вивчення термостійкості рН-індикаторів, які входять у індикаторне поживне середовище при дослідженні термостійкості штаму *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953.

Отже, за результатами проведених досліджень для подальших випробувань нами були відібрані найстійкіші до впливу температури **рН-індикатори** (алізарин червоний, феноловий червоний, нейтральний червоний, метиловий фіолетовий, конго червоний), оскільки після автоклавування за різної експозиції колір їх не змінювався.

Таблиця 2

**Результати термостійкості рН-індикаторів штаму
Bacillus stearothermophilus ATCC 7953**

Назва рН-індикатору	Температурні режими автоклавування			
	Контроль (без автоклавування)	121 ⁰ С-5 хви-лин	121 ⁰ С-10 хви-лин	121 ⁰ С-15 хви-лин
1	2	3	4	5
Бромкрезоловий зелений	зелено-коричневий	яскраво-зелений	брильянтовий зелений	темно-коричневий (пластівці)
Бромкрезоловий-пурпурний	колір цегли (осад)	колір розчину йоду	колір розчину йоду	колір розчину йоду
Бромтімоловий синій	коричневий	коричневий	коричневий з темно-зеленим відтінком	червоний (густий)
Конго червоний	червоний	червоний	червоний	червоний
Крезоловий червоний	темно-оранжевий	темно-оранжевий	темно-оранжевий	червоно-оранжевий
Метиловий оранжевий	темно-оранжевий	темно-оранжевий	темно-оранжевий	коричневий (густий)
Метиловий фіолетовий	фіолетовий	фіолетовий	фіолетовий	фіолетовий
Нейтральний червоний	темно-бордовий	темно-бордовий	темно-бордовий	темно-бордовий
Феноловий червоний	яскраво-червоний	яскраво-червоний	яскраво-червоний	яскраво-червоний
Резазурин	фіолетовий	бузковий	бузковий	бузковий
Лакмоїд	сіро-зелений	темно-синій	темно-синій	темно-синій
Фенолфталеїн	світло-рожевий	темно-рожевий	темно-рожевий	бузково-рожевий
Алізарин червоний	колір розчину йоду	колір розчину йоду	колір розчину йоду	колір розчину йоду

Отримані результати стали підставою для створення набору біологічних індикаторів для оцінки ефективності парових та повітряних стерилізаторів з використанням різних температурних режимів.

Спочатку визначали титр життєздатних спор. Для цього стерильною мірною піпеткою $0,1 \text{ см}^3$ вихідної суспензії переносили в пробірку, яка містить $0,9 \text{ см}^3$ стерильної дистильованої води (розведення 10^1). Таким чином, послідовно одержували десятикратні розведення вихідної суспензії. З трьох попередніх десятикратних розведень вихідної суспензії (межа розведення залежить від титру одержаних спор – від 10^5 до 10^7) висівали по $0,1 \text{ см}^3$ на три чашки Петрі з м'ясо-пептонним агаром. Чашки Петрі інкубували за температури $(55 \pm 0,1)^\circ\text{C}$ та $(37 \pm 0,1)^\circ\text{C}$ протягом 48 годин, після чого проводили підрахунок вирослих колоній (КУО/см³).

Титр життєздатних спор в суспензії визначали як середнє арифметичне число колоній з урахуванням розведення вихідної суспензії та об'єму проби для посіву.

В якості носіїв тест-культури *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953, *Bacillus stearothermophilus* B-718 ВКМ та *Bacillus licheniformis* G використовували скляні флакони ємкістю 5 і 10 см^3 , які закупорювали гумовими пробками. З фільтровального паперу вирізали смужки довжиною 25 мм, розкладали в скляні флакони ємкістю 10 см^3 та закупорювали гумовими пробками. Підготовлені носії стерилізували автоклавуванням за температури $(120 \pm 2)^\circ\text{C}$ 30 хвилин.

