

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА БАКТЕРИЦИДНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ДЕЗІНФЕКТАНТІВ

В.В. Зажарський, к.вет.н., докторант*

П.О. Давиденко, к.вет.н., доцент**

О.М. Кулішенко, к.вет.н., доцент**

В.О. Чумак, к.вет.н., доцент**

О.А. Крива, ст. викладач**

А.В. Бабарук, здобувач*

І.В. Боровик, завідувача бактеріологічним відділом***

* Сумський національний аграрний університет

** Дніпровський державний аграрно-економічний університет

*** Дніпропетровська регіональна державна лабораторія ветеринарної медицини

Проведений порівняльний аналіз впливу дезінфікуючих засобів на криогенні штами мікроорганізмів. Визначено, що дослідні препарати „Альдовет ФФ” та „Альдовет Супер плюс” за всіма концерн-траціями (1,0; 5,0; 10,0 та 25,0%) володіють бактерицидними властивостями по відношенню до криогенних штамів мікроорганізмів: *Staf. aureus* ATCC№25923, *S.typhimurium* 144, *E. coli* (F 50) ATCC№25922, *List. monocytogenes* ATCC№19112, *Prot. vulgaris* HX 19№222, *Serracia marcencens* 1, *Ps. aeruginosa* ATCC№2853 (F), *Enterococcus faecalis* ATCC№19433 та *Yersinia enterocolitica*. На мікроорганізми *Vac. cereus* ATCC10702 препарати впливали бактериостатично: виявлений ріст колоній на середовищі з додаванням 1% розчину „Альдовет ФФ” та 1,0; 5,0 і 10,0% розчину „Альдовет Супер плюс” Провідна роль у забезпеченні стабільного ветеринарного благополуччя тваринництва й охорони здоров'я населення відіграє проведення ефективних дезінфекційних заходів. До перевірки препаратів для дезінфекції долучені лабораторні аналізи із використанням методик біотестування, зокрема із використанням *Paramecium caudatum*, *Tetrahymena pyriformis*. Максимальна токсичність при застосуванні препаратів на *Paramecium caudatum* виявлено у «Альдовет ФФ» та «ФАГ», найменш шкідливий «ДЗПТ-2» (у 14-15 разів безпечніший). «Альдовет супер плюс» має проміжне значення шкідливості. Токсичність для *Tetrahymena pyriformis* найменша у «ДЗПТ-2» та «ФАГ», а найбільша у «Альдовет супер плюс».

Ключові слова: дезінфектант, бактерицидна дія, токсичність, *Paramecium caudatum*, *Tetrahymena pyriformis*.

Мета роботи: Провести порівняльну оцінку бактерицидних властивостей дезінфектантів Альдовет ФФ, Альдовет Супер плюс, ДЗПТ-2, ФАГ.

Вступ. Система ветеринарно-санітарних заходів на об'єктах тваринництва як обов'язковий компонент вимагає проведення дезінфекції. Попередження хвороб інфекційної етіології, обумовлених умовно-патогенною мікрофлорою, вимагає розірвання епізоотичного ланцюга поширення хвороб від джерел інфекції. Провідну роль у забезпечення стабільного ветеринарного благополуччя тваринництва й охорони здоров'я населення відіграє проведення ефективних дезінфекційних заходів, водночас завдавати якнайменше шкоди довкіллю. Тому до перевірки препаратів для дезінфекції долучають лабораторні аналізи із використанням методик біотестування, зокрема із використанням інфузорій.

За токсичністю до інфузорій речовини розподіляються на чотири класи, а саме: 1 (ЛК понад 0,001%), 2 (ЛК понад 0,1%), 3 (ЛК понад 1%), 4 (нетоксичні) [1].

З метою контролю за рівнем забруднення питної води в системах водопостачання, а також попередження посилення росту умовно-патогенних мікроорганізмів у травному каналі, на поверхні устаткування та в самих тваринницьких приміщеннях запропоновано чимало препаратів. Деякі з цих препаратів містять у своєму складі метали у формі різних сполук. Проведено порівняння токсичного впливу препаратів, які містять мідь, срібло та цинк на тест-об'єктах *Tetrahymena pyriformis* [2].

