

2. Розроблена та запропонована для виробництва вакцина відповідає за показниками якості вимогам, що висувуються до інактивованих вакцин проти інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби та може з успіхом застосовуватись у ветеринарній практиці для специфічної профілактики даного захворювання.

Список літератури

1. Сергеев, В. А. Вирусные вакцины [Текст] / В. А. Сергеев.-К.: Урожай, 1993. — 369 с.
2. Кучерявенко Р.О. Інфекційний ринотрахеїт великої рогатої худоби (епізоотологія, діагностика та специфічна профілактика) [Текст]: дис. ... канд. вет. наук. – Х., 2003. – 168с.
3. Кучерявенко В.В. Специфічна профілактика вірусних пневмоентеритів великої рогатої худоби – запорука отримання біологічно безпечної продукції тваринництва [Текст] / В.В. Кучерявенко // Вет. медицина: міжвід. темат. наук. зб. – Х., 2010. – Вип. 94. – С. 83–84.
4. Малакеев А.С. Вакцина інактивована проти інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби для внутрішньошкірного застосування [Текст]: дис. канд. вет. наук. – Х., 2013. – 158с.
5. Инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота [Текст] / А. Г. Глотов [и др.]. — Новосибирск, 2006. — 193 с.

RESULTS OF THE COMMISSION TESTING OF INACTIVATED VACCINE AGAINST INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS FOR INTRADERMAL APPLICATION

Kucheryavenko R.O., Kucheryavenko V.V., Malakeev A.S.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

Godovsky O.V.

State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms, Kyiv

Purpose. The aim of this study was to conduct a commission testing according to the methodology of experimental sample of "Inactivated vaccine against infectious bovine rhinotracheitis for intradermal application" series №2e, control №2e.

Materials and methods. The tests were carried out according to the approved program by the following indicators: appearance, marking; the presence of impurities, violations of integrity and capping of vials; sterility; safety; antigenic activity; completeness of inactivation; kinematic viscosity.

Results. A study on compliance with the regulatory documentation of vaccine experimental sample series №2e, control №2e, which has been developed by the NSC "IECVM" meets the standard documentation on the following criteria: appearance, marking the presence of impurities (mold, oats), violations of integrity and capping of vials, antigenic activity, kinematic viscosity, immunogenic activity.

Conclusion. Developed and offered to produce vaccine complies by the quality characteristics the requirements applicable to the inactivated vaccines against infectious bovine rhinotracheitis and can be successfully used in veterinary practice for specific prophylaxis of infectious bovine rhinotracheitis.

Keywords: infectious rhinotracheitis, cattle, inactivated vaccine against infectious bovine rhinotracheitis for intradermal application, normative documents.

УДК 619:614.48.873.21

БАКТЕРИЦИДНА ЕФЕКТИВНІСТЬ «ЕПІДЕЗУ» ЩОДО МІКРООРГАНІЗМІВ, ЯКІ УТВОРЮЮТЬ БІОПЛІВКУ

Мандигра Ю.М.

Рівненська науково-дослідна станція епізоотології
Інституту ветеринарної медицини НААН, м. Рівне

Ряд мікроорганізмів здатні утворювати біоплівку як механізм природного захисту від шкідливого впливу фізичних, хімічних і біологічних чинників. Мета роботи полягала у вивченні ефективності різних концентрацій дезінфікуючого препарату «Епідезу» на мікроорганізми, які здатні утворювати біоплівку. Робота виконана з використанням мікробіологічних і біостатистичних методів досліджень.

*Встановлено, що здатність мікроорганізмів до утворення біоплівки дуже підвищує їх резистентність до дії дезінфікуючих засобів, зокрема, «Епідезу». Отримані дані про підвищену стійкість *S. aureus*, *P. fluorescens* і *E. coli* до дії дезінфектанту мають враховуватись при проведенні заключної дезінфекції у неблагополучних пунктах щодо відповідних хвороб.*

Ключові слова: бактеріцидна ефективність, мікроорганізми.

