doi: https://doi.org/10.15407/microbiolj80.02.104

УДК 619.614.48:616.98:579.873.21

ДИФЕРЕНЦІЙНА ЧУТЛИВІСТЬ МІКОБАКТЕРІЙ ДО ХЛОРНИХ ДЕЗІНФЕКТАНТІВ

А.П. Палій

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», вул. Пушкінська 83, Харків, 61023, Україна
paliy.dok@gmail.com

Мета. *Вивчити бактерицидні властивості хлорних дезінфікуючих препаратів до різних видів мікобактерій та провести порівняльну оцінку стійкості культур мікроорганізмів до їх дії.* ***Методи.*** *Об'єктами досліджень були 16 культур різних видів мікобактерій з колекції збудників інфекційних хвороб тварин Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (м. Харків). Як модельні дезінфектанти застосовували препарати «Хлорантоїн» та «Біохлор» за різних концентрацій та експозицій.* ***Результати.*** *Проведеними експериментами встановлено, що стійкість мікобактерій до одного і того ж дезінфектанту варіює в межах одного виду. До дезінфектанту «Біохлор» найбільш резистентними є M. scrofulaceum, M. intracellulare, M. fortuitum, а до дії препарату «Хлорантоїн» найбільш стійкою виявилась культура M. fortuitum. Враховуючи середньостатистичні показники, доведено, що епізоотичний ізолят збудника туберкульозу M. bovis виявляє вищу резистентність до бактерицидної дії дезінфікуючих препаратів порівняно з референтною культурою M. bovis штам Vallee. Тривала дія хлорних дезінфектантів на мікробну клітину зумовлює незворотні зміни не лише внутрішніх (цитоплазма, нуклеоїд), але і зовнішніх (клітинна стінка, цитоплазматична мембрана) структур мікобактерій. Аналіз розподілення культур мікобактерій за усередненими значеннями ступеня їх стійкості до дії розчинів різних дезінфікуючих препаратів при фіксованій експозиції показав, що найбільшою стійкістю володіють мікобактерії видів M. scrofulaceum, M. intracellulare, M. fortuitum, M. avium.* ***Висновок.*** *Стійкість мікобактерій до одного і того ж дезінфектанту варіює в межах одного виду, що необхідно враховувати при розробці та застосуванні протимікробних засобів. Комплексний підхід до пошуку і використання нових засобів дезінфекції з урахуванням динаміки загибелі бактерій за впливу різних дезінфікуючих препаратів надає змогу вдосконалити режими та схеми проведення дезінфекції, контролю її якості в загальному комплексі протиепізоотичних заходів.*

Ключові слова: мікобактерії, дезінфектант, «Хлорантоїн», «Біохлор», концентрація, експозиція, стійкість, бактерицидна дія.

Одним з основних чинників, що стримує пошук ефективних і перспективних дезінфікуючих препаратів, є недостатній об'єм експериментальних досліджень у цьому напрямі. Вирішення цієї проблеми тісно пов'язане з поступовими поглибленими дослідженнями з пошуку, вивчення активності антимікробних засобів на мікробну клітину й механізму їх дії, вивчення їх ефективності залежно від стійкості збудників інфекційних захворювань як еталонних, так і циркулюючих штамів [1].

Мікроорганізми при контакті з бактеріостатичними концентраціями дезінфектантів залишаються життєздатними, проте втрачають характерні

для них біохімічні властивості, що свідчить про мутагенні зміни та сприяє формуванню набутої стійкості до таких препаратів. Формування стійкості в мікроорганізмів виникає також до дезінфектантів, які тривалий час без ротації використовують на виробництві [2].

В останні роки спостерігаються зміни в біології збудників туберкульозу і прояву інфекції. Тривале пасажування культур мікобактерій, дія на них антибактеріальних препаратів та опромінення можуть призвести до явища дисоціації, розвитку пігментних і некислотостійких варіантів, зумовити *L*-трансформацію клітин та утворення ультрадрібних форм мікобактерій, здатних до реверсії. За дії в суббактерицидних концентраціях протимікробний засіб може не впливати на життєздатність мікроорганізмів, проте зумовлює некультурабельний стан [3]. Виявлено, що формування резистентності як клінічних штамів, так і тест-культур залежить від виду контамінованої поверхні та дезінфектанту, що застосовується [4].

На сьогодні значення мікобактерій різних видів в патології людини і тварин суттєво виросло, їх виділяють при пневмоніях, лімфаденітах, перитонітах, артритах, хірургічних інфекціях. За останні 20 років було виділено у різних країнах і описано більше 80 нових видів мікобактерій, багато з яких є потенційно патогенними, а деякі з них потребують більш детального вивчення [5, 6].

У ветеринарній медицині найбільш суттєве значення мають атипові мікобактерії, які відносяться до II, III та IV груп за класифікацією Е. Раньона (1959). При потраплянні в організм тварин вони зумовлюють сенсибілізацію до туберкуліну, що пояснюється їх антигенною спорідненістю зі збудниками туберкульозу [7].

Зазначається, що штами мікобактерій порівняно стійкі до високих концентрацій багатьох дезінфікуючих препаратів. Стійкість мікобактерій до хімічних, фізичних чинників, в основному, пов'язана зі складною будовою клітинної стінки та ліпідно-полісахаридним комплексом [8].

