

УДК: 619.22.28:614.48:615.9:636.065

DOI: 10.31073/onehealthjournal2023-I-01

**БАКТЕРИЦИДНА АКТИВНІСТЬ НОВОГО ДЕЗІНФІКУЮЧОГО ЗАСОБУ «ДІОЛАЙД»
ЗА ДІЇ НА РІЗНІ ВИДИ БАКТЕРІЙ**

Чечет О. М., Коваленко В. Л., Горбатюк О. І., Гайдей О. С., Кравцова О. Л., Андріяшук В. О.,
Мусієць І. В., Ординська Д. О.

Державний науково-дослідний інститут лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ (Україна), e-mail: o.chechet@vetlabresearch.gov.ua; kovalenkodoktor@gmail.com; Goroliva@ukr.net; olga.gaidei@gmail.com; oksana759@ukr.net; and_valentina@hotmail.com; bacdndi@ukr.net; ordynskadiana@ukr.net

Резюме. Практика засвідчує, що за останнє десятиліття одним із основних способів боротьби, профілактики та підтримання епізоотичного благополуччя щодо зоонозних інфекційних агентів в тваринницькій галузі України, а у птахівничій зокрема, залишається дезінфекція із постійним прагненням виробників до розробки дешевих, багатокомпонентних, бактерицидно ефективних дезінфікуючих засобів.

На першому етапі для експериментальних досліджень *in vitro* розробленого дезінфікуючого засобу «Діолайд» з метою вивчення його бактерицидної активності та відсутності бактеріостатичного ефекту застосовували суспензійний метод з використанням тестових культур мікроорганізмів: грампозитивних – *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та грамнегативних – *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, які характеризувались типовими біологічними характеристиками та проявляли стійкість до дії стандартних дезінфікуючих розчинів – 0,02 % р-ну хлораміну за експозиції 5 хв; 2,0 % р-ну перекису водню та 0,03 % р-ну глутарового альдегіду за експозиції 10 хв та 0,025 % р-ну АДБАХ за експозиції 20 хв. Для випробувань використовували виготовлені добові бактеріальні суспензії тестових культур означених мікроорганізмів у концентрації 0,5 ОО порівняльним методом з оптичним стандартом каламутності за МакФарландом. Експериментально досліджували чотири робочі розведення нового дезінфектанту «Діолайд» за двома (1+2) активними компонентами у відсотках: 0,04 % (100 мг/дм³ за двоокисом хлору); 0,06 % (150 мг/дм³); 0,1 % (250 мг/дм³) та 0,16 % (400 мг/дм³ за двоокисом хлору відповідно). Оцінку ефективності робочих розчинів нового дезінфектанту «Діолайд» проводили за експозицій 30 і 60 хв. Після закінчення термінів експозицій для негайного припинення дії дезінфектанту до кожного із розведень додавали подвійний об'єм стерильного фізіологічного розчину та надалі проводили триразове відмивання від залишків дезінфектанту і осадження дослідних тестових бактерій шляхом центрифугування при 4 тис. об/хв протягом 10 хв. Відмиті від дезінфектанту тестові культури *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 для визначення наслідків бактерицидної дії дослідного засобу висівали на чашки Петрі з триптон-соевим агаром, для виявлення бактеріостатичного ефекту – на пробірки з триптон-соевим бульйоном та культивували за температури 37±1,0 °C протягом 24–48 на твердому і 48–72 год на рідкому поживних середовищах відповідно.

За аналізом результатів досліджень нами було встановлено найменшу бактерицидно ефективну концентрацію нового дезінфекційного засобу «Діолайд» на рівні 0,06 % (150 мг/дм³ за двоокисом хлору) і вищих, яка за 30 хв забезпечує повне знешкодження тестових культур *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 і *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 та не проявляє бактеріостатичних властивостей.

Ключові слова: дезінфікуючий засіб, «Діолайд», *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442.

Виробництво та переробка продукції птахівництва у сучасних умовах мають бути безпечними для людини. Сучасні птахофабрики є інтегрованими підприємствами з принципом «вертикального зв'язку» і являють собою суцільну ланку виробництва і переробки продукції та виробництва кормів. Оскільки це одна суцільна ланка, для її успішної роботи необхідне забезпечення контролю і якості. Більше того, для підвищення економічної ефективності промислового птахівництва пріоритетне значення має профілактика інфекційних захворювань бактеріальної етіології (Rodionov K. O., 2016; Lahotiuk V.O., 2020).

Аналіз результатів наукових досліджень за останні десятиліття підтвердив, що одним із основних способів профілактики і боротьби з біологічними агентами залишається дезінфекція (Hernández-Navarrete M. J. et al., 2014; Dodonova–Sudina K. et al., 2016; Carter R. et al., 2017; Kasianenko O. I. et al., 2019; Kochish I. I. et al., 2020; Iatsiv S. F., 2021; Yakubik O. L. et al., 2022).

При цьому надважлива роль відводиться вибору дезінфікуючих засобів – бактерицидно ефективних, дешевих, екологічних і безпечних стосовно здоров'я птиці, таких, що не впливають на якість продукції птахівництва (Gorbatjuk O. I. et al., 2019; Horbatiuk O. I. et al., 2019; Kovalenko V. L. et al., 2020).