Кореляція між показниками токсичності при порівняльному дослідженні гострої токсичності для лабораторних тварин, інфузорій та тимоцитів свідчила про те, що інфузорії *Tetrahymena pyriformis* можуть бути використані як альтернативна модель у прогнозуванні гострої токсичності фармакологічних субстанцій на етапі їх скринінгу та доклінічного дослідження [3]. Враховуючи те, що інфузорії – це біологічний об'єкт, який є досить чутливим до впливу токсичних речовин, їх можна використовувати у практиці санітарного контролю ступеня токсичності дезінфектантів. Встановлено, що дезінфікуючий препарат “Аргіцид” у концентраціях від 0,1 до 0,5% за експозиції 10 хв є нетоксичним щодо культур інфузорії *Tetrahymena pyriformis* [4].

Результати досліджень за використання експрес-методу визначення токсичності на інфузоріях показали, що розчин препарату «Геоцид» в 0,03–0,5 % концентраціях та експозиції 1–10 хв не проявляв токсичної дії на культуру інфузорій *Tetrahymena pyriformis* [5].

Величина гострої токсичності за внутрішньошлункового введення мишам засобу «Унівайт» DL50 становить 5200 мг/кг маси тварини. За результатами досліджень розроблений засіб належить до четвертого класу згідно класифікації хімічних речовин за ступенем небезпечності. Дезінфікуючий засіб «Унівайт» у концентраціях від 0,1 до 0,5 % за експозиції 10 хв є малотоксичним щодо культур інфузорії *Tetrahymena pyriformis* [6].

Для прогнозування токсичності ароматичних альдегідів для *Tetrahymena pyriformis* пропонуються математичні моделі, зокрема лінійну та нелінійну [7].

Матеріал і методи досліджень. Дослідження проводилися в лабораторіях кафедр епізоотології та інфекційних хвороб тварин, фізіології та біохімії с.-г. тварин факультету ветеринарної медицини ДДАЕУ, бактеріологічному відділі Дніпропетровської Регіональної державної лабораторії ветеринарної медицини протягом 2017-2018 р. Порівняльний аналіз впливу дезінфікуючих засобів на криогенні штами мікроорганізмів проводили за загальноприйнятою методикою. Культивування інфузорій *Paramecium caudatum* та *Tetrahymena pyriformis* проводили на молочному середовищі. Утримували культуру при кімнатній температурі (18-20 °С). Для біотестування використовували добову культуру, яка знаходилась у фазі експоненціального (активного) росту.

Для проведення токсикологічного дослідження готували ряд розведень препаратів „Альдовет ФФ”, „Альдовет супер”, „ДЗПТ” та „ФАГ”: 1%; 0,1%; 0,01%; 0,001%; 0,0001%; 0,00001% та 0,000001%.

У 5 лункок мікроакваріуму вносили 20 мкл. середовища з інфузоріями. Потім у кожен лункок додавали 20 мкл водного розчину дослідних препаратів різних концентрацій та підраховували кількість клітин у кожному акваріумі після чого додавали по 200 мкл водного розчину препарату у відповідній концентрації. Через 1 год експозиції повторно підраховували чисельність *Paramecium caudatum* у кожній лункці мікроакваріуму та визначали процент їх виживання.

При використанні культури *Tetrahymena pyriformis*, через невеликі розміри клітин та неможливість їх точного підрахунку, оцінку результатів біотесту здійснювали за реакцією загибелі інфузорій та характером зміни руху.

Контролем слугувала проба в якій замість препарату до культури додавали відповідну кількість середовища.

Результати досліджень.

Порівняльний аналіз впливу дезінфікуючих засобів на криогенні штами мікроорганізмів наведені в таблиці 1

Таблиця 1.