Більшість праць, які присвячені питанням дезінфекції, пов'язано з вивченням практичного використання різних засобів для знезараження об'єктів, пошуком, характеристикою, апробацією, рекомендацією нових препаратів, режимів і методів дезінфекції. Разом з тим, дослідженням щодо впливу на властивості мікробів дезінфектантів присвячена суттєво менша кількість робіт. Реальну можливість існування більш резистентних до дезінфектантів бактерій, здатних вижити після дезінфекції і розмножуватись, підтверджує загальновідомий факт про гетерогенність мікробних популяцій. Ступінь гетерогенності коливається в залежності від типу антимікробного засобу і варіанту мікробного агента [9].

Отже, широке розповсюдження та висока стійкість мікобактерій до антимікробних препаратів ставить питання щодо видової стійкості окремих представників роду *Mycobacterium*, яке потребує відповіді і є важливим як в теоретичному, так і в практичному аспекті [10, 11, 12].

Метою нашої роботи було проведення досліджень з вивчення бактерицидних властивостей хлорних дезінфікуючих препаратів до різних видів мікобактерій та проведення порівняльної оцінки стійкості культур мікроорганізмів до їх дії.

Матеріали і методи. При проведенні дослідів використовували культури мікобактерій, що знаходяться в колекції збудників інфекційних хвороб тварин Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (м. Харків):

Mycobacterium kansasii (штам *11–P (1)*), отриманий з Одеського інституту біохімії і санітарії у 1998 році, музейний, непатогенний для лабораторних і сільськогосподарських тварин.

Mycobacterium gordonae (ін. № 47), отриманий із Запорізької обласної ветеринарної лабораторії у 1998 році, музейний, непатогенний для сільськогосподарських і лабораторних тварин.

Mycobacterium scrofulaceum (штам *31-82*), одержаний лабораторією вивчення туберкульозу ІЕКВМ УААН із референтної культури шляхом селекції у 1982 році, виробничий, непатогенний для сільськогосподарських і лабораторних тварин.

Mycobacterium intracellulare (штам *78-98*), одержаний лабораторією вивчення туберкульозу ІЕКВМ УААН із референтної культури шляхом селекції у 1998 році, виробничий, непатогенний для сільськогосподарських і лабораторних тварин.

Mycobacterium terrae (ін. № 1450), отриманий із Державного науково-дослідного інституту стандартизації і контролю медичних біологічних препаратів ім. А. А. Тарасевича у 1995 році, музейний, непатогенний для лабораторних і сільськогосподарських тварин.

Mycobacterium triviale (ін. № 59), отриманий із Харківської обласної ветеринарної лабораторії у 1984 році, музейний, непатогенний для сільськогосподарських і лабораторних тварин.

Mycobacterium xenopi (ін. № б/н), отриманий із Державного науково-дослідного інституту стандартизації і контролю медичних біологічних препаратів ім. А. А. Тарасевича у 1995 році, музейний, непатогенний для лабораторних і сільськогосподарських тварин.

Mycobacterium diernhoferi (ін. № 64), отриманий у 1990 році з лімфатичних вузлів великої рогатої худоби, Луганська область, музейний, непатогенний для сільськогосподарських і лабораторних тварин.

Mycobacterium flavescens (ін. № 119), отриманий у 2008 році з патологічного матеріалу від великої рогатої худоби, Київська область, Васильківський район, музейний, непатогенний для сільськогосподарських і лабораторних тварин.

Mycobacterium fortuitum (штам *122*), отриманий з Державного науково-дослідного інституту стандартизації і контролю медичних біологічних препаратів ім. А. А. Тарасевича у 1995 році, музейний, непатогенний для лабораторних і сільськогосподарських тварин.

Mycobacterium phlei (ін. № 22), отриманий із Всесоюзного інституту експериментальної ветеринарії у 1990 році, музейний, непатогенний для сільськогосподарських і лабораторних тварин.

Mycobacterium smegmatis (ін. № 51), отриманий у 1986 році з ґрунту, Харківська область, музейний, непатогенний для сільськогосподарських і лабораторних тварин.

Mycobacterium thamnopheos (ін. № 77), отриманий у 1984 році з бронхіального слизу великої рогатої худоби, Херсонська область, музейний, непатогенний для лабораторних і сільськогосподарських тварин.

Mycobacterium avium (штам *ІЕКВМ УААН*), одержаний лабораторією вивчення туберкульозу ІЕКВМ УААН із референтної культури шляхом селекції у 1999 році, виробничий, патогенний для кролів, свиней і курей.

Mycobacterium bovis (ін. № 75), отриманий у 1997 році з лімфатичних вузлів великої рогатої худоби, Харківська область, Чугуївський район, музейний, патогенний для великої рогатої худоби і лабораторних тварин.

Mycobacterium bovis (штам *Vallee*), отриманий з Державного науково-дослідного інституту стандартизації і контролю медичних біологічних препаратів ім. А. А. Тарасевича у 1990 році, музейний, патогенний для великої рогатої худоби і лабораторних тварин.

Культури атипових мікобактерій і збудника туберкульозу *M. avium* інкубували протягом 14–21 діб, а збудника туберкульозу *M. bovis* – 30–45 діб на гліцериновій картоплі Павловського за температури 37,5 ± 0,5 °С.

У дослідах з визначення бактерицидної активності дезінфектантів використовували сухе поживне середовище для культивування мікобактерій.

