

УДК 619.22.28:614.48:615.9:636.065

В. Л. КОВАЛЕНКО, доктор ветеринарних наук

А. В. ГНАТЕНКО, М. С. ШАРГАЛО

Інститут ветеринарної медицини НААН України (м. Київ)

Ю. О. БАЛАЦЬКИЙ, аспірант

В. П. ЛЯСОТА, доктор ветеринарних наук, професор

Білоцерківський національний аграрний університет

Л. Г. САВЧЕНКО

ТОВ БНВП «РІВС» (м. Київ)

ВИЗНАЧЕННЯ БАКТЕРИЦИДНОСТІ УНІВЕРСАЛЬНОГО БАКТЕРИЦИДНОГО ПРЕПАРАТУ «ГЕОЦИД»

*Досліджено бактерицидні властивості дезінфікуючого препарату на основі полігексаметиленгуанідин гідрохлориду «Геоцид», щодо *S. aureus* 209-R, визначено бактерицидне розведення, фенольний коефіцієнт та білковий індекс. Встановлено високу бактерицидну активність досліджуваного засобу, який перевищує дію фенолу у 12,728 рази.*

Ключові слова: дезінфекція, мікроорганізм, біобезпека, інсектицид, «Геоцид».

Сучасний стан суспільства та новітні технології вимагають розробки та вдосконалення препаратів з метою підвищення ефективності біобезпеки та економічного стану країни. Захист населення і тварин від інфекційних захворювань потребує кращих комплексних бактерицидних препаратів, які можуть володіти універсальними властивостями. Одним з таких дезінфікуючих засобів – є розробка Інституту ветеринарної медицини НААН України препарат «Геоцид». Низька токсичність “Геоциду” поєднується з широким спектром антимікробної активності. Препарат активний відносно різних грамнегативних і грампозитивних бактерій. Універсальність препарату визначається поєднанням дезінфікуючої, інсектицидної, миючої, а також широтою сфери застосування: для дезінсекції, очищення і санітарної обробки.

Моніторинг сучасних рецептур засобів дезінфекції виробництва США, Франції, Росії та ін. країн, змусили піти вперед в розробці нової композиції на основі діючої речовини полігексаметиленгуанідин гідрохлориду (ПГМГ), бензалконія хлориду та дельтаметрину – бактерицидного препарату «Геоцид» [1, 2, 3].

На відміну від багатьох препаратів, зокрема альдегідвмісних та четвертинноамонієвих сполук, розчини “Геоциду” не фіксують забруднень на оброблюваних об’єктах, а отже, немає необхідності в додатковій обробці забруднених виробів перед дезінфекцією. Робочі розчини “Геоциду” ефективні при білковому навантаженні до 50 %, що дозволяє використовувати їх для знезараження виробів сильно забруднених органічними речовинами. Здатність до розщеплювання білка плюс миюча та інсектоакарицидна дії, дозволяють використовувати препарат для дезінсекції, суміщеної з очищенням. Таким чином, спрощується процедура знезараження і виключається необхідність додаткових витрат на придбання окремого препарату для очищення та дезінфекції.

Сукупність перерахованих властивостей дозволяє використовувати “Геоцид” для дезінсекції та дезінфекції, зокрема суміщеною з очищенням приладів, санітарно-технічного устаткування, поверхонь в приміщеннях, прибирального інвентарю в установах, підприємствах тваринництва, птахівництва та інше [4, 5].

Метою роботи було дослідити оптимальні ефективні концентрації бактерицидного препарату «Геоцид» відносно тест-культури мікроорганізму *S. aureus*, визначити фенольний коефіцієнт та білковий індекс.

Матеріали та методи. Для дослідження брали 2,5 % розчин препарату по діючій речовині ПГМГ, яке проводили з урахуванням чинних методик [6, 7]. Для визначення бактерицидного розведення готували початкову концентрацію 1 : 50 з прогресивним зменшенням діючої речовини в кожному наступному розведенні.

