



Тваринництво, ветеринарна медицина

УДК 619.22.28:614.48:615.9:
636.065
© 2022

БАКТЕРИЦИДНА ЕФЕКТИВНІСТЬ, ФЕНОЛЬНИЙ КОЕФІЦІЄНТ І БІЛКОВИЙ ІНДЕКС ДЕЗІНФЕКЦІЙНОГО ЗАСОБУ БІОЛАЙД ЗА ВПЛИВУ НА *ESCHERICHIA COLI*

О.М. Чечет¹, В.Л. Коваленко², О.І. Горбатюк³, О.С. Гайдей⁴,
О.Л. Кравцова⁵, В.О. Андріяшук⁶, І.В. Мусієць⁷, Д.О. Ординська⁸

^{1, 3, 4, 6}кандидати ветеринарних наук

²доктор ветеринарних наук, професор

^{1, 3-8}Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики
і ветеринарно-санітарної експертизи

вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

²Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів
вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

e-mail: ¹o.chechet@vetlabresearch.gov.ua, ²kovalenkodoktor@gmail.com, ³Goroliva@ukr.net,

⁴olga.gaidei@gmail.com, ⁵oksana759@ukr.net, ⁶and_valentina@hotmail.com,

⁷bacndi@ukr.net, ⁸ordynskadiana@ukr.net

ORCID: ¹0000-0001-5099-5577, ²0000-0001-5099-5577, ³0000-0002-0573-2089,

⁴0000-0001-8501-1750, ⁵0000-0003-2119-7749, ⁶0000-0002-0983-9297,

⁷0000-0002-2456-560X, ⁸0000-0003-3481-3248

Надійшла 08.06.2022

Мета. Вивчити бактерицидну активність, бактериостатичні властивості, підібрати найоптимальніші бактерицидно ефективні концентрації нового дезінфекційного засобу (ДЗ) Біолайд за його впливу на тестову культуру *Escherichia coli* ATCC 25922 у різних часових експозиціях та визначити його фенольний коефіцієнт і білковий індекс. **Методи.** Мікроскопічний, культуральний, біохімічний, статистичний. **Результати.** Наведено результати досліджень нового ДЗ Біолайд, основними складниками якого є компоненти, які через певний час розщеплюються на безпечні воду, кисень і молочну кислоту. Експериментально досліджено бактерицидну ефективність робочих розчинів 0,1; 0,2; 0,25; 0,5; 1,5; 4 і 10% концентрацій та вибрано оптимальні концентрації робочих розчинів Біолайд за їх впливу протягом 10, 20, 30 та 60 хв. Проведено випробування щодо виявлення бактериостатичних властивостей ДЗ Біолайд, за аналізом одержаних результатів якого доведено їх відсутність. Наведено результати експериментів з вивчення фенольного коефіцієнта, який свідчить про більшу ефективність ДЗ Біолайд порівняно

зі стандартним розчином фенолу. Встановлено показники білкового індексу ДЗ Біолайд, які вказували на зниження ефективності цього засобу за білкового забруднення. **Висновки.** Встановлено, що 0,25% і вище концентрації робочих розчинів нового ДЗ Біолайд забезпечують повне знешкодження тестової культури *E. coli* ATCC 25922 за його впливу протягом 30 хв та 0,1% і вищі концентрації за його впливу протягом 60 хв без прояву бактериостатичних властивостей. Фенольний коефіцієнт нового ДЗ Біолайд у 7,95 раза перевищує бактерицидну активність стандартних розчинів фенолу. Білкове забруднення здатне знижувати бактерицидну ефективність нового ДЗ Біолайд у 2,07 раза.

Ключові слова: птахівництво, білкове забруднення, тестова культура, бактериостатичні властивості, інфекційні захворювання.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202208-05>

Обґрунтування основних напрямів, потенціальних можливостей і підвищення ефективності господарської діяльності птахівничої галузі в Україні полягає не лише у її механізації, автоматизації процесів, оптимізації кормової бази, а й у забезпеченні належних умов утримання птиці з чітким виконанням ветеринарно-санітарних вимог. Саме ця галузь є складним агропромисловим виробництвом з тривалим безперервним циклом, який не можна періодично зупиняти, де створюються умови щодо скупчення великої кількості птиці на обмежених площах і постійно існує небезпека швидкого поширення інфекційних захворювань, зокрема бактеріальної етіології [1, 2].

