

## МІКРОБІОЛОГІЯ, ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

УДК 619:579.61:614.43:615.074

**Оцінка нейтралізуючих властивостей тіосульфату натрію щодо пероксомоносульфату калію в мікробіологічних дослідженнях****Шевченко М.В.<sup>1</sup> , Щур Н.В.<sup>2</sup> , Пантелєєнко О.В.<sup>1</sup> , Мазур Т.Г.<sup>1</sup> ,  
Богатко Н.М.<sup>1</sup> , Богатко А.Ф.<sup>1</sup> , Савченко М.О.<sup>1</sup> , Царенко Т.М.<sup>1</sup> **<sup>1</sup> Білоцерківський національний аграрний університет<sup>2</sup> Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи

✉ Кореспондентий автор Шевченко М.В. E-mail: maks.7991@gmail.com



Шевченко М.В., Щур Н.В., Пантелєєнко О.В., Мазур Т.Г., Богатко Н.М., Богатко А.Ф., Савченко М.О., Царенко Т.М. Оцінка нейтралізуючих властивостей тіосульфату натрію щодо пероксомоносульфату калію в мікробіологічних дослідженнях. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2025. № 1. С. 92–101.

Shevchenko M., Shchur N., Panteleenko O., Mazur T., Bohatko N., Bohatko A., Savcheniuk M., Tsarenko T. Evaluation of the neutralizing properties of sodium thiosulfate concerning potassium peroxomonosulfate in microbiological studies. *Nauk. visn. vet. med.*, 2025. № 1. PP. 92–101.

Рукопис отримано: 29.03.2025 р.

Прийнято: 12.04.2025 р.

Затверджено до друку: 22.05.2025 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2025-196-1-92-101

Внутрішньолікарняні інфекції у ветеринарних клініках є значною проблемою, оскільки зумовлюють поширення антибіотикорезистентних штамів бактерій та підвищують ризики для здоров'я тварин і персоналу. Для контролю мікробного забруднення у ветеринарних закладах широко застосовують дезінфекційні засоби на основі пероксомоносульфату калію, який є потужним окисником. У дослідженні оцінювали ефективність нейтралізуючих розчинів на основі натрію тіосульфату для інактивації залишків пероксомоносульфату калію та їхній вплив на життєздатність бактерій. Тестували три розчини: натрію тіосульфату з масовими концентраціями 30 і 2 % та стандартний нейтралізатор із полісорбатом 80 і лецитином. Оцінку проводили методом серійних розведень із підрахунком колонієутворювальних одиниць, результати аналізували за допомогою ANOVA та тесту Тьюкі.

Найвищу ефективність нейтралізації проявив розчин натрію тіосульфату з масовою концентрацією 30 %. Кількість бактерій після додавання нейтралізованого розчину Етасепту зменшилась на 0,22 lg КУО/см<sup>3</sup> в порівнянні з контрольною суспензією, розведеною фізіологічним розчином. Обидва нейтралізуючих розчини (2 % Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> та стандартний нейтралізуючий розчин), що в своєму складі містять розчин натрію тіосульфату з масовою концентрацією 2 % приводили до зниження кількості живих бактерій в порівнянні з контролем. Застосування нейтралізатора сприяло зниженню бактеріального навантаження для *E. coli* на 0,79 lg (у 6,1 рази) та для *K. pneumoniae* на 0,75 lg (у 5,6 рази) порівняно з контрольними зразками. Водночас різниці в нейтралізуючих властивостях обох розчинів не було виявлено ( $p = 0,999$ ). Використання 30 та 2 % розчину натрію тіосульфату не впливало на життєздатність бактерій ( $p = 0,938$ ), оскільки рівень КУО/см<sup>3</sup> залишався на рівні контрольних позитивних зразків.

Отримані результати свідчать, що звичайний розчин натрію тіосульфату може бути використаний як альтернативний нейтралізатор для визначення залишкових концентрацій пероксомоносульфату калію. Його ефективність у дослідженні не поступалася стандартному нейтралізуючому розчину, що дозволяє розглядати натрію тіосульфат як доступний та простий у застосуванні варіант для ветеринарних клінік. Додатковою перевагою є широка доступність та можливість його приготування без використання спеціалізованих компонентів.

Подальші дослідження мають охоплювати ширший спектр мікроорганізмів, включаючи резистентні штами, а також оцінювати вплив часу експозиції нейтралізатора. Крім того, необхідно враховувати реальні клінічні умови, де концентрації залишкових дезінфектантів можуть змінюватися, що впливає на точність мікробіологічних аналізів.

**Ключові слова:** натрію тіосульфат, нейтралізуючі розчини, окисні дезінфектанти, мікробіологічний аналіз, внутрішньолікарняні інфекції, контроль дезінфекції, відбір проб.

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень.** Внутрішньолікарняні інфекції у ветеринарній медицині становлять серйозну проблему, оскільки виникають під час перебування тварин у стаціонарі та можуть ускладнювати лікування, подовжувати термін госпіталізації й підвищувати ризик розвитку антибіотикорезистентності. Ці інфекції, здебільшого, виникають у процесі госпіталізації та часто не виявляють під час первинного огляду тварин за надходження до клініки. Вони можуть розвиватися в різних ветеринарних закладах, зокрема в загальних клініках, установах довготривалого догляду та реабілітаційних центрах [1].

Найвищий ризик розвитку внутрішньолікарняних інфекцій пов'язаний із групою збудників ESKAPE (*Enterococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*). Ці мікроорганізми здатні тривалий час виживати на різноманітних поверхнях у медичних та ветеринарних закладах, що зумовлює їх поширення в умовах клінічного середовища, та мають зоонозний потенціал. Окрім цієї групи, такі бактерії як *Clostridium difficile*, *Escherichia coli* та *Salmonella spp.*, також часто спричиняють внутрішньолікарняні інфекції [2, 3].