Порівняльний аналіз впливу дезінфікуючих засобів на криогенні штами мікроорганізмів (n=3)

Штами мікроорганізмів	Альдовет ФФ				Альдовет Супер плюс				ДЗПТ-2				ФАГ			
	Концентрація препарату, %															
	1	5	10	25	1	5	10	25	1	5	10	25	1	5	10	25
<i>S. aureus</i> ATC №25923	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>S. typhimurium</i> 144	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
<i>B. cereus</i> ATCC10702	+	—	—	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. coli</i> (F 50) ATCC№25922	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. monocytogenes</i> ATC №19112	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	—	—	—
<i>P. vulgaris</i> HX 19№222	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>S.marcencens</i> 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>P. aeruginosa</i> ATCC№2853(F)	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	+	+	+	—
<i>E. faecalis</i> ATCC№19433	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	+	+	+	—
<i>Y. enterocolitica</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—

Примітка: «-» ріст відсутній

«+» ріст колоній

Нами визначено, що дослідні препарати „Альдовет ФФ” та „Альдовет Супер плюс” за всіма концентраціями (1,0; 5,0; 10,0 та 25,0%) володіють бактерицидними властивостями по відношенню до криогенних штамів мікроорганізмів: *S. aureus* ATCC№25923, *S. typhimurium* 144, *E. coli* (F 50) ATC №25922, *L. monocytogenes* ATCC№19112, *P. vulgaris* HX 19№222, *S. marcencens* 1, *P. aeruginosa* ATC №2853 (F), *E. faecalis* ATCC№19433 та *Y. enterocolitica*. На мікроорганізми *Bac. cereus* ATCC10702

препарати впливали бактеріостатично: виявлений ріст колоній на середовищі з додаванням 1% розчину „Альдовет ФФ” та 1,0; 5,0 і 10,0% розчину „Альдовет Супер плюс” (рис.1).

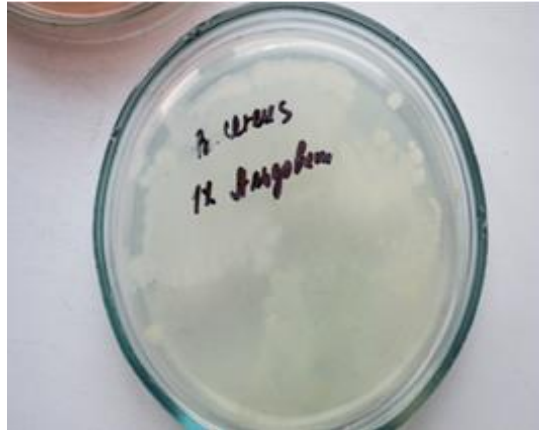


Рис.1 Ріст колоній *Bac. cereus* на середовищі з додаванням 1,0% розчину „Альдовет ФФ”

Вплив різних концентрацій дослідних препаратів на *Tetrahymena pyriformis* наведений в таблиці 2.

Таблиця 2.

Вплив різних концентрацій дослідних препаратів на *Tetrahymena pyriformis* (n=3)

Експозиція (год)/ концентрація	1	24	1	24	1	24	1	24	1	24	1	24
	0,1%		1,0x10 ⁻² %		1,0x10 ⁻³ %		1,0x10 ⁻⁴ %		1,0x10 ⁻⁵ %		1,0x10 ⁻⁶ %	
Альдовет ФФ	- повне знерухомлення за 2 хв	-	± після додавання прискорюється рух, зміна напрямку, через 60 хв поодинокі рухливі екз., рух уповільнений	± відновлення руху, зменшення щільності культури, рух уповільнений	± уповільнений рух	+	+	+	+	+	+	+
Альдовет Супер плюс	- знерухомлення після додавання	-	- знерухомлення після додавання	-	± обертання, уповільнений рух, зменшення щільності	-	± уповільнений рух, незначне зменшення щільності	+	+	+	+	+
ДЗПТ-2	- знерухомлення після додавання	-	± незначне зменшення щільності	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ФАГ	- порушення локо моторної функції за 2 хв	-	± незначне зменшення щільності	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітка: (-) - рух відсутній, загибель; (±) - рух уповільнений, (+) - рух активний.

Нами визначено, що не впливають негативно на рухливість Тетрахімен препарати починаючи з 1,0x10⁻²% для ДЗПТ-2 та ФАГ, з 1,0x10⁻⁴% Альдовет ФФ, з 1,0x10⁻⁴% Альдовет супер плюс.

Динаміка токсичності для *Paramecium caudatum* препаратів у різних розведеннях представлені в таблиці 3.

