

Cygan Z., Wierciński J., Barcz I. — **Gram-negative anaerobic non-spore-forming bacilli in hoof infections of sheep.**

The samples of the skin and hoof taken from 28 animals with the signs of lameness were examined towards non-spore-forming anaerobic bacilli. Twelve gram-negative non-spore-forming bacilli were isolated from which eight were classified as *Bacteroides* on the basis of the production as a main metabolite acetic acid, treonine dehydrogenase and low pH of broth medium (4.2—5.2). Four isolates were identified as *F. necrophorum* on the account of butyric

acid, treonine dehydrogenase and low pH of broth medium production. The above anaerobes were found in 42.7% of samples under study (*Bacteroides* 23.5%, *Fusobacterium* — 14.2%). The strains of *Bacteroides* showed various morphological and biochemical properties, which allowed to differentiate two groups designated as I (six strains) and II (two strains). The strains belonging to group I revealed some similarities to *B. nodosus*. Keratolytic effect was noticed after prolonged incubation of six strains (*Bacteroides*) of the group I and two strains of *F. necrophorum*. Instead, no strain of the group II split horn preparation.

CEZARIUSZ ŻÓRAWSKI, PELAGIA SKWAREK, TADEUSZ KARPINSKI

Prątkobójcze działanie preparatów halogenoforowych Jod Z-III, Polchlor Z, Bromeks A i Brom Z-I

Pracownia Immunologii Gruźlicy, Instytut Weterynarii w Puławach,
ul. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Skuteczna dezynfekcja jest jednym z ważniejszych czynników w zapobieganiu i zwalczaniu chorób zakaźnych ludzi i zwierząt. Szczególną rolę odgrywa ona w walce z gruźlicą. Zestaw środków dezynfekcyjnych używanych w medycynie ludzkiej i weterynaryjnej wzbogacił się w ostatnich latach o preparaty halogenoforowe wykazujące szerokie spektrum działania przeciwko drobnoustrojom. Preparaty te stanowią związki kompleksowe chlorowców oraz środków powierzchniowo czynnych, lub też rozpuszczalnych w wodzie polimerów posiadających zdolność roztwarzania w sobie środka czynnego. Z tej grupy związków preparaty zawierające jod, zwane jodoforami, zyskały największą popularność i są szeroko stosowane w antyseptyce i dezynfekcji (3). W przeciwieństwie do tradycyjnie stosowanych roztworów jodu cechują się one brakiem działania drażniącego na skórę i błony śluzowe, brakiem zdolności uczulających, niską toksycznością i znikomym działaniem korozyjnym na metale (2, 3). Mniej znane są natomiast preparaty halogenoforowe, w których środkiem czynnym jest chlor lub brom.

Przemysł chemiczny w naszym kraju syntetyzuje coraz więcej nowych środków dezynfekcyjnych z grupy halogenoforów, których aktywność drobnoustrojobójcza musi być dokładnie określona. Szczególnie interesujące wydaje się działanie prątkobójcze tych preparatów, w aspekcie ich przydatności do dezynfekcji pomieszczeń i urządzeń inwentarskich, przeprowadzanych w ramach obowiązującego programu zwalczania gruźlicy bydła i innych zwierząt.

Celem niniejszej pracy było określenie *in vitro* działania prątkobójczego 4 preparatów halogenoforowych produkcji Pollena o nazwie: Jod Z-III, Polchlor Z, Bromeks A i Brom Z-I.

Materiał i metody

Szczepki. Do badań użyto 6 szczepów bakteryjnych: *Myc. tuberculosis* H₃₇R_v, *Myc. bovis* AN₅, *Mycobac-*

terium avium TB, *Myc. fortuitum* oraz *Staphylococcus aureus* 35 i *Salmonella typhimurium* 336. Szczepki pochodziły z kolekcji szczepów Zakładu Mikrobiologii Instytutu Weterynarii w Puławach.

