

ВИЗНАЧЕННЯ АНТИМІКРБНОЇ АКТИВНОСТІ ПРЕПАРАТУ «БІОЦИДІН»

О.І. Шкромада, к.вет.н., доцент,

Р.В. Долбаносова, к.вет.н.

Сумський національний аграрний університет

В статті наведені дані по дослідженню бактерицидної дії комплексного дезінфектанту «Біоцидін». В результаті проведених досліджень було доведено, що комплексний дезінфектант «Біоцидін» в досить низьких концентраціях (0,025 та 0,05%) проявляє значну антибактеріальну здатність (понад 90%) відносно багатьох видів патогенних культур на різних видах загальнопритяжних експериментальних тест-об'єктів.

Ключові слова: бактерицидна дія, дезінфектант, культура мікроорганізмів, бактерицидне розведення, поживне середовище.

Постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями. Зараз на вітчизняному ринку пропонується дуже широкий спектр різноманітних за хімічною природою біоцидних препаратів. Практична цінність хлормістких препаратів нового покоління препаратів полягає в тому, що вони мають широкий спектр дії на мікроорганізми і пролонгований ефект, крім того їх можна використовувати практично в усіх галузях промисловості з гарантованою безпекою для людей, тварин і навколишнього середовища.

Аналіз основних досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання проблеми. До органічних сполук хлору, похідних гідантоїну належать композиційні дезінфектанти, що випускаються в Україні - сульфохлорантоїн, хлорантоїн, дозволений до застосування дезінфектант хлорсепт і препарат «Біоцидін». Порівняно з неорганічними з'єднаннями хлору вказані композиції менш токсичні, не такі агресивні щодо оброблюваних об'єктів, мають м'яку властивість. До того ж натрієва сіль дихлорізоціанурової кислоти, яка у препараті «Біоцидін» знаходиться у зв'язаному стані та не розпадається з утворенням вільного хлору при зберіганні, тому не становить загрози для людей і навколишнього середовища, не вимагає спеціальних заходів безпеки, не втрачає активний хлор при зберіганні, отже, не потребує постійного контролю, не має різкого неприємного запаху [2, 4].

Завдання дослідження. Визначити бактерицидну концентрацію препарату «Біоцидін».

Матеріал і методи. Чутливість бактеріальних культур до препарату «Біоцидін» визначали за методом серійних розведень у рідкому живильному середовищі. Робочі розчини готували з основних розчинів перед дослідом, для розведення використовували МПБ. Концентрації препарату в пробірках готували методом послідовних розведень з таким розрахунком, що передбачена чутливість знаходиться всередині ряду. Стандартні

розведення культур готували за схемою: спочатку робили висіви на МПА, витримували у термостаті при 37°C 16-18 годин, потім робили змиви культур стерильним ізотонічним розчином хлористого натрію і за стандартом каламутності визначали концентрацію мікробних клітин в 1 мл. Додатково робили висіви дезінфектанту для проведення чистоти культури, а пробірку, в якій робили висів використовували для контролю якості поживного середовища.

Результати дослідження. Чутливість культур до препарату «Біоцидін» визначали візуально через 16–18 годин. Бактеріостатичну концентрацію встановлювали за схемою: концентрацію дезінфектанту в пробірці з відсутністю росту додавали до кількості дезінфектанту в 1 мл середовища подальшої пробірки, де відмічали ріст культури і виводили середнє арифметичне число, яке показувало мінімальну концентрацію дезінфектанту, який затримував ріст культур.

Визначення антимікробної активності препарату «Біоцидін» проводили на патогенних культурах, які були ізольовані в ряді свиного господарств України (*S. fecalis*, *S. enteritidis*, *S. choleraesuis*, *C. jejuni*, *C. fetus*, *Y. enterocolitica*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *C. diversus*, *E. agglomerans*, *C. perfringens*), а також тест-культур, отриманих з ВДНКІВП (м. Москва): *E. coli* серовар O2, штам №1257; *S. aureus* штам № 209–P (додаток М). Як тест-об'єкти використовували оцинковане залізо розміром 10 на 10 см. Перед нанесенням тест-культур – провели повну дезінфекцію поверхні. Після підсихання, тест-об'єкт клали горизонтально і піпеткою наносили 2-х мільярдну суміш культур, що вивчались, із розрахунку 0,5 мл на 100 см². Культури рівномірно розташовували по поверхні скляним шпателем, підсушували при кімнатній температурі (18–20°C) і відносній вологості повітря 50-60%. Потім тест-об'єкти розкладали горизонтально і вертикально і піпеткою обробляли дезінфікуючим препаратом «Біоцидін» у кількості 200 мл/м². Досліджували 0,025%, 0,05%, 0,1%; 0,25% та 0,5% розчини препарату. Після зрошення, поверхню залишали

