

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНЫХ СВОЙСТВ НОВОГО ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ГЛИОКСАЛЯ

Зуев А.В.¹

¹ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина», г.Омск, Россия, (644122, Омск, ул. Октябрьская, 92), e-mail: andrew-zuev-venenum@mail.ru

В двадцать первом веке дезинфекция остается одним из наиболее важных способов борьбы с патогенными биологическими бактериями. Главной задачей в дезинфекции является разработка и внедрение препаратов, которые будут наиболее безопасными, экологически чистыми, эффективными и экономичными. В современном мире постоянно ведется поиск новых соединений, усиливающих бактерицидные свойства дезинфектантов. В данном исследовании отражены результаты по определению бактерицидных свойств нового дезинфицирующего препарата на основе глиоксаля. В результате проведенных нами исследований установлено, что испытуемый препарат, в низкой концентрации и при малой экспозиции, обладает выраженными бактерицидными свойствами в отношении тест-культур (кишечной палочки и золотистого стафилококка). Также определена оптимальная экспозиция дезинфицирующего препарата в лабораторных условиях. Анализы полученных результатов свидетельствуют о бактерицидном действии испытуемого препарата на тест – культуры исследуемых микроорганизмов.

Ключевые слова: дезинфекция, дезинфектанты, бактерицидные свойства

DETERMINATION OF THE BACTERICIDAL PROPERTIES OF A NEW DISINFECTANT BASED ON GLYOXAL

Zuev A.V.¹

¹ FGBOU VPO "Omsk State Agrarian University named after PA Stolypin, "Omsk, Russia (644122, Omsk, ul. Ocyabrskaya, 92), e-mail: andrew-zuev-venenum@mail.ru

In the twenty-first century disinfection remains one of the most important approaches in biological safety control. Developing modern means of disinfection the main focus is on the implementation of those components that will be most safety, environmentally friendly, efficient and highly economical. Nowadays searching for new components that could increase the bactericidal properties is constantly on. This study shows the results of the determination of bactericidal properties of a new glyoxal-based disinfectant. It was experimentally found that the glyoxal-based disinfectant in low concentrations and at short exposures has an obvious antibacterial effect against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Also there were determined optimal rates of exposure of the disinfectant in vitro. The results indicate the bactericidal effect of the preparation components on the test – cultures of the microorganisms under studying.

Keywords: disinfection, disinfectants, antibacterial properties

Научные данные и практический опыт последнего десятилетия показывает, что в двадцать первом веке дезинфекция остается одним из наиболее важным, надежным, доступным, дешевым, относительно простым способом профилактики и борьбы с патогенными биологическими бактериями.

На современном этапе предприятия перерабатывающей продукции животноводства, а также сырье животного происхождения должны быть качественными и безопасными для здоровья человека, а ветеринарная служба должна это строго отслеживать.

На сегодняшний день вопрос о принятии радикальных мер для ликвидации различных инфекционных болезней остается остро актуальным. Известно, что микроорганизмы

приспосабливаются к условиям внешней среды и быстро приобретают устойчивость ко многим антибактериальным и дезинфицирующим препаратам.

В настоящее время во всем мире приобретает большое значение применение новых дезинфицирующих препаратов. Значит основной задачей в дезинфекции остается разработка и внедрение препаратов, которые будут наиболее безопасными, экологически чистыми, эффективными и экономичными. [1,2,3]

Ассортимент современного рынка выпускаемых дезинфицирующих препаратов на сегодняшний день огромен, но основной состав компонентов остается весьма ограниченным.

В современном мире постоянно проводится поиск компонентов и соединений, усиливающих бактерицидные свойства дезинфицирующих препаратов. Одним из перспективных направлений выступает качественная разработка новых мультикомпонентных рецептур с выраженными полифункциональными свойствами и высокой моющей способностью. Также большое внимание обращено на введение в рецептуру компонентов, наиболее заметно улучшающих потребительские свойства современных дезинфицирующих препаратов. [1,2,3,4]

В этой связи необходимо обратить пристальное внимание на разработку новых эффективных дезинфицирующих препаратов. Такой подход на сегодняшний день становится все более значимым и актуальным. [1,2,3,4,5,6]