Z hodowli wymienionych drobnoustrojów sprządzono zawiesinę o gęstości 10 mg półsuchej masy bakteryjnej w 1 ml wody destylowanej. W przypadku prątków kwasoopornych zawiesinę sporządzano z 4—14-dniowej hodowli prątków na podłożu Lowensteina-Jensena, a w przypadku gronkowca złocistego i pałeczki *Salmonella* — z 48 godz. hodowli tych drobnoustrojów na agarze zwykłym.

Preparaty dezynfekcyjne. Badaniami objęto 4 preparaty halogenoforowe produkcji Pollena oraz dla porównania fenol i lizol. Spośród związków halogenoforowych zbadano: Jod Z-III, który zawiera 2,21% aktywnej substancji, a pH 1% roztworu = 8,4, Polchlor Z o zawartości 0,6% JCh i pH 1% roztworu = 8,3, Bromeks A zawierający 0,49% Br₂ i o pH=8,5, Brom Z-I posiadający 0,42% aktywnego Br₂, a pH=8,45.

Wszystkie środki dezynfekcyjne badano w następujących stężeniach: 0,5 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 i 5,0%. Przy sporządzaniu rozcieńczeń przyjmowano stężenia handlowe tych preparatów za 100%. Preparaty halogenoforowe odmierzano wagowo, a fenol (ch. cz.) i lizol (*resolium saponatum*, Centrowet) objętościowo. Jako rocieńczalnika używano w każdym przypadku wodę destylowaną. Rozcieńczenia badanych preparatów dezynfekcyjnych sporządzano bezpośrednio przed nastawieniem próby. Czas kontaktu zawieszin drobnoustrojów z badanymi środkami dezynfekcyjnymi wynosił 1, 5, 15 i 60 minut w temperaturze pokojowej.

Sposób wykonania badań. Do 0,1 ml zawiesziny bakteryjnej dodawano 5 ml środka dezynfekcyjnego o odpowiednim stężeniu, dokładnie mieszano i po upływie ustalonego czasu ekspozycji pobierano po 0,5 ml do probówek wirówkowych i natychmiast rozcieńczano 10 ml jałowej wody destylowanej. Próbkę wirowano przez 10 minut przy 3000 obr./min. Po odwirowaniu odlewano supernatant, osad rozprowadzano w około 10 ml wody destylowanej i powtórnie wirowano. Czynność tę powtarzano trzykrotnie. Po ostatnim wirowaniu osad rozprowadzano w 1 ml jałowej wody destylowanej i posiewano pipetą po 0,15 ml na dwa podłoża Lowensteina-Jensena i Petraganiego (prątki kwasooporne) lub też na 2 podłoża skośne agaru zwykłego (gronkowiec lub salmonela). Jako kontroli używano odpowiednio zawiesziny bakteryjne, do których zamiast środka dezynfekcyjnego dodawano roztwór fizjologiczny. Posiane podłoża inkubowano w temperaturze 37°C. Wzrost prątków kwasoopornych sprawdzano po 7, 14, 21 i 42 dniach, a gronkowca złocistego i pałeczek *Salmonella* po 24, 48 i 72 godzinach.

Intensywność wzrostu określano według trzyplusowej skali: +++ — wzrost jak na podłożu kontrolnym; ++ — zahamowanie wzrostu o około 50% w stosunku do kontroli; + = wzrost pojedynczych kolonii i — całkowite zahamowanie wzrostu. Wszystkie próby wykonywano w dwóch powtórzeniach. Przy rozbieżności wyników przyjmowano zawsze jako bakteriobójcze wyższe stężenie preparatu.

nella, a 2% roztwór niszczył w czasie krótszym niż 5 minut *Myc. avium*, *Myc. fortuitum* i gronkowca. Jednakże prątki gruźlicy typu ludzkiego i bydłowego ginęły pod wpływem 2% roztworu Polchloru dopiero w ciągu 60 minut, a gdy użyto 3% stężenia — w czasie do 15 minut.