Офіційна інформація щодо ефективності дезінфектантів на ринку дезінфікуючих препаратів в Україні, обмежена і в багатьох випадках фейкова, часто на сайтах самих виробників, що створює труднощі щодо правильного вибору засобів для проведення якісної дезінфекції.

Відомо, що мікроорганізми, зокрема збудники зоонозів, пристосовуються до умов зовнішнього середовища та з часом набувають стійкості до багатьох антибактеріальних та дезінфікуючих засобів (Polehenka M. A., 2019). Тому, за постійного застосування одних і тих же дезінфектантів, виникає потреба у їхній своєчасній ротації.

Нині увага вчених прикута до виготовлення хлоровмісних дезінфікуючих засобів у різних композиційних варіаціях, оскільки вони є найдешевшими на ринку препаратів, що впливає на зниження собівартості продукції тваринництва, володіють високим рівнем знешкоджувальної дії та мінімальним негативним впливом на птицю (Palii A. P. et al., 2017; Fotina G. A. et al., 2017; Solomakh K. V. et al., 2021).

Тому, на сьогодні залишається актуальною проблема щодо розробки нових дешевих, безпечних, ефективних дезінфікуючих засобів, а розроблений нами хлоровмісний дезінфікуючий засіб «Діолайд» потребує детального вивчення бактерицидної активності, відсутності бактериостатичних властивостей та інших своїх якостей на початковому етапі.

Представлена робота присвячена вивченню *in vitro* наслідків дії нового дезінфікуючого засобу «Діолайд» стосовно тестових культур мікроорганізмів після застосування його різних робочих розчинів за різних термінів контакту для встановлення і вибору їх оптимальних бактерицидно ефективних концентрацій за найменших експозицій дії дезінфектанту.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження були проведені на базі лабораторії діагностики захворювань бактеріальної етіології науково-дослідного бактеріологічного відділу (ЛДЗБЕ НДБВ) Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ), м. Київ.

Проводили мікробіологічні дослідження нового двокомпонентного порошкоподібного дезінфікуючого засобу «Діолайд», у складі якого основними компонентами є хлоровміщуючі сполуки та органічні кислоти.

Для проведення експериментів використовували робочі розчини дослідного дезінфектанту «Діолайд», які виготовляли із попередньо виготовлених маточних розчинів дезінфектанту за схемою, представленою на таблиці 1.

Таблиця 1

Виготовлення маточних розчинів дезінфікуючого засобу «Діолайд» для проведення мікробіологічних досліджень

Об'єм маточного розчину з вмістом двоокису хлору 5000 мг/ дм ³	Кількість компоненту 1, (г)	Кількість компоненту 2, (г)	Необхідний об'єм води, (дм ³)
1 дм ³	20,0	20,0	1 дм ³
2 дм ³	40,0	40,0	2 дм ³
5 дм ³	100,0	100,0	5 дм ³

Виготовлення робочих розчинів дослідного дезінфектанту «Діолайд» різних, за вмістом двоокису хлору, концентрацій проводили за схемою, представленою в таблиці 2.

Виготовлені робочі розчини «Діолайд» були нами використані для експериментальних досліджень першого етапу вивчення бактерицидної активності та відсутності бактериостатичного ефекту *in vitro*, які проводили суспензійним методом з використанням грампозитивних та

грамнегативних тестових культур мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 (Harkavenko, T. O. et al., 2020).

Перед постановкою експериментів тестові культури мікроорганізмів були перевірені на відповідність основним типовим властивостям відповідного виду, оскільки зберігалися в криогенізованому стані в криогенних пробірках з криогранулами (CRYO-Billes) в морозильній камері за температури мінус $70,0 \pm 10,0^\circ\text{C}$. Для відновлення метаболічних процесів тестових бактерій відбирали криогранулу, поміщали в м'ясо-пептонний бульйон і термостатували за температури $37 \pm 1,0^\circ\text{C}$ впродовж 24 год. Після цього, кожну культуру перевіряли на відповідність згідно чинних вимог (Harkavenko, T. O. et al., 2020). Для цього, зокрема, добову бульйонну культуру *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 пересівали на триптон-соевий агар, культивували в термостаті за температури $37 \pm 1,0^\circ\text{C}$ впродовж 24 год. Виготовлені та пофарбовані за методом Грама препарати із добової агарової культури *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 підлягали мікроскопії. В полі зору мікроскопу було виявлено грампозитивні коки, поодинокі, попарні, пакетами та у вигляді «грона винограду». У добової агарової культури *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 був виявлений специфічний характер росту на середовищі Бейд-Паркера у вигляді характерних чорних колоній з металевим блиском і чіткою зоною опалесценції навколо них. Облік постановки тесту на плазмокоагуляцію показав повне згортання плазми крові кроля через 2 год 30 хв, що свідчило про одну із характерних типових властивостей бактерій золотистого стафілококу. За перевірки біохімічних властивостей тестових бактерій *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 було підтверджено продукцію ферментів для зброджування лактози, глюкози, маніту, мальтози та відсутність ферментів для розщеплення арабінози. Було підтверджено продукування каталази та відсутність оксидази за постановки відповідних тестів. За посіву тестових бактерій *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 на глюкозо-кров'яний агар підтверджено гемолітичні властивості культури появою гемолізу еритроцитів барана (β -гемоліз) з прозорою зоною навколо колоній.