На фоні зростання темпів розвитку сільськогосподарського виробництва, біопромисловості, транспортних і зовнішніх торгівельних зв'язків у сучасному світі ветеринарна та гуманна медицина стикаються з численними проблемами, пов'язаними з ризиками виникнення та розповсюдження інфекційних захворювань. Крім того в умовах сьогодення отримали розвиток і поширення такі надзвичайно негативні явища, як біотероризм і біодиверсії. Біологічні загрози виносять на порядок денний питання протидії цим явищам, сутність яких полягає у розробці, впровадженні, верифікації

та підтриманні норм безпеки та біозахисту, ефективних засобів і заходів охорони здоров'я тварин і людей, якості та безпечності сільськогосподарської продукції [1].

Одним із головних завдань, що стоять перед суспільством, є безпека його розвитку. Вона гарантується багатьма складовими. Однією із таких є якість та безпечність дезінфекції об'єктів ветеринарно-санітарного нагляду та контролю [2]. Можна стверджувати, що ефективність дезінфекції, в першу чергу, визначається якістю та безпечністю дезінфектанту. Нині ринок дезінфектантів представлений великою кількістю різноманітних препаратів, які мають різну вартість, а, відповідно, і різні дезінфекційні властивості та ступені безпечності [3].

З іншого боку, з кожним роком зростає кількість резистентних форм бактерій. Ряд мікроорганізмів здатні утворювати біоплівку як механізм природного захисту від шкідливого впливу фізичних, хімічних і біологічних чинників [4].

Тому пошук дезінфікуючих засобів, що мають однаково ефективну бактерицидну дію як на звичайні популяції мікроорганізмів, так і на ті, що утворюють біоплівки, продовжується. До таких дезінфікуючих засобів, на нашу думку, можна віднести препарати на основі гуанідинів. Одним із них є «Епідез» або полігексаметиленгуанідин (далі ПГМГ) хлорид. Гранично допустима концентрація (ГДК) для ПГМГ хлориду у воді природних водойм становить 0,1 мг/л або 10^{-5} %. Ця концентрація біоциду не впливає на процеси їх самоочищення [5].

Токсичність і біоцидні властивості полігуанідинів значною мірою залежать не лише від їх концентрації, а й від молекулярної маси та хімічної природи аніону. Вважається, що токсичність полігуанідинів зменшується одночасно із зменшенням електронегативності аніону, тобто токсичні властивості гуанідинових сполук залежать від ступеня делокалізації позитивного заряду в молекулі [6].

Солі ПГМГ з органічними кислотами в багатьох випадках не поступаються своїми дезінфікуючими властивостями ПГМГ хлориду, при цьому вони менш токсичні для людини і тварин, та менш агресивні до природних екосистем [7, 8].

Мета роботи – вивчити ефективність різних концентрацій дезінфікуючого препарату «Епідез» на мікроорганізми, які здатні утворювати біоплівки.

Матеріали та методи. Як тест-штами взято *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens* і *Escherichia coli* – мікроорганізми, які здатні формувати біоплівки на живильних середовищах.

Вивчення чутливості тест-мікроорганізмів до різних концентрацій «Епідезу» проводили на мікробних біоплівках, отриманих на МПА у чашках Петрі. Після 24 год. інкубації культур тест-штамів, чашки триразово відмивали від планктонних (неприкріплених) мікроорганізмів стерильним фосфатним буфером, після цього у чашки вносили по 5 см³ робочих концентрацій «Епідезу» і витримували за кімнатної температури впродовж часу, що прописаний в інструкції із застосування тієї чи іншої концентрації «Епідезу». Після відповідної експозиції дезінфікуючий засіб зливали, чашки триразово промивали стерильним фосфатним буфером, вносили 5 см³ стерильного 0,9 %-го розчину натрію хлориду і стерильним тампоном ретельно відмивали зі стінок та дна чашки мікробну біоплівку. Із чашок відбирали 1,0 см³ суспензії, готували ряд десятикратних розведень; по 1,0 см³ кожного розведення висівали у чашки Петрі, заливали розплавленим та охолодженим до 45±1°C МПА та інкубували за температури 30 °C протягом 48 год., потім підраховували кількість колоній [9].