Наукові дослідження і практичний досвід доводять, що комплекс ветеринарно-санітарних заходів, спрямованих на збереження стабільної епізоотичної ситуації щодо виникнення бактеріальних інфекцій у птиці, є економічно вигідним, порівняно неважким у виконанні та високоефективним, але за умови забезпечення ефективними бактерицидно активними дезінфекційними засобами (ДЗ) [3–7]. У такому комплексі заходів дезінфекція є одним із пріоритетних чинників. Проведення якісної дезінфекції можуть забезпечити лише дезінфектанти з високою бактерицидною ефективністю. Нині епізоотична ситуація складається так, що профілактика захворювань бактеріальної етіології є одним із головних завдань, оскільки дасть змогу зберегти генетичний та продуктивний фонди у птахівничій галузі [8–10].

Відомо, що патогенні бактерії, зважаючи на нинішні екологічні умови, виявляють

підвищену стійкість до багатьох ДЗ, які використовують у практиці ветеринарної медицини. Тому актуальною залишається проблема розробки та використання нових, ефективніших дезінфектантів. Використання ДЗ потребує контролю їх ефективності щодо визначення їх мінімальних бактерицидних концентрацій, величини фенольного коефіцієнта та білкового індексу [11–14].

Мета досліджень різних концентрацій робочих розчинів нового ДЗ Біолайд за його впливу на тестову культуру *Escherichia coli* ATCC 25922 у різних часових експозиціях — вивчення бактерицидної активності, бактериостатичних властивостей, вибір його найоптимальніших концентрацій, що забезпечували б повне знешкодження мікроорганізмів, та визначення фенольного коефіцієнта і білкового індексу цього препарату.

Матеріали і методи. Дослідження проведено в лабораторії діагностики захворювань бактеріальної етіології науково-дослідного бактеріологічного відділу (ЛДЗБЕ НДБВ) Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ).

Новий ДЗ Біолайд — рідина жовтуватого кольору, екологічно безпечний, не забруднює навколишнє середовище, оскільки через певний проміжок часу після використання розщеплюється на кисень, воду і молочну кислоту.

Для експериментальних досліджень виготовлено робочі розчини дослідного ДЗ Біолайд (табл. 1).

Для виготовлення розведень ДЗ Біолайд використовували свіжу стерильну дистильовану воду.

На бактерицидну активність і бактеріостатичні властивості досліджено всі виготовлені концентрації робочих розчинів ДЗ Біолайд — 0,1; 0,2; 0,3 (0,25); 0,5; 1,5; 4 та 10%.

Для проведення експериментальних досліджень використовували тестову культуру *E. coli* ATCC 25922, одержану із колекції кріогенізованих тестових культур мікроорганізмів ЛДЗБЕ НДБВ, які зберігаються в кріопробірках в умовах холодильника за температури $-70,0 \pm 5,0^\circ\text{C}$.

Для проведення експериментальних досліджень тестову культуру *E. coli* ATCC 25922 було розморожено та зроблено посів на триптон-соевий бульйон (ТСБ) для відновлення метаболічних процесів бактерій.

Відновлену тестову культуру *E. coli* ATCC 25922 перевірено на чистоту росту, видову ідентичність і стійкість до розчинів стандартних ДЗ — хлораміну, перекису водню, глутарового альдегіду та АДБАХу. Окремо поставлено контроль росту тестової культури (без контакту зі стандартними дезінфектантами, які замінено на стерильну дистильовану воду).

Для підтвердження чистоти росту відновлених тестових бактерій *E. coli* ATCC 25922 проведено морфологічні дослідження способом виготовлення мазків із добової культури ешерихій, їх фіксацію, фарбування за методом Грама та мікроскопію під імерсією.

Видову ідентичність тестових бактерій підтверджено за культуральним характером росту на спеціальних твердих живильних середовищах: Ендо, XLD, Рамбак, Сімонса, 3-цукровий агар (ТЦА) після висіву на них добової тестової культури ешерихій. Після інкубації у термостаті за температури $37,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ упродовж 24 год проведено облік. З такою самою метою зроблено біохімічні дослідження, використано середовища з феноловим червоним і вуглеводами (глюкозою, лактозою, сахарозою, мальтозою, арабінозою, рамнозою, ксилозою, дульцитом), поставлено пробу на індол, проведено інкубування в термостаті за температури $37,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ упродовж 24 год і виконано облік.

