

УДК 619:614.48:616.9:612.017

**А. І. ЧЕХУН**

*Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ.*

### **ВПЛИВ ДЕЗІНФІКУЮЧИХ ЗАСОБІВ НА ПОГЛИНАННЯ КИСНЮ КЛІТИНАМИ БАКТЕРІЙ *E. COLI* та *ST. AUREUS*.**

*В статті представлені результати досліджень щодо визначення швидкості поглинання кисню тест-культурами мікроорганізмів штамів *E. coli* та *St. aureus* за впливу на них дезінфікуючих засобів. Дані результати дають можливість визначення чутливості та резистентності мікроорганізмів до дезінфікуючих засобів та дослідити оптимальні ефективні концентрації, експозиції для подальшого застосування їх на виробництві.*

*Ключові слова: *E. coli*, *St. aureus*, дезінфікуючі засоби, резистентність, дихання клітин.*

Розробка ефективних засобів для профілактики та ліквідації інфекційних захворювань є однією з актуальних проблем при проведенні ветеринарно-санітарних заходів в господарствах, забезпечення стійкого благополуччя тваринництва, продуктивності, відтворюваності, санітарної якості продукції та ін. [1].

Треба відмітити, що дедалі частіше виявляються штами мікроорганізмів, стійкі до традиційних дезінфектантів. Тому при підборі дезінфікуючого засобу необхідно враховувати щоб механізм його дії був максимально наближеним до природних механізмів захисту організму тварин у процесі їх росту і розвитку та має посилювати існуючі природні механізми захисту.

Тому у склад дезінфектантів вводять допоміжні інгредієнти які не шкідливі для тварин, але здатні гальмувати репродукцію патогенів, здійснювати поверхнево-активну дію, мати пролонгований ефект дії, щоб уникнути багатократної дезінфекції. Не менш важливим є склад нелетких компонентів препарату, які б не створювали дискомфорту в роботі персоналу, не викликали б професійних захворювань і не чинили шкідливу дію на навколишнє середовище та устаткування [2, 3].

Передумовою для проведення наших досліджень було вивчення особливості метаболізму клітин бактерій, а саме активного використання клітинами тих чи інших субстратів, а також кисню. Наявність кисню та швидкість його поглинання може бути одним із важливих показників життєздатності клітин бактерій і особливо, для *E. coli* та *St. aureus*. [4, 5].

Тому **метою** нашої роботи – дослідити вплив дезінфікуючих засобів на швидкість поглинання кисню тест-культурами мікроорганізмів *E. coli* та *St. aureus*, що може свідчити про їх резистентність та життєздатність.

**Матеріали та методи.** При виконанні досліджень використовували штами тест-культур *E. coli* шт. 1257, *St. aureus* 209-Р. Культивування клітин зазначених штамів проводили за стандартною методикою.

Швидкість поглинання кисню клітинами визначали за допомогою полярографічного методу [6]. Для цього використовували полярограф LP-7E (Чехія) та

закритий платиновий електрод Кларка. В полярографічну лунку (1,5 мл за об'ємом), яка містила PBS (рН 7,4), вносили 0,6 мл суспензії клітин, а через 3 хв додавали 0,1 мл розчину дезінфікуючого засобу. У другій серії дослідів тест-культури клітин *E. coli* та *St. aureus* інкубували при температурі 37° С протягом 30 та 60 хв з досліджуваними дезінфікуючими засобами, які застосовували згідно листівки-вкладки. При цьому до 3 мл вихідної суспензії клітин ( $5 \times 10^8$  кл/мл) додавали 0,5 мл дезінфікуючих засобів: 0,1 % гуанцида, 0,1 % біохлора, 0,5 % діаманта, 0,5 % сріблобенза, 2,0 % біолонга. Контролем були тест-культури клітин, які не піддавали впливу дезінфікуючими засобами. Одразу після певного терміну інкубації тест-культури клітин з дезінфікуючим засобом у полярографічну лунку вносили 0,6 мл суспензії та визначали швидкість поглинання кисню мікробними клітинами. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням коефіцієнту Стьюдента [7].

**Результати та їх обговорення.** В результаті проведених досліджень було встановлено, що швидкість поглинання кисню клітинами *E. coli* та *St. aureus* у звичайному стані практично однакова (табл. 1).

Таблиця 1.