Стерильні носії за допомогою піпеткового дозатора обсіменяли суспензією спор тест-культур *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953, *Bacillus stearothermophilus* B-718 ВКМ концентрацією $1 \cdot 10^5 - 5 \cdot 10^6$ КУО/см³ на носій та *Bacillus licheniformis* G концентрацією $1 \cdot 10^5 - 5 \cdot 10^5$ КУО/см³ на носій. На кожен носій наносили $0,04 \text{ см}^3$ суспензії спор в дистильованій воді визначеним титром спор в 1 см^3 .

Паралельно готували флакони з позитивним контролем з біологічним індикатором.

Флакони з носіями спор, які містили тест-культури *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953, *Bacillus stearothermophilus* B-718 ВКМ та *Bacillus licheniformis* G та з позитивним контролем висушували в термостаті за температури $(37 \pm 0,1)^\circ\text{C}$ 20-24 години.

«Набір біологічних індикаторів» складається з 10-ти флаконів: індикаторного поживного середовища, до складу якого входить м'ясо-пептонний бульйон (МПБ), 0,006% нейтрального червоного, 0,5% глюкози, 0,1% DL-аланіну - 2 флаконів вмістом 4 см^3 кожний;

спорової тест-культури *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953 або *Bacillus stearothermophilus* B-718 ВКМ з концентрацією не менше $1 \times 10^5 - 5 \times 10^6$ КУО/см³, яка нанесена на паперову смужку, що вкладена в скляний пеніциліновий (інсуліновий) флакон – 6 флаконів;

або спорової тест-культури *Bacillus licheniformis* G з концентрацією не менше $1 \times 10^5 - 5 \times 10^5$ КУО/см³, яка нанесена на паперову смужку, що вкладена в скляний пеніциліновий (інсуліновий) флакон – 6 флаконів;

позитивного контролю (паперові смужки з спорами тест-штамів *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953 або *Bacillus stearothermophilus* B-718 ВКМ та *Bacillus licheniformis* G) з концентрацією не менше $1 \times 10^5 - 5 \times 10^5$ КУО/см³ – 2 флакони.

Набір застосовується для контролю ефективності стерилізаційного процесу та функціонування стерилізаційного обладнання.

Спосіб застосування біологічних індикаторів:

Пронумеровані флакони з набору біологічних індикаторів в стерилізаторах круглої форми (вертикальні та горизонтальні) розміщують не менше як в 5-ти точках по осьовій, в стерилізаторах прямокутної форми також не менше як в 5-ти точках: біля дверцят, по кутах та

посередині кожної полицки (поза виробами, що стерилизувалися та всередині стерилізаційних коробок і упаковок).

Після завершення парової або повітряної стерилізації флакони зі споровими носіями виймають з робочої камери та проводять бактеріологічні дослідження. У флакони додають в умовах асептики по 1 см³ поживного середовища з індикатором та інкубують в термостаті за температури (55±0,5)°C та (37±0,5)°C 48 годин.

В якості контролю використовують біологічні індикатори, що не піддалися стерилізації, до яких також додають поживне середовище і інкубують разом в термостаті за температури (55±0,5)°C та (37±0,5)°C 48 годин.

Колір вмісту флаконів з біотестами, що пройшли стерилізацію, після інкубації не змінюється, тоді як контрольні біотести, які не піддалися стерилізації, змінюють колір середовища з рожево-червоного на жовтий або жовтувато-рожевий.

За наявності росту тест-штаму хоча б у одному флаконі та виявленні у мазку тест-культури *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953 або *Bacillus stearothermophilus* B-718 ВКМ та *Bacillus licheniformis* G, біологічний контроль роботи стерилізатора повторюють.

Після в'яснення та усуненні причин незадовільної роботи стерилізатора й отримання повторно задовільних результатів бактеріологічного контролю дають дозвіл проводити стерилізацію на даному апараті.

Кожен біотест може бути використаний тільки одноразово.

