

УДК 619: 371: 579. 841

## МОДИФІКОВАНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ БАКТЕРИЦИДНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ДЕЗІНФІКУЮЧИХ ЗАСОБІВ

Зон Г. А., Ващик Є. В.

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, e-mail: vev0902@ya.ru

Розроблено модифікований метод визначення бактерицидних властивостей дезінфікуючих засобів та підтверджено його ефективність у порівнянні з традиційним способом. Метод дозволяє визначити активні концентрації дезінфектантів з використанням лише звичайного лабораторного посуду, поживних середовищ та тест-культур. Ефективність дезінфекційних засобів встановлюється за наявності або відсутності лінії затримки росту культури на скошеному агарі на місці попередньо нанесеної стікаючої краплі дезінфектанту.

**Ключові слова.** Бактерицидні властивості, метод «стікаючої краплі», дезінфекційні засоби, тест-культури, тест-об'єкти.

Поширення міжнародних економічних зв'язків сьогодні сприяє розвитку біологічних загроз і ризиків розповсюдження транскордонних та емерджентних хвороб. Розповсюдження нових хвороб відбувається не тільки за рахунок інтенсивної міграції населення, тварин та транзиту вантажопотоку, але й різноманітних біотичних та абіотичних факторів навколишнього середовища регіону, що сприяє резервації збудників в міжепізотичні періоди їх існування [5].

При розробці заходів профілактики та боротьби з такими хворобами важливе місце займає дослідження ефективності нових дезінфекційних засобів на предмет активності щодо збудників інфекційних захворювань. Існуючі традиційні методи дослідження бактерицидних властивостей дезінфекційних засобів (з використанням пластинок тест-об'єктів виробничих поверхонь або батистових (бязевих) тест-об'єктів, штучно контамінованих тест-культурами) потребують спеціального лабораторного обладнання для дослідів, чималої кількості різноманітних тест-об'єктів і подальшої нейтралізації їх після проведення випробувань [1, 2, 4]. У виробничих умовах виникає потреба у розробці технологічно раціональніших, мало затратних щодо часу та вартості експрес-методів дослідження ефективності бактерицидних властивостей дезінфектантів в конкретних умовах для зменшення ризику розповсюдження транскордонних та емерджентних хвороб.

**Метою роботи** було дослідження ефективності запропонованого авторами модифікованого методу визначення бактерицидних властивостей дезінфекційних засобів у порівнянні з традиційним методом (на тест-об'єктах).

**Матеріали та методи.** Принцип запропонованого авторами модифікованого методу встановлення ефективності дезінфектанту полягає у виявленні наявності або відсутності лінії затримки росту бактеріальної культури у вигляді «чистої доріжки» після її інкубації на скошеному агарі. На культуру попередньо наносять стікаючу краплю дезінфектанту [3].

Для підтвердження ефективності запропонованого методу дослідження бактерицидної активності дезінфекційних засобів проводили дослідження на базі бактеріологічної лабораторії кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці факультету ветеринарної медицини Сумського національного аграрного університету шляхом паралельних досліджень бактерицидної дії нового дезінфекційного препарату «Вет-амін» щодо тест-культур двома методами. Перший метод передбачав застосування запропонованого модифікованого способу «стікаючої краплі» [3], а другий – стандартної методики з використанням тест-об'єктів [1].

В якості тест-культур в обох методах досліджень використовували: *E. coli* (штам 1257), *P. aeruginosa* (штам 27/99), *S. aureus* (шт. р. 209), антракоїд *B. anthracoides* (шт. Р. 96). У дослідях застосовували 2 млрд. зависі добових агарових культур на стерильному ізотонічному розчині з рН 7,2 (виготовлених за стандартом мутності ДКІ ім. Тарасевича (РФ, м. Москва). Зависі спорових культур готували з трьохдобових агарових культур, що зберігалися 10 діб за кімнатної температури.