1. Виготовлення робочих розчинів ДЗ Біолайд

Об'єм ДЗ Біолайд, л	Об'єм дистильованої води, л	Концентрація виготовлених робочих розчинів, %
На 1 л робочого розчину		
0,001	0,999	0,1
0,002	0,998	0,2
0,003	0,997	0,3 (0,25)
0,005	0,995	0,5
0,015	0,985	1,5
0,04	0,960	4,0
0,1	0,900	10,0

Після підтвердження чистоти росту та видової належності тестових бактерій *E. coli* ATCC 25922 визначали їхню стійкість до відомих стандартних розчинів ДЗ — 0,2% розчину (р-ну) хлораміну протягом 15 хв; 3,0% р-ну перекису водню протягом 25 хв; 0,06% р-ну глутарового альдегіду та 0,025% р-ну АДБАХу протягом 10 хв. Для таких досліджень виготовляли бактеріальну суспензію 0,5-standart за оптичним стандартом каламутності за Мак-Фарландом і застосовували суспензійний метод без відомого нейтралізатора із 3-разовим відмиванням тестових мікроорганізмів від залишків стандартних дослідних дезінфектантів стерильним фізіологічним розчином асептично. Висівали відмиті суспензії тестових бактерій на триптон-соевий агар (ТСА) і після культивування в термостаті за температури $37 \pm 1,0^\circ\text{C}$ упродовж 24 год робили облік результатів. Водночас досліджували ріст тестової культури *E. coli* ATCC 25922, не впливаючи на неї стандартними дезінфектантами, а замінили їх на стерильну дистильовану воду та культивували за таких самих умов [15, 16].

Після підтвердження чистоти, видової належності та чутливості тестової культури *E. coli* ATCC 25922 до стандартних розчинів ДЗ проводили подальші експериментальні дослідження нового ДЗ Біолайд, застосовуючи перевірену тест-культуру ешерихій.

Із добової агарової культури *E. coli* ATCC 25922 виготовляли бактеріальну суспензію 0,5 ОО за оптичним стандартом каламутності за Мак-Фарландом способом змиву

колоній культури мікроорганізмів з ТСА стерильним фізіологічним розчином в асептичних умовах.

Під час експериментальних досліджень застосовували суспензійний метод без відомого нейтралізатора до дослідного ДЗ Біолайд. Основний дослід проводили, використовуючи по 3 стерильні центрифужні пробірки ємністю 10 см³ — 3-разові повторюваності досліді.

Водночас з основним дослідом проводили постановку контролів росту тестової культури *E. coli* ATCC 25922. Для цього замість робочих розчинів дослідного дезінфектанту асептично наливали стерильну дистильовану воду.

Для вивчення характеру впливу ДЗ Біолайд на бактерії *E. coli* ATCC 25922 використовували експозиції контакту — 10, 20, 30 та 60 хв.

Експериментальні дослідження з оцінки ефективності впливу виготовлених розчинів різних концентрацій нового ДЗ Біолайд на *E. coli* ATCC 25922 проводили суспензійним методом без відомого нейтралізатора у 3-разових повторюваностях щодо кожного робочого розведення дослідного дезінфектанту. Кожне із робочих розведень ДЗ Біолайд вносили по 4,5 см³ у 3 пробірки та додавали в усі пробірки по 0,5 см³ виготовленої бактеріальної суспензії *E. coli* ATCC 25922, витримуючи відповідну часову експозицію — 10, 20, 30 та 60 хв.

Після закінчення терміну контакту робочих розчинів ДЗ Біолайд з тестовими мікроорганізмами для припинення їх впливу на бактеріальні клітини додавали такий самий об'єм стерильної дистильованої води, чим знижували концентрацію дослідного засобу. Потім осаджували оброблені тестові бактерії центрифугуванням за 3–4 тис. об./хв упродовж 10 хв. Для повного звільнення оброблених бактерій *E. coli* ATCC 25922 від наявності ДЗ Біолайд застосовували їх 3-разове відмивання стерильним фізіологічним розчином асептично за допомогою центрифугування за 4 тис. об./хв упродовж 10 хв [15]. Після останнього центрифугування надосадову рідину видаляли. Осад тестових бактерій ресуспендували стерильним фізіологічним розчином асептично до первинного об'єму.

Для визначення результатів бактерицидної активності робочих концентрацій дослідного ДЗ Біолайд і відсутності бактериостатичного ефекту ресуспендований осад відмитих бактерій *E. coli* ATCC 25922 висівали на чашки Петрі з ТСА і в пробірки з ТСБ в об'ємі по 0,1 см³ у 3-разових повторюваностях. Після проведення посівів їх інкубували впродовж 24–48 год у термостаті за температурного режиму 37,0±1,0°C.

Для визначення бактерицидної активності дослідного ДЗ попередню оцінку результатів на наявність/відсутність росту тестових культур проводили через 24 год та остаточний облік одержаних результатів — через 48 год. Бактерицидну активність дослідного ДЗ Біолайд встановлювали за відсутності росту тестової культури *E. coli* ATCC 25922 на чашках з ТСА та у пробірках з ТСБ за умови її інтенсивного росту у відповідних контролях [15, 16].