Збудники таких інфекцій контамінують різні поверхні лікарняного середовища. Найвищий рівень мікробного забруднення зазвичай виявляють на лікувальних столах, які є одними з найбільш забруднених зон у загальних ветеринарних клініках. Підлога залишається ключовим резервуаром мікроорганізмів у більшості закладів, а системи вентиляції також характеризуються значним мікробним навантаженням [4, 5]. Бокси для утримання тварин слугують важливим джерелом внутрішньолікарняних збудників: до ранкової санітарної обробки рівень їх контамінації залишається високим, що створює ризик передачі інфекцій між тваринами та персоналом контактним або аерозольним шляхом [6].

Проблема антибіотикорезистентності серед внутрішньолікарняних збудників є особливо гострою, оскільки бактерії, що колонізують поверхні обладнання, меблів, підлоги та інші елементи навколишнього середовища у ветеринарних клініках, мають високу адаптивність та здатність швидко набувати стійкості до антибіотиків [7, 8].

Очищення та дезінфекція є основою програм інфекційного контролю, однак їх впровадження часто має суттєві недоліки. Санітарна обробка може бути недостатньою, а патогени нерідко розвивають стійкість до дезінфекційних засобів, утворюючи біоплівки або адаптуючись до хімічних речовин. Для підвищення безпеки необхідні додаткові освітні заходи та стандартизація методів контролю [9].

Епідеміологічний нагляд має ключове значення у захисті від внутрішньолікарняних інфекцій, дозволяючи вчасно виявляти спалахи, аналізувати шляхи передачі та оцінювати ефективність заходів контролю [10].

Попри наявність різних інструментів для відбору проб із середовища ветеринарної клініки, використання методу змиву тампоном залишається найбільш поширеним завдяки його простоті та універсальності. Як зазначають A. Dolan та співавт., ефективність відбору проб суттєво залежить від типу застосованої методики: контактні пластини забезпечують швидкий результат і високу точність на гладких поверхнях, проте обмежені у використанні через невелику площу покриття. Натомість метод «змиву» має ширше застосування, однак його ефективність значною мірою визначається типом тампона. Наприклад, спеціалізовані макропінні та флокуєві тампони значно перевершують звичайні ватні, змочені фізіологічним розчином, які мають низьку здатність до вилучення та виділення бактерій [11].

У дослідженні A. Al-Hamad і S. Maxwell (2008) продемонстровано, що ефективність виявлення бактерій залежить не лише від методу відбору, а також від типу середовища, з якого здійснюють відбір. Автори зазначають, що якісний метод для виявлення *S. aureus* і

кількісний метод для визначення кількості мезофільних аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів (КМАФАнМ) не завжди дають узгоджені результати: MRSA може бути виявлений навіть за відсутності загального перевищення КУО, і навпаки [12].

Важливою перевагою методу відбору проб за допомогою тампона є можливість застосовувати як мікробіологічні так і молекулярно-генетичні методи дослідження.

Відбір та транспортування проб для змивів із лікарняного середовища мають ключове значення в епідеміологічному моніторингу внутрішньолікарняних інфекцій. Дотримання належної методології збору матеріалу, стерильності та умов транспортування є критичним для забезпечення достовірності результатів. Недотримання цих умов може спричинити хибнонегативні результати, що ускладнює виявлення патогенів і своєчасне впровадження заходів контролю.

Попри наявність різноманітних інструментів і підходів до мікробіологічного контролю поверхонь, у більшості публікацій перевага надається методу тампонного змиву. За даними оглядового дослідження S. Rawlinson та співавт. (2019), тампони застосовували у 53 % проаналізованих робіт, тимчасом контактні пластини — у 24 %, а губки — лише у 9 % випадків. Ефективність методу відбору безпосередньо впливає на здатність виявлення залишкових бактерій після дезінфекції. Попри загальне зниження КУО, окремі патогени, зокрема *C. difficile*, MRSA та *A. baumannii*, залишаються життєздатними в окремих змивах. Це підкреслює важливість чутливості методу, зокрема за використання тампонів, для точного виявлення залишкового забруднення [13].

Проте, навіть за наявності бактерій на досліджуваній поверхні, залишки дезінфекційних засобів, що потраплять до транспортного середовища, можуть істотно спотворювати результати бактеріального контролю. Згідно з вимогами Європейської Фармакопеї, застосування відповідного нейтралізатора є критично важливим етапом мікробіологічного дослідження нестерильних продуктів, оскільки навіть незначні залишки дезінфектанту можуть пригнічувати ріст чутливих бактерій [14].

Більшість рекомендованих нейтралізаторів є багатокомпонентними сумішами, що містять полісорбат, лецитин, трилон Б та інші добавки. Однак, як зазначають R. Müller, U. Eikmanns і H. Schindler (2017), виготовлення та зберігання таких розчинів не завжди є практичним у рутинних умовах, що створює потребу в спрощених рішеннях [15].

**Метою дослідження** є оцінка ефективності нейтралізуючих розчинів на основі тіосульфату натрію для інактивації дезінфекційного засобу з діючою речовиною перексомоносульфатом калію та визначення їх впливу на життєздатність бактерій.

**Матеріал і методи дослідження.** Бактеріальні культури. У дослідженні використовували дві культури ентеробактерій: *Escherichia coli* та *Klebsiella pneumoniae*, отримані з внутрішньої колекції штамів.

Підготовка бактеріальних суспензій. Бактерії, що зберігалися у відповідному середовищі, були інокульовані на поверхню поживного агару та інкубовані впродовж 24 год за температури 37 °С. Після інкубації бактеріальні клітини змивали бактеріологічною петлею, суспендували у фізіологічному розчині та готували стандартну бактеріальну суспензію (БС) до оптичної щільності 0,5 за шкалою МакФарланда. Для досліджень використовували змішану культуру, яку отримували за змішування суспензій *E. coli* та *K. pneumoniae* у співвідношенні 1:1.