Объектом нашего исследования являются глиоксаль «glyoxal» (глиоксаль, этандиаль, щавелевый альдегид) с высокой активностью и широким спектром противомикробного действия, с низкой агрессивностью в отношении конструктивных материалов. Глиоксаль – простейший альдегид, впервые синтезирован в 1856 году и лишь в 1936 году был технически налажен его массовый выпуск. Вещество состоит из трех молекул глиоксаля и двух молекул воды, имеет относительно устойчивую форму жизни. Известно, что глиоксаль с двумя свободными альдегидными группами представляет собой очень нестабильный продукт, поэтому в чистом виде он не может являться коммерческим товаром и для реализации потребителям выпускается в виде 40% - ного водного раствора. Молекулярная (брутто) формула глиоксаля $C_2H_2O_2$ или $(OCHCHO)$ имеет вид желтой прозрачной жидкости с запахом формалина. В условиях химической лаборатории глиоксаль получают путем окисления ацетальдегида селенистой кислотой. В промышленности глиоксаль получают двумя путями. Наиболее распространенным является окисление в газовой фазе этиленгликоля в присутствии серебряного или медного катализатора. Менее распространенный путь – это проведение окисления в жидкой фазе ацетальдегида азотной кислотой. Глиоксаль широко используется в процессах синтеза фармацевтических препаратов, гетероциклических соединений, клеев, смол в кожевенной, бумажной,

деревообрабатывающей и текстильной промышленности. Также известны бактерицидные свойства данного химического вещества [2,4,7,8]

Цель исследования

Целью проводимых нами исследований являлось определение бактерицидных и спороцидных свойств нового дезинфицирующего препарата на основе глиоксаля в отношении тест – культур микроорганизмов.

Материалы и методы исследования

В состав разработанного препарата входят следующие действующие вещества: 40% водный раствор глиоксаля (производитель: «Омский завод СК» г. Омск), NEOMID 440 Eco (производитель: ООО «Неахим» г. Санкт-Петербург), вода, технологические добавки, комплекс поверхностно – активных веществ (ПАВ) и другие компоненты, обладающие выраженным бактерицидным действием. У каждого из этих соединений есть определенный спектр антимикробной активности, это средство изготовлено на основе данных компонентов, но подробная химическая структура препарата не раскрыта, так как представлена заявка на изобретение.

Объект исследования – жидкое дезинфицирующее щелочное (рН=10,0-12,0) средство с моющим эффектом, которое представляет собой сбалансированную смесь, состоящую из комплекса поверхностно-активных веществ (ПАВ), химических соединений, обладающих обеззараживающим действием.

Исследования проводили согласно руководству: «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности» (утв. Роспотребнадзором 01.06.2010г.); «Методические указания о порядке испытания новых дезинфицирующих веществ для ветеринарной практики» от 07.01.1987г.; «Методические рекомендации по ускоренному определению устойчивости бактерий к дезинфицирующим веществам» от 10.01.2000г. «Методы изучения и оценки туберкулоцидной активности дезинфицирующих средств» методические указания МУ 3.1.3.5-09 (издание официальное Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Москва, 2009 г.).

При выполнении исследований использовали рефератные тест – культуры: *Escherichia coli* штамм М-17, *Staphylococcus aureus* штамм АТСС 25923, *Bacillus subtilis* штамм 1 с (рВМВ5).

Предварительно приготовили бактериальную суспензию (взвесь) из золотистого стафилококка и кишечной палочки, затем засекали на скошенный МПА и выращивали в термостате при 37°C в течение 24 часов. Также заранее суточную бульонную культуру сенной палочки засекали на скошенный МПА в пробирках. Далее в течение 48 часов

пробирки держали в термостате при 37°C, затем в течение 6 дней при 12-18°C в темноте. Контроль культуры сенной палочки проверяли на спорообразование под микроскопом. Заранее бактериальную суспензию (взвесь) культур смывали стерильным 0,9% NaCl. Получившуюся взвесь бактерий фильтровали через стерильный ватно-марлевый фильтр и разводили до концентрации, соответствующей мутности оптического бактериального стандарта Л.А. Тарасевича, соответствующего 2×10^9 микробных тел в 1 мл.

Предварительно приготовили батистовые тест – объекты, кусочки батиста погружали на сутки в водопроводную холодную воду для удаления аппретива, аппитур и крахмала. Затем стирали с мылом, кипятили, сушили и тщательно проглаживали утюгом. При помощи иглы в куске батистовой ткани выдергивали нитки в продольном направлении на примерном расстоянии в 10 мм друг от друга, а в поперечном на расстоянии в 5 мм. Далее по этим линиям батист разрезали ножницами на тест – объекты на 100 штук, раскладывали в две чашки Петри, заворачивали в бумагу и стерилизовали в автоклаве в течение 40 мин. Затем проводили контаминацию (заражение) стерильных батистовых тест – объектов в три чашки Петри заливали по 15 мл рабочей бактериальной и споровой суспензии (взвеси), содержащей 10^9 микробных тел в 1 мл в каждой и равномерно смачивали все тест – объекты.