Для виявлення бактериостатичних властивостей дослідного ДЗ Біолайд облік результатів проводили за ростом тестових бактерій *E. coli* ATCC 25922 або його відсутністю у пробірках з ТСБ через 24 год. Якщо за цей час росту не було, проводили повторні пересіви у пробірки зі свіжим ТСБ, інкубували ще 24 год та робили облік результатів аналогічно. Якщо і цього разу росту тестових мікроорганізмів не було виявлено, проводили пересів тестових бактерій аналогічно та інкубували ще 24 год. Остаточний облік результатів проводили через 48 год після останнього пересіву. Якщо росту тестової культури ешерихій у пробірках з ТСБ не було, то це свідчило, що бактериостатичних властивостей у дослідного ДЗ Біолайд немає. Виявлення росту *E. coli* ATCC 25922 у пробірках із ТСБ на будь-якому етапі інкубування підтверджувала наявність бактериостатичного ефекту у дослідного дезінфектанту.

Ефективність бактерицидного впливу та відсутність бактериостатичних властивостей у дослідного ДЗ Біолайд вважали підтвердженими, якщо росту тестової культури *E. coli* ATCC 25922 на чашках з ТСА та у пробірках з ТСБ не було за умови її інтенсивного росту на відповідних контролях.

Для визначення фенольного коефіцієнта виготовляли робочі розчини ДЗ Біолайд.

Використовували 13 колб, у які, починаючи із другої колби, вносили по 10 см³ стерильної дистильованої води. У першу колбу вносили 10 см³ основного розведення 1:50 ДЗ Біолайд, у другу колбу — 25 см³ цього самого основного розведення 1:50. Після ретельного перемішування із другої колби переносили 25 см³ розчину у наступну колбу і так послідовно до 13-ї колби включно, із якої відбирали 25 см³ розчину та виливали, отримуючи, таким чином, прогресуюче зменшення діючої речовини в кожній наступній колбі.

Фенол (карболова кислота) кристалічний, хімічно чистий, без домішок води використовували як еталонний зразок, розчиняючи його у дистильованій воді у співвідношенні 1:50 і виготовляли розведення за схемою розведення ДЗ Біолайд аналогічно (табл. 2).

За оптичним стандартом каламутності виготовляли бактеріальну суспензію з мікробним навантаженням $2 \cdot 10^9$ КУО/см³ із попередньо культивованої добової культури *E. coli* ATCC 25922. Виготовлену бактеріальну суспензію тестової культури вносили по 0,5 см³ у всі колби з розведеннями ДЗ Біолайд і аналогічними розведеннями фенолу та витримували експозиції 10 і 30 хв. Після закінчення терміну контакту 10 хв (а потім 30 хв) із усіх колб із розведеннями дослідного дезінфектанту та фенолу проводили посіви бактеріальних суспензій на чашки з МПА. Після культивування посівів у термостаті упродовж 24 год виконували облік результатів за відсутністю росту бактерій тестової культури *E. coli* ATCC 25922 після впливу кожного із відповідних розведень ДЗ Біолайд і фенолу. Дослідження повторювали тричі.

Після завершення досліду проводили обчислення середнього бактерицидного розведення фенолу та дослідного ДЗ Біолайд за контакту протягом 10 та 30 хв кожного окремо. Одержані середні показники розведення ДЗ Біолайд ділили на відповідні середні показники розведення фенолу. Одержані дані додавали та ділили на 2. Одержаний показник засвідчував величину фенольного коефіцієнта дослідного ДЗ Біолайд, яка показувала у скільки разів дослідний дезінфектант бактерицидно сильніше або слабше від аналогічного впливу фенолу [17].

Для визначення білкового індексу дослідного ДЗ Біолайд виготовляли серійні розведення (як для досліджень фенольного коефіцієнта) але із подвійною концентрацією дезінфектанту, починаючи із основного розведення 2:50. Наступні розведення 2:70 і т. д., до останнього 2:2024,8. Із кожного виготовленого розведення дослідного дезінфектанту відбирали по 4,8 см³ і переносили у стерильні пробірки 1-го ряду та по 3,8 см³ — у пробірки 2-го ряду, який використовували для додавання білка. Кількість пробірок у кожному ряду відповідала кількості розведень дослідного ДЗ Біолайд. Далі у пробірки 2-го ряду додавали по 1 см³ стерильної інактивованої сироватки крові великої рогатої худоби. Водночас проводили постановку контролю росту тестової культури *E. coli* ATCC 25922, заміняючи розведення ДЗ Біолайд на стерильну дистильовану воду у такому самому об'ємі.