Таблиця 3.

Динаміка токсичності для *Paramecium caudatum* препаратів у різних розведеннях (% загиблих інфузорій) (n=3)

Препарат	Концентрація препарату у зразку, мг/л				
	0,01	0,1	1	10	100
Альдовет ФФ	26	42	66	100	100
Альдовет Супер плюс	12	23	33	65	100
ДЗПТ	0	12	12	7	100
ФАГ	22	21	40	100	100

При використанні однакових розведень дослідних препаратів нами визначено, що під впливом 0,01 мг/л Альдовет ФФ та ФАГ виявлено найбільший рівень загибелі інфузорій – 26,0 та 22,0% відповідно.

Динаміка токсичності для *Paramecium caudatum* препаратів за різної концентрації препарату у зразках наведено в таблиці 4.

Таблиця 4.

Динаміка токсичності для *Paramecium caudatum* препаратів за різної концентрації у зразках (n=3)

Препарат	Концентрація препарату у зразку, мг/л		
	нетоксично	ЛК50	Високотоксично
Альдовет ФФ	< 0,29	1,47	> 2,65
Альдовет Супер плюс	< 1,97	9,86	> 17,75
ДЗПТ	< 4,50	22,50	> 40,49
ФАГ	< 0,32	1,62	> 2,92

Якщо використано однакові розведення усіх препаратів, то максимальна токсичність при споживанні кормів, забруднених залишками дослідних препаратів виявлено у «Альдовет ФФ» та «ФАГ» (> 2,65 та 2,92 мг/л відповідно), а найменш шкідливий «ДЗПТ» (у 14-15 разів безпечніший). «Альдовет Супер плюс» має проміжне значення шкідливості.

Висновки 1. Препарати «Альдовет супер плюс» та «Альдовет ФФ» володіють бактерицидними властивостями на криогенні штами мікроорганізмів *Staf. aureus*, *S.typhimurium*, *E. coli*, *List. monocyt.*, *Prot. Vulgaris*, *Serracia marcescens*, *Ps. aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Yersinia enterocolitica*.

2. Максимальна токсичність при застосуванні препаратів на *Paramecium caudatum* виявлено у «Альдовет ФФ» та «ФАГ», а найменш шкідливий «ДЗПТ-2» (у 14-15 разів безпечніший). «Альдовет супер плюс» має проміжне значення шкідливості.

3. Токсичність для *Tetrahymena pyriformis* найменша у «ДЗПТ-2» та «ФАГ», а найбільша у «Альдовет супер плюс».

Перспективи подальших досліджень. Метою наших подальших досліджень є вивчення дезінфекційної ефективності досліджуваних препаратів в умовах виробництва.

Список використаної літератури:

1. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / [І.Я. Коцюмбас, О.Г. Малик, І.П. Патерега та ін.]; за ред. І.Я. Коцюмбаса. – Львів: Тріада плюс, 2006. – 360 с.
2. Крива О.А. Біотестування на інфузоріях засобів знезараження води, які містять метали /Крива О.А., Чумак В.О., Сухін В.М. // Наукові праці ПДАА. – серія: Вет. медицина. –2012. Вип.5. – С. 42-45. режим доступу: <https://www.pdaa.edu.ua/sites/default/files/nppdaa-vet/5/042.pdf>.
3. Жмінко П.Г. Досвід використання різних тест-систем в скринінгових дослідженнях токсичності лікарських засобів / Жмінко П.Г., Кокшарьова Н.В., Дмитренко М.П. //Вісник фармакології та фармації. – 2006.- №4. – С. 21 – 27.
4. Коваленко В.Л. Порівняльне визначення токсичності бактерицидних засобів за показниками гострої токсичності та альтернативних методів / В.Л. Коваленко, А.В. Гнатенко, Г.В. Пономаренко // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. Зб. наук. праць. – 2012. – В. 25, Ч. 2. – С. 169–173.
5. Балацький Ю.О. Експериментальне обґрунтування застосування геоциду для санації приміщень при утриманні свиней. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.06 – гігієна тварин та ветеринарна санітарія. – Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, 2015. – 19 с.
6. Димко Р. О. Санітарно-гігієнічне обґрунтування застосування дезінфікуючого засобу на основі органічних кислот і наночастинок металів. – Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.06 – гігієна тварин та ветеринарна санітарія. – Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, 2016.