Таблиця 2

Виготовлення робочих розчинів дезінфікуючого засобу «Діюлайд» для проведення мікробіологічних досліджень

Концентрація робочих розчинів:		Витрата маточного розчину «Діюлайд» з концентрацією двоокисного хлору 5000 мг/дм ³ для виготовлення робочих розчинів (см ³)
за двоокисом хлору, (мг/дм ³)	за активними компонент 1 + компонент 2, (%)	
100	0,04+0,04	20,0
150	0,06+0,06	30,0
250	0,1+0,1	50,0
400	0,16+0,16	80,0

Із одержаної добової агарової культури *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 проводили пересіви і культивування бактерій на м'ясо-пептонному агарі (МПА). Було підтверджено ріст характерних колоній округлих, випуклих з різними краями, блискучою поверхнею, кратероподібним центром та продукування піоціаніну через їх забарвлення у голубувато-зеленуватий колір з наступним набуттям зеленого і пофарбуванням у такий же колір поживного середовища під ними через накопичення пігменту. Крім того, продукування піоціаніну було підтверджено додавання 4–5 крапель хлороформу до пробірок із добовою (або 48 год) культурою, коли після відстоювання хлороформ на дні пробірки набував синього кольору. Проведена мікроскопія виготовлених і пофарбованих за методом Грама препаратів із характерних колоній підтвердила характерні морфологічні ознаки: у полі зору спостерігали грамнегативні палички великих розмірів, без ознак спороутворення. Однорідність бактеріальних клітин культури свідчила про її чистоту. Тестова культура *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 давала інтенсивний ріст за її культивування при температурі 42°C впродовж 24 год, чим підтверджено її термофільність. Результати біохімічних досліджень підтвердили ферментацію глюкози, арабінози і галактози за аеробного культивування посіяних тестових бактерій та її відсутність за анаеробних умов.

Ріст тестових бактерій *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 на знежиреному стерильному молоці супроводжувався його згортанням, пептонізацією і набуттям жовто-зеленого забарвлення, особливо у верхньому шарі, чим було засвідчено наявність таких, типових для псевдомонад, властивостей. Посівами уколом на м'ясо-пептонну желатину (МПЖ) підтверджено здатність тестових псевдомонад до її розрідження у вигляді лійки у глибину середовища. Облік результатів

посіву і культивування *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 на ГКА підтвердив наявність гемолітичних властивостей через появу β -гемолізу.

Таким чином, метаболізм і основні типові властивості тестових культур *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 після криогенізації були повністю відновлені та підтверджені результатами морфологічних, тинкторіальних, культуральних, біохімічних досліджень, тому обидві тестові культури були допущені до постановки основного дослідження.

Відновлені тестові культури *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 були перевірені щодо стійкості до стандартних дезінфікуючих засобів – хлораміну, перекису водню, глутарового альдегіду і АДБАХ у відповідних концентраціях (Palyi A. et al., 2015; Harkavenko, T. O. et al., 2016) та підтверджено чутливість *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 до 0,002 % р-ну хлораміну за експозиції 15 хв, 3,0 % р-ну перекису водню протягом 25 хв, 0,06 % р-ну глутарового альдегіду і 0,025 % р-ну АДБАХ за експозиції 10 хв. Тестова культура *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 була повністю знешкоджена протягом 5 хв після контакту з хлораміном, через 10 хв після дії перекису водню і глутарового альдегіду відповідно та через 20 хв після дії АДБАХ, оскільки після посіву оброблених дезінфектантами культур їх росту не було виявлено в жодному випадку, при цьому за інтенсивного росту у відповідних контролях росту.

Після допущення тестових культур до постановки основного дослідження, проводили змиви добових агарових тестових культур стерильним фізіологічним розчином з триптон-соевого агару (ТСА) в асептичних умовах, виготовляли їх бактеріальні суспензії з концентрацією 0,5 ОО за оптичним стандартом каламутності Мак-Фарланда шляхом візуального порівняння суспензій зі стандартом та доводили до потрібної концентрації.

Експериментальні дослідження *in vitro* з оцінки бактерицидної активності дослідного дезінфектанта «Діолайд» проводили суспензійним методом, оцінюючи наслідки дії його робочих розчинів різних концентрацій (з урахуванням вмісту двоокису хлору) на тестові культури у трьох повтореннях щодо кожного робочого розведення досліджуваного дезінфектанту.

Для цього до 3 пробірок вносили по 4,5 см³ кожного із робочих розведень ДЗ, у всі пробірки додавали по 0,5 см³ виготовленої бактеріальної суспензії відповідної тестової культури та витримували відповідну часову експозицію – 30 та 60 хв. Застосований нами суспензійний метод включав відмивання від дезінфектанту дослідних тестових культур *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 і *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, тому після закінчення тривалості їх контакту із «Діолайдом», було проведено триразові відмивання відповідних тестових бактерій стерильним фізіологічним розчином в асептичних умовах. Відмиті тестові культури відновлювали до попереднього об'єму (4,5 см³) у триптон-соевому бульйоні, ретельно перемішували та проводили посіви в об'ємі по 0,1 см³ відповідної бактеріальної суспензії з кожного робочого розчину дослідного дезінфектанту на 3 чашки з триптон-соевим агаром для визначення бактерицидної активності дослідного препарату та на 3 пробірки з триптон-соевим бульйоном для підтвердження наявності/відсутності бактеріостатичного ефекту дослідного дезінфектанту «Діолайд».