У всі пробірки обох рядів і контролю вносили по 0,2 см³ добової бактеріальної суспензії *E. coli* ATCC 25922, виготовленої за оптичним стандартом каламутності

2. Розведення та концентрація розчинів дослідного ДЗ Біолайд

№ п/п	Розведення дезінфектанту	Концентрація дезінфектанту, %	№ п/п	Розведення дезінфектанту	Концентрація дезінфектанту, %
1	1:50	2,00	8	1:527,1	0,189
2	1:70	1,428	9	1:737,9	0,135
3	1:98	1,020	10	1:1033,1	0,096
4	1:137,2	0,728	11	1:1464,3	0,068
5	1:192,1	0,520	12	1:2024,8	0,049
6	1:268,9	0,371	13	1:2834,7	0,035
7	1:376,5	0,265			

з мікробним навантаженням $2 \cdot 10^9$ КУО/см³, та ретельно перемішували.

Терміни контакту культури самостійно та культури за наявності білка — 10 та 30 хв. Після культивування посівів у термостаті впродовж 24 год здійснювали облік результатів за відсутністю росту тестових мікроорганізмів *E. coli* ATCC 25922 після впливу відповідних розведень ДЗ Біолайд самостійно та за наявності сироватки крові як білка. Експериментальні дослідження повторювали тричі.

Білковий індекс ДЗ Біолайд визначали способом обчислень: показник бактерицидного розведення дослідного дезінфектанту за експозиції контакту 10 та 30 хв за відсутності білка ділили на відповідний показник бактерицидного розведення у досліді з білком. Одержані дані додавали та ділили на 2. Отриманий після цього показник відповідав величині білкового індексу нового ДЗ Біолайд та свідчив у скільки разів зменшується бактерицидна ефективність дослідного препарату за білкового забруднення [18].

Для проведення досліджень використовували методи: мікроскопічний, культуральний, біохімічний, статистичний.

Результати досліджень. За одержаними результатами досліджень відновленої із криогенізованого стану тестової культури *E. coli* ATCC 25922, яку використовували для проведення експериментів, за імерсійної мікроскопії було підтверджено чистоту росту, оскільки в полі зору мікроскопа було виявлено грамнегативні, однорідні, короткі палички з заокругленими кінцями. Видову ідентичність тестової культури *E. coli* ATCC 25922 підтверджено характерним культуральним ростом на спеціальних твердих живильних середовищах: Ендо, XLD, Рамбак, Сімонса, ТЦА. Тестові бактерії ешерихій на середовищі Ендо — у вигляді червоних колоній з металевим блиском та почервонінням середовища під ними. На середовищі XLD виросли колонії ешерихій мали забарвлення жовтого кольору з зоною опалесценції навколо колоній. На середовищі Рамбак росли колонії ешерихій зеленого кольору. На середовищі Сімонса тестова культура не росла і середовище не змінювало колір, що є однією із характерних ознак для ешерихій. Характер росту

E. coli ATCC 25922 на ТЦА характеризувався зміною кольору середовища на скошеній частині та у його товщі із червоного на жовтий, оскільки ешерихії ферментували цукри до кислоти і змінювали рівень рН навколишнього середовища, що свідчило про характерні властивості тестової культури *E. coli* ATCC 25922. Ідентичність тестових бактерій ешерихії були підтверджені результатами біохімічних досліджень, оскільки культура мала властивості до ферментації з утворенням кислоти і газу глюкози, лактози, сахарози, мальтози, арабінози, рамнози, ксилоли та не зброджувала дульцит, що підтверджувало наявність основних типових властивостей у *E. coli* ATCC 25922 (рис. 1).

Результати проведених досліджень з вивчення впливу на *E. coli* ATCC 25922 розчинів стандартних дезінфектантів: 0,2% р-ну хлораміну протягом 15 хв; 3,0% р-ну перекису водню протягом 25 хв; 0,06% р-ну глутарового альдегіду та 0,025% р-ну АДБАХу протягом 10 хв підтверджували, що стійкості до еталонних ДЗ немає. Про це свідчила відсутність росту колоній після посіву оброблених бактерій за інтенсивного росту тестової культури на контролі (табл. 3).

Отже, відновлена тестова культура *E. coli* ATCC 25922 була чистою і однорідною, мала видові типові властивості та повністю знешкоджувалася за впливу стандартних розчинів еталонних дезінфектантів. Це підтверджує достовірність результатів у подальших дослідженнях щодо вивчення бактерицидної активності та бактеріостатичних властивостей нового ДЗ Біолайд, у яких вона була використана.

Оцінку результатів бактерицидних і бактеріостатичних властивостей дослідного дезінфектанту проводили за виявленням/відсутністю росту тестової культури на чашках з ТСА і пробірках з ТСБ, порівнюючи з інтенсивністю її росту на контролі. За результатами досліджень щодо визначення характеру бактерицидного впливу ДЗ Біолайд у діапазоні від 0,1 до 1,5% концентрації робочих розчинів, контакт 10 хв із тестовою культурою *E. coli* ATCC 25922 виявився неефективним, оскільки тестові бактерії не були повністю знешкоджені, про що свідчив їх суцільний ріст на ТСА після культивування оброблених культур.