В експериментах застосовували модельні дезінфікуючі препарати «Біохлор» та «Хлорантоїн» як типових представників хлорних хімічних дезсасобів, що широко застосовуються на виробництві:

«Біохлор» – дезінфекційний засіб виробництва ТОВ «Альянс Групп» (Україна). Склад препарату: гіпохлорит натрію; мийні, антикорозійні, стабілізуючі, антимікробні, ароматизуючі добавки. Вміст активного хлору 5,0–9,0 %. Препарат досліджували у концентрації 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 %.

«Хлорантоїн» – дезінфекційний засіб з мийним ефектом виробництва НВТ «Фармакос» (Україна). Склад препарату: дихлорантин – 21,0–23,0 %; 5,5-діметилгідантоїн – 12,0–16,0 %; триполіфосфат натрію – 4,5–6,5 %; аніонні ПАР – 3,2–5,0 %; інгібітор корозії – до 10,0 %; лужні мийні компоненти – до 10,0 %; натрій хлористий – до 100 %. Вміст активного хлору не менше 13,5 %. Препарат досліджували у концентрації 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 %.

Експерименти проводили згідно чинних методичних рекомендацій «Визначення бактерицидних властивостей дезінфікуючих засобів, проведення дезінфекції та контроль її якості при туберкульозі сільськогосподарських тварин» (затв. наук.-метод. радою Держ. комітету вет. медицини України (протокол № 1 від 20.12.2007 р.)). Визначення бактерицидної дії дезінфікуючих препаратів здійснювали щодо культур мікобактерій за допомогою суспензійного методу досліджень. Чистоту культур мікобактерій визначали після фарбування за методом Циля-Нільсена. Із вирощених мікобактерій готували завись у концентрації 2 млрд бактеріальних тіл в 1 см^3 фізіологічного розчину, виходячи з даних про те, що у 1 мг бактеріальної маси міститься 100 млн бактеріальних тіл. Для цього бактеріальну масу культур мікобактерій переносили бактеріологічною петлею до попередньо зважених на аналітичних вагах стерильних флаконів ємністю 100–200 см^3 із бусами та визначали масу внесених до них мікобактерій. Двохмільярдну завись мікобактерій отримували шляхом внесення до флаконів необхідного об'єму стерильного фізіологічного розчину, флакони струшували на шутель-апараті протягом 30 хв до утворення однорідної зависі мікобактерій.

Для визначення туберкулоцидної дії дезінфектантів готували їх водні розчини різної концентрації, які вносили по 10 см^3 до флаконів ємністю 20 см^3. До кожного флакона вносили по 0,2 см^3 зависі культур мікобакте-

рій. Вміст флаконів ретельно перемішували та витримували задану експозицію дії дезінфектантів. Потім із флаконів проби зависі по 10 см^3 переносили до центрифужних пробірок, які центрифугували при 1500 об/хв протягом 30 хв. Осад, що утворився, двічі відмивали на центрифузі стерильним фізіологічним розчином при 1500 об/хв протягом 30 хв. Після цього завись осаду з дослідних та контрольних проб висівали на поживне середовище для культивування мікобактерій. Посіви культивували в термостаті за температури 37,5 ± 0,5 ºС протягом 3 місяців та проводили облік росту культур кожні 5–7 діб. За контроль брали завись культур мікобактерій, не оброблених дезінфектантом.

Відсутність або наявність росту колоній мікобактерій в пробірках з дослідними висівами, при наявності росту колоній в пробірках з контрольними висівами, було ознакою відповідно прояву або відсутності бактерицидної дії дезінфікуючих препаратів. Усі досліди проводили у трьохкратній повторюваності (n=3).

Видову стійкість мікобактерій до дії дезінфектантів визначали за допомогою коефіцієнта відносної стійкості (Патент № 72809 UA. Спосіб визначення видової стійкості мікобактерій до дезінфектантів). Коефіцієнт відносної стійкості культур – показник, що отримують від ділення концентрації препарату, що викликає 100 % загибель вивчаємої культури, на концентрацію того ж препарату, яка забезпечує знищення за той же проміжок часу еталонної культури. За основу розрахунків брали дані вивчення бактерицидних властивостей дезінфікуючих препаратів суспензійним методом при їх застосуванні за різної концентрації та експозиції. Як еталонну тест-культуру застосовували атипові швидкорослі мікобактерії виду *M. fortuitum*. Для узагальнення отриманих даних використовували розрахунок значення варіаційної ознаки, яку розраховують як суму значень ознаки в окремих одиниць сукупності – середнє арифметичне (μ).

При аналізі отриманих даних зазначали: якщо величина відносної стійкості досліджуваних мікобактерій дорівнює 1, тоді ця культура за рівнем резистентності до дії дезінфектанту дорівнює еталонній тест-культурі, якщо цей показник менший за 1, тоді така культура вважалась менш стійкою до дії деззасобу, ніж *M. fortuitum*.

Результати. Узагальнені результати визначення бактерицидної дії дезінфектантів «Хлорантоїн» та «Біохлор» щодо культур атипових мікобактерій та збудників туберкульозу представлено відповідно в табл. 1 і 2.

При аналізі результатів (табл. 1) визначено, що дезінфектант «Хлорантоїн» зумовлює загибель *M. avium* після дії у концентраціях 0,3 % за експозиції 24 год та 0,5 % за експозиції 1–24 год, а також знищує *M. bovis* (шт. *Vallee*) у концентрації 0,3–0,5 % протягом 1–24 год, тоді як епізоотичну культуру *M. bovis* цей препарат інактивує після застосування у концентраціях 0,3 % за експозиції 24 год та 0,5 % за тривалості дії 1–24 год.

