

УДК 576.895.1

<https://doi.org/10.31016/978-5-6046256-9-9.2022.23.129-134>

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОВИЦИДНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ ПРИ ПОМОЩИ МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНОЙ МИКРОКАМЕРЫ

Герасимов В. Н.¹,

доктор биологических наук,
главный научный сотрудник отдела дезинфектологии,
ilcvngerasimov@obolensk.org

Асланян Е. М.¹,

научный сотрудник отдела дезинфектологии,
askanas@yandex.ru

Подгорная Н. Н.¹,

инженер отдела дезинфектологии

Тырышкина А. И.¹,

лаборант-исследователь отдела дезинфектологии

Аннотация

В профилактике паразитарных болезней важное место занимает поиск новых химических препаратов для дезинвазии. Критерием отбора часто служит овицидная эффективность препаратов в отношении яиц гельминтов. Исследование овицидной эффективности – достаточно трудоемкий процесс, требующий определенных навыков. В публикациях, посвященных этой теме, очень мало места отводится методическим вопросам. Традиционные методы испытания и отбора препаратов для дезинвазии, предлагаемые руководствами, практически не меняются на протяжении многих лет. В предлагаемой статье описан новый усовершенствованный метод определения овицидной эффективности дезинфектантов с использованием многофункциональной микрокамеры. Проведено экспериментальное сравнение нового метода с традиционным. Для сравнения выбран наиболее трудоемкий этап эксперимента – освобождение яиц от действия дезинфектанта. Показаны преимущества предлагаемого метода. Он более прост и для выполнения одинаковой работы требует действий в 3 раза меньше, чем традиционный. Освобождение яиц от действия дезинфектанта при помощи многофункциональной микрокамеры происходит в 2,5 раза быстрее, чем при помощи центрифуги. Время выполнения операций меньше зависит от скорости работы оператора. Ис-

¹ Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (142279, Россия, г. о. Серпухов, р. п. Оболensk, Территория «Квартал А», д. 24)

пользование микрокамеры в постановке опытов уменьшает потерю яиц в процессе их освобождения от действия дезинфектанта почти на 30%.

Ключевые слова: методы, дезинвазия, овицидная эффективность, многофункциональная микрокамера

DETERMINING THE OVICIDAL EFFICACY OF DISINFECTANTS BY USING A MULTIFUNCTIONAL MICROCHAMBER

Gerasimov V. N.¹,

Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher of the Disinfectology Department,
ilcvngerasimov@obolensk.org

Aslanyan E. M.¹,

Researcher of the Disinfectology Department,
askanas@yandex.ru

Podgornaya N. N.¹,

Engineer of the Disinfectology Department

Tyryshkina A. I.¹,

Laboratory Assistant-Researcher of the Disinfectology Department

Abstract

In the prevention of parasitic diseases, an important place is occupied by the search for new chemical preparations for disinvasion. The selection criterion is often the ovicidal efficacy of drugs against helminth eggs. The study of ovicidal efficacy is a rather laborious process that requires certain skills. In publications devoted to this topic, very little space is given to methodological issues. The traditional methods of testing and selection of drugs for disinfestation, proposed by the guidelines, have not changed much over the years. This article describes a new improved method for determining the ovicidal effectiveness of disinfectants using a multifunctional microchamber. An experimental comparison of the new method with the traditional one was made. For comparison, the most time-consuming stage of the experiment was chosen - the release of eggs from the action of the disinfectant. The advantages of the proposed method are shown. It is simpler, and to perform the same work requires 3 times less actions than the traditional one. The release of eggs from the action of the disinfectant using a multifunctional microchamber occurs 2,5 times faster than using a centrifuge. The execution time of operations is less dependent on the speed of the operator. And the use of a microchamber in setting up experiments reduces

¹ Federal Budget Institution of Science "State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology" (24, "Quarter A" Territory, work settlement Obolensk, City District Serpukhov, 142279, Russia)

the loss of eggs in the process of their release from the action of the disinfectant by almost 30%.