3. Стійкість тестової культури до стандартних дезінфекційних агентів

Еталонний ДЗ	Концентрація ДЗ, %	Терміни контакту тест-культури, хв	Облік результатів (наявність/відсутність росту колоній на ТСА)
Хлорамін	0,200*	15	Росту немає
Перекис водню	3,000	25	» »
Глутаровий альдегід	0,060	10	» »
АДБАХ	0,025	10	» »
Контроль росту тестової культури	–	–	Суцільний ріст на поверхні чашки

* Концентрацію розчину вказано за препаратом.

У дослідного робочого розчину 4%-ї концентрації за контакту 10 хв із тестовими мікроорганізмами було виявлено незначний бактерицидний вплив, оскільки після культивування оброблених бактерій виростили лише окремі колонії, які можна обрахувати. І лише 10%-й розчин нового ДЗ Біолайд за впливу протягом 10 хв забезпечував повне знешкодження обробленої тестової культури та не мав бактериостатичного ефекту.

Одержані результати експериментів після впливу ДЗ Біолайд протягом 20 хв свідчать про його незначну бактерицидну активність за концентрації робочого розчину на рівні 0,5%, оскільки на деяких чашках виявлено ріст поодиноких колоній, на деяких — ні. Повне знешкодження обробленої тестової культури без прояву бактериостатичних властивостей за контакту 20 хв був характерним після впливу 1,5% і вищих робочих розчинів ДЗ Біолайд, що підтверджувалося повною відсутністю будь-якого росту на ТСА та ТСБ після культивування посівів за інтенсивного росту тестових бактерій на відповідних контролях. За експозиції 30 хв незначний бактерицидний вплив нового ДЗ був притаманний 0,2%-му робочому розчину Біолайд, оскільки після посіву, оброблених цим препаратом, тестових бактерій на ТСА виявлено незначну кількість колоній тільки на певній частині чашок. Водночас за такої самої експозиції контакту 0,25%-ї і вищої концентрації робочі розчини ДЗ зумовлювали повне знешкодження оброблених *E. coli* ATCC 25922 на ТСА — за визначення бактерицидного ефекту та ТСД — за визначення бактериостатичних

властивостей за активного росту тестових бактерій у відповідних контролях (рис. 1).

Застосована експозиція 60 хв впливу на тестову культуру свідчить про повний бактерицидний ефект, починаючи від найменшої застосованої концентрації — 0,1% до найвищої — 10%, не виявляючи при цьому бактериостатичного ефекту за відповідних позитивних контролів росту *E. coli* ATCC 25922 (рис. 2).

Отже, аналіз одержаних результатів свідчить, що найнижчою оптимальною концентрацією дослідного ДЗ Біолайд був 0,25%-й розчин за експозиції 30 хв та 0,1%-й — за експозиції 60 хв, які забезпечували повне знешкодження оброблених ними тестових бактерій *E. coli* ATCC 25922 та не виявляли бактериостатичного ефекту. Це підтверджено відсутністю росту оброблених тестових бактерій після їх культивування на ТСА та ТСБ за інтенсивного їх росту на відповідних контролях.

Визначено результати досліджень щодо величини фенольного коефіцієнта та білкового індексу (табл. 4).

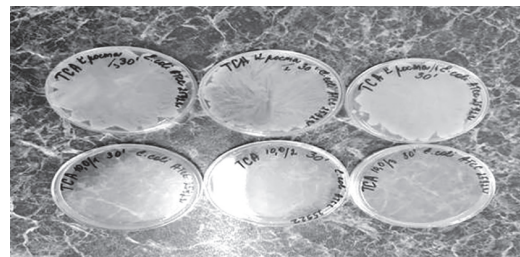


Рис. 1. Візуалізація дослідження з визначення бактерицидного ефекту нового ДЗ Біолайд 10%-ї концентрації після контакту 30 хв

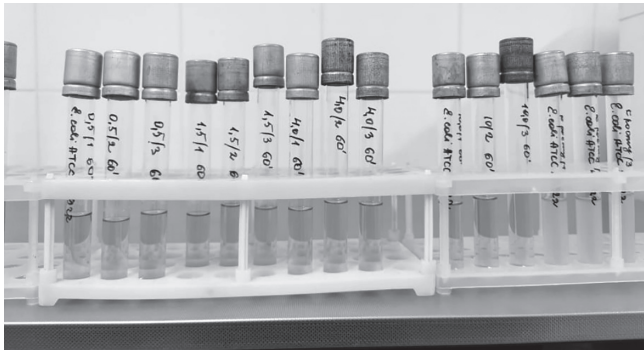


Рис. 2. Візуалізація дослідів з визначення бактериостатичних властивостей нового ДЗ Біолайд після контакту 60 хв