Далее чашки Петри закрывали крышкой и оставляли тесты в суспензии (взвеси) в течение 30 мин. Затем в асептических условиях батистовые тест-объекты, пропитанные культурой, переносили на поверхность стерильной фильтровальной бумаги (два слоя на три чашки Петри), покрывали их сверху стерильной бумагой и закрывали чашки Петри крышкой.

Пропитанные суспензией батистовые тест – объекты перенесли стерильным пинцетом с соблюдением асептики в стерильные чашки Петри на поверхность стерильной фильтровальной бумаги, выдержали в закрытых чашках 10 минут с целью удаления избытка жидкости, затем подсушивали в вытяжном шкафу в течение 20 мин.

Одновременно проводили бактериологический контроль тест – культур (количество живых бактерий) в приготовленной суспензии.

Зараженные батистовые тест – объекты культурой золотистого стафилококка хранили в течение 4 суток, а споры сенной палочки – 7 суток в чашках Петри при температуре 4°C.

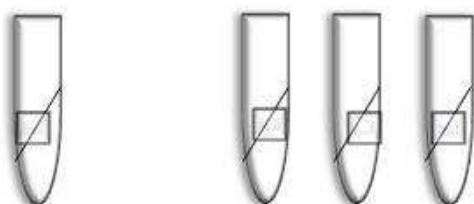
Далее проводили исследование: брали стерильные чашки Петри, наливали 10 мл рабочего дезинфицирующего раствора 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% в каждую и опускали при помощи стерильного пинцета тест – объекты по два на каждую экспозицию. Легким покачиванием чашки Петри достигали равномерного смачивания тест – объектов исследуемых растворов.

Затем в приготовленные рабочие растворы дезинфицирующего препарата в 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% концентрации погружали по два батистовых тестовых объекта на каждый рабочий раствор обсемененных тест – культурами. Рабочие растворы дезинфицирующего препарата были с возрастающей концентрацией и выдерживались определенные промежутки времени 5,10,15,30,60 мин, затем тест – объекты тщательно промывали трехкратно в дистиллированной воде, после чего их помещали в пробирки с питательными средами (МПА). В качестве контроля использовали стерильный 0,9% раствор NaCl. Затем посеы инкубировали в термостате при 37°C. Результат оценивали по отсутствию или наличию роста микроорганизмов через 24,48,72,96 часов. Экспериментальные исследования проводили трехкратно. Одновременно проведен контроль выживаемости санитарно-показательных культур микроорганизмов на питательных средах.

Ход всего экспериментального исследования представлен в схеме, в которой поэтапно выполнена методика проведения опыта на батистовых тест – объектах.

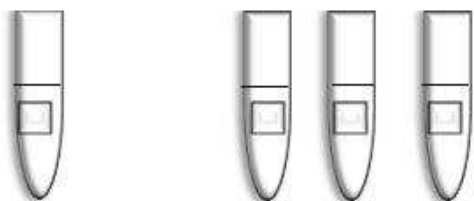
Пробирки со скошенной питательной средой из МПА

Контроль

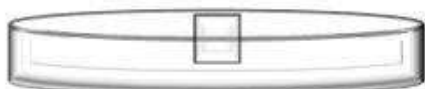


Пробирки с 15 мл нейтрализатора (вода водопроводная)

Контроль



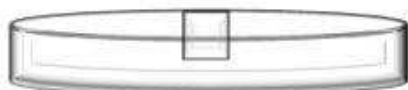
Чашка Петри с рабочим раствором дезинфицирующего препарата на основе глиоксалия



Чашка Петри со стерильной фильтровальной бумагой и пропитанный культурой тест – объект



Чашка Петри с бактериальной суспензией 15 мл + стерильный батистовый тест – объект



Пробирка с дистиллированной водой



Пробирка с бактериальной суспензией (взвеси) тест – культуры микроба



Чашка Петри с тест – культурой

5 – этап

Контроль разведение и посев в пробирки со скошенной питательной средой из МПА

4 – этап

Тщательное промывание тест – объекта в нейтрализаторе (вода водопроводная) для уменьшения остаточного действия раствора дезинфицирующего препарата

3 – этап

Равномерное смачивание тест – объекта в чашке Петри

2 – этап

Просушивание тест – объекта на фильтровальной бумаге, а затем в течение 20 мин в вытяжном шкафу

1 – этап

Заражение стерильного тест – объекта

Результаты исследований и их обсуждение

Бактерицидная активность исследованного дезинфицирующего препарата с использованием
батистовых тест – объектов

