

РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ НОВОГО ДЕЗІНФІКУЮЧОГО ЗАСОБУ ЩОДО ТЕСТ-КУЛЬТУР КИШКОВОЇ ПАЛИЧКИ

Бондарчук А. О., Головка В. О.

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків, Україна, e-mail: ancheystar@mail.ru

У статті наведені дані щодо встановлення антимікробної дії нового розробленого дезінфікуючого засобу на тест-культурах кишкової палички. Наведені оптимальні режими застосування (концентрація та експозиція), під час яких відбувається знищення мікроорганізмів наступних видів: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*.

Ключові слова: мікроорганізм, дезінфікуючий засіб, тест-культура

Ефективність методів боротьби з інфекційними хворобами, а також їх профілактика значною мірою залежать від проведення багатьох ветеринарно-санітарних заходів, насамперед, від якості дезінфекції [1].

Ефективність дії дезінфекційних засобів на збудника будь-якого інфекційного захворювання залежить від багатьох факторів, у тому числі, від їх бактерицидних дії, режимів застосування (експозиції та концентрації) температури розчинів, властивостей і температури середовища, в якому відбувається контакт збудника захворювання з дезінфектантом, способу подачі його до об'єкта та кількості дезінфектанту, витраченого для знезараження, тривалості дії на збудника хвороби і, нарешті, від біологічних властивостей збудника хвороби [1, 5].

Завдання ветеринарної дезінфекції полягає не тільки в знищенні мікроорганізмів в об'єктах довкілля, але у пошуку і впровадженні в практику засобів, ефективних щодо багатьох збудників інфекційних хвороб тварин, доступних і безпечних для людини [2, 3, 4].

Метою нашої роботи було встановити антимікробну активність розробленого нового дезінфікуючого засобу та визначити оптимальні режими його застосування для знищення на тест-об'єктах кишкової палички.

Матеріали та методи. Антимікробну активність дезінфікуючого засобу і їх субстанцій вивчали з використанням батистових тест-об'єктів. Знезаражувальні властивості 0,1% та 0,5% водних розчинів дезінфікуючого засобу вивчали за стандартними методиками [6] на музейних тест-штамах *E. coli* M-17, *S. aureus* 209P, *P. aeruginosa* spp., *C. albicans* spp. Метод батистових тест-об'єктів дає змогу визначити експозиції повного знезараження штучно інфікованих тест-об'єктів. Робочу суспензію тесту-культур готували з культури даного тесту-штаму, вирощеного на щільному живильному середовищі – м'ясо-пептоному агарі при температурі 37 °С протягом 18–24 годин. Для приготування бактерійної суспензії культуру змивали з агару стерильною водою. Отриману суспензію мікробів фільтрували через ватно-марлевий фільтр і розводили стерильною водою до відповідної концентрації.

Для стандартизації тесту-культур мікроорганізмів оптичним методом використовували денситометр ДЕН -1 (рис. 1, рис. 2), призначений для виміру оптичної щільності суспензій і розчинів в межах діапазону 0,3–15,0 одиниць Мак-Фарланда. У відповідності із стандартом Мак-Фарланда 5 одиниць, в 1 мл отриманої мікробної суспензії концентрація бактерійних кліток складала $1,5 \times 10^9$. Представлені цифрові значення є середніми величинами для бактерій, а для дрожжеподібних кліток роду кандиди ці значення були розділені на 30.



Рис. 1.



Рис. 2.

Культури тесту-мікроорганізмів піддавали контролю їх якості. Зокрема, безпосередньо перед використанням тесту-культур для дослідницьких цілей переконувались в тому, що тест-штами, що виростили на живильному середовищі, не забруднені сторонньою мікрофлорою (рис. 1, рис. 2). Для оцінки зростання культур тесту-штамів візуально переглядали кожну пробірку та проводили мікроскопію мазка культур при забарвленні за методом Грама.

У зв'язку з тим, що суспензія може містити поряд з живими ще й мертві мікроорганізми, визначали бактеріологічну концентрацію фактичної кількості живих клітин в приготовленій суспензії, щоб при необхідності внести корективи і забезпечити відповідні рівні контамінації батистових тест-об'єктів життєздатними мікроорганізмами. Визначення біологічної концентрації тест-мікроорганізмів виконували методом послідовних десятиразових розведень суспензії тест-мікроорганізму в стерильній воді з подальшим висівом суспензії в чашки Петрі з щільним живильним середовищем (казеїновий агар, агар Ендо, МПА). Після певного часу інкубації при відповідній температурі проводили підрахунок колонієутворюючих одиниць, що виростили, та визначали кількість життєздатних бактерій в 1 мл суспензії.