Одночасно готували бульйонну культуру *S. aureus*. Для приготування бульйонної культури у колбу наливали 25 см³ поживного середовища і вносили у нього 0,25 см³ добової бульйонної культури мікроорганізмів. Через добу бульйонну культуру фільтрували через стерильний ватно-марлевий чи паперовий фільтр. У пробірки з різними розведеннями дезінфектанту по 5 мл вносили по 0,5 см³ 24-год бульйонної культури випробовуваних мікроорганізмів. Після 10-хв витримання із колб платиновою петлею брали проби і переносили у чашки Петрі з МПА. Вказані види робіт проводили з дотриманням умов стерильності. Через 30 хв, зберігаючи той же інтервал, знову відбирали проби і проводили наступний посів на агар. Після цього чашки Петрі ставили у термостат за температури 37°C. Посіви переглядали через 24 і 48 год.

Фенольний коефіцієнт – це відношення концентрації розчину досліджуваної речовини до концентрації стандартного фенолу, які справляють в рівні проміжки часу і при однаковій температурі рівнозначний бактерицидний ефект. Для отримання достовірних результатів дослід повторювали 5 разів і обраховували середнє значення бактерицидного розведення дослідного засобу окремо при 10 і 30 хв експозиції. Середнє число бактерицидного розведення ділили на середнє число бактерицидного розведення фенолу, згідно чинних методик [7]. Одержане, в результаті ділення, значення і є фенольним коефіцієнтом, що вказує у скільки разів цей засіб діє ефективніше чи слабше фенолу.

Оскільки у виробничих умовах дезінфікуючі розчини контактують не тільки з мікроорганізмами, а й з різними органічними і неорганічними сполуками, то дезінфікуючий засіб втрачає частину своєї діючої речовини, що призводить до зниження його активності. При цьому виникає необхідність дослідити препарат при взаємодії на нього факторів зовнішнього середовища. Для такого дослід використовують білок у вигляді інактивованої сироватки крові. Зниження активності дезінфекційного засобу в присутності високомолекулярного білка називається **білковим індексом**. Для дослідження готували ряд розведень розчину досліджуваного препарату по 5 мл з додаванням 0,5 мл сироватки, далі хід дослід був подібним до бактерицидного розведення. Показник бактерицидного розведення досліджуваного засобу при 10 і 30 хвилинній експозиції у присутності білка ділили на відповідний показник чистого бактерицидного розведення. Отримані числа складали і ділили на 2, що і визначало білковий індекс.

Результати досліджень. За мінімальних розведень препарату після посівів на агар росту колоній не відмічали незалежно від експозиції та інкубації (табл. 1).

За концентрації препарату 0,5% і вище ПГМГ коагулює білок, чим власне і пояснюється його бактерицидна дія.

При подальшому дослідженні за розведення дослідного препарату 1:50 і нижче реєстрували ріст колоній, який залежав від концентрації досліджуваної речовини. Отримані результати занесені до таблиці 1.

За даними таблиці 1, після 24-годинної інкубації за 10-хвилинної експозиції відмічали прогресуючий ріст колоній починаючи з концентрації препарату 0,01234206585 %, в той час як за 30-хвилинної експозиції – з 0,0088157613 %. При 48-год інкубації за 10-хв експозиції відмічали прогресуючий ріст колоній починаючи з концентрації 0,357%, а за 30-хвилинної – з концентрації 0,255 %. Отримані результати свідчать про достатньо високу дезінфікуючу дію проти *S. aureus* протягом першої доби застосування. Однак вже на другу добу дія даного препарату знизилась. Чисте бактерицидне розведення після 24 годин інкубації за 10-хвилинної експозиції складало 1:1466,3, за 30-хвилинної – 1:2024,8.

Таблиця 1.