7. Quantitative structure-toxicity relationship studies of aromatic aldehydes to *Tetrahymena pyriformis* based on electronic and topological descriptors / A. Ousaa, B. Elidrissi, M. Ghamali, S. Chtita, A. Aouidate, M. Bouachrine, T. Lakhlifi // *J. Mater. Environ. Sci.*, 2018, Volume 9, Issue 1. – p. 256-266. <https://doi.org/10.26872/jmes.2018.9.1.29>

References:

1. Kotsumbas I.Ya., Malyk O. G., Paterega I. P. (2006) Doklinichni doslidzhennya veterinarnih likarskih zasobiv [Preclinical studies of veterinary medicinal products]. Lviv: Triada plus. (in Ukrainian).

2. Kryva O. A., Tsumak V. O., Sukhin V. M. (2012) Biotestuvannya na infusoriyah zasobiv znezarazhennya vody, yaki mistyat' metaly [Biotesting on infusions of disinfectants containing metals]. *Scientific works of PSAA*, vol. 5, pp. 42-45. (in Ukrainian). <https://www.pdaa.edu.ua/sites/default/files/nppdaa-vet/5/042.pdf>.

3. Zhmin'ko P.G., Koksharivova N.V., Dmytrenko M.P. (2006) Dosvid v skringovyh doslidzhenniyah toksichnosti likarskih zasobiv [Experience of using different test systems in screening studies on drug toxicity] *Bulletin of Pharmacology and Pharmacy*, no. 4, pp. 21-27. (in Ukrainian).

4. Kovalenko V.L., Gnatenko A.V., Ponomarenko G.V. (2012) Porivnialne vyznachennya toksichnosti bacteritsydneyh zasobiv za pokaznykamy gostroyi toksychnosti ta alternatyvnyh metodiv [Comparative definition of toxicity of bactericidal agents on indicators of acute toxicity and alternative methods] *Problems of zoinengineering and veterinary medicine. Scientific works*, vol. 25 (2), pp. 169-173. (in Ukrainian).

5. Balatskyi Yu. O. (2015) *Experimental justification of the use of geocide for the rehabilitation of premises with pigs* (PhD Thesis), Kyiv: National University of Life and Environmental Sciences. (in Ukrainian).

6. Dymko R.O. (2016) *Sanitary and hygienic substantiation of the use of a disinfectant based on organic acids and metal nanoparticles* (PhD Thesis), Kyiv: National University of Life and Environmental Sciences. (in Ukrainian).

7. Ousaa A., Elidrissi B., Ghamali M., Chtita S., Aouidate A., Bouachrine M., Lakhlifi T. (2018) Quantitative structure-toxicity relationship studies of aromatic aldehydes to *Tetrahymena pyriformis* based on electronic and topological descriptors. *J. Mater. Environ. Sci.*, vol. 9 (1), pp. 256-266. <https://doi.org/10.26872/jmes.2018.9.1.29>

В.В. Захарский, П.А. Давыденко, О.Н. Кулишенко, В.А. Чумак, А.А. Крывая, А.В. Бабарук, И.В. Боровик. Сравнительная оценка бактерицидных свойств дезинфектантов.