Дослідження для кожного нейтралізуючого розчину проводили у 3-х повторах.

Приготування дослідних розчинів. Для дослідження було використано дезінфекційний засіб Етасепт (O.L.KAR, Україна), який в своєму складі містить перексомоносульфат калію ( $\text{KHSO}_5$ ) в концентрації 500 мг на 1 г засобу. Дезінфекційний розчин (ДР) готували через розчинення 10 мг етапсепту у 30 см<sup>3</sup> фізіологічного розчину до отримання розчину з масовою концентрацією 3 %. Нейтралізуючі розчини (НР) включали три варіанти: НР 1 – нерозведений розчин натрію тіосульфату з масовою концентрацією 30 %; НР 2 – 2 % розчин натрію тіосульфату з масовою концентрацією 2 %, отриманий за розведення 670 мкл розчину  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  з масовою концентрацією 30 % до об'єму 10 см<sup>3</sup> фізіологічним розчином; НР 3 – стандартний нейтралізуючий розчин, приготований згідно з рекомендаціями ISO 18593:2006 «Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Мікробіологічний аналіз із використанням відбитків і змивів з поверхонь». НР 3 складається з 30 г/л полісорбату, 80,3 г/л соєового лецитину та натрію тіосульфату з масовою концентрацією 2 %.

Оцінка ефективності нейтралізації дезінфекційного засобу. До 1 см<sup>3</sup> ДР у кожен пробірku додавали один із нейтралізуючих розчинів (НР 1, НР 2 або НР 3). Експозиція тривала 5 хв, після чого до кожної пробірки додавали 1 см<sup>3</sup> бактеріальної суспензії (рис. 1).

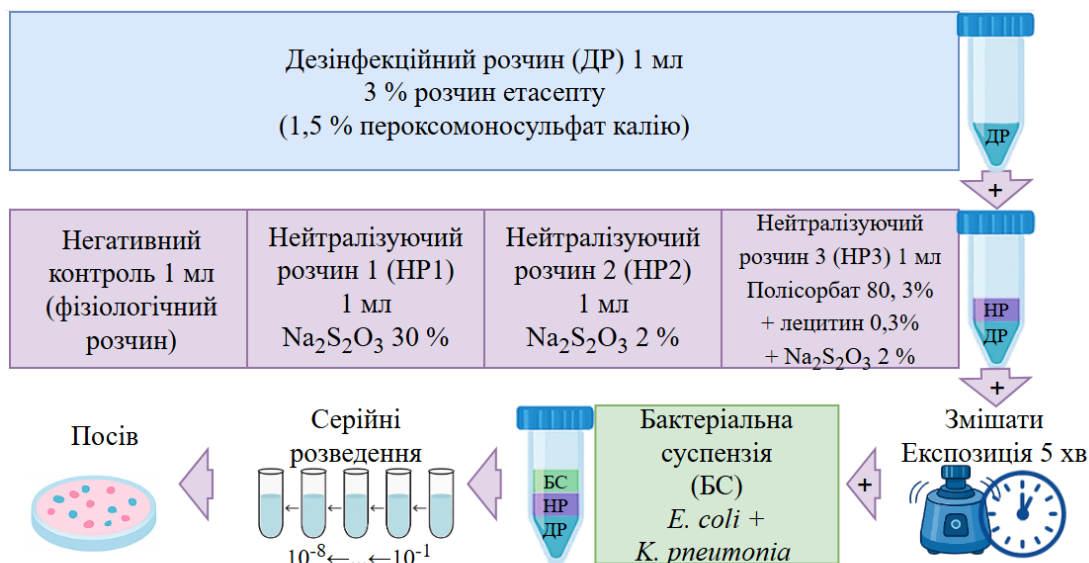


Рис.1. Схема дослідження нейтралізуючих властивостей.

Для постановки реакції було використано такі контрольні проби:

Негативний контроль – 1 см<sup>3</sup> дезінфекційного розчину (ДР) + 2 см<sup>3</sup> фізіологічного розчину. Застосовували для контролю можливого мікробного забруднення компонентів реакції.

Позитивний контроль (К<sup>+</sup>) – 1 см<sup>3</sup> бактеріальної суспензії (БС) + 2 см<sup>3</sup> фізіологічного розчину. Використовували для оцінки життєздатності бактерій у нейтральному середовищі та слугували показником максимальної концентрації мікроорганізмів.

Контроль дії дезінфекційного розчину – 1 см<sup>3</sup> ДР + 1 см<sup>3</sup> фізіологічного розчину; після 5-хвилинної експозиції додавали 1 см<sup>3</sup> БС. Застосовували для оцінки бактерицидної активності дезінфекційного засобу.

Для визначення бактерицидної дії натрію тіосульфату по 1 см<sup>3</sup> розчину з масовою концентрацією 30 та 2 % змішували з 1 мл бактеріальної суспензії. Після цього виконували десяткові розведення. Як негативний контроль використовували фізіологічний розчин замість натрію тіосульфату.

Метод підрахунку життєздатних бактерій. Підрахунок життєздатних клітин здійснювали методом серійних розведень, 1 см<sup>3</sup> бактеріальної суспензії з кожної пробірки переносили у 10 см<sup>3</sup> фізіологічного розчину, після чого виконували послідовні десятикратні розведення до концентрації  $10^{-8}$ . По 1 см<sup>3</sup> суспензії з розведень  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  та  $10^{-8}$  вносили у стерильні чашки Петрі, та заливали розплавленим агаром.

На першому етапі, для підрахунку колоній в дослідженні нейтралізуючої активності розчинів використовували хромогенне поживне середовище Chromagar Orientation (Chromagar, Франція), що дозволяло диференціювати мікроорганізми за кольором колоній.

На другому етапі, для визначення бактерицидної активності нейтралізуючих розчинів посів проводили в товщу Plate Count Agar (Himedia, Індія).

