

УДК 615.014.453:579.873.21:621.384.4

**ВИЗНАЧЕННЯ НЕОБХІДНИХ РЕЖИМІВ  
УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО ОПРОМІНЮВАННЯ  
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS, ЯКІ  
ЗАПОБІГАЮТЬ ЇХ ВИЖИВАННЮ ТА  
ПЕРЕТВОРЕННЮ В L-ФОРМИ**

**Моїсєнко Т. М., Волянський А. Ю.,  
Ковальова Г. О.**

**ДУ «Інститут мікробіології і імунології ім. І. І.  
Мечникова НАМН України»  
Національний фармацевтичний університет**

Досліджено ефективність ультрафіолетового опромінення (УФО) відносно музейного та клінічних штамів *Mycobacterium tuberculosis* на різних відстанях від опромінювача потужністю 30 Вт при різному часі опромінення. Опромінені культури вирощували на середовищі Льовенштайна – Єнсена (Л-Є), кров'яному середовищі (КС) та середовищі ВКГ для виявлення L-форм. Виявлено, що при 30-хвилинному опроміненні залишаються живими 13 % *M. tuberculosis*, 40 хвилинному - 3,2 % . Після 50-хвилинного УФО виживають L-форми (ріст  $(1,08 \pm 0,91)$  % на середовищі ВКГ). Більшою стійкістю до УФО відрізнялись клінічні ізоляти з наявністю резистентності до протитуберкульозних препаратів (ПТП).

Ключові слова: *M. tuberculosis*, ультрафіолетове опромінення (УФО), L-форми.

Бактерицидну дію ультрафіолетових (УФ) променів було вперше описано понад 100 років тому. Перші лабораторні випробування УФО в 1920-х роках були настільки багатообіцяючими, що здавалося можливим в самий найближчий час повне знищення збудників повітряно-крапельних інфекцій. УФО стало застосовуватися в лікарнях з 1930-х років і в 1936 р. було вперше використано для стерилізації повітря в операційній кімнаті. Однак, подальше вивчення небезпечних побічних дій УФО, звузило можливості його використання в присутності людей [1,2]. Бактерицидну дію має УФО з діапазоном довжини хвиль 205 - 315 нм, яке проявляється в основному в деструктивно-модифікуючих фотохімічних пошкодженнях синтезу ДНК. Також УФО викликає збільшення проникності оболонки мікробної клітини для іонів навколишнього середовища і коагуляцію колоїдів цитоплазми, що призводить до порушення нормального розвитку клітини (зокрема, процесу дихання), припинення розмноження і лізису [3,4]. Максимальний бактерицидний ефект припадає на область 254-257 нм. У будь-якому організмі існують біохімічні механізми, здатні повністю або частково відновлювати вихідну структуру пошкодженої молекули ДНК - фотореактивація. У середньому, резистентні мікроорганізми становлять близько 0,01 % від мікробної популяції, але припускають що для певних видів вона може досягати 1-5 %. Вцілілі

мікроорганізми здатні утворювати нові колонії з меншою сприйнятливістю до опромінення [5,6].

Бактерицидність УФ променів залежить від біохімічних особливостей мікроорганізму (наявність капсули, товщина оболонки мікробної клітини і т. д.), властивостей зовнішнього середовища (рН, прозорість та ін.), характеристик джерела УФО (довжина хвилі, інтенсивність і т. д.), часу впливу, відстані від нього [7]. Більш чутливі до впливу УФО мікроорганізми в вегетативній формі. УФ промені найбільш ефективні відносно грамнегативних неспорують бактерій, менш чутливі - грамозитивні неспорують бактерії, ще менш чутливі гриби та найпростіші мікроорганізми. Найбільшою стійкістю володіють спорові форми бактерій і грибів. Розподіл мікроорганізмів по росту опірності щодо дії УФО виглядає наступним чином: віруси, бактерії, гриби, найпростіші, спори [8,9].