Поряд із постановкою основного дослідження проводили контролю росту відповідних тестових культур *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 і *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 аналогічно, замінюючи розчин дослідного дезінфектанта на стерильний фізіологічний.

Посіви інкубували в термостаті за температури 37±1 °С упродовж 48 год. За визначення бактерицидної активності дослідного дезінфектанту попередню оцінку на наявність/відсутність росту відповідних тестових культур проводили через 24 год та заключний облік одержаних результатів – через 48 год.

За визначення бактеріостатичного ефекту дослідного засобу «Діолайд» облік результатів проводили за наявністю або відсутністю росту відповідних тестових культур у пробірках з триптон-соевим бульйоном через 24 год. Після цього, за повторної відсутності росту проводили повторні пересіви із кожної добової культури із триптон-соевого бульйону на пробірки із свіжим аналогічним середовищем, інкубували наступні 24 год та здійснювали облік результатів аналогічно. За закінчення терміну інкубації і відсутності росту тестових культур у пробірках з триптон-соевим бульйоном, проводили наступні пересіви на пробірки із свіжим аналогічним середовищем та інкубували наступні 24 год. Заключний облік результатів проводили через 48 год після останнього пересіву. Відсутність росту відповідних тестових культур *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 і *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 на пробірках з триптон-соевим бульйоном свідчила про відсутність бактеріостатичного ефекту у дослідного дезінфектанту «Діолайд». Поява росту тестових культур у пробірках на будь-якому етапі інкубування підтверджувала виявлення бактеріостатичного ефекту у дослідного дезінфікуючого засобу.

Бактерицидну активність дослідного дезінфікуючого засобу «Діолайд» вважали підтвердженою за відсутності росту тестових культур *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 і *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 на чашках з триптон-соевим агаром та у пробірках з триптон-соевим

бульйоном за умови їх інтенсивного росту у відповідних контролях росту (Ivchenko V. M., 2004; DIN EN 1656:2010-03, 2010; Standart EN 12353).

Результати досліджень. Оскільки розроблений дезінфікуючий засіб «Діолайд» рекомендований для проведення вологої дезінфекції тваринницьких і птахівничих приміщень, обладнання забійних і м'ясопереробних цехів, продовольчих ринків, транспортних засобів, інвентарю, тари, спецодягу, інших об'єктів, які підлягають ветеринарно-санітарному нагляду, нам представляло інтерес перевірити ефективність його дії, починаючи з першого етапу досліджень *in vitro* за використання грамнегативних і грампозитивних тестових культур бактерій. Дослідження дослідного дезінфікуючого засобу «Діолайд» *in vitro* на першому етапі передбачали перевірку ефективності запропонованих концентрацій (за вмістом двоокису хлору) робочих розчинів дослідного дезінфектанта після різних часових термінів контакту з тестовими культурами.

Аналіз одержаних результатів після проведених експериментальних випробувань показав, що дослідний дезінфектант «Діолайд» у робочій концентрації 0,04 % (100 мг/дм³ за двоокисом хлору) володів низькою бактерицидною ефективністю за його контакту з тестовою культурою *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 протягом 30 хв. Це було підтверджено виявленням росту окремих колоній золотистого стафілокока після посіву і культивування відмитої суспензії бактерій на чашках з триптон-соєвим агаром, при цьому за суцільного росту тестових бактерій у контролі росту (табл. 3).

Щодо бактеріостатичного ефекту, то оскільки бактерицидна дія була малоефективною (був присутнім ріст колоній на чашках) то і у пробірках з триптон-соєвим бульйоном спостерігався інтенсивний ріст у вигляді помутніння бульйону з випаданням осаду на дні пробірки поряд з аналогічними характеристиками у контролі росту.

За дії на тестові бактерії *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 робочого розчину 0,04 % концентрації (100 мг/дм³ двоокисом хлору) протягом 60 хв його бактерицидна дія виявилася також малоефективною, про що свідчив ріст окремих колоній тестової культури на двох третинах чашок з посівами на твердому середовищі, за інтенсивного її росту у відповідному контролі росту.

У аналогічних пробірках з посівами на триптон-соєвому бульйоні для виявлення бактеріостатичних властивостей дослідного дезінфектанта, через 24 год інкубування було виявлено ріст бактерій, про що свідчило помутніння бульйону та випадання осаду. І, не зважаючи на те, що у однієї третини чашок з посівами росту колоній не було виявлено, проте дослідному дезінфектанту у 0,04 % (100 мг/дм³ двоокисом хлору) концентрації був притаманні бактеріостатичні властивості, які проявилися через 48 год інкубування, супроводжуючись інтенсивним помутнінням бульйону і випаданням осаду.