*Escherichia coli* на поверхні хромогенного середовища утворюють слизові колонії рожевого забарвлення, тимчасом *Klebsiella pneumoniae* – синього. На поверхні Plate Count Agar обидва мікроорганізми мають подібні культуральні властивості.

Статистична обробка даних. Результати підрахунку колоній аналізували за стандартною формулою:

$$N = \Sigma a / V(n_1 + 0,1n_2)d,$$

де  $\Sigma a$  – сума колоній на чашках, відібраних для підрахунку;

$V$  – об'єм інокуляту, який вносили у кожену чашку, см<sup>3</sup>;

$n_1$  – кількість чашок першого розведення, відібраних для підрахунку;

$n_2$  – кількість чашок другого розведення, відібраних для підрахунку;

$d$  – ступінь розведення (першого), за яким проводили підрахунок.

Для подальшого аналізу показники бактеріального навантаження були переведені в логарифмічну шкалу.



Статистичну обробку даних проводили в програмі Jamovi версія 2.6.25 (Нідерланди).

Для визначення нормальності розподілу та рівності дисперсії застосовано тести Шапіро-Уїлка та Левена. Порівняння двох груп проводили за допомогою Т-тесту з критерієм Стьюдента. Порівняння трьох і більше груп проводили за допомогою односторонньої ANOVA з критерієм Фішера, пост-хок аналіз проводили за допомогою критерія Тьюкі. Оскільки кількість змінних в кожній групі низька, рівень достовірності для дослідів встановлено на рівні  $p \leq 0,001$ .

**Результати дослідження.** Було отримано ріст на всіх чашках Петрі з середовищем Chromagar Orientation, з розведеннями  $10^{-7}$  та  $10^{-8}$ , окрім дослідження негативного контролю та контролю ДР. У товщі агару формувались колонії однакового розміру з хаотичним просторовим розташуванням. Відповідно до очікувань, спостерігались колонії з різним забарвленням: сині – *Klebsiella pneumoniae*, рожеві – *Escherichia coli* (рис. 2).

Відсутність росту за посіву суспензії негативного контролю та контролю дезінфекції вказують на відсутність контамінації застосованих розчинів, а також ефективність дезінфекційного засобу щодо досліджуваних мікроорганізмів.

Ріст мікроорганізмів не спостерігався на чашках із суспензією негативного контролю (без нейтралізуючого агента).

У контрольних позитивних зразках (К+) рівень мікробного забруднення становив  $7,59 \pm 0,03$  lg КУО/см<sup>3</sup>. Використання нейтралізуючого розчину 1 (НР 1) привело до зниження показника до  $7,36 \pm 0,08$  lg КУО/см<sup>3</sup>, нейтралізуючого розчину 2 (НР 2) – до  $6,82 \pm 0,11$  lg КУО/см<sup>3</sup>, а нейтралізуючого розчину 3 (НР 3) –  $6,81 \pm 0,14$  lg КУО/см<sup>3</sup> (рис. 3).

Для *Escherichia coli* у контрольних позитивних зразках (К+) рівень контамінації становив  $7,26 \pm 0,08$  lg КУО/см<sup>3</sup>. За використання НР 1 показник зменшився до  $7,14 \pm 0,09$  lg КУО/см<sup>3</sup>, у разі застосування НР 2 – до  $6,46 \pm 0,15$  lg КУО/см<sup>3</sup>, а після використання НР 3 –  $6,46 \pm 0,15$  lg КУО/см<sup>3</sup>.

Рівень *Klebsiella pneumoniae* у контрольних позитивних зразках (К+) становив  $7,31 \pm 0,08$  lg КУО/см<sup>3</sup>. Після застосування НР 1 показник знизився до  $6,97 \pm 0,06$  lg КУО/см<sup>3</sup>, за використання НР 2 –  $6,56 \pm 0,07$  lg КУО/см<sup>3</sup>, а після НР 3 –  $6,53 \pm 0,21$  lg КУО/см<sup>3</sup>.

Для оцінки статистичних відмінностей між групами за показником Lg КУО/см<sup>3</sup> було проведено однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA). Отримані результати вказують на наявність статистично значущих відмінностей між групами ( $F(3,32) = 39,5$ ,  $p < 0,001$ ).

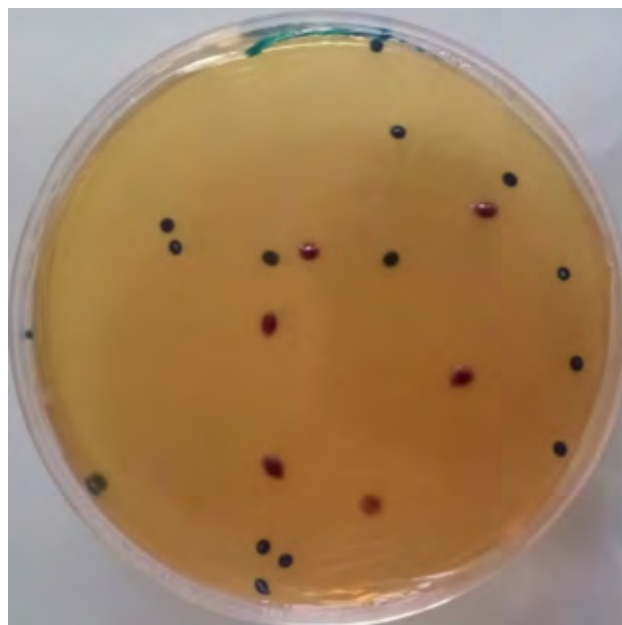


Рис. 2. Колонії бактерій в товщі хромогенного середовища CHROMagar Orientation після інкубації. Диференціювання колоній за вивчення культуральних властивостей мікроорганізмів: темно-сині колонії відповідають *Klebsiella pneumoniae*, а рожеві – *Escherichia coli*.