Мікобактерії в ході еволюції виробили різні механізми подолання або інактивації несприятливих факторів зовнішнього середовища. По-перше, це особлива міцна клітинна стінка, котра містить воски, жири, міколові кислоти; по-друге, це великі метаболічні можливості, завдяки яким *M. tuberculosis* здатні інактивувати різні антисептики та дезінфектанти; по-третє, це морфологічна пластичність, яка полягає в спонтанній та індукованій трансформації мікобактерій в L-форми з реверсією в сприятливих обставинах в вихідну форму. За своєю стійкістю, після спорують бактерій, вони займають лідируюче місце в царстві прокариот. *M. tuberculosis* нечутливі до розсіяного сонячного світла і можуть тривало (6-7 місяців) існувати в зовнішньому середовищі без втрати життєздатності. Також, у реальних умовах, коли *M. tuberculosis* знаходяться в аерозольному стані у вигляді клітинних агломератів з пиловими частинками та слизом, їх стійкість до УФО зростає [10]. Режими УФО для знищення у повітрі та на предметах *M. tuberculosis* регламентуються наказом МОЗ України № 684 від 18.08.2010 р. «Про затвердження Стандарту інфекційного контролю за туберкульозом в лікувально-профілактичних закладах, місцях довгострокового перебування людей та проживання хворих на туберкульоз» (із змінами, внесеними згідно з Наказом МОЗ № 950 від 23.12.2011). При туберкульозі у 95 % випадків передача збудника відбувається аерогенним шляхом. Згідно із зазначеним наказом; «Головним фактором передачі туберкульозної інфекції є повітря закритого приміщення з інфекційним аерозолем, що є більшим ризиком інфікування, ніж тісний контакт з хворим» [11]. Критерії використання УФО у стандарті дещо розмиті. Зазначено, що одна лампа потужністю в 30 Вт розрахована на приміщення 18-20 м<sup>2</sup>, а рекомендований час опромінення – 30-40 хвилин. Не зрозуміло, де і як слід встановлювати опромінювачі для ефективної роботи. До того ж, однакові показники зазначені для відкритих та закритих опромінювачів. У рекомендаціях ВООЗ пропонується настінні опромінювачі вешати на відстані мінімум 210 см від підлоги і близько 40 см

від стелі [12]. Отже, виходячи з нормативних документів, залишається багато нез'ясованого стосовно ефективного використання УФО.

На теперішній час епідемія туберкульозу в Україні і світі набула нового характеру. Так, певною мірою вдалось взяти під контроль рівень захворюваності, але все більшого значення набуває зростаюча поширеність резистентного туберкульозу. На нашу думку, актуальним завданням є визначення відношення до УФО ізолятів мікобактерій із антибіотикорезистентністю в порівнянні з ізолятами зі збереженою чутливістю до ПТП [5, 11, 13]. Також УФО сприяє виникненню L-форм мікобактерій і на наш погляд для дослідження ефективності бактерицидної дії УФО доцільно використати середовища для росту L-форм. Мета роботи - дослідити ефективність УФО відносно *M. tuberculosis* в рекомендовані стандартом часові рамки.

### Матеріали і методи

Дослідження проведено у Харківському обласному туберкульозному диспансері. Досліджено ефективність УФО відносно *M. tuberculosis* на відстанях від опромінювача – 70 см, 140 см, 210 см; час опромінення - 20, 30, 40 та 50 хвилин. Були використані 4 культури *M. tuberculosis* – 1 музейний штам *H<sub>37</sub>Rv* і 3 клінічні ізоляти: KI-1 – ізолят зі збереженою чутливістю до ПТП, KI-2 – ізолят зі стійкістю до ізоніазиду та рифампіцину (резистентний), KI-3 – ізолят зі стійкістю до ізоніазиду, рифампіцину та офлоксацину (розширена резистентність). Використовували опромінювач – Philips TUV 30 потужністю 30 Вт (без озоновий, розрахований на 6000 годин роботи). Культивували контрольні та опромінені чисті культури збудника на середовищі Л-Є, КС на предметних скельцях по методу Школьнікової і середовищі ВКГ для виявлення L-форм. Для достовірності результатів кожен дослід проводився у 6 серіях засівів тричі (з інтервалом в 30 днів для можливої корекції досліді).

