

О. І. Шкромада, к.вет.н., доцент,  
Р. В. Долбаносова, к.вет.н.  
Сумський національний аграрний університет

В статті наведені дані по дослідженню бактерицидної дії комплексного дезінфектанту «Біоцидин». В результаті проведених досліджень було доведено, що комплексний дезінфектант «Біоцидин» в досить низьких концентраціях (0,025 та 0,05%) проявляє значну антибактеріальну здатність (понад 90%) відносно багатьох видів патогенних культур на різних видах загальнопритяжних експериментальних тест-об'єктів.

**Ключові слова:** бактерицидна дія, дезінфектант, культура мікроорганізмів, бактерицидне розведення, поживне середовище.

**Постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями.** Зараз на вітчизняному ринку пропонується дуже широкий спектр різноманітних за хімічною природою біоцидних препаратів. Практична цінність хлормістких препаратів нового покоління препаратів полягає в тому, що вони мають широкий спектр дії на мікроорганізми і пролонгований ефект, крім того їх можна використовувати практично в усіх галузях промисловості з гарантованою безпекою для людей, тварин і навколишнього середовища.

**Аналіз основних досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання проблеми.** До органічних сполук хлору, похідних гідантоїну належать композиційні дезінфектанти, що випускаються в Україні - сульфохлорантоїн, хлорантоїн, дозволений до застосування дезінфектант хлорсепт і препарат «Біоцидин». Порівняно з неорганічними з'єднаннями хлору вказані композиції менш токсичні, не такі агресивні щодо оброблюваних об'єктів, мають м'яку властивість. До того ж натрієва сіль дихлорізоціанурової кислоти, яка у препараті «Біоцидин» знаходиться у зв'язаному стані та не розпадається з утворенням вільного хлору при зберіганні, тому не становить загрози для людей і навколишнього середовища, не вимагає спеціальних заходів безпеки, не втрачає активний хлор при зберіганні, отже, не потребує постійного контролю, не має різкого неприємного запаху [2, 4].

**Завдання дослідження.** Визначити бактерицидну концентрацію препарату «Біоцидин».

**Матеріал і методи.** Чутливість бактеріальних культур до препарату «Біоцидин» визначали за методом серійних розведень у рідкому живильному середовищі. Робочі розчини готували з основних розчинів перед дослідом, для розведення використовували МПБ. Концентрації препарату в пробірках готували методом послідовних розведень з таким розрахунком, що передбачена чутливість знаходиться всередині ряду. Стандартні розведення культур готували за схемою: спочатку робили висіви на МПА, витримували у термостаті при 37<sup>0</sup>С 16-18 годин, потім робили змиви культур стерильним ізотонічним

розчином хлористого натрію і за стандартом каламутності визначали концентрацію мікробних клітин в 1 мл. Додатково робили висіви дезінфектанту для проведення чистоти культури, а пробірку, в якій робили висів використовували для контролю якості поживного середовища.

**Результати дослідження.** Чутливість культур до препарату «Біоцидин» визначали візуально через 16–18 годин. Бактеріостатичну концентрацію встановлювали за схемою: концентрацію дезінфектанту в пробірці з відсутністю росту додавали до кількості дезінфектанту в 1 мл середовища подальшої пробірки, де відмічали ріст культури і виводили середнє арифметичне число, яке показувало мінімальну концентрацію дезінфектанту, який затримував ріст культур.