**Швидкість поглинання кисню клітинами бактерій після 3 хв впливу дезінфікуючих засобів (наноатоми кисню/хв/ $10^8$  клітин; n=5).**

Дезінфікуючі засоби, %	<i>E. coli</i>	<i>St. aureus</i>
Контроль (без дезінфектанта)	0,92±0,08	1,01±0,07
Гуанцид, 0,1	0,19±0,03*	0,24±0,05*
Біохлор, 0,1	0,25±0,04*	0,22±0,04*
Діамант, 0,5	0,20±0,04*	0,23±0,02*
Сріблобенз, 0,5	0,22±0,05*	0,25±0,03*
Біолонг, 2,0	0,85±0,07	0,97±0,08

\* –  $P \leq 0,05$  у порівнянні з контролем

Але, якщо порівнювати з еукаріотами, то цей показник значно нижчий. Тому, для коректного визначення швидкості поглинання кисню напрацьовували набагато більшу кількість клітин *E. coli* та *St. Aureus* ( $10 \times 10^9$  кл/мл).

У першій серії дослідів у полярографічну лунку вносили 0,1 мл дезінфікуючого засобу. Як видно з даних, які відображено в табл. 1, досліджувані засоби (гуанцид, біохлор, діамант та сріблобенз) вже через 3 хв починали пригнічувати поглинання кисню клітинами. При цьому у клітинах *E. coli* цей показник знижувався на 72 % (гуанцид), 73 % (біохлор), 78 % (діамант) та 76 % (сріблобенз).

При дослідженні клітин *St. aureus* через 3 хв після внесення препарату швидкість поглинання кисню зменшувалась на 76 % (гуанцид), 78 % (біохлор), 77 % (діамант) та 75 % (сріблобенз). Отримані дані свідчать, що всі зазначені вище дезінфікуючі засоби одразу безпосередньо впливають на енергетичний метаболізм *E. coli* та *St. aureus*.

Друга серія дослідів для визначення бактеріостатичності була присвячена дослідженню швидкості поглинання кисню клітинами бактерій після інкубації їх з дезінфікуючими засобами. Інкубація клітин з досліджуваними речовинами протягом 30 хв призводила до значного пригнічення поглинання кисню. Так, наприклад, гуанцид пригнічував поглинання кисню клітинами *E. coli* на 91 %, а біохлор, діамант та сріблобенз – на 89, 90 та 90 % відповідно (табл. 2). За 30 хв інкубації вказані вище дезінфікуючі засоби також значно пригнічували поглинання кисню клітинами *St. aureus*. Гуанцид, біохлор, діамант та сріблобенз зменшували цей показник на 92, 91,92 та 92 % відповідно, у порівнянні з контролем (табл. 2).

Слід звернути увагу на інкубацію клітин *E. coli* та *St. aureus* з 2,0 % біолонгом. Співвідношення дезінфікуючого розчину до кількості клітин (за об'ємом) також становило 1 : 6. Така інкубація протягом 30 хв практично не впливала на швидкість поглинання кисню клітинами (табл. 2).

Таблиця 2.

**Швидкість поглинання кисню клітинами бактерій після 30 хв впливу дезінфікуючих засобів (наноатоми кисню/хв/10<sup>8</sup> клітин; n=5).**

Дезінфікуючі засоби, %	<i>E. coli</i>	<i>St. aureus</i>
Контроль (без дезінфектанта)	0,80±0,06	1,00±0,06
Гуанцид, 0,1	0,07±0,01*	0,08±0,01*
Біохлор, 0,1	0,09±0,01*	0,09±0,01*
Діамант, 0,5	0,07±0,01*	0,07±0,01*
Сріблобенз, 0,5	0,08±0,01*	0,08±0,01*
Біолонг, 2,0	0,73±0,05	0,89±0,05

\* – P≤0,05 у порівнянні з контролем

Інкубація клітин *E. coli* та *St. aureus* з досліджуваними розчинами на протязі 60 хв призводила до такого ж пригнічення поглинання кисню як і 30 хвилинна інкубація (табл. 3).

Таблиця 3.