4. Величина фенольного коефіцієнта та білкового індексу дослідного ДЗ Біолайд за використання тестової культури *Escherichia coli* ATCC 25922

Дослідний ДЗ	Концентрація ДЗ Біолайд за вмістом двоокису хлору, %		Фенольний коефіцієнт, розрахунок/величина	Білковий індекс, розрахунок/величина
	Експозиція, хв			
	10	30		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922				
Фенол	1:98	1:192,8		
Біолайд	1:527,1	1:2024,8	(5,4 + 10,5) : 2 = 7,95	—
Біолайд окремо	1:527,1	2024,8	—	—
Біолайд з білковим навантаженням	1:376,5	1:737,9		(1,4 + 2,74) : 2 = 2,07

Одержані дані після проведення досліджень із визначення фенольного коефіцієнта нового ДЗ Біолайд свідчать, що препарат перевищує бактерицидні властивості фенолу у 7,95 рази.

Аналіз одержаних результатів випробувань щодо рівня білкового індексу ДЗ Біолайд свідчить, що білкове забруднення здатне знизити бактерицидну ефективність препарату у 2,07 рази.

Висновки

Установлено, що 0,25% і вище концентрації робочих розчинів нового ДЗ Біолайд забезпечують повне знешкодження тестової культури *E. coli* ATCC 25922 за його впливу протягом 30 хв та 0,1% і вищі концентрації — за його впливу протягом 60 хв без

прояву бактериостатичних властивостей. Визначено, що фенольний коефіцієнт нового ДЗ Біолайд у 7,95 рази перевищує бактерицидну активність фенолу. Білкове забруднення здатне знижувати бактерицидну ефективність нового ДЗ Біолайд у 2,07 рази.

Chechet O.¹, Kovalenko V.², Horbatiuk O.³, Haidi O.⁴, Kravtsova O.⁵, Andriyashchuk V.⁶, Musiyets I.⁷, Ordynska D.⁸

^{1, 3-8}State Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary Sanitary Examination, 30 Donetska Str., Kyiv, 03151, Ukraine, ²State

Research and Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms, 30 Donetska Str., Kyiv, 03151, Ukraine; e-mail: ¹o.chechet@vetlabresearch.gov.ua, ²kovalenkodoktor@gmail.com, ³Goroliva@ukr.net, ⁴olga.gaidei@gmail.com, ⁵oksana759@ukr.net, ⁶and_valentina@hotmail.com, ⁷bacndi@ukr.net, ⁸ordynskadiana@ukr.net; ORCID: ¹0000-0001-5099-5577, ²0000-0001-5099-5577, ³0000-0002-0573-2089, ⁴0000-0001-8501-1750, ⁵0000-0003-2119-7749, ⁶0000-0002-0983-9297, ⁷0000-0002-2456-560X, ⁸0000-0003-3481-3248.

Bactericidal efficiency, phenolic coefficient, and protein index of disinfectant Biolaid against *Escherichia coli*

Goal. To study the bactericidal activity, and bacteriostatic properties, to select the most optimal bactericidal effective concentrations of the new disinfectant (DI) Biolaid for its effect against the test culture of *Escherichia coli* ATSS 25922 in different time exposures, and to determine its phenolic coefficient and protein index. **Methods.** Microscopic, cultural, biochemical, statistical. **Results.** The results of the research on the properties of the new DI Biolaid are presented, the main components of which are components that after a certain time break down into safe water, oxygen, and lactic acid. The bactericidal efficiency was experimentally investigated of the working solutions 0.1; 0.2; 0.25;

0.5; 1.5; 4, and 10% concentrations and optimal concentrations of Biolaid working solutions were selected according to their influence during 10, 20, 30, and 60 minutes. A test was conducted to identify the bacteriostatic properties of DI Biolaid, and the analysis of the results of which proved their absence. The results of experiments on the study of the phenolic coefficient are presented, which indicate the greater efficiency of DI Biolaid compared to the standard phenol solution. The indicators of the protein index of DI Biolaid were established, which indicated a decrease in the effectiveness of this agent due to protein contamination. **Conclusions.** It was found that 0.25% and higher concentrations of the working solutions of the new DI Biolaid provided complete neutralization of the test culture *E. coli* ATSS 25922 after exposure for 30 minutes, and 0.1% and higher concentrations after exposure for 60 minutes without the manifestation of bacteriostatic properties. The phenol coefficient of the new DI Biolaid was 7.95 times higher than the bactericidal activity of the standard phenol solutions. Protein contamination can reduce the bactericidal efficiency of the new DI Biolaid by 2.07 times.