Таблиця 3

Режими використання біоіндикаторів

№	Біоіндикатори на основі:	Режими стерилізації	Режими інкубації біоіндикаторів після стерилізації	КУО/см ³
1	<i>Bacillus stearothermophilus</i> ВКМ В-718	(112±1)°C – (180±5) хв (0,5 атм)	(55±0,5) °C 48 год	1x10 ⁵ -5x10 ⁶
		(121±1)°C – (20±5) хв (1,0 атм)		
2	<i>Bacillus stearothermophilus</i> ATCC 7953	(126±1)°C – (10±2) хв (1,5 атм)		1x10 ⁵ -5x10 ⁶
		(132±1)°C – (5±2) хв (2,2 атм)		
3	<i>Bacillus licheniformis</i> штам G	160°C – 180°C – (60±2) хв	(37±0,5)°C 48 год	1x10 ⁵ -5x10 ⁵

Примітка: біоіндикатори № 1 і № 2 використовують для перевірки роботи парових стерилізаторів, № 3 – для контролю повітряних стерилізаторів.

Індикатори вимагають дотримання особливих заходів безпеки. Невикористані флакони з біоіндикаторами, термін придатності яких завершився, та залишки після проведення бактеріологічного дослідження знешкоджують автоклавуванням за умов 1,5 атм протягом 1,5 годин двічі.

Гарантійний термін зберігання – 24 місяці при дотриманні умов зберігання і транспортування.

Висновки та перспективи подальших досліджень:

1. Наведені дані за результатами визначення термостабільності штамів *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953 або *Bacillus stearothermophilus* B-718 ВКМ та *Bacillus*

licheniformis G показали можливість їх використання у наборах індикаторів для контролю парової та сухожарової стерилізації.

2. Унікальність розробленого «Набору біологічних індикаторів» полягає в тому, що вони прості в використанні і при інтерпретації результатів, якісні, сучасні і доступні, не потребують спеціального лабораторного і аналітичного обладнання, компактні, зручні при зберіганні і використанні, відповідають міжнародним вимогам щодо їх якості (ДСТУ ISO 11138-1-2003, ДСТУ ISO 11138-3-2003).

3. Використання біологічних індикаторів дає більш інформативний результат прямого контролю ефективності процесу стерилізації через загибель мікроорганізмів.

4. Набори біологічних індикаторів пройшли практичне випробування на державних біологічних фабриках, в лабораторіях ветеринарної медицини та медичних установах для контролю ефективності термічної стерилізації та функціонування стерилізуючого обладнання при стерилізації біологічних препаратів.

5. Біологічний індикатор – це готовий до застосування інокульований тест-культурою носій в первинній упаковці, що забезпечує певну стійкість до конкретного режиму стерилізації. Носієм являється матеріал, на який нанесена певна концентрація тест-мікроорганізмів, а первинною упаковкою є система, яка попереджує інокульований носій від пошкодження та контамінації, але не перешкоджає проникненню стерилізуючих агентів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аркадьєва З.А. Факторы, влияющие на жизнеспособность и свойства микроорганизмов при различных методах хранения /З.А.Аркадьєва // Научн. докл. высшей школы. Биолог. науки.–1983. – № 4. –С.93–105.
2. Герхардт Ф. Методы общей бактериологии в 3 т. //Ф. Герхардт, -Москва: Мир, 1983. – 1 т.– 181-187 с.
3. Дмитрієвський Д.І. Технологія лікарських препаратів промислового виробництва // Д.І. Дмитрієвський.-Вінниця: НОВА КНИГА, 2008.- 280 с.
4. Маслак А.А., Емельянов Н.И., Алкеев Н.В. Научные основы технологии промышленного производства ветеринарных биологических препаратов / А.А. Маслак, Н.И Емельянов, Н.В. Алкеев // Тез. докл. третьей Всесоюзной конференции. –Москва: ВНИТИБП. –1987. – С.86-88.
5. Оказова З.П., Автаева Т.А. Использование микроорганизмов в качестве индикаторов загрязнения окружающей среды /З.П Оказова, Т.А. Автаева //Современные проблемы науки и образования. -2015.- № 5.
6. Пименова М.Н. Руководство к практическим занятиям по микробиологии/ М.Н Пименова ., Н.Н. Гречушкина , Л.Г. Азова,. – Изд. Московского. ун-та, 1971. – 220 с.
7. Приліпко Т.М. Обґрунтування режимних параметрів процесу стерилізації паштетів із м'яса індиків / Т.М. Приліпко, В.М. Куций , В.П. Янович //Вінницький національний аграрний університет. -. Вінниця -2014.
8. МУК 4.2.1036-01 Контроль режимов стерилизации растворов лекарственных средств с помощью биологических индикаторов ИБКсл-01.
9. Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines / Office International desepisootic (OIE), Ch. 1.1.4 Tests for sterility and freedom from contamination of biologicals materials. – 2000. –Р. 24–31.
10. ДСТУ ISO 11138-1-2003 Стерилізація виробів медичного призначення. Біологічні індикатори. Частина 1. Загальні положення (ISO 11138-1:1994, IDT)-[Чинний від 2006 -31 -03].-К. Держспоживстандарт України, 2006 .(Національний стандарт України).
11. ДСТУ ISO 11138-3-2003 Стерилізація виробів медичного призначення. Біологічні індикатори. Частина 3. Біологічні індикатори для стерилізування вологим теплом (ISO 11138-3:1995, IDT))-[Чинний від 2006 -31 -03].- К. Держспоживстандарт України, 2006 .(Національний стандарт України).