Дослідження чутливості планктонних мікроорганізмів до засобів проводили методом визначення бактерицидної концентрації робочих концентрацій «Епідезу». У стерильні пробірки вносили по 10 см³ робочих концентрацій «Епідезу» і додавали 0,1 см³ (1 млрд. мікробних клітин)

24-годинної зависі тест-мікроорганізмів. Експозицію встановлювали відповідно до рекомендацій, що прописані в інструкції із застосуванням тієї чи іншої концентрації «Епідезу». Надалі відбирали вміст пробірки у кількості 1,0 см³, готували ряд десятикратних розведень, вносили у чашки Петрі по 1,0 см³ кожного із розведення та заливали розплавленим і охолодженим до 45±1 °C МПА. Посіви інкубували у термостаті за температури 30 °C і через 48 год. обраховували результат.

Результати досліджень. У таблиці наведені результати наших досліджень з вивчення ефективності різних концентрацій «Епідезу» на тест-штами мікроорганізмів *in vitro*, бактеріальну масу, що перебувала у формі планктону та біоплівки.

Таблиця – Чутливість тест-мікроорганізмів, сформованих у вигляді планктону та біоплівки, до різних концентрацій дезінфікуючого засобу «Епідез» (M±m; n=5)

Рід, вид бактерій	Бактерії	Кількість бактерій у 1 см ³ зависі або змиву							
		Контроль	0,05 %, 1 год.	0,1 %, 30 хв.	0,5 %, 15 хв.	0,5 %, 2 год.	0,5 %, 6 год.	1 %, 6 год.	2 %, 6 год.
<i>S. aureus</i>	Планктон	1,0±0,5 ×10 ^{7*}	0	0	0	0	0	0	0
	Біоплівка	2,2±0,4 ×10 ^{8**}	1,2±0,2 ×10 ^{5*}	2,5±0,2 ×10 ^{5**}	2,8±0,3 ×10 ^{4*}	0	0	0	0
<i>P. fluorescens</i>	Планктон	1,1±0,2 ×10 ^{7*}	0	0	0	0	0	0	0

	Біоплівка	3,1±0,2 ×10 ^{5**}	3,2±0,2 ×10 ^{5**}	2,5±0,1 ×10 ^{5**}	1,8±0,2 ×10 ^{3**}	0	0	0	0
<i>E. coli</i>	Планктон	1,1±0,2 ×10 ^{7**}	0	0	0	0	0	0	0
	Біоплівка	3,9±0,2 ×10 ^{9***}	2,5±0,1 ×10 ^{5**}	3,5±0,2 ×10 ^{5*}	1,0±0,2 ×10 ^{5**}	4,8±0,9 ×10 ^{2**}	3,0±0,6 ×10 ^{1**}	2,7±0,4 ×10 ^{1**}	0

Примітка: * – $\rho < 0,5$; ** – $\rho < 0,1$; *** – $\rho < 0,05$

Наведені у таблиці дані свідчать, що «Епідез» навіть у концентрації 0,05 % діє згубно на всі тест-мікроби у планктонній формі.

Проте, всі тест-мікроби у біоплівковій формі існування проявляють резистентність навіть до дії високих концентрацій «Епідезу». Так, після 15-хвилинної експозиції 0,5 %-го розчину препарату найвища кількість живих мікробних клітин, які були піддані дії «Епідезу», залишилася в *E. coli* – $1,0 \pm 0,2 \times 10^5$, дещо менша у *S. Aureus* – $2,8 \pm 0,3 \times 10^4$ і найменша у *P. fluorescens* ($1,8 \pm 0,2 \times 10^3$). Це свідчить про те, що кишечна паличка у біоплівковій формі є дуже стійкою до дії дезінфектантів гуанідинового походження і, зокрема, до препарату «Епідез». Зрештою золотистий стафілокок та синьогнійні палички теж мають високу резистентність до дії дезінфектантів, коли вони перебувають у біоплівковій формі.