Key words: poultry farming, protein pollution, test culture, bacteriostatic properties, infectious diseases.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202208-05>

Бібліографія

1. Полегенька М.А. Аналіз сучасного стану виробництва продукції птахівництва в Україні. *Економіка та держава*. 2019. № 3. С. 137–143. doi: 10.32702/2306–6806.2019.3.137

2. Щербаков П.Н., Шнякина Т.Н., Щербакова Т.Б., Степанова К.В. Изменения микробиоценоза подстилочного материала при применении санитарно-гигиенического средства. *Ветеринария*. 2020. № 7. С. 60–62. doi: 10.30896/0042–4846.2020.23.7.60–62

3. Палий А., Завгородний А., Стегний Б., Герилевич А. Исследование эффективности современных отечественных дезинфицирующих средств в системе противотуберкулезных мероприятий. *Сельскохозяйственная наука и практика*. 2015. № 2 (2). С. 26–31. doi: 10.15407/agrisp2.02.026

4. Соломаха К.В., Гаркавий С.І. Використання гіпохлориту натрію при знезаражуванні води басейну спортивного комплексу національного технічного університету. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2021. № 6 (29). С. 168–172. doi: 10.26693/jmbs06.01.168

5. Kaczmarek W., Panasiuk J., Borys S. et al. Analysis of the Kinetics of Swimming Pool Water

Reaction in Analytical Device Reproducing Its Circulation on a Small Scale. *Sensors (Basel, Switzerland)*. 2020. № 20 (17). P. 4820. doi: 10.3390/s20174820

6. Carter R., Joll C.A. Occurrence and formation of disinfection by-products in the swimming pool environment: A critical review. *J. of environmental sciences (China)*. 2017. № 58. P. 19–50. doi: 10.1016/j.jes.2017.06.013

7. Tardif R., Catto C., Haddad S. et al. Assessment of air and water contamination by disinfection by-products at 41 indoor swimming pools. *Environmental research*. 2016. № 148. P. 411–420. doi: 10.1016/j.envres.2016.04.011

8. Кочиш И.И., Смоленский В.И., Нуралиев Е.Р., Кочиш О.И. Комплексная программа обеспечения биологической безопасности промышленных птицеводческих хозяйств яичного направления. *Ветеринария*. 2020. № 2. С. 8–13. doi: 10.30896/0042–4846.2020.23.2.08–13

9. Montagna M.T., Triggiano F., Barbuti G. et al. Study on the In Vitro Activity of Five Disinfectants against Nosocomial Bacteria. *Int J. Environ Res Public Health*. 2019. № 16 (11). P. 1895. doi: 10.3390/ijerph16111895

10. Trishyna V. Yu., Huliaiev V. M. Critical factors influencing the general electoral process of broiler production. *Veterinary medicine, technology of animal husbandry and nature managemen.* 2020. № 5. P. 186–191. doi: 10.31890/vttp.2020.05.33
11. Du Y., Lv X. T., Wu Q. Y. et al. Formation and control of disinfection byproducts and toxicity during reclaimed water chlorination. *A review J. of Environmental Sciences.* 2017. № 58. P. 51–63. doi: 10.1016/j.jes.2017.01.013
12. Якубик О.Л., Литвинова З.А. Микробная обсемененность объектов промышленного птицеводства. *Ветеринария.* 2022. № 2. С. 44–47. doi: 10.30896/0042–4846.2022.25.2.44–47
13. Менькова А.А., Казмирова Т.А., Цыганков Е.М., Викаренко О.В. Вироцид для прединкубационной обработки. *Ветеринария.* 2021. № 5. С. 47–49. doi: 10.30896/0042–4846.2021.24.5.47–49
14. Чечет О.М., Коваленко В.Л., Гаркавенко Т.О. та ін. Ефективність робочих розчинів дезінфекційного засобу Біолайд за дії на грамнегативні та грампозитивні бактерії. *Біологія тварин.* 2021. № 23 (4). С. 64–72. doi: 10.15407/animbiol23.04.066
15. Івченко В.М. Довідник санітарно-мікробіологічних методів досліджень харчових продуктів та об'єктів довкілля. Біла Церква, 2004. 36 с.
16. Гаркавенко Т.О., Коваленко В.Л., Горбатюк О.І. та ін. Методичні рекомендації з визначення бактерицидної активності та контролю відсутності бактериостатичного ефекту дезінфікуючих засобів. Київ: ДНДІЛДВСЕ, 2020. 48 с.
17. Якубчак О.М., Хоменко В.І., Коваленко В.Л. та ін. Ветеринарна дезінфекція, дезодорація, дезінсекція, дезінвазія, дератизація. Київ: «Компанія Біопром», 2010. 62 с.