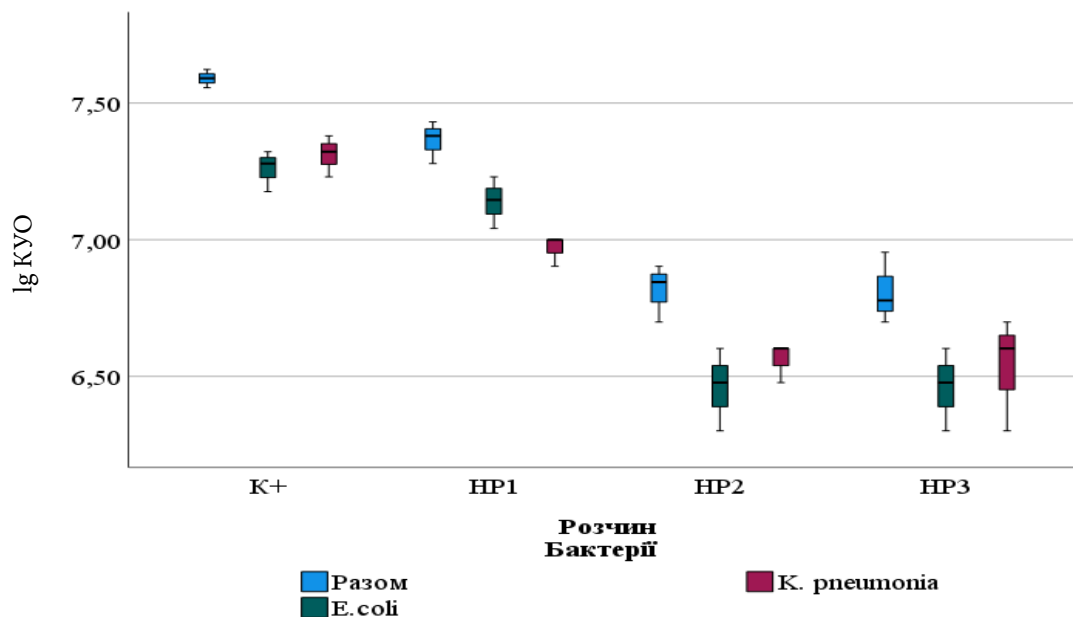


Рис. 3. Результати оцінки рівня бактеріального забруднення (Lg KYO) після застосування різних нейтралізуючих розчинів:

K+ – позитивний контроль, HP 1 – 30 % натрію тіосульфат, HP 2 – 2 % натрію тіосульфат, HP 3 – стандартний нейтралізуючий розчин. Синім позначено загальне бактеріальне забруднення, зеленим – *Escherichia coli*, фіолетовим – *Klebsiella pneumoniae*.

Перед проведенням аналізу було перевірено припущення про нормальність розподілу даних та однорідність дисперсій. Тест Шапіро-Уїлка показав, що розподіл значень відповідає нормальному ( $W = 0,969$ ,  $p = 0,389$ ), а тест Левена засвідчив, що дисперсії між групами є однорідними ( $F(3,32) = 0,135$ ,  $p = 0,938$ ). Отже, виконані умови для коректного застосування дисперсійного аналізу.

Пост-хок аналіз методом Тьюкі виявив, що між деякими групами спостерігаються статистично значущі відмінності. Зокрема, середні значення Lg KYO/см<sup>3</sup> суттєво відрізнялися між групами HP 1 та HP 2 ( $p < 0,001$ ), HP 1 та HP 3 ( $p < 0,001$ ), а також між групами HP 2 та K+ ( $p < 0,001$ ) і HP 3 та K+ ( $p < 0,001$ ). Водночас, різниця між групами HP 2 та HP 3 ( $p = 0,999$ ) та HP 1 та K+ ( $p = 0,066$ ) була відсутньою.

Результати визначення бактерицидної дії нейтралізуючих розчинів показали, що середні значення для позитивного контролю (K+) становило  $7,23 \pm 0,06$  Lg KYO/см<sup>3</sup>, тимчасом для тіосульфату натрію з масовою концентрацією 2 % –  $7,22 \pm 0,05$  Lg KYO/см<sup>3</sup>, а з масовою концентрацією 30 % –  $7,18 \pm 0,03$  Lg KYO/см<sup>3</sup>. Статистично значущої різниці між групами не виявлено.

**Обговорення.** Епідеміологічний контроль збудників нозокоміальних інфекцій є важливою складовою забезпечення здоров'я тварин та їх власників. Збудники, що мають високий ризик контамінації внутрішньолікарняного середовища, характеризуються численними механізмами пристосування, які зумовлюють їх ефективне закріплення та колонізацію абіотичних поверхонь. Формування біоплівки і активність ефлюкс системи можуть знижувати ефективність дезінфекційних заходів, що створює додаткові труднощі у контролюванні бактерій [16, 17].

Дослідження свідчать про поширеність внутрішньолікарняних інфекцій у ветеринарних закладах. Зокрема, 82 % ветеринарних клінік у Європі та Північній Америці повідомили про принаймні один спалах таких інфекцій за останні п'ять років. Інше дослідження показало, що 28,3 % собак і котів, яких лікували у ветеринарних клініках впродовж 12 тижнів, мали щонайменше одну внутрішньолікарняну інфекцію. Для порівняння, у лікарнях для людей цей показник становить 7–10 %, у відділеннях інтенсивної терапії – близько 20 % [18].

На сьогодні відсутні конкретні регламентовані документи щодо ефективного контролю поширення нозокоміальних інфекцій.

Компетентні організації США (CDC) та Євросоюзу (European Centre for Disease Prevention and Control), а також ветеринарні асоціації American Animal Hospital Association (ААНА), рекомендують проводити відбір проб для визначених цілей, наприклад, під час розслідування спалахів інфекцій, коли навколишнє середовище може слугувати джерелом збудника інфекції. Рутинний, невибірковий відбір проб без чітко сформульованої мети не є ефективним [19]. Ефективний контроль нозокоміальних інфекцій передбачає виявлення конкретного патогену, що становить епідеміологічну загрозу, наприклад, метицилін-резистентного *Staphylococcus aureus* або карбапенем-резистентних ентеробактерій [13].