Робочі розчини дослідного дезінфектанта «Діолайд» з більшими робочими концентраціями розчинів – 0,06; 0,1 та 0,16 (150; 250 та 400 мг/дм³ за вмістом двоокису хлору відповідно) % за контакту з тестовими бактеріями *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 протягом 30 та 60 хв, показали ефективну бактерицидну дію, яка через повне знешкодження мікроорганізмів характеризувалася відсутністю будь-якого росту на фоні суцільного росту тестових бактерій золотистого стафілококу у відповідних контролях росту. Більше того, не підтверджено бактеріостатичного ефекту дослідного дезінфектанта у означених концентраціях, що засвідчено відсутністю росту бактерій *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 у пробірках з триптон-соєвим бульйоном, незалежно від експозиції контакту (30 та 60 хв), при цьому за інтенсивного помутніння бульйону і випадання осаду у відповідних контролях росту.

Отже, робочі розведення дослідного дезінфікуючого засобу «Діолайд» у концентраціях 0,06 (150 мг/дм³); 0,1 (250 мг/дм³) та 0,16 (400 мг/дм³ за двоокисом хлору відповідно) % за часового контакту 30 і 60 хв з тестовою культурою *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 проявляли ефективну бактерицидну дію та не володіли бактеріостатичними властивостями, що підтверджено повною відсутністю росту тестових бактерій на твердих і рідких поживних середовищах після інкубування, при цьому за її інтенсивного росту у відповідних контролях росту.

Результати досліджень на ефективність бактерицидної дії та відсутність або наявність бактеріостатичного ефекту дослідного «Діолайд» стосовно представника грамнегативних бактерій – тестової культури *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 показали малоефективну знешкодуювальну дію робочого розчину у концентрації 0,04 % (100 мг/дм³ за двоокисом хлору). Підтвердженням цього було виявлення росту колоній тестової культури на чашках з агаром, незалежно від терміну контакту культури із дезрозчином (30 та 60 хв), при цьому за її суцільного росту у контролі. Поряд з цим за такої концентрації дослідного дезінфектанта було підтверджено наявність бактеріостатичного ефекту, оскільки у пробірках із бульйоном через 24 год культивування не було виявлено росту, але через 48 і 72 год ріст бактерій з'явився та супроводжувався помутнінням бульйону і випаданням осаду на дні пробірки (табл. 4).

Робочі розчини дослідного дезінфікуючого засобу «Діолайд» у вищих концентраціях, а саме 0,06 (150 мг/дм³); 0,1 (250 мг/дм³) та 0,16 (400 мг/дм³ за двоокисом хлору відповідно) % відповідно, демонстрували високу бактерицидну ефективність, не проявляли бактеріостатичним ефектом та, незалежно від 30- чи 60-хвилинного контакту з дослідним дезінфектантом, повноцінно знешкоджували тестові бактерії *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, при цьому за їх інтенсивного росту у відповідних контролях росту.

Таблиця 3

Результати досліджень з вивчення бактерицидної активності та бактеріостатичного ефекту після дії нового дезінфікуючого засобу «Діолайд» на тестову культуру *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Концентрації за оксидом хлору робочих розчинів дослідного ДЗ «Діоксид», %; мг/дм ³	Кратність досліджень, пр.	Оцінка характеру росту тестової культури <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 на поживних середовищах після дії різних концентрацій нового ДЗ «Діюлайд» за різних часових експозицій культивування посівів упродовж								
		для визначення бактерицидної активності					для визначення наявності бактеріостатичного ефекту			
		48 год					72 год			
		триптон-соєвий агар (ТСА)			контроль росту	триптон-соєвий бульйон (ТСБ)			контроль росту	
		номери пробірок у досліді				номери пробірок у досліді				
		1	2	3		1	2	3		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Тестова культура <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923										
Експозиція 30 хв										
0,04 % (100)	3	поодинокі колонії	поодинокі колонії	поодинокі колонії	суцільний ріст	ріст помутніння середовища,	ріст помутніння середовища,	ріст помутніння середовища,	інтенсивне помутніння, осад	
0,06 % (150)	3	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад	
0,1 % (250)	3	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад	
0,16 % (400)	3	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад	
Тестова культура <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923										
Експозиція 60 хв										
0,04 % (100)	3	поодинокі колонії	поодинокі колонії	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст помутніння середовища,	ріст помутніння середовища,	ріст через 48 год помутніння середовища,	інтенсивне помутніння, осад	
0,06 % (150)	3	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад	
0,1 % (250)	3	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад	
0,16 % (400)	3	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад	

Обговорення. У птахівничих господарствах надважлива роль відводиться вибору дезінфектантів, які були б ефективними та порівняно дешевими, оскільки всі витрати на дезінфекцію збільшують собівартість продукції птахівництва (Gorbatjuk O. I. et al., 2019; Horbatiuk O. I. et al., 2019).

На території України найбільш поширеними дезінфектантами для знезараження тваринницьких та птахівничих приміщень від біологічних агентів є дезінфектанти на основі амонійних сполук, які складають частку близько 60,0 % від загальної кількості дезінфікуючих засобів на ринку препаратів. В меншій мірі застосовуються дезінфектанти на основі глутарового альдегіду і лише частково – хлоро- та кислотовміщуючі засоби дезінфекції (Yakubchak, O. M., et al., 2010; Montagna, M. T. et al., 2019; Zhukorskyi, O. M. et al., 2018; Trishyna, V. Yu et al., 2020).