Ефективність дезінфектанту «Вет-амін» модифікованим методом «стікаючої краплі» вивчали наступним чином: рівномірно розподіляли зависі добових тест-культур по поверхні скошеного МПА (брали по 6 пробірок на кожну дослідну концентрацію для кожного виду мікроорганізму), витримували їх в термостаті за температури +38 °С протягом 40 хв, після чого в 4 з кожних шести пробірок вносили по 1 краплі дезрозчину досліджуваних концентрацій та ставили їх в штатив для стікання краплі на 15 хв. Окремо в дві пробірки, що залишились, замість дезрозчину вносили фізіологічний розчин (рН 7,2–7,4) та залишали для контролю (контроль №1). Інкубували в термостаті за температури +38 °С, облік вели через 12, 24, 48 год. Паралельно інкубували дві пробірки з поживним середовищем (МПА) за аналогічних умов для контролю стерильності середовища (контроль № 2). Ефективною концентрацію дезрозчину вважали таку, де чітко виявлялась лінія затримки росту бактеріальних культур в місці нанесення дезрозчину та «чиста доріжка» була суцільною, непереривною.

При визначенні антимікробної активності дезінфекційного препарату «Вет-амін» традиційним методом в якості тест-об'єктів використовували оцинковане залізо, дерев'яні бруски (пофарбовані та непофарбовані), червону цеглу та вирізи з штукатурки, розміром 10 на 10 см<sup>2</sup>. За умов стерильності

тест-об'єкти, що були попередньо знезаражені методом автоклавування, викладали на емальовані кювети горизонтально і піпеткою наносили на них підготовлені зависі тест-культур. Підсушували протягом 60 хв за кімнатної температури. За допомогою оприскувача наносили розчин «Вет-аміну» на поверхню тест-об'єктів (з розрахунку 10 мл на 10 см<sup>2</sup>) в концентрації 0,005 %, 0,01 %, 0,02 %, 0,05 %, 0,2 %. Робочі розчини використовували за експозиції 60 хв. Контрольні тест-об'єкти зрошували перекип'яченою водопровідною водою кімнатної температури (контроль № 1).

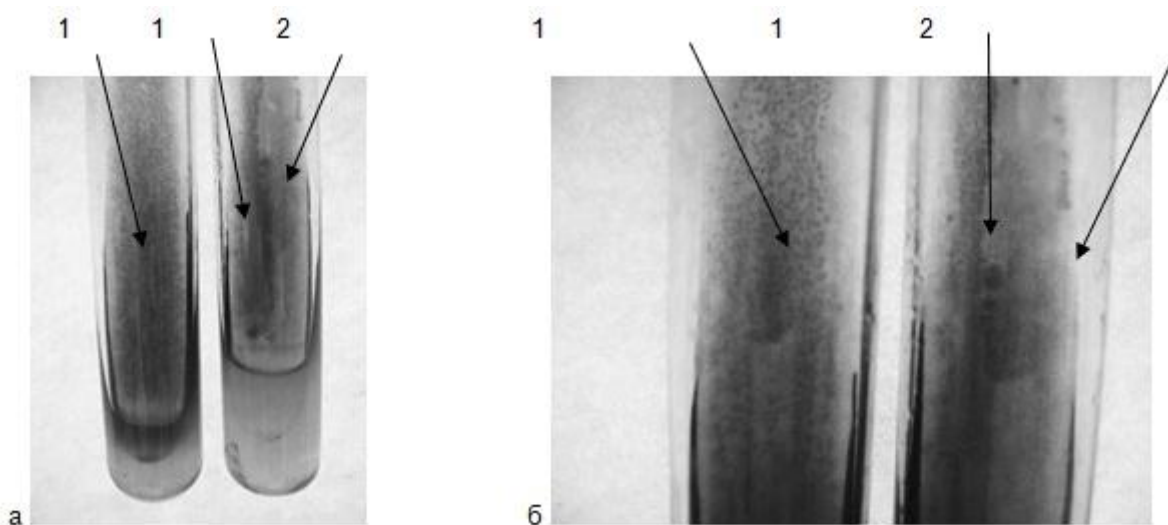
Визначення якості дезінфекції проводили за допомогою стерильних вологих ватних тампонів, які після взяття проб занурювали в пробірки з МПБ і інкубували в термостаті за температури +38 °С. Облік вели через 12, 24, 48 год. Для контролю стерильності середовища паралельно інкубували дві пробірки з МПБ за аналогічних умов (контроль № 2). Помутніння МПБ, зміна його кольору на синьо-зелений, утворення сіруватої плівки на поверхні та ослизлого осаду на дні пробірки свідчило про наявність росту мікроорганізмів. Ідентифікували мікроорганізми на МПА, молочно-сольовому агарі, середовищах Ендо, Вільсон-Блер.