З практичного погляду, для власників ветеринарних клінік більшу цінність має оцінка ефективності протоколів прибирання та дезінфекції. Після проведення прибирання бактеріальне навантаження у ветеринарній клініці має істотно знижуватися. Дезінфекція впливає на залишки бактерій, що лишилися після прибирання. Динаміка змін рівня контамінації до і після прибирання може слугувати важливим індикатором ефективності впроваджених процедур та оцінкою навичок персоналу [20]. Наявність високого рівня загального мікробного забруднення після очищення свідчить про необхідність оптимізації санітарних процедур.

Отримані результати засвідчили, що натрію тіосульфат не чинить бактерицидної дії на мікроорганізми та може застосовуватись як розчин з масовою концентрацією 2 та 30 %. Водночас використання 30 та 2 % розчину не призводило до зниження життєздатності бактерій порівняно з контрольними зразками ( $p > 0.05$ ), що свідчить про його безпечність у мікробіологічному аналізі.

Важливо зазначити, що розчин натрію тіосульфату з масовою концентрацією 2 % продемонстрував таку ж ефективність нейтралізації, як і стандартний багатокомпонентний нейтралізатор, що містить полісорбат 80 і лецитин ( $p = 0.999$ ). Це обумовлює можливість його використання як простішої альтернативи у практичних умовах, зокрема у ветеринарних клініках де застосовують дезінфекційні засоби, з діючою речовиною пероксидом перекису водню.

Тимчасом С. Griffith (2007) вказує на критичну важливість вибору змочувального розчину для тампона під час відбору проб. Автори встановили, що фізіологічний розчин або вода менш ефективні у вилученні мікроорганізмів з поверхні порівняно з розчинами,

що містять детергенти або поверхнево-активні речовини (наприклад, Tween 80). Водночас наше дослідження не було спрямоване на порівняння ефективності різних змочувальних розчинів у відновленні бактерій із поверхонь, а зосереджувалося на оцінці їх здатності інактивувати залишки дезінфектанту *in vitro* [20].

У дослідженні не було проведено вивчення різниці у відновленні бактеріальних клітин з контамінованої поверхні, а лише визначено бактерицидну дію різних сполук і ефективність нейтралізації дезінфектантом *in vitro*.

Згідно з рекомендаціями ISO 18593:2006, у складі стандартного нейтралізуючого розчину допускається використання натрію тіосульфату в концентрації від 0,5 до 3 %. У дослідженні було обрано 2 % розчин як такий, що відповідає середньому значенню рекомендованого діапазону, а також 30 % розчин, який у стерильній формі доступний у такій концентрації в аптечній мережі.

Найефективнішим в дослідженні виявився розчин натрію тіосульфату з масовою концентрацією 30 %. Це може бути пов'язано з обмеженнями дослідження та значним об'ємом дезінфектанту, через що розчином натрію тіосульфату з масовою концентрацією 2 % не вдається повністю інактивувати окисник. Водночас головний висновок полягає в тому, що обидва розчини продемонстрували однакову ефективність нейтралізації. Розчин з масовою концентрацією 30 % практично не вплинув на концентрацію бактерій у зразках, що статистично не відрізнялися від контрольних. Це свідчить про ефективну інактивацію дезінфектанту.

Враховуючи наші дослідження, можна припустити, що використання нерозведеного розчину натрію тіосульфату з масовою концентрацією 30 або 2 % так само буде ефективним, як і застосування стандартного нейтралізуючого розчину.

Методологія дослідження мала певні обмеження. Зокрема, використовували відносно високі об'єми дезінфекційного засобу, тимчасом у реальних умовах клініки залишковий рівень дезінфектанту на поверхнях є значно нижчим. Крім того, у дослідженні оцінювали вплив лише на обмежену кількість мікроорганізмів, і не враховували варіативний час експозиції та відновлення бактерій з тампону.

Водночас ще одним важливим результатом дослідження стало використання хромогенного середовища для аналізу видового складу бактеріального забруднення. У межах експерименту було спеціально підібрано мікроорганізми з чітко вираженими культуральними

властивостями. Використання хромогенного середовища замість Plate Count Agar або поживного агару дозволяє одночасно оцінити рівень контамінації та потенційні ризики, пов'язані з конкретними мікроорганізмами.

На основі культуральних властивостей на поверхні хромогенного середовища можна розробити подальший протокол ПЛР аналізу, спрямованого на пошук бактерій та ідентифікації генів стійкості до антибіотиків [21].

Здебільшого збудники групи ESKAPE мають відмінні культуральні характеристики на хромогенному агарі [22]. Додаткове використання мікроскопії дозволяє не лише визначити якісний склад мікрофлори, а також оцінити потенційні епідеміологічні ризики та необхідність подальшого цільового моніторингу [21].

Окрім того, орієнтуючись на колірну реакцію, можна підібрати специфічні праймери для молекулярно-генетичної ідентифікації бактерій без потреби в додатковому мікробіологічному дослідженні. Або ж застосувати метод MALDI-TOF MS, який дозволяє проводити пряме білкове профілювання без очищення окремих білків та отримувати унікальні мас-спектри з високою достовірністю, що характеризують продукт дослідження за принципом молекулярний «відбиток пальця» [23].

У подальших дослідженнях необхідно визначити, чи запропоновані показники враховують усі ризики у ветеринарній клініці. Також варто вивчити відмінності у зростанні бактерій на поживних середовищах Plate Count Agar та Chromagar Orientation.