Keywords: methods, disinvasion, ovicidal efficacy, multifunctional microchamber

Введение. Поиск препаратов с сильным противопаразитарным действием остается весьма актуальным направлением в профилактике паразитарных болезней. В то же время методическая база таких исследований, на наш взгляд, недостаточно разработана. Методы испытания и отбора препаратов для дезинвазии практически остаются неизменными в течение нескольких последних десятилетий [1, 3, 4]. Следует также отметить, что постановка экспериментов традиционным способом достаточно трудоемка. С целью усовершенствования методов исследований в данной области нами была предложена многофункциональная микрокамера, использование которой существенно упрощает постановку опытов [2]. Для демонстрации преимуществ усовершенствованного метода было проведено его сравнение с традиционным в ходе исследования овицидного действия дезинфектантов.

Материалы и методы. Сравнение традиционного и усовершенствованного методов было сделано на материале, полученном в ходе исследования овицидного действия трех дезинфектантов в отношении яиц *Ascaris suum*. Обработку яиц дезинфектантами проводили суспензионным способом в пробирках «Эппендорф». Освобождение яиц от действия дезинфектантов, обработку материала проводили разными методами: традиционным, при помощи центрифуги [1, 4], и усовершенствованным, при помощи многофункциональной микрокамеры [2].

Микрокамера представляет собой светопроницаемую ячейку в виде перевернутого усеченного конуса. Диаметр большего (верхнего) основания конуса 8 мм, меньшего (нижнего) — 5 мм, высота конуса 6 мм. К нижнему основанию плотно прикреплена улавливающая мембрана, представляющая собой тонкую полимерную пленку с диаметром пор до 5 мкм.

При постановке опытов традиционным методом дезинфектант по окончании времени экспозиции удаляли из пробирок до объема 50 мкл, затем добавляли по 1300 мкл дистиллированной воды и центрифугировали в течение 5 минут при 800 оборотах в минуту. Затем отбирали надосадочную жидкость до уровня 50 мкл, добавляли воду в указанном выше объеме и снова центрифугировали. Операцию центрифугирования повторяли трижды. При постановке опытов усовершенствованным методом, по окончании экспозиции обработанные

яйца вместе с дезинфектантом пропускали через микрокамеру, установленную в чашке Петри на подкладку из бязи, сложенной в 4–8 слоев. После этого микрокамеру с обработанными яйцами переносили на чистую подкладку из бязи и трижды пропускали через нее воду по 1000 мкл, удаляя таким образом остаток дезинфектанта. Далее, для определения жизнеспособности яиц, микрокамеры устанавливали в 4-луночные культуральные планшеты с крышкой. В каждую микрокамеру и в лунку вокруг нее добавляли по 600 мкл стерильной дистиллированной воды. Обработанные яйца в планшетах помещали в эксикатор и культивировали в оптимальных условиях.

Жизнеспособность яиц, освобожденных от действия дезинфектанта при помощи центрифуги, определяли таким же способом. Для этого суспензию яиц после третьего центрифугирования переносили из пробирки в микрокамеру, удаляли жидкость, устанавливали в планшет и далее поступали так же, как было описано выше.

Сравнение методов проводили по трем показателям: трудоемкости процесса освобождения яиц от действия дезинфектантов (числу выполняемых действий), продолжительности этого процесса по времени и числу яиц, оставшихся после манипуляции для последующего определения их жизнеспособности.

Продолжительность этапа освобождения яиц от действия дезинфектантов для каждого из исследуемых методов определяли с учетом алгоритма выполнения работы. Традиционным методом каждую операцию выполняли сразу для всех вариантов опыта, фиксируя время ее проведения. Общую продолжительность этапа для всех вариантов опыта получали, складывая время выполнения отдельных операций. При работе усовершенствованным методом для каждого варианта выполняли сразу все действия. Фиксировали общее время выполнения этапа от начала работы с первым до окончания работы с последним вариантом.

Результаты исследований. Этап освобождения яиц от воздействия дезинфектанта, выполняемый традиционным методом, состоял из 7 основных операций, каждая из которых, в свою очередь, дробилась на несколько более простых действий (всего 22 действия). Для освобождения яиц от воздействия дезинфектанта при помощи микрокамеры было достаточно 7 действий. Таким образом, можно сказать, что усовершенствованный метод определения овицидной активности более прост в сравнении с традиционным, и на этапе освобождения яиц от действия дезинфектантов позволяет в три раза сократить число совершаемых действий.