до повного висихання. Контрольні тест-об'єкти зрошували стерилізованою водопровідною водою в тій же кількості. Контроль ефективності дезінфекції проводили за допомогою стерильного тампона, який був вологий. Ватний тампон відмивали в 10 мл води з намістом протягом 10 хвилин. Змив, який отримали з дослідних пластинок, вносили на чашки Петрі, заливали агаром при температурі 40-50°C.

Змиви з контрольних пластинок перед посівом розводили в 100 разів з метою рівномірного розподілення мікроорганізмів у агарі, проводили змішування поживного

середовища. Висіви витримували в термостаті при 37°C, а потім підраховували кількість колоній, які виростили на чашках Петрі. Потім визначали щільність контамінації на 100 см² і відсоток знезараження. Результати розраховували за формулою:

$$X = a \times 100 / v,$$

де: а – кількість мікробних клітин з досліджуваних пластинок;

v – кількість мікробних клітин з контрольних пластинок [1, 3].

Результати дослідів представлено у таблицях 1-4.

Таблиця 1.

Результати визначення антимікробної активності 0,025% концентрації препарату «Біоцидін», % знезараження

Культури бактерій	Тест-об'єкти			
	залізо	дерево	штукатурена поверхня	цегла
<i>S. aureus</i> (штам № 209P)	96,97±0,4	95,89±0,6	92,98±0,4	92,68±0,3
<i>S. faecalis</i>	97,18±0,7	96,65±0,8	92,37±0,8	93,54±0,6
<i>E. coli</i> O2 (штам №1257)	97,87±0,2	94,82±0,2	93,98±0,3	93,98±0,6
<i>S. enteritidis</i>	98,46±0,4	97,12±0,2	94,98±0,6	94,86±1,1
<i>S. choleraesuis</i>	94,83±0,5	95,63±0,3	93,84±0,9	93,68±0,8
<i>Y. enterocolitica</i>	95,67±0,8	94,98±0,3	91,82±0,5	94,82±0,9
<i>P. vulgaris</i>	98,36±0,7	98,22±0,5	95,93±0,7	91,86±0,9
<i>P. mirabilis</i>	98,67±0,6	94,69±0,5	93,56±0,6	94,56±0,4
<i>E. agglomerans</i>	98,51±0,5	98,12±0,4	95,83±0,3	91,89±0,5
<i>C. diversus</i>	96,78±0,4	97,81±0,8	93,98±0,3	92,78±0,7
<i>K. pneumoniae</i>	96,51±0,8	94,89±0,6	92,48±0,7	94,72±0,9
<i>P. aeruginosa</i>	98,45±0,5	95,47±0,4	96,35±0,5	91,58±0,7
<i>C. jejuni</i>	96,87±0,9	96,36±0,7	95,86±0,4	94,89±0,3
<i>C. fetus</i>	96,52±0,3	95,98±0,8	92,48±0,9	92,49±0,6
<i>C. perfringens</i>	95,67±0,9	94,98±0,7	92,59±0,4	94,48±0,6

В результаті проведених досліджень з'ясовано, що препарат «Біоцидін» уже в концентрації 0,025% виявляв суттєвий антимікробний вплив і знезаражував: залізо – на 94,83±0,5 – 98,67±0,6%; дерево – на 94,69±0,5 – 98,22±0,5 %; штукатурену поверхню – на 91,82±0,5 – 95,93±0,7% і цеглу – на 91,58±0,7 –

94,86±1,1%.

Збільшення концентрації препарату на 100% (до 0,05%) підвищувало відсоток його дезінфікуючої дії (таблиця 2), але на жодному з використаних в досліді тест-об'єктів не було досягнуто 100% знезараження.