«Хлорантоїн» у режимах: 0,1 % – 24 год; 0,2–0,3 % – 5–24 год; 0,5 % – 1–24 год повністю інактивує мікобактерії *M. kansasii.* Культуру *M. scrofulaceum* препарат знищує у концентрації 0,1–0,2 % за експозиції 24 год; 0,3 % – 5–24 год; 0,5 % – 1–24 год, а *M. gordonae* гине при дії препарату у концентрації 0,1 % за експозиції 24 год; 0,2–0,5 % – за експозиції 1–24 год. Застосування деззасобу в режимах 0,1–0,2 % – 24 год; 0,3 % – 5–24 год та

0,5 % – 1–24 год викликає девіталізацію *M. intracellulare*. Бактерицидні властивості «Хлорантоїну» щодо *M. triviale* та *M. xenopi* визначено в таких режимах: 0,1 % – 24 год; 0,2 % – 5–24 год; 0,3–0,5 % – 1–24 год, а щодо *M. terrae* – у концентраціях 0,1–0,2 % за експозиції 24 год та 0,3–0,5 % за експозиції 1–24 год. Концентрація препарату 0,1–0,3 % за експозиції 24 год і 0,5 % за експозиції 1–24 год зумовлювали повну девіталізацію *M. diernhoferi*. Дія препарату в режимах 0,1 % – 24 год; 0,2 % – 5–24 год; 0,3–0,5 % – 1–24 год є для *M. flavescens* бактерицидною. Бактерицидними властивостями щодо *M. fortuitum* препарат володіє у 0,5 % концентрації за експозиції 1–24 год. Мікобактерії *M. phlei* гинуть при дії препарату у концентрації 0,2–0,3 % за експозиції 24 год і у концентрації 0,5 % при дії протягом 1–24 год. Бактерицидні властивості препарату щодо *M. smegmatis* встановлено в режимах 0,1 % – 24 год; 0,2–0,3 % – 5–24 год і 0,5 % – 1–24 год. Загибель *M. thamnopheos* препарат викликає у режимах розведення 0,3 % – 24 год і 0,5 % – 1–24 год.

При аналізі результатів (табл. 2) встановлено, що препарат «Біохлор» на культуру *M. avium* впливає бактерицидно при апробації в концентраціях 2,0 % (24 год); 3,0 % (5–24 год) та 4,0 % (1–24 год). Препарат знищує *M. bovis* (шт. *Vallee*) за концентрацій 1,0 % (24 год); 2,0 % (5–24 год) і 3,0–4,0 % (1–24 год), а епізоотичну культуру – у концентраціях 2,0 % (24 год), та 3,0–4,0 % (1–24 год).

Дезінфектант «Біохлор» у концентраціях 1,0 та 2,0 % за експозиції 24 год, 3,0 % за експозиції 5 і 24 год і 4,0 % за експозиції від 1 год діє бактерицидно на *M. kansasii*. Бактерицидні властивості щодо *M. scrofulaceum* деззасіб виявляє за концентрації 3,0 % з тривалістю експозиції 24 год, у концентрації 4,0 % за експозиції 1–24 год, а девіталізацію

Таблиця 1

Бактерицидна активність «Хлорантоїну» щодо мікобактерій

Культура мікобактерій	Концентрація, %											
	0,1			0,2			0,3			0,5		
	Експозиція, год											
	1	5	24	1	5	24	1	5	24	1	5	24
M. avium	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–
M. bovis (Vallee)	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–
M. bovis (епізоот.)	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–
M. kansasii	+	+	–	+	–	–	+	–	–	–	–	–
M. gordonae	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
M. scrofulaceum	+	+	–	+	+	–	+	–	–	–	–	–
M. intracellulare	+	+	–	+	+	–	+	–	–	–	–	–
M. terrae	+	+	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–
M. triviale	+	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–
M. xenopi	+	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–
M. diernhoferi	+	+	–	+	+	–	+	+	–	–	–	–
M. flavescens	+	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–
M. fortuitum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–
M. phlei	+	+	+	+	+	–	+	+	–	–	–	–
M. smegmatis	+	+	–	+	–	–	+	–	–	–	–	–
M. thamnopheos	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–

Примітки: «–» – відсутність росту мікобактерій; «+» – наявність росту мікобактерій.

M. gordonae зумовлює у концентрації 2,0–3,0 % за експозиції 24 год і 4,0 % при дії від 1 год. Культура *M. intracellulare* гине при застосуванні 3,0 % розведення цього препарату (24 год) та у концентрації 4,0 % (1–24 год). Загибель *M. terrae* спостерігається після застосування деззасобу у концентрації 2,0 % протягом 24 год та у концентрації 3,0–4,0 % за експозиції 1–24 год. Девіталізацію мікобактерій *M. triviale* спостерігали після дії деззасобу у концентрації 2,0–3,0 % за експозиції 5–24 год та 4,0 % – 1–24 год. Застосування препарату у концентрації 2,0 % за експозиції 5–24 год та у концентрації 3,0–4,0 % за дії протягом 1–24 год зумовлює повне знищення *M. xenopi*.