Полученные данные показали, что усовершенствованный метод имеет преимущество в скорости выполнения работы по сравнению с традиционным. Освобождение яиц от действия дезинфектанта усовершенствованным методом происходит, в среднем, в 2,5 раза быстрее (от 2,3 до 3 раз) по сравнению с традиционным. Кроме того, анализируя данные по времени обработки одного варианта опыта, можно отметить, что в случае применения усовершенствованного метода оно меньше зависит от скорости выполнения работы оператором. Так, разброс времени при обработке одного варианта опыта разными операторами усовершенствованным методом составляет 0,3 минут (от 3,5 до 3,8 минут), а традиционным – 2,6 минут (от 8,1 до 10,7 минут).

Помимо упрощения работы и экономии времени, при использовании микрокамеры в постановке опытов по изучению овицидного действия дезинфектантов, происходит также сбережение материала для тестирования.

Анализ результатов исследований показывает, что в опытах, выполненных усовершенствованным методом, число яиц всегда больше, чем в опытах, выполненных традиционным методом. Разница в среднем составляет 29% (от 15% до 38%). Так, на этапе освобождения яиц от действия дезинфектанта традиционным методом при помощи центрифуги, в среднем, происходит потеря более четверти яиц. Кроме того, в опытах, выполненных усовершенствованным методом, по сравнению с традиционным, фактическое число яиц более соответствует расчетному. Расчетное число яиц определяли, умножая плотность яиц в рабочей суспензии на объем суспензии в каждом варианте и на число вариантов опыта. Фактическое число яиц считали в микрокамерах перед постановкой на культивирование.

Хотя в данной работе сравнение двух методов ограничено этапом освобождения яиц от действия дезинфектанта, следует отметить, что на следующем этапе – определении жизнеспособности яиц, использование многофункциональной микрокамеры также существенно упрощает постановку опыта. Микрокамера позволяет легко заменять воду, в которой происходит культивирование яиц, а, при необходимости, также легко окрашивать яйца. Кроме того, использование многофункциональной микрокамеры делает опыт более компактным.

Заключение. Таким образом, использование многофункциональной микрокамеры для постановки опытов по изучению воздействия дезинфектантов на яйца гельминтов позволяет существенно упростить процесс промывания яиц от дезинфектанта, отказаться от примене-

ния нейтрализатора, сократить время постановки опыта, сократить потерю яиц на этапе промывания, упростить процесс определения жизнеспособности яиц методами окрашивания и культивирования.

Список источников

1. МУК 4.2.2661-10. Методы санитарно-паразитологических исследований. М., 2010. 37 с.
2. Патент № 2699664 С1 Российская Федерация, МПК А61L 2/16. Многофункциональная микрокамера и способ экспериментального отбора овоцидных химических соединений для обеззараживания (дезинвазии) поверхностей и объектов, загрязненных яйцами гельминтов: № 2018144380: заявл. 14.12.2018; опубл. 09.09.2019 / В. Н. Герасимов, С. А. Котов, Е. М. Асланян и др.; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ГНЦ ПМБ).
3. Романенко Н. А., Падченко И. К., Чебышев Н. В. Санитарная паразитология. М.: Медицина, 2000. С. 182-191.
4. Симонов А. П. Методика испытания и отбора овоцидных химических соединений для обеззараживания объектов с твердым покрытием (помещений, пола, клеток и др.) // Бюллетень Всесоюзного ордена Трудового Красного Знамени института гельминтологии им. К. И. Скрябина, 1977. Вып. 19. С. 51.

References

1. MUK 4.2.2661-10. Methodical instructions. Methods of sanitary parasitological research. Moscow, 2010. 37 p. (In Russ.)
2. Patent No. 2699664 C1 Russian Federation, MPK A61L 2/16. Multifunctional micro-chamber and method of experimental selection of ovicidal chemical compounds for disinfection (disinvasion) of surfaces and objects contaminated with helminth eggs: No. 2018144380: application 12/14/2018: publ. 09/09/2019 / V. N. Gerasimov, S. A. Kotov, E. M. Aslanyan [et al.]; applicant Federal Budget Institution of Science "State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology" of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare (FBIS SSC RHW). (In Russ.)
3. Romanenko N. A., Padchenko I. K., Chebyshev N. V. Sanitary parasitology. Moscow, Medicine, 2000; 182-191. (In Russ.)
4. Simonov A. P. Method of testing and selection of ovocidal chemicals compounds for disinfection of objects with a hard coating (rooms, floors, cages, etc.). Bulletin of the All-Union Order of the Red Banner of Labor of the Institute of Helminthology named after K. I. Scriabin. 1977; 19: 51. (In Russ.)