Таблиця 2

Результати визначення антимікробних властивостей 0,05% концентрації препарату «Біоцидін», % знезараження

Культури бактерій	Тест-об'єкти			
	залізо	дерево	штукатурена поверхня	цегла
<i>S. aureus</i> (штам № 209P)	97,97±0,8	96,69±0,6	93,98±0,7	93,88±0,3
<i>S. faecalis</i>	98,28±0,9	97,55±0,8	93,87±0,8	94,44±0,6
<i>E. coli</i> O2 (штам №1257)	97,97±0,2	95,88±0,2	94,99±0,3	94,88±0,7
<i>S. enteritidis</i>	99,16±0,3	98,42±0,4	95,88±0,5	95,89±0,8
<i>S. choleraesuis</i>	95,93±0,5	96,73±0,6	94,94±0,8	94,78±0,9
<i>Y. enterocolitica</i>	96,87±0,8	95,98±0,8	94,72±0,6	95,72±0,8
<i>P. vulgaris</i>	97,97±0,8	96,69±0,6	93,98±0,7	93,88±0,3
<i>P. mirabilis</i>	99,67±0,2	95,89±0,5	94,56±0,6	95,86±0,4
<i>E. agglomerans</i>	99,51±0,3	99,12±0,4	96,73±0,3	92,89±0,5
<i>C. diversus</i>	97,48±0,5	98,81±0,4	94,68±0,3	93,98±0,7
<i>K. pneumoniae</i>	97,61±0,8	95,89±0,7	93,48±0,7	95,71±0,7
<i>P. aeruginosa</i>	99,65±0,3	96,57±0,3	97,85±0,5	92,68±0,7
<i>C. jejuni</i>	97,89±0,7	97,56±0,5	96,96±0,3	95,79±0,4
<i>C. fetus</i>	97,62±0,4	96,78±0,7	93,68±0,9	93,49±0,7
<i>C. perfringens</i>	96,77±0,8	95,88±0,6	93,59±0,3	94,78±0,8

При подальшому збільшенні концентрації препарату в розчині до 0,1% (табл.3) було

досягнуто повного знешкодження дослідних патогенних культур лише на тест-об'єктах з

оцинкованого заліза.

Крім того, розчин цієї концентрації мав високу антимікробну активність по відношенню до

мікроорганізмів, що були нанесені на дерево, але не викликав 100% загибелі ні одного із видів мікробів на штукатуреній поверхні та на цеглі.

Таблиця 3

Результати визначення антимікробних властивостей 0,1% концентрації препарату «Біоцидін», % знезараження

Культури бактерій	Тест-об'єкти			
	залізо	дерево	штукатурена поверхня	цегла
S. aureus штам № 209-P)	100	98,99±0,6	98,98±0,5	98,86±0,3
S. faecalis	100	99,55±0,4	98,87±0,8	98,84±0,6
E. coli O2 (штам № 1257)	100	99,81±0,1	98,89±0,3	98,88±0,4
S. enteritidis	100	99,30±0,4	97,76±0,5	98,89±0,2
S. choleraesuis	100	98,73±0,9	98,94±0,8	98,78±0,9
Y. enterocolitica	100	98,98±0,2	98,72±0,6	98,92±0,4
P. vulgaris	100	98,99±0,6	98,98±0,7	98,88±0,3
P. mirabilis	100	99,89±0,1	98,86±0,6	98,96±0,4
S. aureus штам № 209-P)	100	98,99±0,6	98,96±0,9	98,84±0,3
S. faecalis	100	99,55±0,4	98,87±0,8	98,84±0,6
E. coli O2 (штам № 1257)	100	99,81±0,1	98,89±0,3	98,78±0,4
S. enteritidis	100	99,42±0,5	97,78±0,5	98,89±0,2
S. pullorum-gallinarum	100	98,73±0,9	98,94±0,8	98,78±0,9
Y. enterocolitica	100	98,98±0,2	98,70±0,4	98,92±0,4
P. vulgaris	100	98,99±0,6	98,98±0,7	98,87±0,3

З результатів отриманих у таблиці 3 з'ясовано, що препарат «Біоцидін» в концентрації 0,1% виявляв суттєвий антимікробний вплив і знезаражував: залізо – на 100 %; дерево – на 99,30±0,4 – 98,98±0,2 %; штукатурену поверхню –

на 97,76±0,5 – 98,98±0,7% і цеглу – на 98,78±0,9 – 98,78±0,9%.

Найбільше високу антимікробну дію препарату «Біоцидін» ми отримали у концентрації 0,25% (табл.4).

Таблиця 4.