$N_{1\text{ середовище}}$  – кількість дослідів на одному виді середовищ = (1 музейний штам + 3 клінічні ізоляти) x 6 серій засівів x 3 відстані від випромінювача x 4 проміжки часу опромінення = 288.

Кількість дослідів з кожною культурою мікобактерій на одному виді середовищ для кожної відстані від випромінювача (відстань) та відповідного часу опромінення (проміжок часу):  $n_{1(\text{штам/середовище/час/відстань})} = 1 \text{ штам} \times 6 \text{ серій} \times 1 \text{ відстань} \times 1 \text{ проміжок часу} \times 3 \text{ кратність дослідження} = 18$ . Кількість контролів для кожної відстані та відповідного проміжку часу опромінення:  $18 \times 4 \text{ (штами)} = 72$ .

$N$  - кількість дослідів, виконаних в ході роботи = 4 штами x 6 серій x 3 відстані x 4 проміжки часу x 3 кратність дослідження x 3 види середовища = 2592.

### Хід дослідження

1. Визначення ефективності УФО шляхом культивування опромінених культур на середовищі Льовенштайна – Єнсена

З дослідних культур робили робочі розведення за наступною методикою. Готували гомогенну бактеріальну суспензію в 0,9 % розчині NaCl. Для цього культуру, що виросла на твердому живильному середовищі Л-Є знімали тампоном, попередньо змоченим у стерильному 0,9 % розчині NaCl, потім тампон занурювали в пробірку, що містить 2,0 мл стерильного 0,9 % розчину NaCl. Пробірку залишали на 15 хвилин при кімнатній температурі для осадження крупних часточок культури. Суспензію культури стандартизували по бактеріальному стандарту каламутності 1 McF ( $300 \times 10^6$  мікробних тіл в 1,0 мл), що відповідає 1,0 мг культури *M. tuberculosis* в 1,0 мл. На стерильні чашки Петрі відбирали 0,1 мл суспензії і висушували у шафі біологічної безпеки II класу при температурі °C. Крапля 0,1 мл маленька, швидко і рівномірно висихає. Висушені культури (крім контролю) опромінювали ультрафіолетом протягом 20, 30 і 40, 50 хвилин на відстані 70 см, 140 см, 210 см. Після опромінення додавали 1 мл стерильного фізіологічного розчину, ретельно ресуспендували та висівали 0,2 мл на поживне середовище Л-Є у 6 серіях (один і той самий дослід, наприклад, 20 хв./70см, виконували 6 разів для валідності і статистичної достовірності результатів). Культивували контрольні та дослідні пробірки протягом 3 тижнів при температурі 37°C. Результати оцінювали за наявністю (ріст+) або відсутністю (н/р) росту на поживному середовищі. Для ідентифікації мікобактерій з отриманої культури готували мазки і фарбували за методом Циля-Нільсена.

2. Визначення ефективності УФО шляхом культивування по методу Школьнікової в мазках на кров'яному середовищі

З культур 4 взятих в експеримент штамів мікобактерій готували мазки на стерильних вузьких скельцях (які було отримано шляхом розрізання предметного скла вздовж на 2 частини). Мазки готувались на 1/3 частини скельця, яке укладалось в стерильну чашку Петрі і сушилися у витяжній шафі при температурі °C. Висушені культури опромінювали ультрафіолетом протягом 20, 30, 40 та 50 хвилин на відстані 70 см, 140 см, 210 см. Потім для фіксації мазки заливали 3 % розчином сірчаної кислоти на 2 хвилини і тричі відмивали стерильною водою. Контрольні і дослідні зразки культивували шляхом занурення кожного скла у хімічні пробірки (16 x 150 мм), які містили 8 мл цитратної гемолізованої крові. Цитратну кров гемолізували стерильною дистильованою водою в співвідношенні 1:5 (використовували донорську кров, непридатну для переливання). Облік результатів проводився через 10 діб інкубації в термостаті при температурі 37 °C. Після інкубації скельця було видалено із середовища, промито дистильованою водою і знезаражено 5 % розчином гіпохлориту натрію протягом 10 хвилин. Сухі мазки пофарбовано за методом Ц-Н. При знаходженні в мазках