ИЗУЧЕНИЕ ТЕРМОСТОЙКОСТИ СПОРООБРАЗУЮЩИХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИХ, КАК БИОИНДИКАТОРОВ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА СТЕРИЛИЗАЦИИ / Семко К.Р., Пинчук Н.Г.

Проведены исследования по определению термосвойств спорообразующих штаммов микроорганизмов Bacillus licheniformis G, Bacillus stearothermophilus B-718 ВКМ, Bacillus stearothermophilus var.calidolactis c.953, Bacillus stearothermophilus ATCC 7953, Bacillus cereus (var.mycoides) 537 и Bacillus subtilis.

Проведены тщательные проверки термосвойств наиболее термочувствительных штаммов в лабораторных условиях в процессе автоклавирования и сухожаровой стерилизации.

Разработан «Набор биологических индикаторов» на основе определенных термосвойств исследуемых штаммов микроорганизмов, который определяет эффективность процесса стерилизации по отношению к медицинским и ветеринарным объектам.

Ключевые слова: *тест-штаммы, микроорганизмы, индикатор, контроль, стерилизация, биотест.*

STUDY OF THE THERMAL STABILITY OF SPORE-FORMING STRAINS OF MICROORGANISMS FOR THEIR USE AS BIOINDICATORS OF THE QUALITY OF STERILIZATION PROCESS / K.R. Semko, N.G. Pinchuk

Introduction. *Quality control of sterilization is on of the leading places in modern medical and veterinary practice.*

The quality of the sterilization process can only be confirmed through various types of control tests indicators, which indicate that all sterilization equipment is operating in the planned standard mode.

The goal of the work. *Was to develop a system of biological indicators based on spore-forming microorganisms.*

Materials and methods. *The purpose of the sterilization method is to active the sterility of the treated materials.*

A thorough inspections of thermal properties of the most heat-sensitive strains under laboratory conditions in the process of autoclaving and hot-sterilization.

Results of research and discussion. *We conducted research on determination of thermal properties of spore-forming strains microorganisms Bacillus licheniformis G, Bacillus stearothermophilus B-718 ВКМ, Bacillus stearothermophilus var.calidolactis c.953, Bacillus stearothermophilus ATCC 7953, Bacillus cereus (var.mycoides) 537 and Bacillus subtilis.*

Application of the developed «Set of biological indicators» based on specific thermoplasticity of certain strain of microorganisms, determines efficiency of process of sterilization process of medical and veterinary objects.

Conclusions and prospects for further research.

1. The data presented on the results of the determination of the thermal stability of strains Bacillus stearothermophilus ATCC 7953, Bacillus stearothermophilus B-718 ВКМ or Bacillus licheniformis G showed the possibility use in sets of indicators for steam and dry-sterilization.

