

В. Л. КОВАЛЕНКО, доктор ветеринарних наук

ННЦ «Інститут бджільництва ім. Прокоповича», м. Київ,

В. П. ЛЯСОТА, доктор ветеринарних наук

Ю. О. БАЛАЦЬКИЙ, аспірант

Л. І. КОВАЛЕНКО, кандидат біологічних наук, Білоцерківський університет економіки і права

Білоцерківський національний аграрний університет

А. В. РОЗУМНЮК, кандидат ветеринарних наук

Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ

КОМПЛЕКСНЕ МІКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЗІНФІКУЮЧОГО ПРЕПАРАТУ

*Досліджено вплив дезінфікуючого препарату «Геоцид» на основі полігексаметиленуанідину гідрохлориду (ПГМГ-ГХ), бензалконію хлориду та дельтаметрину за показниками фунгіцидних властивостей стосовно мікроміцети родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*. Встановлено, що дезінфікуючий засіб Геоцид, за умов дотримання рекомендованих концентрацій має фунгіцидну дію відносно цих грибів. У рекомендованих робочих концентраціях 2–2,5 % препарат «Геоцид» має пролонговану дію.*

Ключові слова: біобезпека, дезінфекція, мікроміцети, фунгіцидні властивості, Геоцид.

Основу ефективної системи профілактичних та оздоровчих заходів складають: постійний моніторинг епізоотичної ситуації у кожному господарстві, регіоні; рання і достовірна діагностика хвороб; своєчасне проведення необхідних ветеринарно-санітарних та організаційно-господарських заходів з профілактики і ліквідації інфекційних захворювань. Особливу увагу варто приділяти контролю як епізоотичним процесам, так і профілактичним заходам [1, 2].

Слід відмітити, що постійно відбувається зміна мікробного фону як наслідок адаптації до дезінфікуючих препаратів, які застосовуються у ветеринарній медицині та тваринництві. Все частіше виявляються штами мікроорганізмів, стійкі до традиційних дезінфектантів, поширення набувають збудники, недостатньо чутливі до зовнішніх дій (мікобактерії туберкульозу, збудники сибірки та ін.). До цього можна додати і розповсюдження мікозів – дуже стійких, схильних до прояву рецидивів патогенів. Крім того, все частіше причиною різних патологічних станів є не окремі збудники, а їхні асоціації [3].

Без сучасних дезінфікуючих засобів забезпечити належний ветеринарно-санітарний і надійний захист від інфекцій у тваринництві та птахівництві неможливо. Препарати, які традиційно застосовуються не відповідають багатьом сучасним вимогам. Вибираючи препарати для дезінфекції приміщень, у першу чергу слід звертати увагу на спектр їхньої антимікробної та, особливо, сумісної миючо-дезінфікуючої дії. Крім того, слід враховувати такі важливі особливості дезінфектантів, як агресивність щодо матеріалів і поверхонь, стабільність у разі зберігання та перевезення до місця проведення робіт [4].

З наявного переліку існуючих дезінфікуючих засобів практично застосовують лише їхню незначну частину. Більшість препаратів вітчизняного виробництва, які використовуються для дезінфекції, не досліджувались відносно протигрибкової дії [5–8].

Метою науково-дослідної роботи було вивчити фунгіцидні властивості вітчизняного дезінфікуючого препарату «Геоцид».

Матеріали та методи. Об'єктом досліджень був дезінфікуючий засіб Геоцид, діючими речовинами якого є полігексаметиленуанідину гідрохлорид (ПГМГ-ГХ), бензалконію хлорид і дельтаметрин. Водні розчини прозорі, безбарвні, не мають запаху.

Для проведення досліджень з визначення фунгіцидних властивостей засобу була виконана робота з підготовки лабораторного посуду, приготування реактивів, живильних середовищ та перевірки обладнання – термостатів, водяних бань, мікроскопів тощо.

У досліді використовували живильні середовища Чапека, глюкозний агар Сабуро, які готували згідно існуючих рекомендацій.

Підбір штамів мікроміцет, перевірку їхньої життєдіяльності, після збереження в умовах побутового холодильника (+4 – +8 °С), проводили шляхом висіву в пробірки на скошене тверде живильне середовище (агар Чапека), після витримки за кімнатної температури, не менше однієї години.