характерних мікроколоній, що являють собою забарвлені в червоний колір переплетені джугти (так звані «коси»), результат оцінювався як позитивний.

3. Виявлення життєздатних L – форм мікобактерій після УФО шляхом культивування на середовищі ВКГ

Із взятих в експеримент 4 культур мікобактерій готували робоче розведення культур (1 McF), висушували 0,1 мл у чашках та проводили ультрафіолетове опромінення (за наведеною вище методикою). До висушених культур додавали 0,1 мл стимулятора росту (який входить до комплексу ВКГ) і 1 мл стерильного фізіологічного розчину, ретельно ресуспендували. Отриману суспензію витримували в термостаті при 37 °С 48 годин, після чого засівали 1,5 мл на чашки Петрі з середовищем ВКГ. Посіви інкубували протягом 10 діб та щоденно переглядали. З появою росту культури готували мазок та фарбували водно-спиртовим розчином метиленового синього. На середовищі ВКГ ріст колоній відзначався з 3 доби у вигляді злегка жовтуватих непрозорих колоній. За Цілем-Нільсеном мікробні клітини не забарвлюються. Однак, вони добре забарвлюються простими методами - розведеним фуксином і водно-спиртовим розчином метиленового синього. Для верифікації культури мікобактерій робили змив з отриманої культури та послідуочий висів на середовище Л-Є.

Статистичну обробку результатів експерименту здійснювали з використанням комп'ютерних програм Microsoft Excel 2003 та «Biostat-4». Для характеристики достовірності отриманих результатів застосовували критерії з визначенням середнього значення (M) та його стандартного відхилення ( $\pm m$ ). Для оцінки достовірності відмінностей між показниками контрольної та дослідних груп, які відповідали нормальному закону розподілення, застосовували критерій Стьюдента. Порівняння виражених у відсотках значень проводили за допомогою критерію  $\chi^2$  (достовірність  $p < 0,05$ ) згідно з рекомендаціями ВООЗ [7, 16].

### Результати та обговорення

На середовищі Л-Є на відстані від опромінювача 70 см після 20-хвилинної експозиції в 10 випадках отримано ріст мікроорганізмів, що складає 13,89 $\pm$ 1,64 % від 72 проведених дослідів. Серед культур, що виявились стійкими до зазначених умов опромінення, частка референс-штаму  $H_{37}R_v$  склала 20,0 $\pm$ 0,09 %, а клінічних ізолятів: KI-1 – 20,0 $\pm$ 0,06 %, KI-2 – 30,0 $\pm$ 0,97 %, KI-3 – 30,0 $\pm$ 1,00 %. Після 20-хвилинної експозиції УФО на різних відстанях ріст культур мікобактерій штаму  $H_{37}R_v$  та клінічних на середовищі Л-Є отримано в 16,20 $\pm$ 1,09 % досліджень. Частка референс-штаму склала 20,13 $\pm$ 2,30 %, клінічних ізолятів KI-1, KI-2, KI-3 – 19,91 $\pm$ 1,53 %, 31,37 $\pm$ 0,93 % та 28,59 $\pm$ 1,69 %, відповідно. Після 30-хвилинної експозиції УФО на різних відстанях ріст клінічних культур та штаму  $H_{37}R_v$  на середовищі Л-Є отримано в 11,57 $\pm$ 0,87 %

досліджень. Після 40-хвилинного опромінення ультрафіолетом на відстані 140 см на середовищі Л-Є в 1 випадку отримано ріст культури KI-2, на відстані 210 см – отримано по одному позитивному результату KI-2 та KI-3. УФО протягом 50 хвилин викликало повну загибель мікобактерій, на середовищі Л-Є росту отримано не було в жодному з дослідів.