Визначення антимікробної активності препарату «Біоцидин» проводили на патогенних культурах, які були ізольовані в ряді свиногосподарств України (*S. fecalis*, *S. enteritidis*, *S. choleraesuis*, *S. jejuni*, *S. fetus*, *Y. enterocolitica*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *C. diversus*, *E. agglomerans*, *C. perfringens*), а також тест-культур, отриманих з ВДНКІВП (м. Москва): *E. coli* серовар O2, штам №1257; *S. aureus* штам № 209–P (додаток М). Як тест-об'єкти використовували оцинковане залізо розміром 10 на 10 см. Перед нанесенням тест-культур – провели повну дезінфекцію поверхні. Після підсихання, тест-об'єкт клали горизонтально і піпеткою наносили 2-х мільярдну суміш культур, що вивчались, із розрахунку 0,5 мл на 100 см<sup>2</sup>. Культури рівномірно розташовували по поверхні скляним шпательом, підсушували при кімнатній температурі (18–20<sup>0</sup>С) і відносній вологості повітря 50-60%. Потім тест-об'єкти розкладали горизонтально і вертикально і піпеткою обробляли дезінфікуючим препаратом «Біоцидин» у кількості 200 мл/м<sup>2</sup>. Досліджували 0,025%, 0,05%, 0,1%, 0,25% та 0,5% розчини препарату. Після зрошення, поверхню залишали до повного висихання. Контрольні тест-об'єкти зрошували стерилізованою водопровідною водою в тій же кількості. Контроль ефективності дезінфекції проводили за допомогою стерильного тампона, який був вологий. Ватний тампон відмивали в 10 мл води з намістом про-

тягом 10 хвилин. Змив, який отримали з дослідних пластинок, вносили на чашки Петрі, заливали агаром при температурі 40-50<sup>0</sup>С.

Змиви з контрольних пластинок перед посівом розводили в 100 разів з метою рівномірного розподілення мікроорганізмів у агарі, проводили змішування поживного середовища. Висіви витримували в термостаті при 37<sup>0</sup>С, а потім підраховували кількість колоній, які виростили на чашках Петрі. Потім визначали щільність контамінації на

100 см<sup>2</sup> і відсоток знезараження. Результати розраховували за формулою:

$$X = a \times 100 / v,$$

де: а – кількість мікробних клітин з досліджуваних пластинок:

v – кількість мікробних клітин з контрольних пластинок [1, 3].

Результати дослідів представлено у таблицях 1-4.

Таблиця 1.

**Результати визначення антимікробної активності 0,025% концентрації препарату «Біоцидін», % знезараження**

Культури бактерій	Тест-об'єкти			
	залізо	дерево	штукатурена поверхня	цегла
S. aureus (штам № 209P)	96,97±0,4	95,89±0,6	92,98±0,4	92,68±0,3
S. faecalis	97,18±0,7	96,65±0,8	92,37±0,8	93,54±0,6
E. coli O2 (штам №1257)	97,87±0,2	94,82±0,2	93,98±0,3	93,98±0,6
S. enteritidis	98,46±0,4	97,12±0,2	94,98±0,6	94,86±1,1
S. choleraesuis	94,83±0,5	95,63±0,3	93,84±0,9	93,68±0,8
Y. enterocolitica	95,67±0,8	94,98±0,3	91,82±0,5	94,82±0,9
P. vulgaris	98,36±0,7	98,22±0,5	95,93±0,7	91,86±0,9
P. mirabilis	98,67±0,6	94,69±0,5	93,56±0,6	94,56±0,4
E. agglomerans	98,51±0,5	98,12±0,4	95,83±0,3	91,89±0,5
C. diversus	96,78±0,4	97,81±0,8	93,98±0,3	92,78±0,7
K. pneumoniae	96,51±0,8	94,89±0,6	92,48±0,7	94,72±0,9
P. aeruginosa	98,45±0,5	95,47±0,4	96,35±0,5	91,58±0,7
C. jejuni	96,87±0,9	96,36±0,7	95,86±0,4	94,89±0,3
C. fetus	96,52±0,3	95,98±0,8	92,48±0,9	92,49±0,6
C. perfringens	95,67±0,9	94,98±0,7	92,59±0,4	94,48±0,6

В результаті проведених досліджень з'ясовано, що препарат «Біоцидін» уже в концентрації 0,025% виявляв суттєвий антимікробний вплив і знезаражував: залізо – на 94,83±0,5 – 98,67±0,6%; дерево – на 94,69±0,5 – 98,22±0,5 %; штукатурену поверхню – на 91,82±0,5 –

95,93±0,7% і цеглу – на 91,58±0,7 – 94,86±1,1%.