**Бактерицидна активність комплексного
дезінфікуючого препарату «Геоцид»**

№ проб	Концентрація досліджуваного розчину		Кількість колоній				Бактерицид-нерозведення
	Розведення від концентрата	Відсоток досліджуваної речовини	після 24 год		після 48 год		
			Експозиція				
			10 хв	30 хв	10 хв	30 хв	
1	1:50	0,5	-	-	-	-	
2	1:70	0,357	-	-	1	-	1)
3	1:98	0,255	-	-	8	5	
4	1:137,2	0,182	-	-	28	11	
5	1:192,8	0,13	-	-	47,5	14,5	
6	1:268,8	0,0929	-	-	70	54,5	
7	1:376,5	0,06637859	-	-	108,5	83,5	
8	1:527,1	0,04741328	-	-	146,5	108	
9	1:737,9	0,0338666287	-	-	164,5	109	
10	1:1033,1	0,02419044907	-	-	218	132	2)
11	1:1466,3	0,01727889219	-(3*)		227,5	173	3)
12	1:2024,8	0,01234206585	1(10*)	-(1*)	239,5	228	4)
13	1:2834,7	0,0088157613	8	5	245	311,5	
14	1:36,98,0	0,0062969723	21,5	12	308	426	
15	1:5566,0	0,0044978374	22	17,5	451,5	435	

Примітки: * 3 сироваткою крові;

1) Чисте бактерицидне розведення за 30-хвилинної експозиції після 48 годин інкубації;

2) Бактерицидне розведення з сироваткою крові за різної експозиції після 24 годин інкубації;

3) Чисте бактерицидне розведення за 10-хвилинної експозиції після 24 годин інкубації;

4) Чисте бактерицидне розведення за 30-хвилинної експозиції після 24 годин інкубації.

Розраховуючи фенольний коефіцієнт використовували дані, наведені у чинних методичних рекомендаціях [7] щодо бактерицидного розведення фенолу, що складає 1:98 за експозиції 10 хв, та 1:192,9 за 30-хвилинної експозиції. Розрахунки здійснювали згідно методики досліджень.

Фенольний коефіцієнт: 1) за 10-хвилинної експозиції: $1466,3:98=14,96$;

2) за 30-хвилинної експозиції: $2024,8:192,9=10,49$;

Середнє значення: $(14,96+10,49):2=12,72$.

Отже, бактерицидна дія Геоциду по відношенню до *S. aureus* сильніша за бактерицидну дію карболової кислоти в 12,72 раза.

В присутності білка фенольний коефіцієнт для Геоциду становить:

при 10 хв експозиції $2024,8:98=20,66$

при 30 хв. експозиції $2834,7:192,9=14,695$

Середнє значення: $(20,6+14,695):2=17,68$.

Таким чином, бактерицидна дія Геоциду в присутності білка по відношенню до *S. aureus* сильніша за бактерицидну дію фенолу в 17,68 раза.

Бактерицидне розведення Геоциду за відсутності білка при 10 хв. експозиції дорівнює 1: 1466,3; при 30 хв. – 1: 2024,8, а в присутності білка – 1:2024,8 та 1:2834,7 відповідно.

Звідси білковий індекс дорівнює:

За 10 хв. експозиції $1466,3:2024,8=0,724$

За 30 хв. експозиції $2024,8:2834,7=0,714$

Середній білковий індекс $(0,724+0,714):2=0,719$

Отже, бактерицидна дія досліджуваного дезінфікуючого засобу Геоциду в присутності білка по відношенню до *S. aureus* знижується в 0,719 рази (табл. 2.).

Таблиця 2.

Антибактеріальна дія препарату Геоцид по відношенню до *S. aureus* (штам 209)

Розчини препаратів	Бактерицидне розведення		Середній фенольний коефіцієнт	Середній білковий індекс
	Експозиція, (хв.)			
	10	30		
Фенол, 1:50	1:98	1:192,9	-	-
Геоцид, 1:50	1:1466,3	1:2024,8	12,728	-
Геоцид + білок	1:2024,8	1:2834,7	17,677	0,719

Висновки. 1. Механізм дії ПГМГ оснований на коагуляції білка мікробної клітини.

