



УКРАЇНА

(19) UA (11) 60299 (13) U
(51) МПК
G01N 33/50 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СПЕКТРУ ТУБЕРКУЛОЦИДНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ДЕЗІНФЕКТАНТІВ

1

(21) u201100179

(22) 04.01.2011

(24) 10.06.2011

(46) 10.06.2011, Бюл.№ 11, 2011 р.

(72) ПАЛІЙ АНАТОЛІЙ ПАВЛОВИЧ, ЗАВГОРОД-
НИЙ АНДРІЙ ІВАНОВИЧ

(73) ПАЛІЙ АНАТОЛІЙ ПАВЛОВИЧ, ЗАВГОРОД-
НИЙ АНДРІЙ ІВАНОВИЧ

(57) Спосіб визначення спектру туберкулоцидних властивостей дезінфектантів, що включає накопичення бактеріальної маси атипичних мікобактерій,

2

приготування двомільярдної зависі культур мікобактерій, дію на них розчинів дезінфікуючого препарату, центрифугування, який відрізняється тим, що проводять нейтралізацію за допомогою центрифугування при 3000 об./хв. двічі протягом 15 хвилин та використовують як тест-культури мікобактерії *M. kansasii*, *M. gordonae*, *M. scrofulaceum*, *M. intracellulare*, *M. terrae*, *M. xenopi*, *M. triviale*, *M. flavescens*, *M. smegmatis*, *M. fortuitum*, *M. phlei*, *M. diernhoferi*, *M. thamnophaeos*.

Корисна модель відноситься до галузі ветеринарної мікробіології і може бути використана для визначення бактерицидних властивостей дезінфікуючих препаратів щодо мікобактерій виробниками препаратів, ветеринарними і медичними лабораторіями, учбовими і науково-дослідними інститутами.

Існує «Інструкція по определению бактерицидных свойств новых дезинфицирующих средств» (Затв. Головним сан. епід. управлінням МОЗ СРСР у 1968р.).

Відома також інструкція «Проведение ветеринарной дезинфекции объектов животноводства» (Затв. Держагропромом СРСР у 1989р.).

Недоліком названих вище способів є складність проведення за ними дослідів та висока собівартість робіт і матеріалів при їх використанні. За цими способами визначають бактерицидну дію дезінфектантів відносно кишкової палички, золотистого стафілококу та спорового антраксіду, але як тест-культури не використовують атипичні мікобактерії та збудників туберкульозу.

При вивченні бактерицидних властивостей нових деззасобів керуються методичними рекомендаціями «Визначення бактерицидних властивостей дезінфікуючих засобів, проведення дезінфекції та контроль її якості при туберкульозі сільськогосподарських тварин» (Затв. наук.-метод. радою Держ. комітету вет. мед. України 20.12.2007р.). За цим способом накопичують бактеріальну масу атипичних мікобактерій, готують зависі культур

мікобактерій, центрифугують. Це рішення може бути найближчим аналогом.

Недоліком цього способу є тривалість проведення лабораторних досліджень, визначення бактерицидних властивостей досліджуваного дезінфікуючого препарату лише відносно атипичних мікобактерій виду *M. fortuitum* та збудників туберкульозу *M. bovis* та *M. avium*, але як тест-культури не використовуються інші види атипичних мікобактерій, які володіють різною стійкістю до дії дезінфікуючих препаратів, а також широко розповсюджені в навколишньому середовищі і відіграють важливу роль в епізоотології туберкульозної інфекції.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб визначення спектру туберкулоцидних властивостей дезінфектантів, що включає накопичення бактеріальної маси атипичних мікобактерій, приготування двомільярдної зависі культур мікобактерій, дію на них розчинів дезінфікуючого препарату, центрифугування шляхом нейтралізації за допомогою центрифугування при 3000 об./хв двічі протягом 15 хвилин, використання як тест-культур мікобактерій *M. kansasii*, *M. gordonae*, *M. scrofulaceum*, *M. intracellulare*, *M. terrae*, *M. xenopi*, *M. triviale*, *M. flavescens*, *M. smegmatis*, *M. fortuitum*, *M. phlei*, *M. diernhoferi*, *M. thamnophaeos*, щоб забезпечити спосіб визначення спектру туберкулоцидних властивостей дезінфектантів.