Після дії препарату у концентраціях 1,0–3,0 % (5–24 год) та 4,0 % (1–24 год) спостерігали загибель *M. flavescens*. Дія «Біохлору» на культуру *M. phlei* у концентрації 1,0–2,0 % за експозиції 24 год та 3,0 і 4,0 % за експозиції 1–24 год зумовлює бактерицидний ефект. Культура *M. thamnopheos* втрачає життєздатність при дії деззасобу у концентрації 1,0–4,0 % протягом 1–24 год та у концентрації 4,0 % за експозиції 1–5 год. Бактерицидні властивості щодо *M. fortuitum* препарат виявляє за 3,0 % розведення та дії протягом 24 год та у концентрації 4,0 % (1–24 год). Мікобактерії виду *M. smegmatis* гинули при дії дезінфектанту у концентрації 2,0–3,0 % при дії 24 год, у концентрації 3,0 % при дії протягом 5 год і 4,0 % розведення за 1–24 год. Девіталізацію *M. diernhoferi* «Біохлор» викликав після дії у концентраціях 2,0–3,0 % (24 год) і 4,0 % (1–24 год).

За отриманими результатами визначено, що дезінфікуючий препарат «Хлорантоїн» у концентрації 0,5 % за експозиції 1 год та препарат «Біохлор» у концентрації 3,0 % за експозиції 24 год проявляють високі бактерицидні властивості щодо досліджених культур мікобактерій і мо-

Таблиця 2

Бактерицидна активність «Біохлору» щодо мікобактерій

Культура мікобактерій	Концентрація, %											
	1,0			2,0			3,0			4,0		
	Експозиція, год											
	1	5	24	1	5	24	1	5	24	1	5	24
M. avium	+	+	+	+	+	–	+	–	–	–	–	–
M. bovis (Vallee)	+	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–
M. bovis (епізоот.)	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–
M. kansasii	+	+	–	+	+	–	+	–	–	–	–	–
M. gordonae	+	+	+	+	+	–	+	+	–	–	–	–
M. scrofulaceum	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–
M. intracellulare	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–
M. terrae	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–
M. triviale	+	+	+	+	–	–	+	–	–	–	–	–
M. xenopi	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–
M. diernhoferi	+	+	+	+	+	–	+	+	–	–	–	–
M. flavescens	+	–	–	+	–	–	+	–	–	–	–	–
M. fortuitum	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–
M. phlei	+	+	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–
M. smegmatis	+	+	+	+	+	–	+	–	–	–	–	–
M. thamnopheos	+	+	–	+	+	–	+	+	–	–	–	–

Примітки: «–» – відсутність росту мікобактерій; «+» – наявність росту мікобактерій.

жуть бути рекомендовані для застосування при профілактиці та боротьбі з туберкульозом сільськогосподарських тварин та птиці.

Отже, встановлено, що мікобактерії, які належать до різних груп за класифікацією Е. Раньона (1959), виявляють різний рівень резистентності до хлорних дезінфектантів, що залежить від концентрації їх робочих розчинів та тривалості часу контакту їх із мікроорганізмами.

Отримані результати корелюють з даними інших дослідників, які констатують той факт, що мікроорганізми різних груп, сімейств, родів, видів і навіть різних штамів одного виду володіють неоднаковою, часто суттєво різною стійкістю до тих чи інших зовнішніх чинників [13]. У музейних тест-культур мікроорганізмів відмічається більша гетерогенність за ступенем чутливості до дезінфектантів порівняно з клінічними ізолятами [14].

За даними інших дослідників встановлено, що збудники туберкульозу та атипові мікобактерії характеризуються високою пластичністю адаптивних властивостей до дії антибактеріальних препаратів і розміщуються у висхідній послідовності: *M. bovis, M. tuberculosis, M. avium, M. fortuitum*, а набуття стабільної резистентності мікобактерій супроводжується зміною деяких диференційних фенотипових властивостей [10].

Наступним етапом наших досліджень було визначення коефіцієнту відносної стійкості атипових мікобактерій до дезінфектантів. У ході розрахунків було встановлено, що після застосування препарату «Біохлор» за експозиції 1 год найменшу резистентність встановлено у *M. terrae, M. xenopi, M. phlei* (0,75 одиниць), тоді як усі інші культури за стійкістю дорівнювали *M. fortuitum* (коефіцієнт дорівнює 1). Зі збільшенням експозиції до 5 год найвищу резистентність, поряд з еталонною культурою, було встановлено у *M. gordonae, M. scrofulaceum, M. intracellulare, M. diernhoferi, M. thamnopheos,* а при експозиції 24 год – лише у *M. scrofulaceum* та *M. intracellulare*. Із досліджуваних культур мікобактерій до дезінфікуючого препарату «Хлорантоїн» при його застосуванні за експозиції 1 год високу резистентність визначено у *M. kansasii, M. scrofulaceum, M. intracellulare, M. diernhoferi, M. phlei, M. smegmatis, M. thamnopheos*, а за експозиції 5 год стійкості еталонної культури дорівнювали *M. diernhoferi, M. phlei, M. thamnopheos*. Щодо резистентності мікобактерій, що вивчали, до «Хлорантоїну» за експозиції 24 год, то жодна з культур не мала такої ж стійкості, як *M. fortuitum*.

Виходячи з узагальнених даних, встановлено, що до дезінфектанту «Біохлор» найбільш резистентними є *M. scrofulaceum, M. intracellulare*, *M. fortuitum*. До дії препарату «Хлорантоїн» найбільш стійкою виявилась культура *M. fortuitum.*

В інших дослідах при вивченні дії на мікобактерії 2,0 % лужного розчину глутарового альдегіду встановлено, що найбільш резистентними є культури *M. intracellulare* і *M. gordonae*, середньою чутливістю володіють *M. scrofulaceum* і *M. kansasii*, а найменш стійкими є атипові мікобактерії *M. marinum* і *M. smegmatis* [15].