У дослідях були використані штами мікроміцет після четвертого пересіву, які найбільш стійкі до дезінфектантів, це мікроміцети родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* [2, 5].

Роботу з визначення фунгіцидної дії різних концентрацій препарату «Геоцид» і параметрів застосування було сплановано та проведено, керуючись загальноприйнятими рекомендаціями по застосуванню. Концентрації засобів, що досліджувались, витримували упродовж 30–60 хвилин.

Вивчення та визначення фунгіцидних концентрацій препарату «Геоцид», який можна рекомендувати для проведення поточної, заключної і профілактичної дезінфекції об'єктів ветеринарної медицини, проводили суспензійним методом та методом паперових дисків. Для цього готували водні розчини Геоциду 0,5 %, 1,0; 2,0; 2,5; 3,0 і 3,5 %, та змиви суспензії спор з 7-добових культур грибів родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, які містили 120 діаспор у 0,2 см³ (робоче розведення). Контролем слугували культури грибів з робочим розведенням.

Для виконання *суспензійного методу* отримані розчини препарату в об'ємі 5,0 см³ змішували з робочими розведеннями грибів в об'ємі 0,5 см³, витримували протягом 30–120 хв і висівали на тверде поживне середовище Чапека. Посіви культивували в термостаті за температури 27 °С протягом 14 діб. Облік результатів проводили через 3, 5, 7, 10 та 14 діб за наявністю чи відсутністю росту гриба.

Метод паперових дисків. Робочі розведення грибів родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* у кількості 0,2 см³ висівали на тверде поживне середовище Чапека в чашках Петрі та рівномірно розподіляли на поверхні. Для дифузії культур в агар чашки, проби витримували протягом 15–30 хв за кімнатної температури (15–25 °С). Стерильні диски з фільтрувального паперу (діаметром 5 мм) змочували водними розчинами препарату у відповідних концентраціях в кількості 100 мкл на диск і розкладали стерильним пінцетом на чашки Петрі, притискаючи до агару. На кожен чашку розкладали по 6–9 дисків. Чашки з дисками витримували за кімнатної температури протягом доби, а потім – у термостаті за температури 27 °С упродовж 10 діб. Облік результатів проводили через 5, 7 та 10 діб, визначаючи діаметр зон затримки росту грибів навколо паперових дисків за допомогою лінійки, враховуючи діаметр самого диску.

Результати досліджень

Під час проведення дослідів із визначення фунгіцидних властивостей препарату «Геоцид» на тест-культурах грибів роду *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* виявили, що за експозиції 30–60 хв рекомендовані концентрації «Геоциду» впливали на затримку росту культур грибів (табл. 1).

Вплив дезінфікуючого препарату «Геоцид» на ріст грибів родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* в суспензійному методі

Рід грибів	Контроль	Концентрація препарату, %							
		0,05	0,1	0,5	1,0	2,0	2,5	3,0	3,5
<i>Aspergillus</i>	+	+	+	+	±	±	-	-	-
<i>Penicillium</i>	+	+	+	+	±	±	-	-	-
<i>Fusarium</i>	+	+	+	+	±	-	-	-	-

Примітка. «+» – наявність росту гриба; «-» – відсутність росту гриба; «±» – незначний ріст гриба.

У концентраціях препарату 2,5 % і вище, ми не спостерігали росту мікроміцет усіх видів грибів.

Затримка росту грибів роду *Fusarium* була 11 мм вже за 0,05 % концентрації досліджуваного препарату (табл. 2).

Вплив дезінфікуючого препарату «Геоцид» у різних концентраціях на культури мікроміцет з використанням паперових дисків на 5 добу, $M \pm m$, (n=5)

Рід грибів	Діюча концентрація, %							
	0,05	0,1	0,5	1,0	2,0	2,5	3,0	3,5
	Діаметр зон затримки росту тест-штамів грибів (мм)							
<i>Aspergillus</i>	3,0±0,2	4,0±0,2	4,0±0,2	6,0±0,3	13,0±0,4	15,0±1,1	19,0±1,3	22,0±1,9
<i>Penicillium</i>	5,0±0,3	6,0±0,4	8,0±0,5	9,0±0,7	14,0±0,7	16,0±1,3	22,0±1,8	23,0±1,1
<i>Fusarium</i>	10,0±1,1	12,0±0,9	12,0±0,4	13,0±0,8	15,0±0,8	17,0±1,4	25,0±2,2	28,0±2,6

На п'яту добу дослідження, починаючи з 0,5 %-ної концентрації, препарат «Геоцид» активно затримував ріст грибів роду *Aspergillus* (зона затримки росту >5 мм), а за 1 %-ної – грибів роду *Penicillium*.