Результати визначення антимікробних властивостей 0,25% концентрації препарату «Біоцидін», % знезараження

Культури бактерій	Тест-об'єкти			
	залізо	дерево	штукатурена поверхня	цегла
S. aureus(штам № 209-P)	100	99,89±0,1	99,98±0,02	100
S. faecalis	100	100	99,87±0,08	100
E. coli O2 (штам № 1257)	100	99,98±0,02	99,99±0,01	99,88±0,1
S. enteritidis	100	99,82±0,1	99,88±0,1	99,89±0,08
S. choleraesuis	100	100	100	100
Y. enterocolitica	100	100	99,72±0,1	99,82±0,1
P. vulgaris	100	100	99,73±0,06	100
P. mirabilis	100	99,79±0,2	99,66±0,3	99,36±0,4
E. agglomerans	100	100	100	100
C. diversus	100	100	99,78±0,2	100
K. pneumoniae	100	100	99,88±0,1	100
P. aeruginosa	100	99,57±0,3	99,85±0,1	99,68±0,3
C. jejuni	100	99,76±0,1	99,96±0,03	100
C. fetus	100	99,78±0,07	99,68±0,2	100
C. perfringens	100	99,88±0,06	99,69±0,2	99,78±0,2

З таблиці 4 видно, що препарат мав бактерицидну та бактеріостатичну дію по відношенню до виділених патогенних мікроорганізмів, які були нанесені на залізо, дерево, поштукатурену поверхню та цеглу. В такій концентрації він викликав 100% знезараження заліза, 99,76±0,1 – 100% дерева, 99,66±0,3 – 100% штукатуреної поверхні та 99,36±0,4 – 100% цегли.

Збільшення концентрації експериментального препарату до 0,5%, спричиняло аналогічно високі результати, але ми

вважаємо що концентрація 0,25% в робочих розчинах здатна забезпечити достатньо ефективну антимікробну дію на поверхностях різних типів, відносно культур всіх досліджених нами видів.

Висновки:

1. Отримані результати проведених дослідів дають підставу зробити висновок, що препарат „Біоцидин” в досить низьких концентраціях (0,025 та 0,05%) проявляє значну антибактеріальну здатність (понад 90%) відносно багатьох видів патогенних культур на різних

видах загально притятих експериментальних тест-об'єктів.

2. Водний розчини „Биоцидин” у концентрації 0,25% може служити як ефективний дезінфікуючий засіб.

Перспектива досліджень. У подальших перспективах проведення виробничих досліджень запропонованого дезінфектанту.

Список використаної літератури:

1. Головки А. Н. Микробиологические и вирусологические методы исследований в ветеринарной медицине: справочное пособие / А. Н. Головки, В. А. Ушкалов, В. Г. Скрыпник [и др.]; ред. А. Н. Головки. – Харьков: НТМТ, 2007. - 512 с.
2. Ведымина Е.А. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Е.А. Ведымина, В.В. Влодавец, М.С. Жарикова, А.Ф. Зак; Под ред. М.О. Биргера. – Изд. 3-е, перераб. и доп. – М.: Медицина, 1982. – 464 с.
3. Коцюмбас І. Розробка, апробація та впровадження системи токсикологічного контролю ветеринарних препаратів / І. Коцюмбас, О. Малик, І Патерега та ін. // Ветеринарна медицина України. – 2002. – № 7. – С. 30 – 33.
4. Марієвський В.Ф. Зміна чутливості мікроорганізмів до дезінфектантів в залежності від стадії росту / В.Ф.Марієвський, І.І. Даниленко, Л.В. Пархоменко // Тези XI з'їзду мікробіологів, епідеміологів та паразитологів. -К.-2004.-С. 20-21.

Шкромда О.И., Долбаносова Р.В.ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «БИОЦИДИН»

В статье приведены данные по исследованию бактерицидного действия комплексного дезинфектанта «Биоцидин». В результате проведенных исследований было доказано, что комплексный дезинфектант «Биоцидин» в достаточно низких концентрациях (0,025 и 0,05%) проявляет значительную антибактериальную способность (более 90 %) относительно многих видов патогенных культур на разных видах общепринятых экспериментальных тест-объектах.

Ключевые слова: бактерицидное действие, дезинфектант, культура микроорганизмов, бактерицидное разведение, питательная среда.

Shkromada O.I., Dolbanosova R.V.DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE DRUG " BIOTSYDIN "

This article presents data poissledovaniyu integrated disinfectant bactericidal action " Biotsydin ." As a result of studies have shown that an integrated disinfectant " Biotsydin " in sufficiently low concentrations (0.025 and 0.05 %) exhibits significant antibacterial ability (90%) relative to many species of pathogenic cultures on different types of conventional experimental test facilities.

Keywords: bactericidal effect, disinfectant, culture microorganisms bactericidal breeding, growing medium.

Рецензент: к.вет.н., професор Зон Г.А.

Дата надходження до редакції: 10.01.2014 р.