Поряд з цим проведені дослідження з визначення коефіцієнту відносної стійкості збудників туберкульозу сільськогосподарських тварин та птиці до хлорних дезінфектантів. При цьому встановлено, що до дії «Хлорантоїну» за експозиції 1 і 5 год, високу резистентність, поряд з еталонною тест-культурою, було встановлено в епізоотичної культури

M. bovis та збудника туберкульозу *M. avium*. Культура збудника туберкульозу *M. avium* за резистентністю дорівнює стійкості *M. fortuitum* також при дії препарату «Біохлор» за впливу протягом 1 год.

Враховуючи середньостатистичні показники, доведено, що епізоотичний ізолят збудника туберкульозу *M. bovis* виявляє вищу резистентність до бактерицидної дії дезінфікуючих препаратів порівняно з референтним штамом *Vallee*.

Обговорення. Питання стійкості мікобактерій до дезінфектантів пов'язане з характеристикою бактеріальної контамінації об'єктів навколишнього середовища. Слід вважати, що розповсюдження мікобактерій, стійких до дезінфікуючих засобів, є суттєвим феноменом, який впливає на епідемічний та епізоотичний процеси.

Іншими дослідниками також встановлено різний рівень чутливості у збудників туберкульозу до дії дезінфектантів. Повідомляється, що *M. bovis* (шт. *BCG*) та (шт. «Ондатра») різняться за чутливістю до деззасобу на основі четвертинних амонієвих сполук [16].

Доведено, що до дії фенолу серед збудників туберкульозу найбільш стійкою є культура *M. avium* (шт. *413 P*), проте мікобактерії *B-5* перевершують їх. Поряд із цим *B-5* менш стійкі до дії хлораміну порівняно з *M. avium* і *M. tuberculosis* (шт. $H_{37}Rv$) [17].

Іншими експериментами доведено, що мікобактерії *B-5* менш стійкі до дії деззасобів порівняно з клінічними штамами *M. tuberculosis* та атиповими мікобактеріями. Вважається, що подібними за стійкістю до дезінфектантів є культури *M. terrae, M. tuberculosis* та *M. avium* [18].

Важливе епізоотологічне значення мають атипові мікобактерії. Так, виявлено, що основними збудниками мікобактеріозів тварин в господарствах є мікобактерії комплексу *M. avium–intracellulare*, *M. xenopi, M. gordone, M. gastri, M. terrae, M. triviale, M. phlei, M. fortuitum, M. smegmatis, M. vaccae, M. diernhoferi, M. flavescens, M. perigrinum*, *M. scrofulaceum* [11, 19].

Деякі види атипових мікобактерій (*M. avium, M. kansasii, M. xenopi, M. marinum, M. intracellulare, M. malmoense, M. simiae, M. szulgai*) мають природну стійкість до антимікробних протитуберкульозних препаратів [20]. Існуючі дані також підтверджують той факт, що атипові мікобактерії володіють вищою стійкістю до бактерицидних засобів порівняно зі збудниками туберкульозу [21]. Це пояснюється тим, що атипові мікобактерії є сапрофітами, які знаходяться в ґрунті та воді й набули більшої стійкості до негативного впливу навколишнього середовища. У зв'язку з цим у них менша проникність зовнішньої мембрани й вища стійкість до дії антибіотиків і дезінфектантів, ніж в облігатних патогенів [22]. За критерієм терморезистентності швидкорослі мікобактерії і *M. bovis* поступаються *M. avium*, проте до хімічних дезінфектантів більш стійкими є атипові швидкорослі мікобактерії [23].

Атипові мікобактерії здатні виживати в екстремальних умовах шляхом синтезу захисної плівки [24], а отже отримані нами дані вказують на різний рівень адаптивних механізмів у мікобактеріальних клітинах залежно від їх виду. Аналіз розподілення культур мікобактерій за усередненими значеннями ступеня їх стійкості до дії розчинів різних дезінфі-

куючих препаратів при фіксованій експозиції показав, що найбільшою стійкістю володіють мікобактерії видів *M. scrofulaceum, M. intracellulare, M. fortuitum*, *M. avium*.

Дані результати підтверджено іншими дослідниками, які визначили, що клітини *M. tuberculosis* володіють найбільшою чутливістю до дії антибактеріальних препаратів серед мікобактерій, а клітини *M. fortuitum* та *M. avium* є найменш чутливими [25].

Отримані нами результати підтверджуються вибором тест-культур під час визначення бактерицидних властивостей у нових дезінфектантів. Так, у США використовують мікобактерії комплексу *M. avium-intracellulare* і *M. tuberculosis*, у європейських країнах – *M. avium, M. fortuitum, M. phlei* [20, 26].

При вивченні електронно-мікроскопічної організації мікобактерій після дії бактерицидних концентрацій хлорних деззасобів визначено, що вони володіють високим окислювально-відновлювальним потенціалом, що дає можливість препарату швидко проникати у мікобактерію через клітинну стінку й цитоплазматичну мембрану та першочергово впливати на високомолекулярні структури. У зв'язку з цим першочергові зміни в мікобактеріальних клітинах полягають в ураженні внутрішніх структур бактерій, а саме нуклеоїду [27].

