



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **118831**

(13) **U**

(51) МПК

C12N 1/02 (2006.01)

C12N 1/36 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2017 02799	(72) Винахідник(и): Кухтин Микола Дмитрович (UA), Салата Володимир Зіновійович (UA), Перкій Юрій Богданович (UA)
(22) Дата подання заявки:	27.03.2017	(73) Власник(и): ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДОСЛІДНА СТАНЦІЯ ІНСТИТУТУ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ, вул. Тролейбусна, 12, м. Тернопіль, 46027 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	28.08.2017	(74) Представник: Кухтин Микола Дмитрович
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	28.08.2017, Бюл.№ 16	

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ АДАПТАЦІЇ МІКРООРГАНІЗМІВ ДО ДЕЗІНФІКУЮЧИХ ЗАСОБІВ У ХАРЧОВІЙ ПРОМИСЛОВOSTІ

(57) Реферат:

Спосіб визначення адаптації мікроорганізмів до дезінфікуючих засобів у харчовій промисловості включає готування розведень дезінфікуючого засобу у м'ясопептонному бульйоні (МПБ), контакт розведень засобу з тест-мікроорганізмами (*E. coli*, *P. aureginosa*, *S. aureus*, *E. fecalis* або будь-які інші) протягом 48 год. та відсів на поживні середовища. Готують суббактерицидну концентрацію дезінфікуючого засобу у МПБ, вирощують у ньому тест-культури мікроорганізмів, і при кожному наступному пересіві вирощених культур концентрацію засобу вносять у МПБ, поступово збільшують.

UA 118831 U

Корисна модель належить до санітарії і гігієни - для визначення ефективності тривалого застосування дезінфікуючих засобів під час санітарної обробки технологічного устаткування та об'єктів навколишнього середовища у харчовій промисловості.

Відомі способи визначення ефективності дезінфікуючих засобів у харчовій промисловості ґрунтуються на визначенні мінімальної бактерицидної концентрації розчинів у суспензійному методі, який полягає у готуванні розведень дезінфікуючого засобу у МПБ, внесення у кожне розведення тест-культури мікроорганізмів, інкубація протягом певного часу та відсів на поживне середовище для встановлення росту культури і визначення мінімальної бактерицидної концентрації [Методика визначення бактериостатичної та бактерицидної концентрації антибактеріальних препаратів методом серійних розведень / [Косенко М.В., Авдосьева І.К., Рожко М.С. та ін.]. - Київ: Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, 2003. - 6 с.]. Або готують розведення деззасобу на стерильній дистильованій воді, вносять у них тест-культури мікроорганізмів, витримують протягом 2-10-30-60-120 хв. і відсівають на поживне середовище для визначення бактерицидної концентрації [Рекомендації щодо санітарно-мікробіологічного дослідження змивів з поверхонь тест-об'єктів та об'єктів ветеринарного нагляду і контролю / [О.М. Якубчак, В.І. Хоменко, Т.О. Бондар та ін.]. - К.: Видавничий центр НАУ, 2005. - 18 с.].

Мінімальна концентрація розчину засобу при якій був відсутній ріст мікроорганізмів у пробірках з рідким живильним середовищем є мінімальною інгібуючою концентрацією дезінфікуючого засобу. Мінімальна концентрація розчину засобу при якій був відсутній ріст мікроорганізмів на чашках Петрі після пересіву, є мінімальною бактерицидною концентрацією засобу.

Суббактерицидна концентрація - це зменшена в 10 разів мінімальна бактерицидна концентрація засобу [Оцінка придатності та ефективності мийних, дезінфікуючих і мийно-дезінфікуючих засобів для санітарної обробки доїльного устаткування та молочного інвентарю (Методичні рекомендації) / Ю.Б. Перкій, Я.Й. Крижанівський, Є.М. Кривохижа, Н.Ф. Моткалюк та ін. // Затвердженні науково-технічною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України, протокол № 1 від 21 грудня 2012 року. - 2012. - 68 с.].