Для оцінки антимікробної дії субстанцій і дезінфікуючого засобу в лабораторних умовах і дослідження ефективності дезінфікуючого засобу при знезараженні різних об'єктів, робочі розчини дезінфікуючого засобу готували безпосередньо перед проведенням досліджень на стерильній воді кімнатної температури.

Перед приготуванням батистових тест-об'єктів шматок батисту занурювали на 24 години в холодну воду. Потім його ретельно стирали з милом, кип'ятили, сушили і гладили праскою. За допомогою голки в приготовлену шматку тканини висмикували нитки в подовжньому напрямі на відстані 11 мм один від одного, а в поперечному – на відстані 6 мм. По цих лініях батист розрізали ножицями на тест-об'єкти і по 50 штук розкладали в чашки Петрі, останні заворачивали в папір і стерилізували паровим методом при 132 °С (2,0 кг/см²) 20 хвилин.

Для контамінації, стерильні батистові тест-об'єкти в чашці Петрі заливали суспензією тест-мікроорганізму з розрахунку 0,5 мл на 1 тест-об'єкт, рівномірно змочуючи всі тест-об'єкти. Чашку Петрі закривали кришкою і залишали на 20 хвилин. Потім в асептичних умовах батистові тест-об'єкти, просочені суспензією тесту-мікроорганізмів, переносили на поверхню стерильного фільтрувального паперу (2–4 шари на дні чашки Петрі), прикривали їх зверху стерильним фільтрувальним папером і закривали чашку Петрі кришкою. Через 10 хвилин після видалення надлишку рідини тест-об'єкти переносили на поверхню сухого стерильного фільтрувального паперу в чашці Петрі і зверху прикривали стерильним аркушем фільтрувального паперу, підсушували в термостаті при 37 °С протягом 20 хвилин.

Зберігали контаміновані батистові тест-об'єкти в чашках Петрі в холодильнику при температурі 4 °С. Термін зберігання батистових тест-об'єктів, контамінованих *E. coli* та *P. aeruginosa* – 1 доба, *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. albicans* – 4 доби.

Результати досліджень. При постановці дослідів для отримання результатів в стерильну пробірку піпеткою наливали необхідний об'єм приготованого дезінфікуючого розчину (з розрахунку 0,5 мл на кожен тест-об'єкт) і, не торкаючись країв колби, опускали в нього за допомогою стерильного пінцета всі тест-об'єкти, які використовували в експерименті (по 2 на кожен експозицію). Легким похитуванням колби досягали змочування тесту-об'єктів досліджуванним розчином. Колбу поміщали у водяну лазню з температурою 18–20 °С і підтримують дану температуру. Відлік часу дії еталонного розчину починали з моменту змочування всіх тест-об'єктів розчином. Через певні інтервали часу (5 хвилин, 15 хвилин, 30 хвилин, 45 хвилин, 60 хвилин) стерильним пінцетом витягували по 2 тест-об'єкти з розчину і занурювали в пробірки з 5 мл стерильного розчину нейтралізатора 0,1 % розчину тіосульфату натрію. Через 5 хвилин тест-об'єкти переносили в пробірку із стерильною водою, а ще через 5 хвилин кожен з двох тест-об'єктів окремо переносили в пробірки з м'ясо-пептонним бульйоном, необхідним для культивування тест-мікроорганізмів.

Контролем були 2 тест-об'єкти, занурені на весь період експерименту в розчин нейтралізатора і 2 тест-об'єкти, занурені на цей же термін у воду, які після закінчення експерименту переносили в живильне середовище. Висіви тест-культур бактерій інкубували в термостаті при температурі 37 °С протягом 18–24 години, дріжджоподібного грибу *C. albicans* – 72 год. Результати оцінювали якісно по відсутності/наявності зростання тест-мікроорганізму в м'ясо-пептонному бульйоні. Критерієм активності деззасобу була 100 % загибель тест-мікроорганізмів *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* (відсутність зростання в дослідних пробах) після відповідної експозиції.

