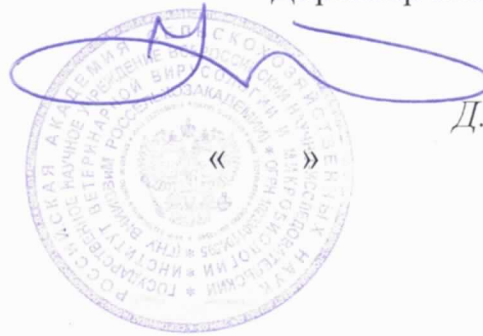


Российская академия сельскохозяйственных наук

Государственное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский институт
ветеринарной вирусологии и микробиологии
(ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии)

УТВЕРЖДАЮ
Директор института



Д.В.КОЛБАСОВ
2011 г.

ОТЧЕТ

о научно-исследовательской работе

ПРОВЕСТИ НАУЧНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ИЗУЧЕНИЮ СПЕКТРА
АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА
«РУСДЕЗ-УНИВЕРСАЛ 50» ПРОИЗВОДСТВА ООО «РУСДЕЗ»

Покров, 2011

РЕФЕРАТ

Отчет на 7 стр., 2 табл.

РУСДЕЗ-УНИВЕРСАЛ 50, E. COLI, ST. AUREUS, B. ANTHRACIS,
БАКТЕРИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ, СПОРОЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ,
ЛАБОРАТОРНЫЕ ИСПЫТАНИЯ

Объект исследований: дезинфицирующее средство отечественного производства «РусДез-универсал 50».

Цель работы: изучение антимикробной активности средства «РусДез-универсал 50».

В лабораторных условиях исследованы бактериостатическая, минимальная бактерицидная и спороцидная концентрации средства «РусДез-универсал 50» с использованием тест-микроорганизмов 1, 2 и 4 групп устойчивости, а также снижение активности дезинфицирующего средства в присутствии высокомолекулярного белка.

ВВЕДЕНИЕ

В комплексе мероприятий, направленных на предупреждение и ликвидацию инфекционных болезней сельскохозяйственных животных, немаловажное значение играет своевременное и эффективное проведение дезинфекции. В последние годы на рынке дезинфицирующих средств представлен весьма большой ассортимент препаратов как отечественного, так и зарубежного производства. Однако многие из них обладают высокой бактерио- и вирусстатической активностями и низким бактерицидным и вирулицидным действием, что не позволяет им эффективно обеззараживать контаминированные поверхности, особенно загрязненные органическими веществами.

Ранее проведенными во ВНИИВСГЭ исследованиями была установлена высокая дезинфицирующая активность растворов, содержащих тетраметилендиэтилететрамин, а также в литературе представлены сведения о высокой бактерицидной активности четвертично-аммониевых соединений по отношению к возбудителям бактериальных (неспорообразующие микроорганизмы) и вирусных болезней с/х животных и птицы, контроль качества дезинфекции при которых проводится по кишечной палочке (1-я группа устойчивости) и стафилококку (2-я группа устойчивости).

Учитывая необходимость расширения рынка эффективных и безопасных дезинфектантов целесообразна разработка комплексных препаратов, компоненты которых воздействуют на различные клеточные структуры, в результате чего возможно повышение их исходной бактерицидной активности. К числу таких дезинфекционных средств относится и «РусДез-универсал 50» представленный для изучения спектра его антимикробного действия.

1. ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЙ

Образец дезинфицирующего средства «РусДез-универсал 50» производства ООО «РусДез».

2. ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЙ

Определить спектр антимикробного действия средства «РусДез-универсал 50» в отношении тест-микроорганизмов различных групп устойчивости.

3. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Испытания проводили в период с 1 апреля 2011 г по 12 апреля 2011 года в соответствии с «Методами испытаний дезинфекционных средств для оценки их безопасности и эффективности», утвержденными Главным государственным санитарным врачом РФ, М., 1998 г, «Методическими

указаниями о порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики», утвержденными ГУВ Госагропрома СССР в 1987 г. И методическими указаниями «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам», М, 2004 г.

4. ОЦЕНИВАЕМЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

- минимальные бактериостатическая и бактерицидная концентрации;
- минимальная спороцидная концентрация.

5. МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ

5.4.1. Получение бациллярных культур в вегетативной форме

В пробирки со скошенным триптон-соевым агаром засевают предварительно проверенные на отсутствие посторонней контаминации бактериальной и грибной микрофлорой культуры тест-микроорганизмов (*Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*) в посевной дозе 10^3 - 10^6 /мл. Посевы инкубируют при температуре $(36\pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 18-20 ч. Суточные культуры контролируют на отсутствие контаминантов. Для этой цели из полученных культур готовят мазки, окрашивают по Граму и подвергают световой микроскопии. Затем агаровые культуры смывают физиологическим раствором.

5.4.2. Получение материала культур *B. anthracis* в споровой форме.

Суточную бульонную культуру в объёме 0,3-0,5 мл засевают на чашки с картофельным агаром. Посевы на картофельном агаре инкубируют в течение 6-7-ми суток. % спорообразования определяют путём выборочной микроскопии мазков из чашек в препарате «раздавленная капля». По достижении %-та спорообразования 80-100 споры смывают стерильной дистиллированной водой. Лизис остаточных вегетативных форм бактериальной культуры производят прогреванием споровой суспензии при 80°C . Споры отмывают от остатков питательной среды и ресуспендируют в дистиллированной воде. Полученную споровую культуру контролируют на отсутствие посторонней бактериальной контаминации высевами на МПБ и МПА.

5.4.3. Определение бактерицидной и бактериостатической активности методом серийных разведений.