Tab. 1. Aktywność bakteriobójcza 4 środków halogenoforowych oraz fenolu i lizolu na wybrane szczepy prątków kwasoopornych

rodzaj	stężenie w %	<i>Myc. tuberculosis H37Rv</i>				<i>Myc. bovis AN5</i>				<i>Myc. avium TB</i>				<i>Myc. fortuitum</i>				
		1	5	15	60	1	5	15	60	1	5	15	60	1	5	15	60	
Jod Z-III	0,5	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	1,0	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	2,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	
Polchlor Z	0,5	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	1,0	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	2,0	##	##	##	—	##	##	##	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
	3,0	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bromeks A	1,0	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	2,0	##	##	+	+	##	##	##	##	##	##	+	+	##	##	##	##	##
	3,0	##	—	—	—	##	##	—	—	##	—	—	—	##	##	##	##	##
	5,0	##	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	
Brom Z-I	5,0	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	1,0	##	##	##	—	##	##	##	—	##	##	##	##	##	##	##	##	+
Fenol	1,0	##	##	##	—	##	##	##	—	##	##	##	##	##	##	##	##	+
	2,0	—	—	—	—	##	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Lizol	1,0	##	##	—	—	##	##	+	—	##	##	##	##	##	##	##	##	##
	2,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Objaśnienia: +++ — wzrost jak na podłożu kontrolnym, ++ — zahamowanie wzrostu o około 50%, + — wzrost pojedynczych kolonii, — — brak wzrostu.

Wyniki i omówienie

Spośród 4 testowanych preparatów halogenoforowych Jod Z-III wykazał największą aktywność przeciwbakteryjną. Jak z danych tab. 1 i 2 wynika, już 1% roztwór tego preparatu, przy ekspozycji (czas kontaktu drobnoustroju ze środkiem przeciwbakteryjnym) 1 minuty działał bakteriobójczo na pałeczki *Salmonella*, a przy ekspozycji 15—60 minut także na użyte w badaniach szczepy prątków kwasoopornych i gronkowca złocistego. 2% stężenie Jodu Z-III wywierało działanie bakteriobójcze na wszystkie badane drobnoustroje, w czasie 1—15 minut.

Dużą aktywność bakteriobójczą wykazał także Polchlor Z. Preparat ten użyty jako 1% roztwór zabijał w ciągu 1 minuty pałeczki *Salmo-*

Nieco inne działanie przeciwbakteryjne posiadał Bromeks A. 2% stężenie tego preparatu zabijało w ciągu 1 minuty gronkowca i salmonelę, ale nie zabijało, nawet w czasie 60 minut, użytych w doświadczeniu prątków kwasoopornych. Bromeks A dopiero jako 5% roztwór działający 5—15 minut niszczył *Myc. tuberculosis*, *Myc. bovis*, *Myc. avium* i *Myc. fortuitum*. Najslabsze działanie przeciwbakteryjne posiadał Brom Z-I. 5% roztwór tego preparatu działając w ciągu 60 minut nie zabijał żadnego z sześciu użytych w badaniach szczepów bakterii.

Użyte do celów porównawczych tradycyjne środki dezynfekcyjne — fenol i lizol, wykazały *in vitro* bakteriobójcze działanie w stężeniu 2%, przy ekspozycji 1—5 minut w stosunku do wszystkich użytych w pracy drobnoustrojów. Działanie prątkobójcze tych dwóch środków dezynfekcyjnych interesowało wielu badaczy (6, 7, 9—11). Vialliar i wsp. (11) ustalili na podstawie licznych prób, że najmniejsze stężenie bakteriobójcze (NSB) fenolu dla grupy *Myc. avium* wynosi 2,5%, przy czasie ekspozycji 5 min. Natomiast dla szczepu *Myc. smegmatis* NSB wahało się w granicach 2,5—0,625%. Pavlas (10) wykazał, że 0,8% roztwór lizolu zabija *Myc. bovis* w środowisku wodnym w ciągu 10—20 minut. Krzywicka i wsp. (7) podają, że stężenia prątkobójcze lizolu przy ekspozycji 10 min. ustalone przez różnych autorów waha się w szerokich granicach 0,3—10%. Te duże rozbieżności wynikają prawdopodobnie zarówno ze stosowania różnych technik badania, u-