**Результати досліджень.** У результаті досліджень, проведених методом «стікаючої краплі» встановлена бактерицидна дія при використанні розчину «Вет-аміну» з 0,02 % концентрацією та вищою (0,05 %; 0,2 %;), про що свідчить виявлена чітка непереривчаста лінія затримки росту тест-культур у місці нанесення дезінфектанту у цих концентраціях. Бактеріостатична дія виявлена в концентрації 0,01 % для всіх тест-культур та в концентрації 0,005 % для *E. coli* та *S. Aureus* – після нанесення дезрозчину в даних концентраціях виявляли нечітку, переривчасту лінію затримки росту тест-культур. Стійкість тест-культур *B. anthracoides* та *P. aeruginosa* до дезрозчину в концентрації 0,005 % підтверджена відсутністю лінії затримки росту та суцільним ростом даних тест-культур по всій поверхні МПА (табл. 1, рис. 1).

**Таблиця 1 – Результати визначення ефективності дезінфекційного засобу «Вет-амін» щодо тест-культур методом «стікаючої краплі»**

Результати росту тест-культур	Вид тест-мікроорганізмів/концентрації дезрозчину																				К № 1	К № 2
	<i>E. coli</i>					<i>S. aureus</i>					<i>B. anthracoides</i>					<i>P. aeruginosa</i>						
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5		
чітка непереривчаста лінія затримки росту культур	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
переривчаста, нечітка лінія затримки росту культур	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
суцільний ріст культур по всій поверхні МПА	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
відсутній ріст культур по всій поверхні МПА	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

**Примітки:** «+» – вказана ознака виявлена, «-» – вказану ознаку не виявлено; К № 1 – контроль № 1, К № 2 – контроль № 2; 1 – відповідає концентрації 0,005 %; 2 – відповідає концентрації 0,01 %; 3 – відповідає концентрації 0,02 %; 4 – відповідає концентрації 0,05 %; 5 – відповідає концентрації 0,2 %.



**Рис. 1а.** (1б – збільшено). Лінія затримки росту (2) культури *P. aeruginosa* (1) у місці нанесення дезінфектанту (2) «Вет-амін» методом «стікаючої краплі» у порівнянні з чистою культурою *P. aeruginosa* на скошеному МПА (1) (пробірка зліва – контроль – чиста культура; справа – дослідження)

У результаті проведених традиційним методом досліджень було виявлено, що після нанесення 0,005 % розчину деззасобу було виділено культури *E. coli* та *P. aeruginosa* з поверхні нефарбованої

деревини, цегли та штукатурки, *S. Aureus* – з поверхні непофарбованої та пофарбованої деревини та штукатурки, *B. Anthracoides* – з усіх типів поверхонь. При використанні 0,01 % дезінфекційного розчину відбувалась загибель всіх тест-культур на оцинкованому залізі та пофарбованій деревині, проте ріст усіх культур було виявлено на поверхні непофарбованої деревини, також виявляли ріст *S. aureus* з поверхні штукатурки, *B. Anthracoides* – цегли та штукатурки та *P. Aeruginosa* – цегли. Після дії розчину в концентрації 0,02 % і вищих (0,05 %, 0,2 %) – ріст культур не встановлено незалежно від структури поверхні тест-об'єкту. У контролі № 1 був виявлений суцільний ріст усіх тест-культур, а в контролі № 2 – росту культур не виявлено ні в одній пробірці. Результати дослідження представлені в таблиці 2.