Збільшення концентрації препарату на 100% (до 0,05%) підвищувало відсоток його дезінфікуючої дії (таблиця 2), але на жодному з використаних в досліді тест-об'єктів не було досягнуто 100% знезаражування.

Таблиця 2

**Результати визначення антимікробних властивостей 0,05% концентрації препарату «Біоцидін», % знезараження**

Культури бактерій	Тест-об'єкти			
	залізо	дерево	штукатурена поверхня	цегла
S. aureus (штам № 209P)	97,97±0,8	96,69±0,6	93,98±0,7	93,88±0,3
S. faecalis	98,28±0,9	97,55±0,8	93,87±0,8	94,44±0,6
E. coli O2 (штам №1257)	97,97±0,2	95,88±0,2	94,99±0,3	94,88±0,7
S. enteritidis	99,16±0,3	98,42±0,4	95,88±0,5	95,89±0,8
S. choleraesuis	95,93±0,5	96,73±0,6	94,94±0,8	94,78±0,9
Y. enterocolitica	96,87±0,8	95,98±0,8	94,72±0,6	95,72±0,8
P. vulgaris	97,97±0,8	96,69±0,6	93,98±0,7	93,88±0,3
P. mirabilis	99,67±0,2	95,89±0,5	94,56±0,6	95,86±0,4
E. agglomerans	99,51±0,3	99,12±0,4	96,73±0,3	92,89±0,5
C. diversus	97,48±0,5	98,81±0,4	94,68±0,3	93,98±0,7
K. pneumoniae	97,61±0,8	95,89±0,7	93,48±0,7	95,71±0,7
P. aeruginosa	99,65±0,3	96,57±0,3	97,85±0,5	92,68±0,7
C. jejuni	97,89±0,7	97,56±0,5	96,96±0,3	95,79±0,4
C. fetus	97,62±0,4	96,78±0,7	93,68±0,9	93,49±0,7
C. perfringens	96,77±0,8	95,88±0,6	93,59±0,3	94,78±0,8

При подальшому збільшенні концентрації препарату в розчині до 0,1% (табл.3) було досягнуто повного знешкодження дослідних патогенних культур лише на тест-об'єктів з оцинкованого заліза.

Крім того, розчин цієї концентрації мав високу антимікробну активність по відношенню до мікроорганізмів, що були нанесені на дерево, але не викликав 100% загибелі ні одного із видів мікробів на штукатуреній поверхні та на цеглі.

**Результати визначення антимікробних властивостей 0,1% концентрації  
препарату «Біоцидін», % знезараження**

Культури бактерій	Тест-об'єкти			
	залізо	дерево	штукатурена поверхня	цегла
S. aureus штамп № 209-P)	100	98,99±0,6	98,98±0,5	98,86±0,3
S. faecalis	100	99,55±0,4	98,87±0,8	98,84±0,6
E. coli O2 (штамп № 1257)	100	99,81±0,1	98,89±0,3	98,88±0,4
S. enteritidis	100	99,30±0,4	97,76±0,5	98,89±0,2
S. choleraesuis	100	98,73±0,9	98,94±0,8	98,78±0,9
Y. enterocolitica	100	98,98±0,2	98,72±0,6	98,92±0,4
P. vulgaris	100	98,99±0,6	98,98±0,7	98,88±0,3
P. mirabilis	100	99,89±0,1	98,86±0,6	98,96±0,4
S. aureus штамп № 209-P)	100	98,99±0,6	98,96±0,9	98,84±0,3
S. faecalis	100	99,55±0,4	98,87±0,8	98,84±0,6
E. coli O2 (штамп № 1257)	100	99,81±0,1	98,89±0,3	98,78±0,4
S. enteritidis	100	99,42±0,5	97,78±0,5	98,89±0,2
S. pullorum-gallinarum	100	98,73±0,9	98,94±0,8	98,78±0,9
Y. enterocolitica	100	98,98±0,2	98,70±0,4	98,92±0,4
P. vulgaris	100	98,99±0,6	98,98±0,7	98,87±0,3