Tab. 2. Aktywność bakteriobójcza 4 środków halogenoforowych oraz fenolu i lizolu na wybrane szczepy gronkowca i salmoneli

rodzaj	stężenie w %	<i>Salmonella typhimurium 336</i>				<i>Staphylococcus aureus 35</i>			
		1	5	15	60	1	5	15	60
Jod Z-III	0,5	##	##	##	##	##	##	##	##
	1,0	—	—	—	—	+	+	+	—
	2,0	—	—	—	—	—	—	—	—
Polchlor Z	0,5	##	##	##	##	##	##	##	##
	1,0	—	—	—	—	+	+	+	+
Bromeks A	1,0	##	##	##	##	##	##	##	##
	2,0	—	—	—	—	—	—	—	—
Brom Z-I	5,0	##	##	##	##	##	##	##	##
	1,0	##	##	##	##	+	+	+	+
Fenol	1,0	—	—	—	—	—	—	—	—
	2,0	—	—	—	—	—	—	—	—
Lizol	1,0	##	##	##	##	##	##	##	##
	2,0	—	—	—	—	—	—	—	—

Objaśnienia jak w tab. 1.

życia różnych szczepów prątków kwasoopornych, jak też użycia lizolu produkcji różnych firm.

Spośród związków halogenoforowych preparaty jodoformowe były przedmiotem wszechstronnych badań (1, 2, 4, 5, 8, 12). Wyniki tych badań trudno jednak porównywać z wynikami badań własnych, gdyż tylko w nielicznych pracach uwzględniano prątki kwasooporne, a ponadto badaniom poddawano związki o różnych właściwościach chemicznych i fizycznych, podając w publikacjach zazwyczaj tylko nazwę firmową preparatu. Odniesienie aktywności przeciwbakteryjnej, a szczególnie przeciwpątkowej, badanych związków halogenoforowych, do podobnej aktywności fenolu i lizolu, przy zastosowaniu takiej samej techniki badań, wydaje się tu najbardziej miarodajne.

Z przeprowadzonych badań wynika, że dwa z badanych preparatów halogenoforowych, a mianowicie: Jod Z-III i Polchlor Z — wykazują *in vitro* bakteriobójcze działanie podobne lub nawet większe, niż fenol i lizol. Trzeci ze stosowanych preparatów — Bromeks A posiada równie dużą, jak poprzednie preparaty aktywność bakteriobójczą w stosunku do pałeczek *Salmonella* i gronkowca złocistego, znacznie słabiej działa natomiast na prątki kwasooporne. Czwarty preparat — Brom Z-I nie wykazywał, nawet w najwyższych stężeniach i czasach ekspozycji, żadnego działania przeciwbakteryjnego. Stosunkowo silne działanie prątkobójcze posiadają zatem tylko dwa związki: Jod Z-III i Polchlor Z. Preparaty te muszą być jednak dokładnie zbadane zarówno w warunkach laboratoryjnych (na większej liczbie szczepów prątków kwasoopornych) jak i terenowych, zanim będzie je można zalecić jako skuteczne środki dezynfekcyjne do stosowania przy zwalczaniu gruźlicy.

Wnioski

1. Spośród badanych związków halogenoforowych preparat Jod Z-III wykazuje *in vitro* najsilniejsze działanie bakteriobójcze. 1% roztwór tego preparatu zabija pałeczki *Salmonella* przed upływem 1 minuty, a prątki kwasooporne i gronkowce w ciągu 5—60 minut.

2. Silne działanie przeciwbakteryjne wykazuje także Polchlor Z. Preparat ten użyty w 2% stężeniu niszczy nieomal natychmiast *Myc. avium* TB, *Myc. fortuitum*, pałeczki *Salmonella* oraz gronkowca złocistego. Prątki gruźlicy typu ludzkiego i bydłowego są mniej wrażliwe na Polchlor Z, giną one dopiero po zadziałaniu tego środka dezynfekcyjnego w postaci 3% roztworu.

3. Związek halogenoforowy o nazwie Bromeks A działa skutecznie jako 2% roztwór na salmonelę i gronkowca złocistego, znacznie słabszą aktywność ujawnia natomiast w stosunku do prątków kwasoopornych.