**Таблиця 2 –** Результати визначення ефективності дезінфекційного засобу «Вет-амін» щодо тест-культур на різних тест-об'єктах за експозиції 1 год (традиційний метод)

Тест-об'єкти	Вид тест-мікроорганізмів/концентрації дезрозчину																			
	<i>E. coli</i>					<i>S. aureus</i>					<i>B. anthracoides</i>					<i>P. aeruginosa</i>				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Оцинковане залізо	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Пофарбована деревина	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Непофарбована деревина	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
Цегла	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
Штукатурка	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-

**Примітки:** «+» – ріст культур виявлено, «-» – росту культур не виявлено; 1 – відповідає концентрації 0,005 %; 2 – відповідає концентрації 0,01 %; 3 – відповідає концентрації 0,02 %; 4 – відповідає концентрації 0,05 %; 5 – відповідає концентрації 0,2 %.)

Таким чином, за даним методом дослідження встановлено бактерицидну дію «Вет-аміну» в концентрації 0,02 %; бактериостатичну дію – у концентрації 0,01 %.

Порівняльна оцінка двох методів щодо визначення ефективності дезінфектанту «Вет-аміну» свідчить що отримані результати співпадають.

**Висновки.** 1. Встановлена ефективність запропонованого методу визначення бактерицидних властивостей дезінфекційних засобів щодо тест-культур мікроорганізмів.

2. Переваги запропонованого методу над традиційним полягають в тому, що він не потребує виготовлення та використання різноманітних тест-об'єктів, необхідної подальшої їх нейтралізації, є більш зручним у виконанні та економічним у часі та вартості.

**Перспективи подальших досліджень.** У подальшому заплановано проведення досліджень з визначення активності нових екологічно безпечних дезінфектантів щодо збудників актуальних на сьогодні хвороб з використанням запропонованого методу.

*Список літератури*

1. Березовський А.В. Застосування новітніх засобів і методів санації об'єктів птахівництва та контроль їх ефективності. Методичні рекомендації / А.В. Березовський, Т.І. Фотіна, Г.А. Фотіна. – Київ, 2007. – 9 с.
2. Инструкция по определению бактерицидных свойств новых дезинфицирующих средств, Министерство здравоохранения СССР. - 1968 г., N 737-68.
3. Пат. 69947 Україна, МПК (2012.01) А61L 12/00. Модифікований спосіб визначення бактерицидних властивостей нових дезінфікуючих засобів / Зон Г.А., Вашик Є.В.; заявник та патентовласник Сумський національний аграрний університет. - № у 2011 10753; заявл. 07.09.2011; опубл. 25.05.2012, Бюл. №10.
4. Перечень основных действующих нормативных и методических документов по эпидемиологии. - М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.—24 с.
5. Сидорчук А. А. Современные представления о зоонозах [Електронний ресурс] / А.А. Сидорчук // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. Вип. №4. - 2012. - Режим доступа: <http://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-predstavleniya-o-zoonozah>.

**MODIFIED METHOD OF DETERMINING ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF DISINFECTANTS**

**Zon G. A., Vaschuk Y. V.**

Sumy National Agrarian University, Sumy

*Purpose of work* is the research of efficiency of the proposed by the authors modified method of the determining the bactericidal properties of disinfectants in comparison with the classical method (at the test object).

*Materials and methods.* The principle of the proposed by the authors modified method of determining the disinfectant effectiveness consists in the identification of the presence or absence of the growth delay line of the bacterial culture in the form of "pure track" after its incubation in the beveled agar. Previously a flowing down drop of the disinfectant is inflicted on the culture.