**Висновки.** Дослідження показало, що натрію тіосульфат не проявляє бактерицидної дії на тестові мікроорганізми (*Escherichia coli* та *Klebsiella pneumoniae*) і може ефективно застосовуватись як нейтралізуючий розчин у концентраціях 2 та 30 % для інактивації дезінфекційних засобів на основі перексомуносульфату калію.

Розчин натрію тіосульфату з масовою концентрацією 30 % виявився найефективнішим нейтралізатором, забезпечивши показники бактеріального забруднення, статистично не відмінні від контрольних зразків ( $p > 0,05$ ).

Розчин натрію тіосульфату з масовою концентрацією 2 % продемонстрував таку ж ефективність нейтралізації, як і стандартний багатокомпонентний нейтралізатор ( $p = 0,999$ ), що містить полісорбат 80 і лецитин. Для повноцінної оцінки ефективності цього методу необхідні додаткові дослідження з вивчення процесу відновлення бактерій з тампону за відбору проб з поверхонь.

## REFERENCES

1. Sikora, A. and Zahra, F. (2025). Nosocomial Infections. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559312/> (Accessed: 20 March 2025).
2. Dancer, S.J. (2009). The role of environmental cleaning in the control of hospital-acquired infection. *Journal of Hospital Infection*, 73 (4), pp. 378–385. DOI:10.1016/j.jhin.2009.03.030.
3. Sebola, D.C., Oguttu, J.W., Kock, M.M., Qekwana, D.N. (2023). Hospital-acquired and zoonotic bacteria from a veterinary hospital and their associated antimicrobial-susceptibility profiles: A systematic review. *Frontiers in Veterinary Science*, 9. DOI:10.3389/fvets.2022.1087052.
4. Oxford Academic. (2023). PRO: Environmental microbiological surveillance does support infection control in veterinary hospitals. *JAC-Antimicrobial Resistance* (online), 6 (4). Available at: <https://academic.oup.com/jacamr/article/6/4/dlae113/7721433> (Accessed: 20 March 2025).
5. Spratt, H.G., Millis, N., Levine, D., Brackett, J., Millis, D. (2024). Bacterial Contamination of Environmental Surfaces of Veterinary Rehabilitation Clinics. *Animals*, 14 (13), 1896 p. DOI:10.3390/ani14131896.
6. Mocherniuk, M.M., Kukhtyn, M.D., Horiuk, Y.V., Horiuk, V.V., Tsvigun, O.A., Tokarchuk, T.S. (2022). Microflora of boxes for holding veterinary patients in clinics. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 13 (3), pp. 257–264. DOI:10.15421/022233.
7. Papich, M.G. (2021). Antimicrobial agent use in small animals: what are the prescribing practices, use of PK-PD principles, and extralabel use in the United States? *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 44 (2), pp. 238–249. DOI:10.1111/jvp.12921.
8. Caneschi, A., Bardhi, A., Barbarossa, A., Zaghini, A. (2023). The Use of Antibiotics and Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicine, a Complex Phenomenon: A Narrative Review. *Antibiotics*, 12 (3), 487 p. DOI:10.3390/antibiotics12030487.
9. Willemsen, A., Cobbald, R., Gibson, J., Wilks, K., Lawler, S., Reid, S. (2019). Infection control practices employed within small animal veterinary practices – A systematic review. *Zoonoses and Public Health*, 66 (5), pp. 439–457. DOI:10.1111/zph.12589.
10. Carling, P.C., Parry, M.F., Von Behren, S.M. Healthcare Environmental Hygiene Study Group. (2008). Identifying opportunities to enhance environmental cleaning in 23 acute care hospitals. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 29 (1), pp. 1–7. DOI:10.1086/524329.
11. Dolan, A., Bartlett, M., McEntee, B., Creamer, E., Humphreys, H. (2011). Evaluation of different methods to recover meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* from hospital environmental surfaces.



Journal of Hospital Infection, 79 (3), pp. 227–230. DOI:10.1016/j.jhin.2011.05.011.

12. Al-Hamad, A., Maxwell, S. (2008). How clean is clean? Proposed methods for hospital cleaning assessment. *Journal of Hospital Infection*, 70 (4), pp. 328–334. DOI:10.1016/j.jhin.2008.08.006.

13. Rawlinson, S., Ciric, L., Cloutman-Green, E. (2019). How to carry out microbiological sampling of healthcare environment surfaces? A review of current evidence. *Journal of Hospital Infection*, 103 (4), pp. 363–374. DOI:10.1016/j.jhin.2019.07.015.

14. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). (2010). 2.6.12. Microbiological examination of non-sterile products: microbial enumeration tests. *European Pharmacopoeia*, 10.0, Strasbourg: Council of Europe, pp. 201–204.

15. Müller, R., Eikmanns, U., Schindler, H. (2017). Neutralisation von Desinfektionsmittelrückständen. *Pharmazeutische Industrie*. (in German).

16. Rovira, J. (2016). Sanitization. In: *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier, pp. 706–713. DOI:10.1016/B978-0-12-384947-2.00609-7. (in English).

17. Shevchenko, M., Andriichuk, A., Bilyk, S., Dovhal, O., Mazur, T. and Tsarenko, T. (2023). Biofilm forming ability of coagulase-positive staphylococci isolated from animals in Ukraine. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14 (4), pp. 576–580. DOI:10.15421/022384. (in Ukrainian).

18. Sfaciotte, R.A.P. (2023). Nosocomial Infection in Veterinary Medicine: A Rare Event or Neglected by Veterinarians? *International Journal of Zoology and Animal Biology*, 6 (1), pp. 1–15. DOI:10.23880/izab-16000432.

19. CDC. (2025). Environmental Sampling. *Centers for Disease Control and Prevention*. Available at: <https://www.cdc.gov/infection-control/hcp/environmental-control/environmental-sampling.html> (Accessed: 20 March 2025).