Для определения минимальной бактерицидной концентрации средства «РусДез-универсал 50» готовили его серийные двукратные разведения на мясо-пептонном бульоне (МПБ) от 0,5 % до 0,0009% в объёме 2,0 мл.

При приготовлении заражающей суспензии определяли исходную концентрацию бактериальных клеток в смывах с агаровых культур тест-микроорганизмов (*E. coli* штамм O:157 и *S. aureus* штамм 209-P) с использованием стандарта мутности, после чего готовили рабочее

разведение инокулюма в концентрации 1×10^7 м.к./мл.

В приготовленные разведения препарата вносили инокулюмом одной из культур в объеме 0,2 мл и инкубировали при температуре 37°C .

Результаты учитывали визуально через 18-20 часов инкубации при 37°C по появлению роста культуры в пробирках (бактериостатическое действие).

Контролем служили бульонные культуры микроорганизмов, в которые препарат не вносился.

Бактерицидное действие препарата изучали по окончании исследований по определению бактериостатического действия. Для этого из пробирок, в которых видимый рост отсутствовал, по 0,2 мл высевали на МПА. Посевы продолжали инкубировать при 37°C и через 5 суток повторяли процедуру посева на МПА. Пересевы инкубировали при 37°C в течение 18-24 часов, после чего проводили учет результатов.

Минимальной бактерицидной дозой является та доза препарата, при которой отсутствовал рост микроорганизма на МПА.

Для изучения влияния высокомолекулярного белка на антимикробную активность проводили аналогичные испытания с добавлением в МПБ нормальной сыворотки крови лошади в конечной концентрации 40 %.

5.4.4. Изучение спороцидного действия.

Для определения спороцидной активности препарата готовили его серийные двукратные разведения на дистиллированной воде от 2,5 % до 0,0048 % в объеме $1,0 \text{ см}^3$.

Для приготовления заражающей суспензии методом серийных разведений определяли исходную концентрацию спор штамма 55-ВНИИВВиМ. Из исходной споровой суспензии готовили рабочее разведение инокулюма с концентрацией 10^7 спор/ см^3 .

В приготовленные разведения препарата вносили инокулюмом спор *B. anthracis* в объеме $0,1 \text{ см}^3$. Посевы инкубировали при 37°C в течение 24 часов.

По окончании сроков инкубации из всех пробирок производили высев содержимого на агаризованные питательные среды и культивировали при 37°C в течение 72 часов.

О спороцидной активности препарата судили по отсутствию роста колоний *B. anthracis* на агаре.

Все эксперименты *in vitro* проводили в трёх повторностях.

6. РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЙ

Антимикробную активность средства «РусДез-универсал 50» изучали в жидких и на твердых питательных средах с возбудителями

колибактериоза и стафилококкоза с использованием белковой нагрузки и без нее.

Минимальную бактерицидную концентрацию (МБК) определяли методом серийных разведений в МПБ с последующим высевом на МПА на чашках Петри.

В таблице 1 представлены результаты изучения бактериостатического и бактерицидного действия средства «РусДез-универсал 50».

Таблица 1. Антимикробная активность средства «РусДез-универсал 50» в отношении *E. coli* и *S. aureus*.

Тест-микроорг.	Вид действия	Белковая защита	Концентрация препарата, % от исходного										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
<i>E. coli</i>	Бактериостатич.	нет	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
		есть	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	Бактерицидн.	нет	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
		есть	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i>	Бактериостатич.	нет	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
		есть	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	Бактерицидн.	нет	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
		есть	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

Примечание: 1 – 0,5 %; 2 – 0,25 %; 3 – 0,125; 4 – 0,0625; 5 – 0,0312; 6 – 0,0156; 7 – 0,0078; 8 – 0,0039; 9 – 0,0019; 10 – 0,0009;

- - роста нет;

+ - рост есть

В результате проведенных испытаний установлено, что средство «РусДез-универсал 50» обладает выраженной антимикробной активностью в отношении тест-культур грамположительных (*S. aureus*) и грамотрицательных (*E. coli*) микроорганизмов обеспечивая их инактивацию при концентрации 0,0078 % от исходной соответственно. При добавлении высокомолекулярного белка происходит снижение бактерицидной активности.

В результате проведенных испытаний по определению спороцидной активности средства «РусДез-универсал 50» установлено, что препарат обладает спороцидной активностью в отношении культуры *B. anthracis*, обеспечивая полную инактивацию спор тест-микроорганизма через 24 часа при температуре инкубации 37 °С в концентрации 0,312 % от исходной. Данные представлены в таблице 2

Таблица 2. Спороцидная активность средства «РусДез-универсал 50» в отношении *B. anthracis*

Препарат	Концентрация препарата, %								
	2,5	1,25	0,625	0,312	0,156	0,078	0,039	0,019	0,009
РусДез-универсал	-	-	-	-	+	+	+	+	+

Примечание: «-» - отсутствие видимого роста микроорганизма на плотной питательной среде; «+» - наличие роста микроорганизма;

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Средство «РусДез-универсал 50» по результатам лабораторных исследований обладает выраженной бактерицидной и бактериостатической активностями в отношении тест-культур грамположительных (*S. aureus*) и грамотрицательных (*E. coli*) микроорганизмов обеспечивая их инактивацию при концентрации 0,0078 % от исходной соответственно.

Средство «РусДез-универсал» обладает выраженной спороцидной активностью в отношении культуры *B. anthracis* штамм 55-ВНИИВВиМ в концентрациях 0,312 % от исходной.

Руководитель испытаний:

Зав. лаб. «Экспериментальной микробиологии»

доктор биологических наук, профессор

Сеязнинов Ю.О.