Нашими дослідженнями встановлено, що тривала дія хлорних дезінфектантів на мікробну клітину зумовлює незворотні зміни не лише внутрішніх (цитоплазма, нуклеоїд), але й зовнішніх (клітинна стінка, цитоплазматична мембрана) структур мікобактерій [28].

Періодична ротація антимікробних засобів із різними активнодіючими речовинами, правильно підібрана робоча концентрація, експозиція і температурний режим, моніторинг стійкості об'єктів ерадикації до антимікробних препаратів дають змогу запобігти формуванню резистентності мікрофлори, а також виникненню некультивованих форм [9].

За результатами проведених експериментів можна зробити висновок, що стійкість мікобактерій до одного і того ж дезінфектанту варіює в межах одного виду, що необхідно враховувати при розробці та застосуванні протимікробних засобів. Комплексний підхід з пошуку і використання нових засобів дезінфекції з урахуванням динаміки загибелі бактерій за впливу різних дезінфікуючих препаратів надає змогу вдосконалити режими та схеми проведення дезінфекції, контролю її якості в загальному комплексі протиепізоотичних заходів.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МИКОБАКТЕРИЙ К ХЛОРНЫМ ДЕЗИНФЕКТАНТАМ

А.П. Палий

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», ул. Пушкинская 83, Харьков, 61023, Украина

Резюме

Цель. Изучить бактерицидные свойства хлорных дезинфицирующих препаратов к разным видам микобактерий и провести сравнительную оценку устойчивости

культур микроорганизмов к их действию. **Методы.** Объектами исследований были 16 культур разных видов микобактерий из коллекции возбудителей инфекционных болезней животных Национального научного центра «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины» (г. Харьков). В качестве модельных дезинфектантов применяли препараты «Хлорантоин» и «Биохлор» при разных концентрациях и экспозициях. **Результаты.** Проведенными экспериментами установлено, что устойчивость микобактерий к одному и тому же дезинфектанту варьирует в пределах одного вида. К дезинфектанту «Биохлор» наиболее резистентными являются *M. scrofulaceum*, *M. intracellulare*, *M. fortuitum*, а к препарату «Хлорантоин» наиболее устойчивой оказалась культура *M. fortuitum*. Учитывая средние статистические показатели, доказано, что эпизоотический изолят возбудителя туберкулеза *M. bovis* проявляет более высокую резистентность к бактерицидному действию дезинфицирующих препаратов по сравнению с референтной культурой *M. bovis* штамм *Vallee*. Длительное действие хлорных дезинфектантов на микробную клетку обуславливает необратимые изменения не только внутренних (цитоплазма, нуклеоид), но и наружных (клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана) структур микобактерий. Анализ распределения культур микобактерий по усредненным значениям степени их устойчивости к действию растворов различных дезинфицирующих препаратов при фиксированной экспозиции показал, что наибольшей устойчивостью обладают микобактерии видов *M. scrofulaceum*, *M. intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. avium*. **Выводы.** Устойчивость микобактерий к одному и тому же дезинфектанту варьирует в пределах одного вида, что необходимо учитывать при разработке и применении противомикробных средств. Комплексный подход к поиску и применению новых средств дезинфекции с учетом динамики гибели бактерий при воздействии различных дезинфицирующих препаратов дает возможность усовершенствовать режимы и схемы проведения дезинфекции, контроля ее качества в общем комплексе противоэпизоотических мероприятий.

Ключевые слова: микобактерии, дезинфектант, «Хлорантоин», «Биохлор», концентрация, экспозиция, устойчивость, бактерицидное действие.

DIFFERENTIAL SENSITIVITY OF MYCOBACTERIUM TO CHLORINE DISINFECTANTS

A.P. Paliy

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», 83 Pushkinskaya St., Kharkiv, 61023, Ukraine

Summary

Aim. To study the bactericidal properties of chlorinated disinfectants to different types of mycobacteria and to make a comparative assessment of the resistance of cultures of microorganisms to their action. **Methods.** The objects of the research were 16 cultures of different species of mycobacteria from the collection of pathogens of infectious diseases of animals of the National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine” (Kharkov). As model disinfectants used drugs “Chlorantoin” and “Biochlor” at different concentrations and exposures. **Results.** The conducted experiments stated that the resistance of mycobacterium to the same disinfectant varies within the limits of one species. Mycobacterium’s *M. scrofulaceum*, *M. intracellulare*, *M. fortuitum* are the most

resistant to the disinfectant “Biochlor” and the culture *M. fortuitum* is the most resistant to the preparation “Chlorantoin”. Taking into consideration the average statistic indices it was proved, that epizootic isolate of tuberculosis agent *M. bovis* hows more sizeable resistance to the bactericide action of disinfectors in comparison with referent culture *M. bovis* strain *Vallee*. The long-term effect of chlorinated disinfectants on a microbial cell causes irreversible changes not only internal (cytoplasm, nucleoid), but also external (cell wall, cytoplasmic membrane) structures of mycobacteria. The distribution analysis of mycobacterium cultures according to the average indices of their resistance grade to the different solutions of disinfectors action at the fixed exposition, showed that *M. scrofulaceum, M. intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. avium* mycobacterium species have the greatest resistance. **Conclusions.** The resistance of mycobacteria to the same disinfectant varies within one species, which must be taken into account when developing and using antimicrobial agents. The complex approach to the search and application of new disinfectants with the account of dynamics as to bacteria destruction by the action of different disinfectors enables to improve regimes and charts as for the disinfection conduction, its quality in the whole complex of anti-epizootic measures.