На сьому добу експерименту затримка росту грибів роду *Fusarium* була 9 мм, навіть, за 0,05 %-ної концентрації досліджуваного препарату (табл. 3).

Вплив дезінфікуючого препарату «Геоцид» у різних концентраціях на 7-добові культури мікроміцет з використанням паперових дисків, $M \pm m$, (n=5)

Рід грибів	Діюча концентрація, %							
	0,05	0,1	0,5	1,0	2,0	2,5	3,0	3,5
	Діаметр зон затримки росту тест-штамів грибів (мм)							
<i>Aspergillus</i>	2,0±0,1	3,0±0,2	4,0±0,3	5,0±0,3	12,0±1,1	14,0±1,2	19,0±0,5	21,0±1,1
<i>Penicillium</i>	4,0±0,3	5,0±0,4	7,0±0,6	8,0±0,9	13,0±1,2	16,0±1,3	21,0±1,9	23,0±1,7
<i>Fusarium</i>	9,0±1,0	11,0±0,6	12,0±1,1	13,0±1,2	15,0±1,4	17,0±1,8	24,0±3,1	27,0±2,1

Для грибів родів *Aspergillus* і *Penicillium* препарат «Геоцид» активно затримував ріст, починаючи з 1,0 % концентрації (зона затримки росту >5 мм, рис. 1, 2).

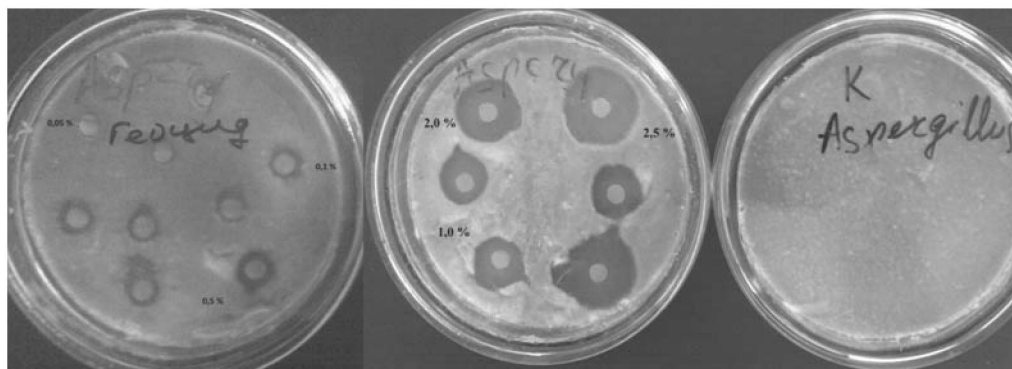


Рис. 1. Затримка росту гриба роду *Aspergillus* за дії 0,05 %, 0,1, 0,5, 1,0, 2,0 та 2,5 %-них розчинів препарату «Геоцид», порівняно з контролем за 7-му добу культивування.

Активну затримку росту грибів візуально дуже добре видно за концентрацій препарату 1 % і вище (2,0; 2,5). Чим більша концентрація препарату – тим більша зона затримки росту грибів (рис. 1, 2).