2. Досліджуваний препарат має високу бактерицидність щодо *S. aureus*, яка перевищує активність фенолу в 12,728 рази.

3. Бактерицидна активність досліджуваного препарату проти *S. aureus* діє до концентрації 0,02419044907 %.

4. Вже на другу добу після застосування препарату його бактерицидна активність суттєво знижується, тобто для пролонгованої дії необхідно застосовувати більш високі концентрації препарату або ввести у препарат іншу діючу речовину для підсилення їх синергічної дії, що урахується при подальшій розробки засобу.

5. При забрудненості поверхонь бактерицидність знижується лише в 0,719 раз.

Перспективи подальших досліджень. В перспективі планується провести дослідження бактерицидної дії щодо грам-негативної мікрофлори (на прикладі *E. coli*), а також визначити фунгіцидні властивості даного препарату.

Список використаної літератури

1. Коваленко В. Л. Рідинно-хроматографічне визначення дельтаметрину у складі дезінфікуючого засобу діамант. / В. Л. Коваленко, В. І. Ткаченко. Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень. № 20. – К. – 2012. – С. 71–76.

2. Баркова Н. П. Синтез, антисептическая и антидотная активность соли гидроксидилденбиофосфонатаполигексаметиленгуанидина / Н.П. Баркова, Л.М. Антоник, В.А. Лопырѐв, А.Г. Хабибулина //Химико-фармацевтический журнал. – 2009. – № 2. – С. 15–17.

3. Коваленко В. Л. Сучасні дезінфектанти на контролі біобезпеки. / В.Л. Коваленко. Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень. № 21. – К. – 2012. – С.61–71.

4. Коваленко В. Л., Ефективність застосування бактерицидних засобів в тваринництві / В.Л. Коваленко // Міжвідомчий тематичний науковий збірник УААН// Ветеринарна медицина. – Харків, – 2010.–№ 93. С. 215–219

5. Саломатин Е. М. Судебно-химическое исследование спиртосодержащих жидкостей, в состав которых входят полигексаметиленгуанидин гидрохлорид и диэтилфталат / Е. М. Саломатин, Е. С. Цисанова // Судебно-медицинская экспертиза. – 2010. – № 4. – С. 33–37.

6. Афанасьева В. В. Клинико-лабораторное обоснование выбора оптимальной концентрации полигексаметиленгуанидина гидрохлорида для его использования в практике хирургической стоматологии в качестве антисептика // Российский стоматологический журнал. – 2010. – № 6. – С. 8–12.

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

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНОСТИ УНИВЕРСАЛЬНОГО ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО ПРЕПАРАТА «ГЕОЦИД» / Коваленко В.Л., Гнатенко А.В., Балацкий Ю.О, Лястота В.П., Шаргало М.С., Савченко Л.Г.

Исследованы бактерицидные свойства дезинфицирующего препарата на основе полигексаметиленгуанидина гидрохлорида – «Геоцид», против S. aureus, 209-R. Определено бактерицидное разведение, фенольный коэффициент и белковый индекс. Установлена высокая бактерицидная активность исследуемого средства, который превышает действие фенола в 12,728 раз.

DETERMINATION OF BACTERICIDY OF UNIVERSAL DISINFECTANT «GEOCID» / V. L. Kovalenko, A. V. Gnatenko, Y. O. Balackiy, V. P. Lysota, L. G. Savchenko

It is investigated the bactericidal properties of disinfectant on the basis of Polyhexamethylenguanidine hydrochloride – “Geocid”, against S. aureus 209-R. It is determined the bactericidal dilution, Phenol coefficient and Protein index. The high bactericide activity has been determined, which is more than Phenol's in 12,728 times.

Key words: disinfection, microorganism, biosafety, insecticide, «Geocid».

Рецензент – кандидат ветеринарних наук **У. М. Яненко**