4. Preparat określany nazwą Brom Z-I nie wykazuje przeciwbakteryjnego działania w użytych w doświadczeniu stężeniach i czasach działania na żaden z badanych drobnoustrojów.

5. Silne działanie prątkobójcze Jodu Z-III, a także Polchloru Z stwarza możliwość wykorzystania tych preparatów, po przeprowadzeniu uzupełniających badań, jako skutecznych środków dezynfekcyjnych do zwalczania prątków gruźlicy.

Autorzy składają serdeczne podziękowanie p. doc. dr inż. Alojzemu Kłopotkowi oraz p. mgr Gabrieli Działu z Instytutu Chemii Przemysłowej za dostarczenie preparatów halogenoforowych oraz konsultacje.

Piśmiennictwo

1. Bukowski K., Mazurczak J., Sawicz E.: Resistance of Microorganisms to Desinfectants. First Int. Symp. Poznań, 1973, s. 23.
2. Hubaj B., Zebracki A., Jonderko P., Hutnikiewicz I.: Medycyna Wet. 39, 551, 1974.
3. Kędzia W.: Dezynfekcja w medycynie i farmacji. PZWL, 1977.
4. Kondracki M., Michalowska R., Radomiński W.: Medycyna Wet. 34, 469, 1978.
5. Kosewska L.: Resistance of Microorganisms to Desinfectants. First Int. Symp. Poznań, 1973, s. 112.
6. Krzywicka H., Janowska J., Borzyńska B.: Prz. Epid. 27, 267, 1973.
7. Krzywicka H., Bielicka J., Janowska J., Jaszczuk E.: Zastosowanie środków dezynfekcyjnych w szpitalach. Wyd. Metod. PZH, Warszawa, 1976.
8. Jozet B., Kita J., Sajma M., Prandota J.: Biul. V Zjazdu PTNW, Olsztyn 1, 321, 1976.
9. Pavlas M.: Vet. Med. Praha, 6, 507, 1961.
10. Pavlas M.: Docum. vet. Brno, 7, 65, 1968.
11. Vallier J., Carret G., Coulliond D.: Bull. Soc. Sci. Vet. Lyon, 80, 189, 1978.
12. Wilkosz A., Książek B., Kowalczyk S., Zabolicki W., Krzywoczyńska W., Morawski A.: Biul. V Zjazdu PTNW, Olsztyn 2, 634, 1974.

Adres autora: prof. dr Cezariusz Zórawski, ul. Partyzantów 57, 24-100 Puławy.

Журавский Ц., Скварек П., Карпинский Т. — Патологическое действие галогеноферных препаратов Jod Z-III, Polchlor Z, Bromeks A и Brom Z-I.

Среди 4 исследуемых галогеноферных соединений производства Pollena препарат Jod Z-III показал *in vitro* наиболее сильное противобактериальное действие. 1% раствор этого препарата убивал палочки *Salmonella* в течение 1 минуты, а *Myc. tuberculosis*, *Myc. bovis*, *Myc. fortuitum* и стафилококка золотистого в течение 5—60 минут. Сильное противобактериальное действие показывал также Polchlor Z. Остальных же два соединения Bromeks A и Brom Z-I показывали слабую активность или полное ее отсутствие в применяемых концентрациях (до 5%) и времени экспозиции (до 60 минут).

Zórawski C., Skwarek P., Karpiński T. — Bactericidal activity of the halogenoforic compounds Jod Z-III, Polchlor Z, Bromeks A and Brom Z-I.

Out of four halogenoforic compounds tested and produced by Pollena, the preparation Jod Z-III displayed *in vitro* the highest antibacterial activity. One per cent solution of the preparation was sufficient to kill *Salmonella typhimurium* within a minute. *Mycobacterium tuberculosis*, *Myc. bovis*, *Myc. avium*, *Myc. fortuitum* or *Staph. aureus* were destroyed within 5—60 minutes. Strong antibacterial activity showed Polchlor Z as well. However, the remaining preparations i.e. Bromeks A and Brom Z-I had small or no antibacterial activity at the concentration up to 5 per cent and in different time (up to 60 minutes).