Порівняльний аналіз із найближчим аналогом показує, що спосіб, який заявляється, відрізняється від існуючого конкретно спрямованістю проведенням культурального дослідження, об'єктивні-

(13) U
(11) 60299
(19) UA

стю визначення бактерицидних властивостей дезінфікуючих препаратів щодо фотохромогенних, скотохромогенних, нефотохромогенних і швидко-ростучих атипів мікобактерій за класифікацією Раніона, дозволяє скоротити час проведення дослідів завдяки збільшенню режиму роботи центрифуги до 3000 об./хв. для припинення дії деззасобу та його нейтралізації.

Спосіб виконується таким чином:

Визначення бактерицидної дії дезінфікуючого препарату здійснюють щодо фотохромогенних *M. kansasii*, скотохромогенних *M. gordonae*, *M. scrofulaceum*, нефотохромогенних *M. intracellulare*, *M. terrae*, *M. xenopi*, *M. triviale* та швидко-ростучих *M. flavescens*, *M. smegmatis*, *M. fortuitum*, *M. phlei*, *M. diernhoferi*, *M. thamnophaeos* атипів мікобактерій які вирощують на середовищі Павловського за температури 37°C протягом 15-30 діб. З вирощених тест-культур мікобактерій готують завись в концентрації два млрд. бактеріальних тіл в 1 см³ фізіологічного розчину, виходячи з даних про те, що в 1 мг бактеріальної маси міститься 100 млн. бактеріальних тіл. Для цього тест-культури мікобактерій переносять бактериологічною петлею у попередньо зважені на аналітичних вагах стерильні флакони 100-200 см з бусами та визначають масу внесених в них мікобактерій. Отримання двомільярдної зависі мікобактерій досягають внесенням у флакони необхідного об'єму стерильного фізіологічного розчину. Потім флакони струшують на шутель - апараті протягом 30 хвилин до утворення однорідної зависі мікобактерій.

Для визначення бактерицидної дії потенційного дезінфектанту готують його водні розчини різної концентрації, які вносять по 10 см³ у флакони ємністю 20 см³. Контролем досліду є флакони, в які замість розчинів дезінфектанту вносять по 10 см стерильного фізіологічного розчину. У кожний флакон вносять по 0,2 см³ зависі атипів мікобактерій. Вмістиме флаконів ретельно перемішують та витримують задану експозицію дії дезінфектанту. Потім з флаконів проби зависі по 10 см³ переносять у центрифужні пробірки, які центрифугують при 3000 об./хв. протягом 15 хвилин. Осад, що утворився, з метою нейтралізації дезінфектанту, двічі (по 15 хвилин) відмивають на центрифугі стерильним фізіологічним розчином при 3000 об./хв. Після цього завись осаду з дослідних та контрольних проб висівають на живильне середовище для культивування мікобактерій. Посіви культивують у термостаті за температури 37°C протягом 3 місяців та проводять облік росту культур кожні 5-7 діб.

Відсутність або наявність росту колоній мікобактерій в пробірках з дослідними посівами, при наявності росту колоній в пробірках з контрольними посівами, є ознакою відповідно прояву або від-

сутності бактерицидної дії дезінфікуючого препарату.

Приклад. За вищезазначеним способом визначали спектр туберкулоцидних властивостей дезінфікуючого препарату «ДЗПТ-2». Результати досліджень наведені в таблиці.