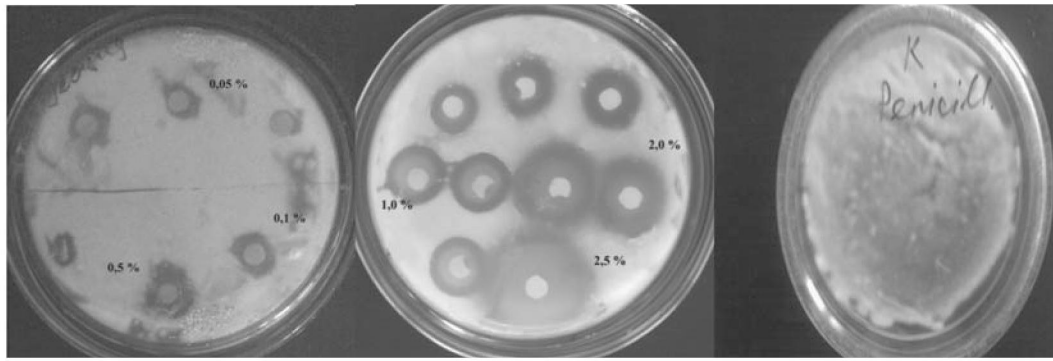


Рис. 2. Затримка росту гриба роду *Penicillium* за дії 0,05 %, 0,1, 0,5, 1,0, 2,0 та 2,5 % розчинів препарату «Геоцид», порівняно з контролем на 7-му добу культивування.

На 10-ту добу дослідження затримка росту грибів роду *Fusarium* складала 7 мм вже за 0,05 %-ної концентрації препарату «Геоцид» (табл. 4).

Таблиця 4

Вплив дезінфікуючого препарату «Геоцид» у різних концентраціях на культури мікроміцет з використанням паперових дисків на 10 добу, $M \pm m$, (n=5)

Рід грибів	Діюча концентрація, %							
	0,05	0,1	0,5	1,0	2,0	2,5	3,0	3,5
	Діаметр зон затримки росту тест-штамів грибів (мм)							
<i>Aspergillus</i>	1,0±0,1	2,0±0,1	3,0±0,4	4,0±0,3	11,0±0,4	13,0±1,1	19,0±1,8	21,0±2,2
<i>Penicillium</i>	3,0±0,2	4,0±0,2	6,0±0,2	7,0±0,6	12,0±0,8	15,0±1,3	21,0±1,7	22,0±1,5
<i>Fusarium</i>	7,0±0,5	9,0±0,7	11,0±0,9	11,0±0,8	14,0±0,7	17,0±0,8	24,0±2,2	27,0±2,3

Ріст грибів родів *Penicillium* і *Aspergillus* на цю добу препарат «Геоцид» затримував лише у концентраціях 1,0 та 2,0 %, відповідно (зона затримки росту >5 мм).

Аналізуючи дані таблиць 2–4 та рисунків 1–2, слід відзначити, що «Геоцид» затримував ріст мікроміцет усіх досліджуваних родів грибів. З підвищенням концентрації дезінфектанту збільшувалась і зона затримки росту, тобто, засіб проявляв фунгістатичну дію щодо грибів родів *Fusarium*, *Aspergillus* та *Penicillium*.

Висновки.

1. Дезінфікуючий засіб «Геоцид», за умов дотримання рекомендованих концентрацій, має фунгіцидну дію відносно грибів родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* у концентрації 2,5 % і фунгістатичну – у концентрації 2,0 %.
2. У концентраціях 2 % і більше препарат «Геоцид» має пролонговану дію (понад 10 діб).
3. Перспективами подальших досліджень є вивчення дії дезінфікуючого засобу «Геоцид» на інші види пліснявих грибів для забезпечення профілактичної дезінфекції об'єктів ветеринарної медицини.

Список використаної літератури:

1. Афиногенов Г. Е. Оценка методов изучения эффективности дезинфектантов и антисептиков / Г. Е. Афиногенов, А. А. Домород, М. В. Краснова // Актуальные проблемы дезинфектологии в профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний. – М., 2002. – С. 104–105.
2. Дудницкий И. А. Оценка дезинфицирующих средств / И. А. Дудницкий, О. Н. Шувалова // Сельское хозяйство за рубежом. – 1977. – № 12. – С. 40–45.
3. Соколова Н. Ф. Методические основы определения устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам / Н. Ф. Соколова // Материалы VIII съезда Российского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. М., 2002. – С. 55–56.
4. Методи контролю дезінфікуючих засобів Довідник / За ред. В.Л. Коваленко. – К.: 2014. – 160 с.
5. Рекомендації щодо санітарно-мікробіологічного дослідження змивів з поверхонь тест-об'єктів та об'єктів ветеринарного нагляду і контролю. / Методичні рекомендації / О.М. Якубчак, В.І. Хоменко, В.Л. Коваленко [та ін.]. – К., 2005. – 18 с.
6. Коваленко В. Л. Концепція розробки та використання комплексних дезінфектантів для ветеринарної медицини: Монографія / В. Л. Коваленко, В.В. Недосеков. – К., 2011. – 146 с.
7. Коваленко В. Л. Актуальні проблеми застосування дезінфікуючих препаратів / В.Л. Коваленко // Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень. – К., 2008. – № 12. – С. 78–91.
8. Methods for the Mycological Examination of Food / Jr. King, J. Pitt, L. Beuchat, J. Corry // Nato Science. Series A. – 1986. – Vol. 122. P. 48–51.