Наразі відомо, що найбільш актуальними мікроорганізмами потенційних збудників бактеріальних захворювань відносять бактерії родів *Pseudomonas*, *Legionella*, *Clostridium*, *Helicobacter*, *Serratia* та умовно-патогенні коменсали – *Staphylococcus aureus* і *Escherichia coli*. Їх поширеність пояснюється біохімічною лабільністю, яка забезпечує їх пристосування до екстремальних умов зовнішнього і внутрішнього середовища, завдячуючи обмеженій потребі у поживних речовинах. Тому, в основі попередження виникнення спалахів інфекції серед тварин і птиці лежить дезінфекція. Більше того, вчені наголошують, що для успішної підтримки стабільної епізоотичної ситуації серед тварин і птиці стосовно інфекцій бактеріальної етіології надзвичайне значення мають правильно підібрані бактерицидно ефективні дезінфікуючі засоби (Mogozova N S. et al., 2019).

Нині, дезінфектанти, до складу яких входять хлоро- та кислотовміщуючі сполуки, викликають і науковий і практичний інтерес, оскільки вони здатні забезпечувати високу антибактеріальну активність за рахунок своїх окислювальних властивостей, денатурації білку і нуклеїнових кислот та викликати незворотні процеси у структурах клітинної стінки і цитоплазматичній мембрані, а також є найбільш дешевими та екологічно безпечними складовими дезінфікуючих засобів (Tardif, R. et al., 2016; Palii A. P. et al., 2017; Jui-Wen, Ma et al., 2017).

Результати наших досліджень підтвердили бактерицидну активність дослідного дезінфікуючого засобу «Діюлайд», виготовленого на основі хлоровміщуючих речовин, як такого, що за 0,06 % (150 мг/дм³ за двоокисом хлору) і вищих концентрацій робочих розчинів за 30-хвилинного терміну контакту і довших з тестовими культурами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 і *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 забезпечував їх повне знешкодження без прояву бактеріостатичних властивостей. Тому, з нашої точки зору, дослідний дезінфектант є дуже перспективним для застосування у птахівничій галузі.

Висновки

1. Встановлена найменша оптимальна концентрація робочого розчину дослідного дезінфектанту «Діюлайд» на рівні 0,06 (150 мг/дм³ за двоокисом хлору відповідно) % і вищих після його дії на грампозитивні і грамнегативні тестові мікроорганізми *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 і *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 за 30-хвилинної і довших контактних експозицій, які були спроможними забезпечити повне знешкодження тестових без прояву бактеріостатичного ефекту.

2. Рекомендовано, як перспективний, бактерицидно ефективний, без прояву бактеріостатичних властивостей, екологічно безпечний дезінфікуючий засіб «Діюлайд» для використання в птахівничій галузі для проведення дезінфекції на виробництві та профілактики з метою підтримки епізоотичного благополуччя галузі стосовно інфекцій бактеріальної етіології.

Таблиця 4

Результати досліджень з вивчення бактерицидної активності та бактеріостатичного ефекту після дії нового дезінфікуючого засобу «Діюлайд» на тестову культуру *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

Концентрації за оксидом хлору робочих розчинів дослідного ДЗ «Діюксид», %; мг/дм ³	Кратність досліджень, пр.	Оцінка характеру росту тестової культури <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 1544 на поживних середовищах після дії різних концентрацій нового ДЗ «Діюлайд» за різних часових експозицій культивування посівів упродовж								
		для визначення бактерицидної активності					для визначення наявності бактеріостатичного ефекту			
		48 год					72 год			
		триптон-соєвий агар (ТСА)			контроль росту	триптон-соєвий бульйон (ТСБ)			контроль росту	
		номери пробірок у досліді				номери пробірок у досліді				
		1	2	3		1	2	3		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Тестова культура <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 1544										
Експозиція 30 хв										
0,04 % (100)	3	ріст відсутній	поодинокі колонії	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст через 48 год, помутніння середовища	ріст помутніння середовища,	ріст через 48 год помутніння середовища	інтенсивне помутніння, осад	
0,06 % (150)	3	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад	
0,1 % (250)	3	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад	
0,16 % (400)	3	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад	
Тестова культура <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442										
Експозиція 60 хв										
0,04 % (100)	3	ріст відсутній	ріст відсутній	поодинокі колонії	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст через 48 год помутніння середовища	ріст помутніння середовища,	інтенсивне помутніння, осад	
0,06 % (150)	3	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад	
0,1 % (250)	3	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад	
0,16 % (400)	3	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад	