На кров'яному середовищі Шкільнікової після 20-хвилинної експозиції УФО ріст культур мікобактерій штаму  $H_{37}R_v$  та клінічних на середовищі Л-Є отримано в 17,59 $\pm$ 3,49 % досліджень (на відстані 70 см і 140 см зразків з позитивним результатом було по 14%, на відстані 210 см – 25%). Частка штаму  $H_{37}R_v$  та клінічного ізоляту KI-1 з них склали по 20,74 %; частка штамів KI-2 та KI-3 склали по 29,26 %. Після 30-хвилинної експозиції УФО ріст культур 4 досліджуваних штамів на КС отримано в 11,13 $\pm$ 1,08 % досліджень (24 культури з 216 дослідів). Частка штаму  $H_{37}R_v$  склала 12 %, клінічного ізоляту KI-1 – 16,3 %, KI-2 – 33 %, KI-3 – 38 %. Після 40-хвилинного УФО на КС лише на відстані 210 см в одному випадку отримано ріст полірезистентної культури мікобактерій KI-3, а при використанні 50-хвилинної експозиції опромінення отримано негативні результати посівів.

На середовищі ВКГ на відстані від опромінювача 70 см після 20-хвилинної експозиції УФО в 21 випадку отримано ріст мікроорганізмів, що складає 29,17 $\pm$ 1,31 % від 72 проведених дослідів. Серед культур, що виявились стійкими до зазначених умов опромінення, частка штамів  $H_{37}R_v$  та KI-1 склала по 19%, ізоляту KI-2 – 33 %, KI-3 – 28,6 %. Після 20-хвилинної експозиції УФО на різних відстанях ріст штаму  $H_{37}R_v$  та клінічних культур на середовищі ВКГ отримано в 31,02 $\pm$ 0,87 % досліджень (67 культур з 216 дослідів). Після 30-хвилинної експозиції УФО на різних відстанях ріст культур 4 досліджуваних штамів на середовищі ВКГ отримано в 16,20 $\pm$ 1,09 % досліджень (35 культур з 216 дослідів); після 40-хвилинного опромінення на різних відстанях ріст культур 4 досліджуваних штамів отримано у 7,87 $\pm$ 1,09 % випадків (17 культур з 216 дослідів); після 50-хвилинного опромінення на різних відстанях ріст культур 4 досліджуваних штамів отримано у 3,24 $\pm$ 1,09 % випадків (7 культур з 216 дослідів).

Узагальнені результати, отримані в ході експериментальних досліджень, та статистичні розрахунки наведені в табл.9.

Як видно з таблиці 9, при УФО тривалістю 20 хвилин, 21,60 $\pm$ 1,83% мікобактерій залишаються життєздатними. При цьому при збільшенні відстані до опромінювача з 70 см до 210 см їх життєздатність збільшується у 1,32 рази. При 30-хвилинному УФО (стандартний час опромінення) залишаються життєздатними 13 % мікобактерій. Збільшення відстані до опромінювача зменшує ефективну дію УФ променів у 1,29 рази. При збільшенні часу опромінення до 40 та 50 хвилин бактерицидна дія УФО збільшується в 4 та 12 разів відповідно.

На середовищі ВКГ отримано більше позитивних результатів щодо виживання мікобактерій після дії УФО, ніж на ЛЄ та КС. На нашу думку, зазначене збільшення тривкості мікобактерій до УФО пов'язане з L-формами. Дію ультрафіолетових променів відносять до факторів, що викликають L-трансформацію бактерій. Утворення L-форм, які зберегли високий ступінь патогенності, тривала їх персистенція, можливість реверсії вихідних бактерій слід також враховувати при використанні УФО з метою знезараження повітря та поверхонь.