2. The uniqueness of the developed «Set of biological indicators» is that they are easy to use, high-quality, modern and available, do not require special laboratory and analytical equipment, compact, do not require compliance with special safety measures, meet the international requirements regarding their quality.

3. The use of biological indicators gives more informative result of direct control of the effectiveness of sterilization through the death of microorganisms.

4. Sets of biological indicators were tested at state biological factories, laboratories of veterinary medicine and medical institutions.

Keywords: *strains, microorganisms, indicator, control, sterilization, biotest.*

REFERENCES

1. Arkad'eva Z.A. (1983), Faktory, vlijajushhie na zhiznesposobnost' i svojstva mikroorganizmov pri razlichnyh metodah hranenija [Factors influencing the viability and properties of microorganisms under different storage method]. Nauchn. dokl. vysshej shkoly. Biolog. nauki. – *Scientific sciences higher school. Biological sciences.*, 4, 93-105 [in Russian].
2. Gerhardt F. (1983),. Metody obshh ej bakteriologii v 3 t. [*Methods of general bacteriology*]. M.: Mir,1, 181-187 [in Russian].
3. Dmytrijevs'kyj D.I. (2008), Tehnologija likars'kyh preparativ promyslovogo vyrobnyctva [Technology of medicinal products of industrial production]. *Vinnitsa, NEW BOOK* [in Ukrainian]. .
4. Maslak A.A., Emel'janov N.I. & Alkeev N.V.. (1987). Nauchnye osnovy tehnologii promyshlennogo proizvodstva veterinarnyh biologicheskikh preparatov [Scientific bases of technology of industrial production of veterinary biological preparations]. *Tez.doc Third All-Union Conference. M.VNITIBP*, 86-88 [in Russian].
5. Okazova Z.P., Avtaeva T.A. (2015), Ispol'zovanie mikroorganizmov v kachestve indikatorov zagrijaznenija okruzhajushhej sredy [Use of microorganisms as indicators of environment pollution], *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija. – Modern problems of science and education*, 5 [in Russian].
6. Pimenova M.N., Grechushkina N.N., Azova L.G. (1971), Rukovodstvo k prakticheskim zanjatijam po mikrobiologii – Guide to practical lessons in microbiology, *Ex.Mosk.un-ty* [in Russian].
7. Prylipko T.M., Kutsiy V.M. Yanovich V.P. (2014), Obgruntuvannja rezhymnyh parametriv procesu sterylizacii' pashtetiv iz m'jasa indykv [Substantiation of the regime params of the process of sterilization on the pate of turkey meat], *Vinnitsa, Vinnitsa National Agrarian University* [in Ukrainian].
8. MUK 4.2.1036-01 Kontrol' rezhimov sterilizacii rastvorov lekarstvennyh sredstv s pomoshh'ju biologicheskikh indikatorov IBKsl-01 [Control of sterilization regimen of drug solutions with the help of biological indicators] (2001) [in Russian].
9. Ch. 1.1.4, [Tests for sterility and freedom from contamination of biologicals materials (2000). *Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines* , *Office International desepisootic (OIE)*]. 24–31 [in English].
10. Cterylicacija vyrobiv medychnogo pryznachennja. Biologichni indykatory. Chastyna 1. Zagal'ni polozhennja [Sterilization of medical products, Biological indicators. General Provisions] (2006) *DSTU ISO 11138-1-2003 (ISO 11138-1:1994, IDT)*, from 31 Martz 2006. Kiyev: Gospotrebstandart Ukrainy [in Ukrainian].
11. Cterylicacija vyrobiv medychnogo pryznachennja. Biologichni indykatory. Chastyna 3. Biologichni indykatory dlja sterylizuvannja vologym teplom [Sterilization of medical products. Biological indicators. General Provisions. Biological indicators for wet steam sterilization] *DSTU ISO 11138-1-2003 (ISO 11138-3:1995, IDT)*, from 31 Martz 2006. Kiyev: Gospotrebstandart Ukrainy [in Ukrainian].