REFERENCES

1. Dodonova–Sudina, K. & Hrabovska, O. (2016). Porivnialna diia riznykh dezinfektantiv u tekhnologii pidhotovky vody. Materialy II Vseukrainskoi naukovo–praktichnoi konferentsii. «Aktualni problemy khimii i khimichnoi tekhnologii», 21–23 lystopada 2016 r. *Natsionalnyi universytet kharchovykh tekhnologii, Kyiv: NUKhT*, 2016, 388 c. Інтернет-ресурс: http://dspace.nuft.edu.ua/jspui/bitstream/123456789/24837/1/Aktualni_problemy_khimiyi_i_khimichnoyi_tekhnolohiyi.pdf. [in Ukrainian].
2. DIN EN 1656:2010-03 «Khimichni dezinfektsiini ta antyseptychni zasoby – kilkisnyi suspenziyni test dlia vyznachennia bakterytsydnoi aktyvnosti khimichnykh i antyseptychnykh zasobiv, yaki zastosovuiutsia v haluzi veterynarii – Metod vyznachennia ta vymohy (faza 2, krok 1)». [in Ukrainian].
3. Fotina, G. A. & Kovalenko, I. V. (2017). Eksperimental'ni doslidzhennja efektyvnosti zastosuvannja dezinfikujuchogo zasobu SANSTIM dlia peredinkubacijnioi sanacii jaec'. *Biologija tvarin*, 103, 276–278. [in Ukrainian].
4. Gorbatjuk, O. I., Kovalenko, V. L., Garkavenko, T. A., Kozic'ka, T. G. & Ordins'ka, D. A. Issledovanie suspenzionnym metodom vozdeystviya dezinficirujushhiih sredstv s razlichnymi dejstvujushhimi veshhestvami na test-kul'turu *E. coli* / Organize the international scientific conference «45 years of high veterinary health education in republic of Moldova» October 24–26, State Agrarian University of Moldova; 54, 395–403. [in Moldova].
5. Horbatiuk, O. I., Kovalenko, V. L., Harkavenko, T. O. & Kozyc'ka, T. H. (2019). Vyvchennia stiiakosti antybiotykorezistentnykh shtamiv *S. aureus* do dezinfikuiuchykh zasobiv z riznymy diiuchymy rehovynamy. Naukovo-tekhnicnyi biuleten DNDKI vetpreparativ ta kormovykh dobavok i Instytutu biolohii tvarin; 20, 2, 183–193. [in Ukrainian].
6. Hernandez-Navarrete, M. J., Celorio-Pascual, J. M., Lapresta Moros, C. & Solano Bernad, V. M. (2014). Fundamentos de antisepsia, desinfección y esterilización. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 32(10), 681–688. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.04.003>.
7. Harkavenko, T. O., Kovalenko, V. L., Horbatiuk, O. I., Pinchuk, N. H., Kozyt'ska, T. H., Harkavenko, B. M. & Ordyn'ska, D. O. (2020). Metodychni rekomendatsii z vyznachennia bakterytsydnoi aktyvnosti ta kontroliu vidsutnosti bakteriostatychnoho efektu dezinfikuiuchykh zasobiv. *Kyiv: DNDILDVSE*, 2020; 48 c. [in Ukrainian].
8. Ivchenko, V. M. (2004). Dovidnyk sanitarno-mikrobiolohichnykh metodiv doslidzen produktiv ta obektiv dovkillia. Bila Tserkva: 2004; 36 p. [in Ukrainian].
9. Iatsiv, S. F. (2021). Stan i perspektyvy rozvytku ptakhivnytstva u silskohospodarskykh pidpriemstvakh Ukrainy. *Ahrosvit*, 16, 26–33. DOI: [10.32702/2306-6792.2021.16.26](https://doi.org/10.32702/2306-6792.2021.16.26). [in Ukrainian].
10. Jui-Wen, Ma, Bin-Syuan, Huang, Chu-Wei, Hsu, Chun-Wei, Peng, Ming-Long, Cheng, Jung-Yie, Kao, Tzong-Der, Way, Hao-Chang, Yin & Shan-Shue Wang. (2017). Efficacy and Safety Evaluation of a Chlorine Dioxide Solution. *Int J Environ Res Public Health*; 14(3), 329. DOI: [10.3390/ijerph14030329](https://doi.org/10.3390/ijerph14030329).
11. Kovalenko, V. L., Ponomarenko, G. V., Kukhtyn, M. D., Paliy, A. P., Bodnar, O. O., Rebenko, H. I., Kozyc'ka, T. G., Makarevich, T. V., Ponomarenko, O. V. & Paliy, A. P. (2020). Evaluation of acute toxicity of the «Orgasept» disinfectant. *Ukrainian Journal of Ecology*; 10(4), 273–278, doi: [10.15421/2020_199](https://doi.org/10.15421/2020_199).
12. Lahotiuk, V. O. (2020). Osoblyvosti formuvannia stratehii zabezpechennia konkurentospromozhnosti pidpriemstv haluzi ptakhivnytstva zalezno vid kupivelnioi spromozhnosti spozhyvachiv. *Agrosvit*; 1, 77–82. DOI: [10.32702/2306-6792.2020.1.77](https://doi.org/10.32702/2306-6792.2020.1.77). [in Ukrainian].
13. Morozova, N. S., Ridnyi, S. V., Holovchak, H. S., Korobkova, I. V. & Popov, O. O. (2019). Persystentsiia bakterii u zovnishnomu seredovyshchi v problemi infektsii, poviazanykh z nadanniam medychnoi dopomohy. *Aktualni problemy transportnoi medytsyny*; 3(57), 8–16. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.3465414>.
14. Polehenka, M. A. (2019). Analiz suchasnogo stanu vyrobnytstva produktsii ptakhivnytstva v Ukraini. *Ekonomika ta derzhava*; 3, 137–143. DOI: [10.32702/2306-6806.2019.3.137](https://doi.org/10.32702/2306-6806.2019.3.137). [in Ukrainian].
15. Paliy, A. P., Stehniy, B. T., Zavorodnii, A. I. & Huzhvyńska, S. O. (2017) Suchasnyi dezinfikuiuchy preparat dlia veterynarnoi medytsyny. *Veterynarna Medytsyna*, 2017, 103, 63–65. [in Ukrainian].
16. Rodionov, K. O. (2016). Znachennia vyrobnychoi sanitarii i systemy upravlinnia bezpechnosti kharchovykh produktiv (KhASSP). *Veterinary medicine*, 2016, 102, 217–219. [in Ukrainian].
17. Solomakha, K. V. & Harkavyi, S. I. (2021). Vykorystannia hipokhlorytu natriiu pry znezarazhuvanni vody baseinu sportyvnoho kompleksu natsionalnoho tekhnichnoho universytetu (SK NTU). *Ukrainskyi zhurnal medytsyny, biolohii ta sportu*; 6(1), 168–172. DOI: [10.26693/jmbs06.01.168](https://doi.org/10.26693/jmbs06.01.168). [in Ukrainian].
18. Tardif, R., Catto, C., Haddad, S., Simard, S. & Rodriguez, M. (2016). Assessment of air and water contamination by disinfection by-products at 41 indoor swimming pools. *Environmental research*, 2016, 148, 411–420. DOI: [10.1016/j.envres.2016.04.011](https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.04.011).

