

3.1.3.5. Дезинфектология

**Методы изучения и оценки  
Туберкулоцидной активности  
дезинфицирующих средств**

Методические указания

МУ 3.5.2596-10

Издание официальное

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей  
и благополучия человека

Москва • 2010 г.

Методы изучения и оценки туберкулоцидной активности дезинфицирующих средств: Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. - 54 с.

1. Разработаны ФГУН «НИИ дезинфектологии» Роспотребнадзора (Л.С.Федорова, И.М.Цвирова); ФГУ «Уральский НИИ фтизиопульмонологии» Росмедтехнологий (В.В. Канищев, Н.И. Еремеева, М.А. Кравченко, Д.В. Вахрушева); Роспотребнадзором (Л.С. Бойко)

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Роспотребнадзора (протокол № 3 от 03.12.09)

3. Утверждены и введены в действие Главным государственным врачом Российской Федерации, Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Г.Г.Онищенко 20.03.10. *(подписано 29 марта 2010 г.)*.

4. Введены впервые.

**Методики приготовления питательных сред для  
культивирования тест-микобактерий, предназначенных  
для изучения и оценки туберкулоцидной активности  
дезинфицирующих средств и их субстанций**

***Методика приготовления среды «Новая»***

Среда «Новая» - это плотная яичная среда, на которой хороший рост колоний *M. terrae* получают приблизительно на 5-7-й день после посева материала (проб).

В рецептуру питательной среды «Новая» входят следующие компоненты (в весовых %):

- Калий фосфорнокислый одноосновной	0,05
- Натрий лимоннокислый	0,05
- Магний сернокислый	0,05
- Натрий пировинограднокислый (гликокол)	0,2
- Глицерин	3,6
- Малахитовая зелень	0,036
- Желтки яиц	50,0
- Дистиллированная вода	до 100,0

Способ получения концентрированной питательной среды заключается в смешивании сухих навесок ингредиентов солей (кроме бактерицидного красителя) с желточной массой, обработки ингредиентов 70° этиловым спиртом, растворении бактерицидного красителя в глицерине и соединении всех компонентов среды.

Для получения 1 литра концентрированной питательной среды необходимо:

- ***Сделать навески:*** однозамещенного фосфорно-кислого калия – 1 г, лимоннокислого натрия – 1 г, сернокислого магния – 1 г, натрия пировинограднокислого (гликокола) – 4 г и каждую навеску поместить в стерильную фарфоровую ступку.

- ***Обеззаразить навески*** путем смачивания каждой навески 1 мл 70° этилового спирта. Затем поместить ступки с навесками в термостат при температуре 37°С и высушить при периодическом помешивании в течение 45 минут.

- ***Приготовить 1 литр желточной массы.*** 50 штук куриных яиц обработать снаружи с целью обеззараживания 70° спиртом. Затем отделить белок от желтка. Перенести желточную массу в мерную колбу и тщательно гомогенизировать.

- ***Приготовить желточно-солевую смесь.*** К 1 литру желточной массы (по п.3) добавить обеззараженные навески (по п.2) и перемешать.

- ***Приготовить раствор бактерицидного красителя.*** Навеску 700 мг малахитовой зелени смочить 1 мл 70° спирта и соединить с 70 мл глицерина (это соответствует 1% раствору малахитового зеленого в глицерине).

Получение концентрированной питательной смеси.

Производят соединение 1 л желточно-солевой смеси с 70 мл 1% раствора малахитового зеленого в глицерине (по п.5) и тщательно гомогенизируют. Полученную концентрированную питательную смесь (среду) выдерживают в течение суток при комнатной температуре и разливают

среду во флаконы емкостью 250 мл, которые герметично упаковывают и маркируют. Укупоренные флаконы с концентрированной питательной средой хранят в холодильнике при 3-5°C в течение 3-4 недель.

Приготовление рабочей (используемой при тестировании дезсредств) плотной питательной среды в пробирках.

К концентрированной питательной среде добавляют равный объем стерильной дистиллированной воды (1:1), гомогенизируют, разливают по 5 мл в пробирки. Для образования скола питательной среды пробирки укладывают в наклонном положении в свертыватель, (используют специальные аппараты-свертыватели типа “АСПС”) предварительно нагретый до 90°C. Среду коагулируют 20 минут при температуре 82-83°C. Контроль приготовленной партии среды на стерильность осуществляют также, как описано для среды Левенштейна-Йенсена.

Хранение пробирок с питательной средой.

Пробирки с питательной средой могут храниться в холодильнике при температуре 5°C в течение 4 недель. При длительном хранении необходимо пробирки герметично укупорить и поместить в полиэтиленовые пакеты, чтобы предотвратить высыхание среды