Найбільш ефективними відстанями для опромінення є 70 - 140 см та час 40-50 хвилин. Збільшення відстані може зменшувати ефективність опромінення від 1,3 до 4 разів, в той час збільшення часу впливу променів викликає в 20 разів більшу загибель мікобактерій.

У лабораторних досліджах УФО досягає високих показників летальності мікроорганізмів при створенні ідеальних умов. У реальних умовах ефективність практичного застосування обладнання значно нижче і залежить від безлічі факторів, включаючи наступні:

- термін експлуатації. Принаймні, після певного терміну роботи ламп УФ опромінювачів йде зниження бактерицидного потоку. Щоб це компенсувати, необхідно після закінчення 1/3 номінального терміну служби ламп збільшувати встановлену тривалість опромінення в 1,2 рази і після 2/3 терміну - в 1,3 рази;

- запиленість поверхні відбивача і колби лампи. Осілі частинки різко знижують вихід бактерицидного потоку;

- запиленість повітря частинками, що забезпечують захист мікроорганізмів від УФ променів (явище екранування);

відносна вологість. Збільшення вологості спричиняє зменшення рівня розпаду біомакромолекул під УФ експозицією. При підвищенні відносної вологості в приміщенні до 80-90 % бактерицидний ефект знижується на 30-40 %.

## Висновки

**1.** При використанні УФО: протягом 20 хвилин майже 1/5 частина мікобактерій виживає ( $21,60 \pm 1,83\%$ ); 30-хвилинне опромінення залишає живими  $12,96 \pm 1,21\%$  мікобактерій;  $3,24 \pm 1,28\%$  мікобактерій витримують навіть 40 хвилин опромінення, лише при збільшенні часу УФО до 50 хвилин можна досягти достатньої ефективності при знищенні вегетативних форм, але навіть цього терміну може бути недостатньо для запобігання виживання і утворення L-форм, які виявляли у ( $1,08 \pm 0,91\%$ ) на середовищі ВКГ.

**2.** При збільшенні відстані до джерела УФО ефективність опромінення вегетативних форм мікобактерій знижується в 1,53 рази, L-форм – в 1,31 рази. Ефективний час опромінення вегетативних форм мікобактерій складає 40 хвилин

на відстані 70 см, не менше 50 хвилин на відстані 210 см. Ефективний час опромінення для запобігання виживання L-форм складає не менше 50 хвилин на відстані 70 см.

**3.** Дія УФ променів відноситься до факторів, які викликають L-трансформацію бактерій, що простежується при використанні середовища ВКГ. Утворення L-форм і можливість їх реверсії слід враховувати при використанні УФО.

**4.** Серед дослідних культур більшою стійкістю в порівнянні з референтним штамом відрізнялись клінічні ізоляти (КІ-2, КІ-3) з наявністю резистентності до протитуберкульозних препаратів.