BACTERICIDAL ACTIVITY OF THE NEW DISINFECTANT "DIOLAYD" UNDER ITS EFFECT ON DIFFERENT TYPES OF BACTERIA

O. N. Chechet, V. L. Kovalenko, O. I. Horbatiuk, O. S. Gaidei, V. A. Andriyashchuk, I. V. Musyets, D. A. Ordyn'skaya, State Research Institute for Laboratory Diagnostics and Veterinary Sanitary Expertise (Kyiv, Ukraine) e-mail: o.chechet@vetlabresearch.gov.ua; kovalenkodoktor@gmail.com; goroliva@ukr.net; olga.gaidei@gmail.com; oksana759@ukr.net; and valentina@hotmail.com; bacdndi@ukr.net; ordynskadiana@ukr.net

Abstract. Practice demonstrates that over the last decade, one of the main methods of combating, preventing from zoonotic infectious agents and maintaining of the epizootic well-being in the livestock

industry of Ukraine, and in the poultry industry in particular, remains disinfection with the constant desire of manufacturers to develop cheap, multi-component, bactericidally effective disinfectants.

Experimental "in vitro" studies of the developed disinfectant "Diolide" at the first stage was tested for bactericidal activity and lack of bacteriostatic effect. The suspension method was used on the models of test cultures of microorganisms: gram-positive - *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and gram-negative - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, which corresponded to all the main typical properties regarding their species identification and showed resistance to the action of standard disinfectant solutions - 0.02% pH chloramine after exposure for 5 minutes; 2.0 % aqueous hydrogen peroxide and 0.03 % aqueous glutaraldehyde for exposure for 10 minutes; 0.025 % of ADBAH district for exposure of 20 minutes.

Daily bacterial suspensions of test cultures of the specified microorganisms were used at the concentration of 0.5 OD according to the optical standard of turbidity according to McFarland.

Four working dilutions of the new "Diolaid" disinfectant were experimentally studied according to two (1+2) active components in percentages: 0.04 % (or according to chlorine dioxide 100 mg/dm³); 0.06 % (or according to chlorine dioxide 150 mg/dm³); 0.1 % (or chlorine dioxide 250 mg/dm³) and 0.16 % (or chlorine dioxide 400 mg/dm³).

The evaluation of the effects of the working solutions of the new disinfectant "Diolaid" was carried out in three repetitions with exposures of 30 and 60 minutes. At the end of the exposure period, to immediately stop the action of the disinfectant, a double volume of sterile physiological solution was added to each of the dilutions, which was then washed three times from the disinfectant residues and sedimentation of the tested test bacteria by centrifugation at 4,000 rpm for 10 min.

Test cultures of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, washed from the disinfectant, were sown to determine the effects of the bactericidal effect of the test agent - on Petri dishes with tryptone-soy agar, to detect the bacteriostatic effect - on test tubes with tryptone-soy broth and cultivated in thermostats at a temperature of 37±1.0 °C for 24-48 and 48-72 hours, respectively.

Based on the analysis of research results, we found that the lowest effective bactericidal concentration of the new disinfectant "Diolide" is 0.06 % (150 mg/dm³ based on chlorine dioxide), which ensures complete neutralization of test cultures of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 and not shows a bacteriostatic effect after 30 minutes or longer of contact.

Key words: disinfectant, "Diolaid", *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442.

DOI: 10.31073/onehealthjournal2023-I-01