The task was implemented by parallel researches of bactericidal action of the new disinfectant "Wet-Amin" on the test cultures by two methods. The first method is proposed modified method of "flowing down

drop". The second method is a standard method using test-objects. In both research methods as test cultures *E. coli* (str. 1257), *P. aeruginosa* (str. 27/ 99), *S. aureus* (str. 209), antrakoyid *B. anthracoides* (str. P.96) were used.

**Results.** As a result of research conducted by the "flowing down drop" method the bactericidal action while using a solution of "Wet-amine" of 0.02 % and higher concentrations (0.05 %, 0.2 %;) was discovered, proved by the revealing a distinct continuous line of stunted growth of test cultures at the place of application of disinfectant concentrations.

In researches by the classical method it was discovered that after the exposure of the solution of 0.02 % and higher (0.05 %, 0.2 %) concentration, the growth of cultures was not found. Thus, by this method the bactericidal action of "Wet-amine" at a concentration of 0.02 % was discovered. Accordingly, the results of researches by two methods coincide.

**Conclusions.** 1. The effectiveness of the proposed method of determining the bactericidal properties of disinfectants with respect to pathogens was determined.

2. Advantages of the method: it does not require the production and usage of various test-objects and their further neutralization, it is more comfortable in execution and economic in time and cost price.

**Keywords:** bactericidal properties, method of "flowing down drop", disinfectants, test-culture, test-objects.

УДК 619:616:608.3:331.4

## ПОДХОДЫ К ПРОГРАММЕ ПО БИОБЕЗОПАСНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЮ БИОРИСКОВ В УКРАИНЕ

Головко А.Н.

Государственный научно-контрольный институт биотехнологии и штаммов  
микроорганизмов, г. Киев, e-mail: anatolii\_golovko@mail.ru

*Статья посвящена вопросам повышения биологической безопасности страны, приведены важнейшие источники опасности и пути их уменьшения. Обосновывается развитие и принятие государственной программы по уменьшению биологических угроз.*

**Ключевые слова:** биологическая безопасность, патогены, риски.

Проблемы биологической безопасности и биологического терроризма и в настоящее время являются важными составляющими общей безопасности многих государств. Это можно объяснить тем, что использование в качестве биологического оружия возбудителей различных заболеваний человека и животных, осуществление диверсий на предприятиях, где выпускают биологические препараты или поддерживают коллекции штаммов микроорганизмов, может привести к непредвиденным последствиям на значительных территориях одного или нескольких государств.

Глобальные геополитические, геоэкологические и климатические, эпидемиологические и эпизоотические изменения, биологический терроризм, стремительное развитие био-и нанотехнологий обусловили решение вопросов проблемы биологической безопасности не только в национальных, но и в мировом масштабах.

В частности, целый ряд факторов привели к существенному усложнению глобальной эпидемической и эпизоотической ситуации. В течение последних 30 лет человечество столкнулось с более чем 40 новыми патогенными микроорганизмами, которые в ряде случаев стали реальной угрозой как для людей, так и для животных.

Причем, у людей в основном – это ряд вирусных геморрагических лихорадок, резервуарами которых являются дикие и домашние животные, а также птицы, с преимущественно трансмиссивным механизмом передачи возбудителя.

По данным МЭБ/ФАО/ВОЗ около 200 заразных болезней насчитывает группа так называемых эмерджентных или непредсказуемых инфекций, которые очень распространились. Их причиной является непредсказуемые изменения биоценоза микроорганизмов под влиянием изменений климата, экологических катастроф, ухудшение окружающей среды в результате производственной деятельности человечества и т.п.

Классическим примером увеличения уровня биоугроз является распространение в Европе катаральной лихорадки овец (блутанга) с летальностью 90–100 %, природные очаги которой недавно ограничивались Северной Африкой и Ближним Востоком. В целом, по данным МЭБ из перечня особо опасных инфекций наиболее распространены высокопатогенный грипп птицы, болезнь Ньюкасла, блутанг, классическая чума свиней, африканская чума свиней, ящур.

**Целью** данной статьи является выявление причин и источников биологических угроз, а также предложения по их уменьшению.