Недоліком цих способів є те, що вони визначають мінімальну бактерицидну концентрацію або бактерицидне розведення дезінфікуючих засобів протягом певного часу дії дезінфектанту. У той же час, вони не враховують процес адаптації мікроорганізмів до дезінфікуючих засобів. Тому, часто в лабораторних і виробничих умовах дезінфікуючі засоби проявляють добру бактерицидну дію на мікрофлору, однак, вона проявляється тільки протягом короткого періоду часу застосування цих засобів на виробництві 3-6 місяців. Надалі мікрофлора пристосовується до дії цих деззасобів і з технологічного обладнання або об'єктів навколишнього середовища виділяється значна кількість стійкої мікрофлори.

В основу корисної моделі поставлена задача підвищити ефективність санітарної обробки технологічного обладнання і об'єктів навколишнього середовища на підприємствах харчової промисловості шляхом визначення адаптації мікроорганізмів до дезінфікуючих засобів.

Поставлена задача вирішується тим, що готують суббактерицидні концентрації деззасобів у МПБ, вирощують у ньому тест-культури мікроорганізмів протягом 48 год., відсівають із МПБ тест-культури на середовище, наступне засівання вирощених культур у МПБ із підвищеною концентрацією деззасобу. Величину щодо разового збільшення концентрації деззасобу розраховують, як різницю між мінімальною бактерицидною та суббактерицидною концентрацією, яка поділена на кількість повторних пересівів, а кількість повторних пересівів повинна становити не менше 45 раз і після цього знову визначають мінімальну бактерицидну концентрацію дезінфікуючого засобу.

Приклад конкретного виконання способу

Запропонований спосіб виконують наступним чином. У стерильних пробірках готують суббактерицидну концентрацію дезінфікуючого засобу в 10 см³ МПБ, вносять у МПБ 0,1 см³ 1 млрд. зависі тест-культури мікроорганізмів і вирощують її протягом 24-48 год. Після цього періоду відсівають із МПБ тест-культуру на щільне середовище. Із вирощених тест-культур на щільному середовищі готують 1 млрд. завись, яку висівають в кількості 0,1 см³ у МПБ із збільшеною концентрацією деззасобу. Величину збільшення концентрації деззасобу розраховують, як різницю між мінімальною бактерицидною та суббактерицидною концентрацією поділену на кількість повторних пересівів, а кількість повторних пересівів повинна становити не менше 45 раз. При кожному наступному пересіванні вирощених тест-культур концентрацію засобу, який вносять у МПБ, поступово збільшують. Після відсутності росту тест-культури за підвищеної концентрації засобу у МПБ беруть попередню концентрацію дезінфікуючого засобу, за якої спостерігали ріст мікроорганізмів, і проводять три послідовні пересіви (культивування)

даної культури. Потім знову підвищують концентрацію засобу і проводять посів культури у МПБ. Після сукупних 45 пересівів тест-культури у МПБ за певної концентрації дезінфікуючого засобу, за яких ріст мікроорганізмів був відсутній, повторно визначають мінімальну бактерицидну концентрацію деззасобу.

5 Наприклад, мінімальна бактерицидна концентрація деззасобу становить 0,1 %, тоді суббактерицидна буде 0,01 %, кількість пересівів 45 раз. Величина кожного наступного збільшення концентрації становить: $(0,1 \% - 0,01 \%) : 45 = 0,002 \%$.

10 Мікроорганізми, які вирости після дії засобу в концентрації 0,01 % пересівають у пробірки з МПБ, в який вносять засіб у концентрації 0,012 %, а мікроорганізми, які вирости після дії даної концентрації пересівають у МПБ з засобом у концентрації 0,014 % і т.д., поступово збільшуючи концентрацію засобу до мінімальної бактерицидної.

15 Якщо для дослідних тест-культур мікроорганізмів *S. aureus* і (або) *E. coli* після 45 пересіву за однієї концентрації засобу мінімальна бактерицидна концентрація збільшилася, значить мікроорганізми здатні до адаптації (приспосування) до розчинів даного дезінфікуючого засобу. Отже, необхідно рекомендувати для санітарної обробки технологічного устаткування періодичне чергування даного засобу (через 3-6 місяців) із засобами, які містять інші антимікробні речовини.

20 Як приклад, використання запропонованого способу у таблиці наведено дослідження з визначення адаптації бактерій *E. coli* і *S. aureus* до мийно-дезінфікуючого засобу "Сан-актив", який призначений для санітарної обробки на м'ясопереробних підприємствах. Мінімальна бактерицидна концентрація засобу "Сан-актив" для *E. coli* становила 0,5 %, а для *S. aureus* - 0,3 %.