Экспозиция	Концентрация, растворов %	Тест - культуры микроорганизмов		
		Escherichia coli штамм М-17	Staphylococcus aureus ATCC 25923	Bacillus subtilis штамм 1 с (pBMB5)
5 мин	0,25%	+	+	+
10 мин		+	+	+
15 мин		+	+	+
30 мин		+	+	+
Контроль		+	+	+
5 мин	0,5%	+	+	+
10 мин		+	+	+
15 мин		-	+	+
30 мин		-	-	+
Контроль		+	+	+
5 мин	1%	-	-	+
10 мин		-	-	+
15 мин		-	-	+
30 мин		-	-	+
Контроль		+	+	+
5 мин	2%	-	-	+
10 мин		-	-	+
15 мин		-	-	+
30 мин		-	-	+
Контроль		+	+	+
5 мин	3%	-	-	+
10 мин		-	-	+
15 мин		-	-	+
30 мин		-	-	+
Контроль		+	+	+
5 мин	4%	-	-	+
10 мин		-	-	+
15 мин		-	-	+
30 мин		-	-	+
60 мин		-	-	+
Контроль		+	+	+
5 мин	5%	-	-	+
10 мин		-	-	+
15 мин		-	-	+
30 мин		-	-	+
60 мин		-	-	-
Контроль		+	+	+

Примечание: - (минус) – отсутствие роста тест – культуры; + (плюс) – незначительный рост тест – культуры.

В результате анализа полученных данных (таблица) установлено, что новый дезинфицирующий препарат в 0,25% концентрации при всех экспозициях не обладает

бактерицидным действием в отношении исследованных тест – культур. Гибель тест – культур отмечена при воздействии 0,5%-ной концентрации, и экспозиции 15 мин в отношении E. coli шт. М-17 (таблица 1). При экспозиции 30 мин наблюдали отсутствие роста S. aureus шт. ATCC 25923 и E. coli шт. М-17. Также отмечена гибель V.subtilis штамм 1 с (pBMB5) при воздействии 5%-ной концентрации препарата при 60 мин экспозиции.

Заключение

Установлена бактерицидная активность нового дезинфицирующего препарата в концентрации 0,5% при 15 мин экспозиции в отношении: E. coli и 30 мин в отношении S. aureus. Также отмечена гибель V.subtilis штамм 1 с (pBMB5) при воздействии 5%-ной концентрации препарата при 60 мин экспозиции.

Список литературы

1. Аржаков П.В., Ермакович М.М., Аржаков В.Н. Определение противомикробной активности дезинфицирующих препаратов / П.В. Аржаков, М.М. Ермакович, В.Н. Аржаков // Ж. Достижения науки и техники АПК. – 2004. – № 2. – С. 39 – 41.
2. Водянкина О.В. Глиоксаль / О.В. Водянкина, Л.Н. Курина, Л.А. Петрова и др. // Монография – М., издательство Academia, 2007. – С. 247.
3. Закомырдин А.А. Экологически безопасные дезинфицирующие растворы // Ветеринария. – 2002. – № 11. – С. 12 – 14.
4. Колычев Н.М. Глиоксаль – дезинфектант широкого спектра антимикробного действия / Колычев Н.М., Аржаков В.Н., Аржаков П.В., Серикбаев Р.Е., Кучкина М.А. // Научный журнал Куб ГАУ. – 2013. – № 87(03). – С. 1-10.
5. Ощепков В.Г. Новые биоцидные препараты для мясоперерабатывающих предприятий / В.Г. Ощепков, В.Н. Аржаков, П.В. Аржаков // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. – № 2 – С. 330 – 332.
6. Серикбаев Р. Е. Изучение спорицидных и микобактерицидных свойств глиоксаля/ Р. Е. Серикбаев // Аграрный вестник Урала. - 2013. – № 7 (113). – С. 22 – 23.
7. Федорова Л.С. Современные направления совершенствования дезинфицирующих средств // Дезинфекционное дело. – 2003. – № 4. – С. 41– 43.
8. Чувствительность-устойчивость бактерий к антибиотикам и дезинфектантам / Н.М. Колычев, В.Н. Аржаков, Н.И. Попов, Н.А. Шкиль, Л.Н. Гордиенко, В.Г. Софронов, Н.Н. Шкиль, Г.М. Копылов, Н.Н. Николаенко, П.В. Аржаков // Монография – Омск: Вариант-Омск, 2013. – С. 157 – 160.

Рецензенты:

Новицкий А.А., д.в.н., профессор кафедры ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней Института ветеринарной медицины и биотехнологии ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет имени П.А.Столыпина», г. Омск;

Аржаков В.Н., д.в.н., профессор кафедры товароведения и экспертизы качества, ФГБОУ ВПО «Омский государственный институт сервиса», г. Омск.