Keywords: mycobacterium, disinfectant, “Chlorantoin”, “Biochlor”, concentration, exposition, resistance, bactericide action.

1. Krasilnikov AP, Gudkova EI. [A study of the sensitivity of enterobacteria to disinfectants]. J. Microbiol. Epidemiol. and immunobiol. 1993;5:22-28. Russian.
2. Oschepkov VG, Arjakov VN. [Sensitivity of microorganisms to drugs widely used for disinfection]. Siber. Bullet. of agricult. Science. 2003;3:99-102. Russian.
3. Roszak D., Colwell R. Survival strategies of bacteria in the natural. Microbiol. Rev. 1987;51:365-379.
4. Alekseeva IG. [Study of the features of the formation of stability of test microorganisms and clinical isolates to disinfectants in solution and on surfaces]. Fundamental sciences and the progress of clinical medicine. M;2008:13-14. Russian.
5. Brown-Elliott BA, Wallace Jr.RJ. Clinical and Taxonomic Status of Pathogenic Nonpigmented or Late-Pigmenting Rapidly Growing Mycobacteria. Clinical Microbiol. Rev. 2002;15(4):716-746.
6. Tortoli E. Impact of Genotypic Studies on Mycobacterial Taxonomy: the New Mycobacteria of the 1990s. Clinical Microbiol. Rev. 2003;16(2):319-354.
7. Grange JM. The biology of the genus mycobacterium. J. Appl. Microbiol. 1996;81:1-9.
8. Paliy AP, Zavgorodniy AI. [Comparative study of bactericidal properties of new disinfectants]. Bulletin of National Agrarian University of Armenia. 2013;2:39-41. Russian.
9. Kotova AL, Rakisheva AS. [Resistance of Mycobacterium tuberculosis to disinfectants]. Bulletin of KazNMU. 2013;4(1):5-6. Russian.
10. Diachenko GM, Kravchenko NO. [The variability of mycobacterium, induced by antibacterial drugs, and its importance in the epizootics of tuberculosis]. Scientific and technical bulletin Institute of Animal Biology and State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives. 2009;10(4):130-135. Ukranian.
11. Martma OV. [The current state of the problem of atypical mycobacteria in veterinary medicine]. Veterinary Medicine. 1982;5:22-24. Russian.

12. Kislichkina AA, Stepanshina VN, Shemiakin IG. [Mycobacteriosis]. Problems of tuberculosis and lung diseases. 2009;5:3-9. Russian.
13. Shandala MG. [Prospects and problems of modern disinfectology]. Disinfection business. 2003;3:119-125. Russian.
14. Shkarin VV, Kovalishena OV, Blagonravova AS. [Characteristics of resistance to disinfectants of pathogens of community-acquired infections]. Disinfection business. 2008;3:52-57. Russian.
15. Collins FM. Bactericidal activity of alkaline glutaraldehyde solution against a number of atypical mycobacterial species. J. Appl. Bacteriol. 1986;61(3):247-251.
16. Parhomenko NA, Pinchuk NG, Belavceva NI. [Sensitivity of Mycobacterium tuberculosis Mycobacterium bovis to quaternary ammonium compounds]. In: Lab. research as a tool to provide. epizootic. welfare and food safety. product: Proceedings of the Scientific Conference; 2012 Sep 25-27; Kiev, 2012. p. 97-98.
17. Arhipova OP, Kovalev VM. [Disinfection with activated chloramine solutions of some objects infected with spores of anthrax bacillus and tubercle bacillus]. Proceedings Research Institute of Children's Infections. 1949;5:15-17. Russian.
18. Kravchenko MA, Fedorova LS, Eremeeva NI, Kanishev VV. [The issues of overcoming the resistance of mycobacteria of different species to disinfectants]. Disinfection business. 2007;3:35-39. Russian.
19. Grange JM. The biology of the genus mycobacterium. J. Appl. Microbiol. 1996;81:1-9.
20. Telenti A. Genetics of drug resistance in tuberculosis. Tuberculosis. 1997;18(1):55-64.
21. Heginbothom ML. The relationship between the in vitro drug susceptibility of opportunist mycobacteria and their in vivo response to treatment. Int. J. Tuberc. Lung Dis. 2001;5(6):539-545.
22. Wagner D, Young LS. Nontuberculous mycobacterial infections: a clinical review. Infection. 2004;32(5):257-270.
23. Kolichev NM. [Atypical mycobacteria – an indicator of the quality of disinfection]. Veterinary Medicine. 1982;7:22-24. Russian.
24. Primm TP, Lucero C, Falkinham JO. Impact on health of environmental mycobacteria. Clin. Microbiol. Rev. 2004;17:98-106.
25. Blum BR. [Tuberculosis. Pathogenesis, protection, control]. M: Medicine; 2002. Russian.
26. Schlisser T. Testing of Chemical Disinfectants for veterinary Medicine. Selection and sensitivity of test Bacteria. Sonderelruck aus Hygiene und Medlizin. 1979;4:51-56.
27. Alagezan RG. [Detergents and disinfectants in the dairy industry]. M.: Light and food industry; 1981. Russian.
28. Zavgorodniy AI, Paliy AP, Zagrebelniy VO, Repin MV. [Ultrastructural changes in atypical mycobacteria after exposure to "Chloroanthoin"]. Vet. Medicine: mizhvid. temat. science. coll. 2012;96:107-110. Ukranian.

Отримано 12.05.2017