КОМПЛЕКСНОЕ МИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО ПРЕПАРАТА / В. Л. Коваленко, В. П. Лясота, Ю. О. Балацький, Л. І. Коваленко, А. В. Розумнюк

Исследовано влияние дезинфицирующего препарата «Геоцид» на основе полигексаметиленгуанидина гидрохлорида (ПГМГ-ГХ), бензалкония хлорида и дельтаметрина по показателям фунгицидных свойств относительно микромицет родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*. Установлено, что дезинфицирующее средство Геоцид, при соблюдении рекомендуемых концентраций оказывает фунгицидное действия в отношении этих грибов. В рекомендуемых рабочих концентрациях 2–2,5 % препарат «Геоцид» имеет пролонгированное действие.

Ключевые слова: биобезопасность, дезинфекция, микромицеты, фунгицидные свойства, Геоцид.

INTEGRATED MYCOLOGICAL EXAMINATION OF DISINFECTANTS / V. Kovalenko, V. Lyasota, J. Balatsky, A. Rozumniuk

From the available list of existing disinfectants used almost only their small part. Most domestically produced drugs that are used for disinfection, not studied relatively antifungal action. The aim of research was to study the fungicidal properties of domestic disinfectants «Heotsyd.»

Materials and methods. The object of research was sanitizer Heotsyd active substance which is polihexamethyleneguanidine hydrochloride (PHMG-GC), benzalkonium chloride and deltametryn.

During experiments to determine fungicidal properties of the drug «Heotsyd» the test cultures fungi of the genus Aspergillus, Penicillium, Fusarium found that exposure for 30–60 min, the drug concentrations of 2,5 % and above – we have not seen growth micromycetes all types fungi. Stunting fungi of the genus Fusarium was 11 mm are 0,05 % concentration of the drug.

On the fifth day of research, ranging from 0.5% concentration, the drug «Heotsyd» actively delayed the growth of fungi of the genus Aspergillus (area of stunted growth >5 mm), and 1 % strength – fungi of the genus Penicillium.

On the seventh day of the experiment stunting fungi of the genus Fusarium was 9 mm, even for the 0.05% concentration of study drug. For fungi genera Aspergillus and Penicillium drug «Heotsyd» actively delayed growth, ranging from 1,0 % concentration (area of stunted growth >5 mm). Active fungal growth delay visually very well seen by drug concentrations of 1 % and above (2,0; 2,5). The higher the concentration of the drug – the greater area of stunted growth of fungi.

On the 10th day study stunting fungi of the genus Fusarium was 7 mm are 0,05 % concentration of the drug «Heotsyd.»

The growth of fungi genera Penicillium and Aspergillus on this day drug «Heotsyd» delayed only at concentrations 1.0 and 2.0%, respectively (area of stunted growth >5 mm).

It should be noted that «Heotsyd» retards the growth Micromycetes all investigated genera of fungi. With increasing concentration of disinfectant increases the area of stunted growth, ie, a means of showing fungistatic effect on fungi genera Fusarium, Aspergillus and Penicillium.

Summarizing the above described, it can be argued that the sanitizer «Heotsyd» under the terms of the recommended concentration has fungicidal activity against fungi genera Aspergillus, Penicillium, Fusarium at a concentration of 2,5 % and fungistatic – in kontsetratsii 2,0 %. At concentrations of 2 % or more drug «Heotsyd» has a prolonged action (over 10 days).

Prospects for further research is to study the action of disinfectant «Heotsyd» on other molds for preventive disinfection facilities veterinary medicine.

Keywords: biosafety, disinfection, micromycetes, fungicidal properties, Heotsyd.

Рецензент – кандидат сільськогосподарських наук **О. М. Васянович**.

Рукопис надійшов 18.09.2014 року.