20. Griffith, C. (2016). Surface Sampling and the Detection of Contamination. In: *Handbook of Hygiene Control in the Food Industry*. Elsevier, pp. 673–696. DOI:10.1016/B978-0-08-100155-4.00044-3.

21. Shevchenko, M., Andriichuk, A., Naumchuk, V., Petruk, I., Bilyk, S., Tsarenko, T. (2023). Zoonotic *Staphylococcus* spp. among domestic animals in Ukraine: antibiotic resistance and diagnostic approaches. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14 (3), pp. 378–385. DOI:10.5421/022356 (in Ukrainian).

22. Ohkusu, K. (2000). Cost-effective and rapid presumptive identification of gram-negative bacilli in routine urine, pus, and stool cultures: evaluation of the use of CHROMagar orientation medium in conjunction with simple biochemical tests. *Journal of Clinical Microbiology*, 38 (12), pp. 4586–4592. DOI:10.1128/JCM.38.12.4586-4592.2000.

23. Shchur, N., Mazur, T., Katsaraba, O., Halaka, I., Shalimova, L., Moskalenko, L., Ponomariova-Herasymiuk, T., Lusta, M., Nedosekov, V. (2024). Improving the efficiency of *Campylobacter* spp. isolation from livestock and poultry in Ukraine. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 12 (10), pp. 1862–1874. DOI:10.17582/journal.aavs/2024/12.10.1862.1874. (in Ukrainian).

#### **Evaluation of the neutralizing properties of sodium thiosulfate concerning potassium peroxomonosulfate in microbiological studies**

**Shevchenko M., Shchur N., Panteleenko O., Mazur T., Bohatko N., Bohatko A., Savcheniuk M., Tsarenko T.**

Hospital-acquired infections in veterinary clinics are a significant problem, as they contribute to the spread of antibiotic-resistant bacterial strains and increase the risks to animal and human health. Disinfectants based on potassium peroxomonosulfate, which is a powerful oxidizing agent, are widely used in veterinary facilities to control microbial contamination. The study evaluated the effectiveness of neutralizing solutions based on sodium thiosulfate for inactivating potassium peroxomonosulfate residues and their effect on bacterial viability. Three solutions were tested: sodium thiosulfate with mass concentrations of 30% and 2% and a standard neutralizer with polysorbate 80 and lecithin. The evaluation was performed by the method of serial dilutions with the counting of colony-forming units, and the results were analyzed using ANOVA and Tukey's test.

The highest neutralization efficiency was shown by a sodium thiosulfate solution with a mass concentration of 30%. The number of bacteria after the addition of neutralized solution of Etasept decreased by 0.22 lg CFU/cm<sup>3</sup> compared with the control suspension diluted with saline. Both neutralizing solutions (2% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and standard neutralizing solution), which contain a solution of sodium thiosulfate solution with a mass concentration of 2% led to a decrease in the number of live bacteria in comparison with the control. The use of a neutralizer contributed to a decrease in the bacterial load for *E. coli* by 0.79 lg (6.1 times) and for *K. pneumonia* by 0.75 lg (5.6 times) compared to control samples. At the same time, no difference in the neutralizing properties of both solutions was found ( $p = 0.999$ ). The use of 30% and 2% sodium thiosulfate solutions did not affect the viability of bacteria ( $p = 0.938$ ), as the level of CFU/cm<sup>3</sup> remained at the level of the control positive samples.

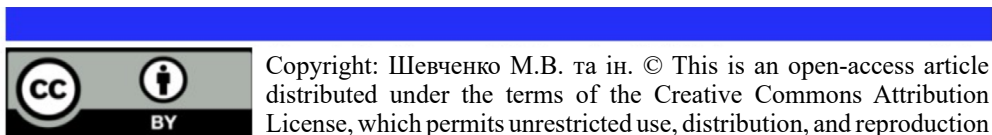
The results obtained indicate that normal sodium thiosulfate solution can be used as an alternative neutralizer for the determination of residual concentrations of potassium peroxomonosulfate. Its effectiveness in the study was not inferior to the standard

neutralizing solution, which allows us to consider sodium thiosulfate as an affordable and easy-to-use option for veterinary clinics. An additional advantage is its wide availability and the possibility of its preparation without the use of specialized components.

Further studies should cover a wider range of microorganisms, including resistant strains, and evaluate the effect of the neutralizer exposure time.

In addition, it is necessary to take into account real clinical conditions, where the concentrations of residual disinfectants can vary, which affects the accuracy of microbiological analyzes.

**Key words:** sodium thiosulfate, neutralizing solutions, oxidative disinfectants, microbiological analysis, hospital-acquired infections, disinfection control, sampling.



Copyright: Шевченко М.В. та ін. © This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



ORCID iD:

|                  |                                                                                           |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| Шевченко М.В.    | <a href="https://orcid.org/0000-0002-7002-1494">https://orcid.org/0000-0002-7002-1494</a> |
| Щур Н.В.         | <a href="https://orcid.org/0000-0002-3033-8139">https://orcid.org/0000-0002-3033-8139</a> |
| Пантелеєнко О.В. | <a href="https://orcid.org/0000-0002-4311-9680">https://orcid.org/0000-0002-4311-9680</a> |
| Мазур Т.Г.       | <a href="https://orcid.org/0000-0002-9295-7787">https://orcid.org/0000-0002-9295-7787</a> |
| Богатко Н.М.     | <a href="https://orcid.org/0000-0002-1566-1026">https://orcid.org/0000-0002-1566-1026</a> |
| Богатко А.Ф.     | <a href="https://orcid.org/0000-0001-8089-5884">https://orcid.org/0000-0001-8089-5884</a> |
| Савченко М.О.    | <a href="https://orcid.org/0000-0003-2306-4114">https://orcid.org/0000-0003-2306-4114</a> |
| Царенко Т.М.     | <a href="https://orcid.org/0000-0003-4373-5958">https://orcid.org/0000-0003-4373-5958</a> |