## References

1. Golaszewska B.I., Korneev A.A., Chernousova A.A. Biological features of M. tuberculosis and difficulties microbiological diagnosis of tuberculosis / B. I. Golaszewska, A. A. Korneev, A. A. Chernousova // Problems of tuberculosis and lung diseases. - 2004. № 2. - P. 30-32.
2. Buul A. SPSS: the art of information processing. The analysis of statistical data and recovering the hidden regularities: [пер. с нем.] / A. Buul, P. Cepel. // SPb.: Dia Soft, 2012. - 608 p.
3. Wasserman A.L. Application ultrafiolyetovykh bactericidal irradiators for obezrazhivaniya air / A.L. Wasserman, M.G. Shandala, V.H. Yuzbashev // Epidemiology and hygiene. - 2013. - No 3. - P. 23-30.
4. Gryaznova T.N. The influence of physical, chemical and biological factors on microorganisms / T.N. Gryaznova // M: FGOU VPO Mgaweb. - 2011. - 39 p.
5. Dorokhova I. R. Modern avenues to improve the microbiological diagnosis of tuberculosis / I. R. Dorokhova // Proceedings of the VI Congress of TB Belarus. - Minsk, 1998. - P. 179-180.
6. Zaluskaya O.M. Guidelines for the laboratory diagnosis of TB / O.M. Zaluskaya, E.R. Sagalchik, L.K. Surkova // M. - 2013. - 138 p.
7. Instrukcia s bakteriologia diagnostics tuberculosis NFCC. - The order of MOH of Ukraine № 45 from 06.02.2002 y. - K. - 2002. - 118 p.
8. Infection control of TB and other diseases that are transmitted by airborne droplets, on the basis of public organizations. [medical recommendation / international HIV/AIDS Alliance in Ukraine]. - K. - 2014. - 23 p.
9. Kaladze N. N. Ultraviolet radiation and its measurement / N.N. Kaladze, V.V. Taranov // The journal of physiotherapy and balneology. - 2011. - T.17. No 2. - P. 89-92.
10. Laboratory diagnosis of tuberculosis in clinical diagnostic laboratories by microscopy: [Training manual for health workers-medical-preventive institutions of General medical network]. / Sakun T., Stuttering I., Miskinis K. - Who, 2006. - P. 9-11.
11. Microbiological examination methods of TB patients (guidelines) / V.V. Vlasenko et al. - 2001. - 24 P.
12. On approval of the standard infection control for tuberculosis in health-practical institutions, places of

long-term human presence and residence of tb patients.  
- the order of the MOH of Ukraine № 684 -

**UDC: 579.873.21: 621.384.4**

**DEFINITION DESIRED MODE ULTRAVIOLET RADIATION MYCOBACTERIUM**

**TUBERCULOSIS, WHICH PREVENT THEIR SURVIVAL AND CONVERSION TO L-FORMS**

**Moiseenko T. N., Wolyanski A. Y., Kovaleva A. A**

Bactericidal effect of ultraviolet (UV) rays was first described over 100 years ago. UV was used in hospitals from 1930 and in 1936 was first used to sterilize the air in the operating room. The maximum bactericidal effect occurs in the region 254-257 nm UV wavelength, which is manifested mainly in the destructive-modifying photochemical damage of DNA synthesis. So, UV rays causes an increase in the permeability of the microbial cell membranes to ions environment and coagulation of colloids cytoplasm, resulting in disruption of normal cell development, stopping the reproduction and lysis. In any body there are biochemical mechanisms that could fully or partially restore the damaged original structure of the DNA molecule - fotoreactivation. It's resistant microorganisms consist about 0.01% of the microbial population, but the certain types reach 1-5%. Surviving bacteria can form new colonies with less susceptibility to radiation. Mycobacteria in the course of evolution developed various mechanisms to overcome or inactivation of adverse environmental factors: a special cell wall (waxes, fats, mycolic acid); large metabolic capabilities by which *M. tuberculosis* able to inactivate various antiseptics and disinfectants; morphological plasticity, which is spontaneous and induced transformation in L-forms with a reversion of virulent original shape. *M. tuberculosis* more resistant to UV radiation than other bacteria.

**Materials and methods**

We investigated the effectiveness of UV radiation against to *M. tuberculosis* at distances from the radiator - 70 cm, 140 cm, 210 cm; exposure time 20, 30, 40 and 50 minutes. We used museum strain H37Rv and 3 clinical strains: 1 - strain with preserved sensitivity; 2 - strain with resistance to isoniazid and rifampicin; 3 - strain with resistance to isoniazid, rifampicin and ofloxacin (enhanced resistance). We used radiator - Philips TUV power 30 W (without ozone for up to 6000 hours). Control and irradiated cultures of the pathogen were grown in the media of Levenstain-Yensen, Blood media of Shkolnikova and medium VCG to detect L-forms. For the accuracy of the results, each experiment was performed in 6 series was set down three times (at intervals of 30 days).