**Швидкість поглинання кисню клітинами бактерій після 60 хв впливу дезінфікуючих засобів (наноатоми кисню/хв/10<sup>8</sup> клітин; n=5).**

Дезінфікуючі засоби, %	<i>E. coli</i>	<i>St. aureus</i>
Контроль (без дезінфектанта)	0,88±0,05	1,00±0,05
Гуанцид, 0,1	0,08±0,01*	0,07±0,01*
Біохлор, 0,1	0,07±0,01*	0,07±0,01*
Діамант, 0,5	0,07±0,01*	0,07±0,01*
Сріблобенз, 0,5	0,08±0,01*	0,06±0,01*
Біолонг, 2,0	0,60±0,04*	0,61±0,03*

\* – P≤0,05 у порівнянні з контролем

Так, наприклад, гуанцид, біохлор, діамант та сріблобенз інгібували дихання клітин *E. coli* на 91, 92,92 та 91%, відповідно. "Дихання" клітин *St. aureus* при цьому також пригнічувалось гуанцидом, біохлором, діамантом і сріблобензом. При чому ступінь гальмування швидкості поглинання кисню вище вказаними препаратами був однаковим і складав близько 93 %. Інкубація клітин протягом 60 хв з біолонгом також призводила до вірогідного пригнічення поглинання ним кисню. Проте відсоток гальмування затримування був значно нижчим ( приблизно у 3 рази), ніж за використання гуанциду, біохлору діаманту та сріблобензу.

**Висновок:**

Розчини 0,1 % гуанциду, 0,1 % біохлору, 0,5 % діаманту та 0,5 % сріблобензу можуть бути ефективними дезінфікуючими засобами відносно бактерій *E. coli* та *St. aureus*. Додавання цих речовин до суспензії клітин практично в перші хвилини призводило до порушення процесу поглинання ними кисню. Контакт клітин з дезінфікуючими засобами протягом 30 та 60 хв. викликав фактично повне гальмування "дихання". Результати досліджень також вказують на те, що використання біолонгу у зазначеній концентрації є менш ефективним, ніж використання гуанциду, біохлору, діаманту та сріблобензу.

Для ефективного застосування дезінфектантів з метою запобігання розвитку резистентності необхідно дотримуватися належних рекомендацій.

Норма-час-умови застосування залог успіху ефективної роботи.

1. Коцюмбас І. Я. Сучасні засоби ветеринарної дезінфекції. / Коцюмбас І. Я., Сергієнко О. І., Ковальчик Л. М. та ін. / Ветеринарна медицина України. – 2010, № 1. – С. 36-38.

2. Коваленко В. Л. Актуальні проблеми застосування дезінфікуючих препаратів. / В.Л. Коваленко / К.: Ветеринарна біотехнологія. № 12.– 2008 – С. 78-90.

3. Методичні підходи контролю дезінфікуючих засобів для ветеринарної медицини: Монографія / За ред. В. Л. Коваленко, В. В. Недосєков. – К.: 2011. – 219 с.

4. Шнитцер Р. Устойчивость микроорганизмов к лекарственным веществам./ Р. Шнитцер, Э.Г рунберг / М.: Изд-во иностранной литературы,–1960. – 466 с.

5. Работнова Н. Хемостатное культивирование и ингибирование роста микроорганизмов./ Н.Работнова, С.Позмогова / –М.: Наука.– 1979. – 207 с.

6. Сб. "Руководство по изучению биологического окисления полярнографическим методом". – М.: Наука.– 1973 – 122 с.

7. Лакин Г. П. Биометрия. / Г. П. Лакин / М.: Высшая школа.– 1990. – 352 с.

**ВЛИЯНИЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ НА ПОГЛОЩЕНИЯ КИСЛОРОДА КЛЕТКАМИ БАКТЕРИЙ E. COLI и ST. AUREUS/ Чехун А. И., Коваленко В. Л.**

*В статье представлены результаты исследований по определению скорости поглощения кислорода тест-культурами микроорганизмов штаммов E. coli и St. aureus по воздействию на них дезинфицирующими средствами. Данные результаты*

дают возможность определения чувствительности и резистентности к дезинфицирующим средствам и исследовать оптимальные эффективные концентрации, экспозиции для дальнейшего применения их на производстве.

*Ключевые слова:* *E. coli*, *St. aureus*, дезинфицирующие средства, устойчивость, дыхания клеток.

**THE INFLUENCE OF DISINFECTANTS ON OXYGEN ABSORPTION BY CELLS OF BACTERIA COLI AND ST. AUREUS /A.I.Chekhun, V.L. Kovalenko**

*The results of the researches on definition of speed of oxygen absorption by the test-cultures of microorganisms strains Coli and St. Aureus under the influence of disinfectants are represented in this article. These results give the opportunity to find out the sensitivity and the resistency to disinfectants and to investigate optimum effective concentration, expositions for their further application on manufacture.*

*Keywords:* *coli*, *St. Aureus*, *disinfectants*, *stability*, *breath of cells*.

**Рецензент** – кандидат ветеринарных наук **В. І. Білоконь**