Таблиця 1 – Ефективність дії водного розчину розробленого дезінфікуючого засобу при 0,5 % концентрації

0,5 %	5 хв		15 хв		30 хв		45 хв		60 хв		Контроль вода		Контроль Na тіоульфат	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
<i>St. aureus</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>B. subtilis</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

Примітка "+" – ріст мікобактерій наявний; "-" – ріст мікобактерій відсутній

Дані таблиці 1 свідчать про високу антимікробну активність розробленого дезінфікуючого засобу у концентрації 0,5 % і експозиції 5 хвилин щодо *E. Coli*. Культури *C. albicans*, *P. aeruginosa* гинуть протягом 15 хвилин і 0,5 % концентрації, а культури *St. aureus*, *B. subtilis* інактивуються протягом 30 хвилин.

Таблиця 2 – Ефективність дії водного розчину розробленого дезінфікуючого засобу при 0,1 % концентрації

0,1 %	5 хв		15 хв		30 хв		45 хв		60 хв		Контроль вода		Контроль На тіолульфат	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
<i>St.aureus</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>E. coli</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. subtilis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітка “+” – ріст мікобактерій наявний; “-” – ріст мікобактерій відсутній

Аналізуючи дані таблиці 2 встановили, що водний розчин розробленого нами дезінфікуючого засобу володіє антимікробними властивостями при концентрації 0,1 % за експозиції 5–15 хвилин щодо *E. coli* та знешкоджує *St. aureus* при концентрації 0,1 % та експозиції 45 хвилин. Але, щодо *C. albicans*, *P. aeruginosa*, *B. Subtilis* при концентрації 0,1 % за експозиції 5, 15, 30, 45, 60 хвилин засіб не проявляє антимікробну дію.

Висновки. Встановлено антимікробну активність розробленого дезінфікуючого засобу та визначено оптимальні режими його застосування для знезараження батистових тест-об'єктів.

Розроблений дезінфікуючий засіб у концентрації 0,5 % і експозиції 5 хвилин знешкоджує *E. Coli*; *C. albicans*, *P. aeruginosa* за 15 хвилин і 0,5 % концентрації; *St. aureus*, *B. subtilis* за 30 хвилин.

Перспективи подальших досліджень. Нами будуть проведені виробничі дослідження для встановлення антимікробної дії розробленого дезінфікуючого засобу у тваринницьких приміщеннях.

Список літератури

1. Дезінфекція, дезінсекція, дератизація / Методичні вказівки до практичної роботи для студентів факультету ветеринарної медицини / Литвин В.П., Поліщук В.В., Литвиненко В.М., Сорокіна Н.Г — Київ, 2002. — 98 с.
2. Ощепков В.Г., Аржаков В.Н. Дезинфицирующая активность новых препаратов // Ветеринария. — 2001. - № 4. — С.44-45.
3. М.Г. Шандала/ Устойчивость бактерий к дезинфицирующим средствам Дезинфекционное дело.-2002.-№3.-С.14
4. Рекомендації щодо санітарно-мікробіологічного дослідження змивів з поверхонь тест-об'єктів та об'єктів ветеринарного нагляду і контролю. Розглянуті і затверджені науково-методичною радою Державного департаменту ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України 23 грудня 2004 р. (протокол № 4). — Видавничий центр НАУ. — 2005. — 18 с.
5. <http://www.laverna.prom.ua>
6. Красильников А. П. Справочник по антисептике. Минск: Высшая школа, 1995. – 470 с.; Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности: Руководство.- М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010.-615 с.

RESULTS DETERMINATION OF EFFICIENCY TO NEW SANITIZER TEST CULTURES OF *E. COLI*

Bondarchuk A. O., Golovko V. O.

Kharkov State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

The aim of our work was to determine the antimicrobial activity developed new disinfectant and determine the optimum conditions for the destruction of its application to the test objects E. coli.

Antimicrobial activity of disinfectant substances and their batystovyh studied using test objects. Disinfecting properties 0.1% and 0.5% aqueous disinfectant studied by standard methods on the museum test strains E.coli M-17, S.aureus 209R, P.aeruginosa spp., C.albicans spp. Method batystovyh test results helps identify exposure full decontamination artificially infected test results.

Established antimicrobial activity developed disinfectant and optimum modes of its application for disinfection batystovyh test objects.

Designed sanitizer at a concentration of 0.5% to 5 minutes exposure eliminates E. coli; C. albicans, P. aeruginosa within 15 minutes and 0.5% concentration; St. aureus, B. subtilis 30 minutes.

Keywords: *microorganism, sanitizer, test culture*