З результатів отриманих у таблиці 3 з'ясовано, що препарат «Біоцидін» в концентрації 0,1% виявляв суттєвий антимікробний вплив і знезаражував: залізо – на 100 %; дерево – на 99,30±0,4 – 98,98±0,2 %; штукатурену поверхню –

на 97,76±0,5 – 98,98±0,7% і цеглу – на 98,78±0,9 – 98,78±0,9%.

Найбільше високу антимікробну дію препарату «Біоцидін» ми отримали у концентрації 0,25% (табл.4).

Таблиця 4.

**Результати визначення антимікробних властивостей 0,25% концентрації  
препарату «Біоцидін», % знезараження**

Культури бактерій	Тест-об'єкти			
	залізо	дерево	штукатурена поверхня	цегла
S. aureus(штамп № 209-P)	100	99,89±0,1	99,98±0,02	100
S. faecalis	100	100	99,87±0,08	100
E. coli O2 (штамп № 1257)	100	99,98±0,02	99,99±0,01	99,88±0,1
S. enteritidis	100	99,82±0,1	99,88±0,1	99,89±0,08
S. choleraesuis	100	100	100	100
Y. enterocolitica	100	100	99,72±0,1	99,82±0,1
P. vulgaris	100	100	99,73±0,06	100
P. mirabilis	100	99,79±0,2	99,66±0,3	99,36±0,4
E. agglomerans	100	100	100	100
C. diversus	100	100	99,78±0,2	100
K. pneumoniae	100	100	99,88±0,1	100
P. aeruginosa	100	99,57±0,3	99,85±0,1	99,68±0,3
C. jejuni	100	99,76±0,1	99,96±0,03	100
C. fetus	100	99,78±0,07	99,68±0,2	100
C. perfringens	100	99,88±0,06	99,69±0,2	99,78±0,2

З таблиці 4 видно, що препарат мав бактерицидну та бактериостатичну дію по відношенню до виділених патогенних мікроорганізмів, які були нанесені на залізо, дерево, поштукатурену поверхню та цеглу. В такій концентрації він викликав 100% знезараження заліза, 99,76±0,1 – 100% дерева, 99,66±0,3 – 100% штукатуреної поверхні та 99,36±0,4 – 100% цегли.

Збільшення концентрації експериментального препарату до 0,5%, спричиняло аналогічно високі результати, але ми вважаємо що концентрація 0,25% в робочих розчинах здатна забезпечити достатньо ефективну антимікробну дію на поверхностях різних типів, відносно культур всіх досліджених нами видів.

**Висновки:**

1. Отримані результати проведених дослідів дають підставу зробити висновок, що препарат „Біоцидин” в досить низьких концентраціях (0,025 та 0,05%) проявляє значну антибактеріальну здатність (понад 90%) відносно багатьох видів патогенних культур на різних видах загальнопритятих експериментальних тест-об'єктів.

2. Водний розчин „Біоцидин” у концентрації 0,25% може служити як ефективний дезінфікуючий засіб.