**Results and discussion**

UV using for 20 minutes almost 1/5 of *M. tuberculosis* it caused survival ( $21,60 \pm 1,83\%$ ); at 30-minute UV (standard exposure time) - 13% *M. tuberculosis* remain viable;  $3,24 \pm 1,28\%$  remain viable even 40 minutes of ultraviolet irradiation. Only by increasing the time to 50 minutes to achieve sufficient efficacy in destroying vegetative forms, but even this term may not be enough to prevent the formation and

survival of L-form ( $1,08 \pm 0,91\%$  in the medium VCG). The effective exposure time vegetative forms of mycobacterium 40 minutes at a distance of 70 cm, at least 50 minutes at a distance of 210 cm. The effective exposure time to prevent the survival of L-form is at least 50 minutes at a distance of 70 cm.

**Conclusion**

The UV irradiation causes the L-transformation of the bacteria. This phenomenon detected on VKG media. The formation of L-forms and the possibility of reversion to consider when using UV. Among the experimental crops more resistant compared to the referent strain differed clinical isolates with the presence of resistance to anti-TB drugs.

Key words: *M. tuberculosis*, ultraviolet rays, L-form

Таблиця 9- Життєздатність мікобактерій після ультрафіолетового опромінення на різних відстанях, підтверджена шляхом культивування на середовищах Льовенштайна-Єнсена, кров'яному середовищі Школьнікової, середовищі ВКГ

Відстань до опромінювача	Поживні середовища	Час опромінення											
		20 хвилин			30 хвилин			40 хвилин			50 хвилин		
		Зразки з позитивним результатом		Достовірність (p)	Зразки з позитивним результатом		Достовірність (p)	Зразки з позитивним результатом		Достовірність (p)	Зразки з позитивним результатом		Достовірність (p)
		Абс.	M±m, %		Абс.	M±m, %		Абс.	M±m, %		Абс.	M±m, %	
70 см	ЛЄ	10	13,89±5,46	p<0,01	7	9,72±2,29	p<0,05	0	0,00±2,29	p<0,05	0	0±0,54	p<0,05
	КС	10	13,89±5,46	p<0,05	7	9,72±2,29	p<0,05	0	0,00±2,29	p<0,05	0	0±0,54	p<0,05
	ВКГ	21	29,17±5,35	p<0,05	10	13,89±0,65	p<0,01	4	5,56±1,64	p<0,01	1	1,39±1,23	p<0,05
140 см	ЛЄ	12	16,67±3,49	p<0,01	9	12,50±0,33	p<0,05	1	1,39±1,31	p<0,01	0	0,00±0,54	p<0,01
	КС	10	13,89±5,46	p>0,05	8	11,11±1,31	p<0,01	0	0,00±2,29	p<0,05	0	0,00±0,54	p<0,05
	ВКГ	23	31,94±7,31	p<0,01	12	16,67±2,62	p>0,05	6	8,33±3,60	p<0,05	2	2,78±1,93	p<0,05
210 см	ЛЄ	13	18,06±2,51	p>0,05	9	12,50±0,33	p<0,05	2	2,78±0,33	p<0,01	0	0,00±0,54	p<0,01
	КС	18	25,00±2,40	p<0,05	9	12,50±0,33	p<0,05	1	1,39±1,31	p<0,05	0	0,00±0,54	p<0,05
	ВКГ	23	31,94±7,31	p<0,05	13	18,06±3,60	p<0,05	7	9,72±4,58	p<0,05	4	5,56±3,32	p<0,05
<b>Середнє значення</b>	<b>Усього</b>	<b>15,56</b>	<b>21,60±1,83</b>	<b>p&lt;0,05</b>	<b>9,33</b>	<b>12,96±1,21</b>	<b>p&lt;0,05</b>	<b>2,33</b>	<b>3,24±1,28</b>	<b>p&lt;0,01</b>	<b>0,78</b>	<b>1,08±0,91</b>	<b>p&lt;0,01</b>