З матеріалів таблиці видно, що дезінфікуючий препарат «ДЗПТ-2» викликає девіталізацію атипів мікобактерій *M. fortuitum* та *M. intracellulare* при застосуванні в концентрації 2% за ДР при експозиції 5-24 години, що засвідчує найвищу резистентність цих мікобактерій порівняно з іншими дослідженими тест-культурами. Культури мікобактерій *M. kansasii* втрачають життєздатність при дії на них препарату в концентрації 2% за ДР при експозиції 1-24 години, а *M. thamnophaeos* і *M. scrofulaceum* - в концентрації 1,5% при експозиції 24 години та в концентрації 2% за ДР при експозиції 1-24 години. При дії препарату в концентрації 1,5% - 2% за ДР при експозиції 5-24 години він проявляє бактерицидні властивості щодо культури *M. phlei*. Ріст тест-культур мікобактерій *M. flavescens* та *M. xenopi* був відсутній при дії препарату в концентрації 0,5% за ДР - 24 години, 1% за ДР - 5-24 години, 1,5% - 2% за ДР при експозиції 1-24 години. Атипові мікобактерії *M. smegmatis* інактивуються при дії препарату в концентрації 0,5% - 1% за ДР при експозиції 24 години, в концентрації 1,5% - 2% за ДР при експозиції 5-24 години, а культура *M. diernhoferi* - 1% - 1,5% за ДР при експозиції 24 години та в концентрації 2% за ДР при експозиції 5-24 години.

Культура *M. terrae* втрачає життєздатність при дії на неї деззасобу в концентрації 1% за ДР за 24 години та в концентрації 1,5 - 2% за ДР при експозиції 5-24 години. Мікобактерії *M. gordonae* проявляють резистентність до деззасобу при його застосуванні в концентрації 0,5% за ДР при 1-5 години та в концентрації 1-1,5% за ДР при експозиції 1 година.

Атипові мікобактерії *M. triviale* інактивуються при дії на них препарату в концентрації 0,5-1% за ДР при експозиції 24 години, та в концентрації 1,5-2% за ДР при експозиції 1-24 години.

Результати проведених досліджень свідчать про те, що дезінфікуючий препарат «ДЗПТ-2» володіє широким спектром туберкулоцидними властивостями щодо атипів мікобактерій.

Запропонований спосіб визначення спектру туберкулоцидних властивостей дезінфектантів володіє конкретною спрямованістю та зручністю проведення дослідів, що дозволяє швидко проводити дослідження і отримувати результати визначення бактерицидних властивостей дезінфектантів та використовувати в якості тест-культур представників всіх існуючих груп атипів мікобактерій.

Таблиця

Спосіб визначення спектру туберкулоцидних властивостей дезінфектантів

№	Культура	Експозиція	Концентрація			
			0,5%	1%	1,5%	2%
1	M. kansasii Irp.	1 год.	+	+	+	-
		5 год.	+	+	+	-
		24 год.	+	+	+	-
2	M. gordonae IIrp.	1 год.	+	+	+	-
		5 год.	+	-	-	-
		24 год.	-	-	-	-
3	M. scrofulaceum IIrp.	1 год.	+	+	+	-
		5 год.	+	+	+	-
		24 год.	+	+	-	-
4	M. intracellulare III гр.	1 год.	+	+	+	+
		5 год.	+	+	+	-
		24 год.	+	+	+	-
5	M. terrae III гр.	1 год.	+	+	+	+
		5 год.	+	+	-	-
		24 год.	+	-	-	-
6	M. xenopi III гр.	1 год.	+	+	-	-
		5 год.	+	-	-	-
		24 год.	-	-	-	-
7	M. triviale III гр.	1 год.	+	+	-	-
		5 год.	+	+	-	-
		24 год.	-	-	-	-
8	M. flavescens IV гр.	1 год.	+	+	-	-
		5 год.	+	-	-	-
		24 год.	-	-	-	-
9	M. smegmatis IV гр.	1 год.	+	+	+	+
		5 год.	+	+	-	-
		24 год.	-	-	-	-
10	M. fortuitum IV гр.	1 год.	+	+	+	+
		5 год.	+	+	+	-
		24 год.	+	+	+	-
11	M. phlei IV гр.	1 год.	+	+	+	+
		5 год.	+	+	-	-
		24 год.	+	+	-	-
12	M. diernhoferi IV гр.	1 год.	+	+	+	+
		5 год.	+	+	+	-
		24 год.	+	-	-	-
13	M. thamnopheos IV гр.	1 год.	+	+	+	-
		5 год.	+	+	+	-
		24 год.	+	+	-	-

Примітка: «-» - відсутність росту мікобактерій; «+» - наявність росту мікобактерій