**Перспектива досліджень.** У подальших перспективах проведення виробничих досліджень запропонованого дезінфектанту.

### Список використаної літератури:

1. Головка А. Н. Микробиологические и вирусологические методы исследований в ветеринарной медицине: справочное пособие / А. Н. Головка, В. А. Ушкалов, В. Г. Скрыпник [и др.]; ред. А. Н. Головка. – Харьков: НТМТ, 2007. - 512 с.
2. Ведьмина Е.А. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Е.А. Ведьмина, В.В. Влодавец, М.С. Жарикова, А.Ф. Зак; Под ред. М.О. Биргера. – Изд. 3-е, перераб. и доп. – М.: Медицина, 1982. – 464 с.
3. Коцюмбас І. Розробка, апробація та впровадження системи токсикологічного контролю ветеринарних препаратів / І. Коцюмбас, О. Малик, І Патерега та ін. // Ветеринарна медицина України. – 2002. – № 7. – С. 30 – 33.
4. Марієвський В.Ф. Зміна чутливості мікроорганізмів до дезінфектантів в залежності від стадії росту / В.Ф.Марієвський, І.І. Даниленко, Л.В. Пархоменко // Тези XI з'їзду мікробіологів, епідеміологів та паразитологів. -К.-2004.-С. 20-21.

#### **Шкроманда О.И., Долбаносова Р.В. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «БИОЦИДИН»**

*В статье приведены данные по исследованию бактерицидного действия комплексного дезинфектанта «Биоцидин». В результате проведенных исследований было доказано, что комплексный дезинфектант «Биоцидин» в достаточно низких концентрациях (0,025 и 0,05%) проявляет значительную антибактериальную способность (более 90 %) относительно многих видов патогенных культур на разных видах общепринятых экспериментальных тест-объектах.*

**Ключевые слова:** бактерицидное действие, дезинфектант, культура микроорганизмов, бактерицидное разведение, питательная среда.

#### **Shkromada O.I., Dolbanosova R.V. DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE DRUG " BIOTSYDIN "**

*This article presents data poissledovaniyu integrated disinfectant bactericidal action " Biotsydin ." As a result of studies have shown that an integrated disinfectant " Biotsydin " in sufficiently low concentrations ( 0.025 and 0.05 %) exhibits significant antibacterial ability (90% ) relative to many species of pathogenic cultures on different types of conventional experimental test facilities.*

**Keywords:** bactericidal effect, disinfectant, culture microorganisms bactericidal breeding, growing medium.

Рецензент: к.вет.н., професор Зон Г.А.  
Дата надходження до редакції: 10.01.2014 р.

УДК 619:614.48:616:579.873.21

### **ПРОТЕЇНОГЕННІСТЬ ВИРОБНИЧИХ ШТАМІВ ДЛЯ ВИГОТОВЛЕННІ ППД-ТУБЕРКУЛІНУ ДЛЯ ССАВЦІВ**

**В. Ю. Кассіч**, д.вет.н., професор, Сумський національний аграрний університет  
**М. Д. Камбур**, д.вет.н., професор, Сумський національний аграрний університет  
**В. О. Ушкалов**, д.вет.н., професор, член-кореспондент НААН України, ДНКІБШМ  
**А. А. Замазій**, д.вет.н., доцент, Полтавський державна аграрна академія  
**О. В. Волосянко**, д.вет.н., старший науковий співробітник, Національний університет біотехнології та природокористування України

*У відповідності із стандартом ЕС PPD-туберкулін для ссавців має виготовлятися зі штамів M.bovis «AN5» або «Valle», в той час як при виготовленні «Туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців в стандартному розчині» (ТУУ 24.00497087.645-2001), виробничим штамом є «M.bovis IEKBM-1». Тому розробка вітчизняних сухих очищених PPD-туберкулінів із штамів M.bovis «AN5» та «Valle» є актуальним завданням.*

**Ключові слова:** туберкульоз, туберкулін, мікобактерії M.bovis Valle та AN5.

**Постановка проблеми у загальному вигляді та аналіз досліджень і публікацій.** Ефективна боротьба з туберкульозом тварин можлива лише при всебічному вивченні біології збудника, епізоотології, патогенезу, методів профілактики, економічних і екологічних факторів, які впливають на перебіг хвороби за умов забезпечення тва-

ринництва ефективними засобами специфічної діагностики. Основним методом прижиттєвих досліджень тварин на туберкульоз є алергічне дослідження із застосуванням ППД-туберкуліну для ссавців. Препарати для алергічної діагностики туберкульозу тварин і птиці «Туберкулін очищений (ППД) для ссавців в стандартному розчи-