25 Як видно з таблиці, що за дії засобу "Сан-актив" у концентрації 0,06 % на бактерії *E. coli* відсутність росту у МПБ відмічали протягом 32 рази пересіву. Тобто, через 32 рази пересівів за концентрації 0,05 % відбулась адаптація тест-культури *E. coli* до 0,06 % концентрації засобу. До 0,07 % концентрації засобу адаптація *E. coli* тривала через 43 рази пересівання за концентрації 0,06 %. Збільшення концентрації засобу до 0,08 % і проведення повторних пересівів культури *E. coli* за цієї концентрації "Сан-активу" протягом 45 раз забезпечувало повне інгібування тест-культури. Повторне визначення мінімальної бактерицидної концентрації засобу "Сан-актив" через 120 разів пересівання не виявило росту в МПБ та не спостерігали збільшення концентрації. Це вказує на те, що бактерії *E. coli* не здатні до адаптації до розчинів засобу "Сан-актив".

Таблиця

Адаптація тест-культур *E. coli* і *S. aureus* до розчинів засобу "Сан-актив"

Показники, що досліджуються	Тест-культури мікроорганізмів	Показники, що досліджуються	Тест-культури мікроорганізмів
	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>
Бактерицидна концентрація, %	0,5	Бактерицидна концентрація, %	0,3
Суббактерицидна концентрація, %	0,05	Суббактерицидна концентрація, %	0,03
Наявність росту в МПБ за концентрації засобу 0,06 % через кількість пересівів, раз	32	Наявність росту в МПБ за концентрації засобу 0,04 % через кількість пересівів, раз	42
Наявність росту в МПБ за концентрації засобу 0,07 % через кількість пересівів, раз	43	Наявність росту в МПБ за концентрації засобу 0,05 % через кількість пересівів, раз	Протягом 45 пересівів росту культури не виявлено
Наявність росту в МПБ за концентрації засобу 0,08 % через кількість пересівів, раз	Протягом 45 пересівів росту культур не виявлено	Мінімальна бактерицидна концентрація засобу через 87 пересівів культури, %	0,3
Мінімальна бактерицидна концентрація засобу через 120 пересівів культури, %	0,5		

Наявність росту бактерій *S. aureus* у МПБ за 0,04 % концентрації спостерігали протягом 42 разів пересівання. При підвищенні концентрації засобу на 0,01 % і повторних пересівів протягом 45 раз - росту культур *S. aureus* не відмічали. Наступне через 87 раз пересівань - збільшення мінімальної бактерицидної концентрації не виявлено.

Таким чином, бактерії *S. aureus* не пристосовується до розчинів засобу "Сан-актив" і даний засіб може довготривалого застосовуватися для санітарної обробки на підприємствах м'ясопереробної промисловості.

Отже, дані таблиці вказують на те, що застосування запропонованого способу визначення адаптації мікроорганізмів до дезінфікуючих чи мийно-дезінфікуючих засобів у харчовій промисловості дозволяє підібрати найбільш дієві засоби для санітарної обробки без можливості пристосування мікрофлори до них під час тривалого їх використання та проводити ефективну санітарну обробку протягом значного часу.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб визначення адаптації мікроорганізмів до дезінфікуючих засобів у харчовій промисловості, який включає готування розведень дезінфікуючого засобу у м'ясопептонному бульйоні (МПБ), контакт розведень засобу з тест-мікроорганізмами (*E. coli*, *P. aurescens*, *S. aureus*, *E. fecalis* або будь-які інші) протягом 48 год. та відсів на поживні середовища, який **відрізняється** тим, що готують суббактерицидну концентрацію дезінфікуючого засобу у МПБ, вирощують у ньому тест-культури мікроорганізмів і при кожному наступному пересіві вирощених культур концентрацію засобу, яку вносять у МПБ, поступово збільшують.

2. Спосіб згідно з п. 1, який **відрізняється** тим, що величину разового збільшення концентрації деззасобу розраховують як різницю між мінімальною бактерицидною та суббактерицидною концентрацією, яка поділена на кількість пересівів.

3. Спосіб згідно з п. 1, який **відрізняється** тим, що кількість повторних пересівів вирощених культур становить не менше 45 раз, і після цього повторно визначають мінімальну бактерицидну концентрацію дезінфікуючого засобу.

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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