Висновки. 1. Здатність мікроорганізмів до утворення біоплівки дуже підвищує їх резистентність до дії дезінфікуючих засобів, зокрема, «Епідезу».

2. Отримані дані про підвищену стійкість *S. aureus*, *P. fluorescens* і *E. coli* до дії дезінфектантів слід враховувати при проведенні заключних дезінфекцій у неблагополучних пунктах щодо стафілококозу, псевдомонузу та колибактеріозу.

Список літератури

1. Безуглий М.Д. Актуальні проблеми біобезпеки та біозахисту щодо розробки та виробництва імунобіологічних препаратів для ветеринарної медицини / М.Д. Безуглий, Б.Т. Стегній, І.Ю. Бісюк, М.В. Рубленко // Ветеринарна медицина. Міжвідомчий тематичний науковий збірник. – Харків: ІЕКВМ, 2011. – Вип. 95. – С. 5–10
2. Полтавченко Т.В. Якість дезінфекції на потужностях, які підлягають ветеринарно-санітарному контролю і нагляду / Т.В. Полтавченко, С.В. Мідик // Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень. – 2013. – Вип. 23. – С. 209–210.
3. Якубчак О.М. Ветеринарна дезінфекція. Інструкція та методичні рекомендації / О.М. Якубчак, В.І. Хоменко, С.В. Мідик та ін.. – К.: Біопром, 2010. – 152 с.
4. Соколова Н.Ф. Методологические основы определения устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам / Н.Ф. Соколова // Мат. 8-го съезда Российского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. – М., 2002. – С. 55–56.
5. Мандигра М.С. Використання полігексаметиленгуанідину для дезінфекції / [М.С. Мандигра, І.В. Степаняк, А.В. Лисиця, Ю.М. Мандигра] // Аграрний вісник Причорномор'я. Зб. наук. праць. Вип. 42. – Одеса: СМІЛ, 2008. – Ч.2. – С. 69–73.
6. Воинцева И.И. Полигуанидины – дезинфекционные средства и полифункциональные добавки в композиционные материалы / И.И. Воинцева, П.А. Гембицкий. – М.: ЛКМ-пресс, 2009. – 304 с.
7. Лисиця А.В. Визначення токсичної дії похідних гуанідину на *Paramecium caudatum* / А.В. Лисиця // Наукові доповіді НУБіП України. – 2009. – № 3 (15). Електронне видання <http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2009-3/09lavdpc.pdf>.
8. www.iet.biocide.ru 28.01.2009.
9. Рекомендації щодо санітарно-мікробіологічного дослідження змивів з поверхонь тест-об'єктів та об'єктів ветеринарного нагляду та контролю. – К.: Видавничий центр НАУ, 2004. – 18 с.
10. Вивчення ефективності дезінфікуючого засобу «Укеоцид С» в лабораторних умовах / НА. Пархоменко, В.А. Піотрович, В.С. Тиндик та ін. // Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень. – 2008. – № 13. – С. 183–188.

BACTERICIDAL EFFICIENCY OF "EPIDEZ" ON MICROORGANISMS THAT FORM BIOFILMS

Mandyhra Y.M.

Rivne Research Station for Epizootology of Institute of Veterinary Medicine NAAS, Rivne

*A number of microorganisms are capable of forming of biofilm as a mechanism of natural protection from the harmful effects of physical, chemical and biological factors. Purpose was to study the effectiveness of different concentrations of disinfectants "Epidez" on bacteria that are able to form biofilms. Work carried out using microbiological and biostatistical methods. It was established that the usefulness of microorganisms to form biofilms makes them very resistant to the action of disinfectants, including "Epidez." The data on increased resistance *S. aureus*, *P. fluorescens* and *E. coli* to the disinfectant action should be considered during final disinfection in affected areas for the respective diseases.*

Keywords: bactericidal efficiency, microorganisms