Проведен сравнительный анализ влияния дезинфицирующих средств на криогенные штаммы микроорганизмов. Определено, что опытные препараты "Альдовет ФФ" и "Альдовет Супер плюс" по всем концентрациями (1,0; 5,0; 10,0 и 25,0%) обладают бактерицидными свойствами по отношению к криогенным штаммам микроорганизмов: *Staf. aureus* ATCC№25923, *S.typhimurium* 144, *E. coli* (F 50) ATCC№25922, *List. monocytogenes* ATCC№19112, *Prot. vulgaris* HX 19№222, *Serracia marcencens* 1, *Ps. aeruginosa* ATCC№2853 (F), *Enterococcus faecalis* ATCC№19433 и *Yersinia enterocolitica*. На микроорганизмы *Vac. segeus* ATCC10702 препараты влияли бактериостатически: обнаружен рост колоний на среде с добавлением 1% раствора "Альдовет ФФ" и 1,0; 5,0 и 10,0% раствора "Альдовет Супер плюс". Ведущая роль в обеспечении стабильного ветеринарного благополучия животноводства и охраны здоровья населения играет проведения эффективных дезинфекционных мероприятий. К проверке препаратов для дезинфекции привлечены лабораторные анализы с использованием методик биотестирования, в частности с использованием *Paramecium caudatum*, *Tetrahymena pyriformis*. Максимальная токсичность при применении препаратов на *Paramecium caudatum* обнаружено в «Альдовет ФФ» и «ФАГ», наименее токсичный «ДЗПТ-2» (в 14-15 раз безопаснее). «Альдовет супер плюс» имеет промежуточное значение токсичности. Токсичность для *Tetrahymena pyriformis* наименьшая у «ДЗПТ-2» и «ФАГ», высокая токсичность у «Альдовет супер плюс».

Ключевые слова: дезинфектант, бактерицидное действие, токсичность, *Paramecium caudatum*, *Tetrahymena pyriformis*.

Zazharskyi V.V., Davydenko P.A., Kulishenko O. N., Chumak V.A., Kryvaya A.A., Babaruk A.V., Borovik I.V. Comparative assessment of the bactericid properties of disinfectants.

The system of veterinary and sanitary measures at livestock facilities as an obligatory component is known to request disinfection. Prevention of diseases of infectious etiology, caused by conditionally pathogenic microflora, requires the severance of the epizootic chain of disease from the source of infection. The leading role in ensuring stable veterinary welfare of livestock and health of the population is played by the effective disinfection measure, while causing minimal harm to the environment at the same time. A comparative analysis of the disinfectant influence on cryogenic strains of microorganisms was carried out according to the widely known method.

The cultivation of infusoria *Paramecium caudatum* and *Tetrahymera pyriformis* was undertaken on the milk medium. The cultures were held at the temperature (18-20 °C). The daily culture that was in the exponential phase (active) was used for the biotesting. Series of dilutions (10⁻¹–10⁻⁶%) "Aldovet FF" and "Aldovet Super Plus", "DOPT-2", "FAG" were used for the toxicological investigations. As concerns the

Tetrahymena pyriformis, the evaluation was carried out through the reaction of the death and the nature of the movement change of infusoria because of small size and impossibility of the accurate counting. The probe, in which instead of drug an appropriate amount of medium was added, was used as reference.

A comparative analysis of the effect of disinfectants on cryogenic strains of microorganisms is carried out. It is determined that the experimental preparations "Aldovet FF" and "Aldovet Super Plus" have bactericidal properties with respect to cryogenic strains of microorganisms at all concentrations (1.0, 5.0, 10.0 and 25.0%): *Staf. aureus* ATCC № 25923, *S. typhimurium* 144, *E. coli* (F 50) ATCC № 25922, *List. monocytogenes* ATCC № 19112, *Prot. vulgaris* HX 19 № 222, *Serratia marcescens* 1, *Ps. aeruginosa* ATCC No. 2853 (F), *Enterococcus faecalis* ATCC No. 19433 and *Yersinia enterocolitica*. On microorganisms *Bac. cereus* ATCC10702 the preparations influenced bacteriostatically: the growth of colonies on medium was observed with addition of 1% solution of "Aldovet FF" and 1.0; 5.0 and 10.0% solution "Aldovet Super Plus" The leading role in ensuring stable veterinary welfare of livestock and public health plays an effective disinfection activities. Laboratory tests using biotesting techniques, in particular using *Paramecium caudatum*, *Tetrahymena pyriformis*, have been used to test disinfection preparations. The maximum toxicity with the use of drugs on *Paramecium caudatum* was found in "Aldovet FF" and "FAG", the least harmful "DOPT-2" (14-15 times safer). "Aldovet super plus" has an intermediate significance of harmfulness. Toxicity for *Tetrahymena pyriformis* is the smallest in "DOPT-2" and "FAG", and the largest in Aldovet super plus.

Keywords: disinfectant, bactericidal action, toxicity, *Paramecium caudatum*, *Tetrahymena pyriformis*.