

БАКТЕРИЦИДНА АКТИВНІСТЬ ДІОКСИДУ ХЛОРУ НА ТЕСТ-ОБ'ЄКТАХ ВІДНОСНО ПОЛЬОВИХ ІЗОЛЯТІВ КУЛЬТУР МІКРООРГАНІЗМІВ

С. М. Назаренко, аспірант, Сумський національний аграрний університет

*В статті наведені результати використання діоксиду хлору на тест-об'єктах (цегла, плитка, дерево, метал, пластик) відносно польових ізолятів культур *A. hydrophila*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. faecalis*. В результаті проведених досліджень було виявлено, що при нанесенні водного розчину діоксиду хлору з концентрацією 0,5 мг/дм³ проявляв виражений бактерицидний ефект на всіх тест – об'єктах від 93 до 98 %. Встановлено, що дезінфектант діоксид хлору в концентрації 1 мг/дм³ проявляє біоцидні властивості відносно польових ізолятів культур мікроорганізмів на різних видах тест - об'єктів, які використані в експерименті. Дезінфектант незаражує робочі поверхні експериментально контаміновані польовими ізолятами культур *A. hydrophila*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. faecalis*: плитки, металу та пластику – 100 %, цегли – 99,46±0,2 %, та дерев'яної поверхні – 99,93±0,8 %.*

Ключові слова: бактерицидна активність, діоксид хлору, тест-об'єкти, культури мікроорганізмів.

Постановка проблеми у загальному вигляді. Вимоги до дезінфектантів, що використовуються в аквакультури, доволі строги: препарати повинні бути ефективні проти збудників захворювань і їх переносників, мало токсичні для риб, корисних гідробіонтів і людини, дешеві, в достатній кількості випускатися вітчизняною промисловістю. Дезінфектанти не повинні погіршувати гідрохімічний режим водойм і забруднювати навколишнє середовище.

Дезінфікуючі засоби, що використовуються в рибництві, повинні мати бактерицидну, віруліцидну, фунгіцидну та спороцидну дію. З іншого боку, занадто агресивні дезінфікуючі засоби можуть викликати отруєння і навіть загибель риб. Тому речовини, що використовуються в рибництві, повинні бути нетоксичними, легко змиватися водою і не затримуватися на поверхнях технологічного обладнання [1-3]. Діоксид хлору – неорганічна хімічна сполука хлору і кисню. У нормальних умовах це газ жовто-зеленого кольору, з різким запахом. В газоподібному стані діоксид хлору нестійкий, тому застосовується у вигляді водного розчину.

Діоксид хлору реагує з багатьма органічними сполуками і виступає сильним окиснювачем. Більшість реакцій за участю ClO₂ протікають за механізмом одноелектронного окислення з утворенням органічних катіон-радикалів і хлорит-іону на першій стадії реакції, але можливий перебіг також інших реакцій, зокрема, реакції відриву атома водню.

На відміну від хлору діоксид хлору окислює органічні речовини з утворенням органічних сполук, що містять кисень (спирти, кетони, альдегіди та ін.), не утворює хлорорганічних речовин (хлорофеноли тощо), не реагує з аміаком та солями амонію з утворенням хлорамінів; не реагує з бромідами з утворенням броматів на відміну від озону.

Водний розчин діоксиду хлору отримували безпосередньо на місці використання за допомо-

гою установок для отримання діоксиду хлору виробництва компанії ТОВ «Лізоформ» шляхом реакції між реагентами: Divosan CD-7,5 та Divoact H-9, виготовленими за ТУ У 20.4-36423868-009:2013 на ДП «Експериментальний завод медпрепаратів ІБОНХ НАН України». використовували водний розчини ClO₂ концентрацією 0,5-1,0 мг/дм³ [4].

Зв'язок з важливими науковими і практичними завданнями. Дослідження є частиною комплексних наукових досліджень кафедри ветеринарної експертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки та якості продуктів тваринництва Сумського національного аграрного університету за тематичним планом науково-дослідної роботи "Розробка заходів щодо лікування та профілактики заразних хвороб риб. Удосконалення методів ветеринарно-санітарної оцінки гідробіонтів" № державної реєстрації 0112U008508.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. На сьогоднішній день, більшість ветеринарних іхтіопрепаратів виробляються поза межами України, а їх вартість не дозволяє сподіватися, що обробка риби може проводитися на відповідному рівні. Речовини, що використовуються в іхтіопатології, в більшості випадків канцерогени і мутагени (формалін, хлорофос, сульфат міді), або з незначним терапевтичним індексом (фунгіциди, антибіотики) і вже більше десятка років в більшості країн не використовуються [1].

Характеризуючи основні вимоги до ветеринарних препаратів, можна виділити: вибіркова дія застосовуючи до патогенів, невисоку токсичність для риб і інших гідробіонтів, неможливість довготривалого зберігання і накопичення в організмі риб, відсутність взаємодії з іншими речовинами з утворенням більш токсичних сполук, ніж самі препарати [2].

Мета роботи. Визначити бактерицидну активність водного розчину діоксиду хлору на таких тест-об'єктах як цегла, плитка, дерево, метал, пластик щодо польових культур мікроорганізмів ізольованих із знарядь лову, інвентарю, живо-

рибної тари.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводились на базі лабораторії кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва Сумського національного аграрного університету, рибгосподарств Сумської області.

Чутливість мікрофлори до дезінфектанту вивчали методом серійних розведень у рідкому живильному середовищі. З цією метою використовували МПБ з рН 7,2-7,4. Робочі розчини готували з основних розчинів перед дослідом, для розведення використовували МПБ. Концентрації препаратів в пробірках готували методом послідовних розведень з таким розрахунком, що передбачена чутливість знаходиться всередині ряду.

В першу пробірку, в яку було розлито 2 мл поживного середовища, ми вносили 2 мл робочого розчину дезінфектанту. Вміст пробірки перемішували і з першої пробірки 2 мл середовища з дезінфектантом переносили в другу і т.д. до останньої пробірки ряду.

Стандартні розведення культур, які вивчалися, готували за схемою: спочатку робили висіви на МПА, витримували у термостаті при 37 °С 16-18 годин, потім робили змиви культур стерильним ізотонічним розчином хлористого натрію і за стандартом мутності визначали концентрацію мікробних клітин в 1 мл. Додатково робили висіви дезінфектанту для проведення чистоти культури, а пробірку, в якій робили висів використовували для контролю якості поживного середовища. Чутливість культури до водного розчину діоксиду хлору визначали візуально через 16-18 годин. Бактеріостатичну концентрацію встановлювали за схемою: концентрацію дезінфектанту в пробірці з відсутністю росту додавали до кількості дезінфектанту в 1 мл середовища подальшої пробірки, де відмічали ріст культури і виводили середнє арифметичне число, яке показувало мінімальну концентрацію дезінфектанту затримуюче ріст культури.

Визначення антимікробної активності препарату діоксиду хлору проводили на патогенних культурах, які були ізольовані з різних господарчих об'єктів (знарядь лову, інвентарю, живорибної тари) рибних господарств.

Як тест-об'єкти використовували плитку, метал, пластик, цеглу і дерево розміром 10 на 10

см. Перед нанесенням тест-культур поверхні дезінфікували. Шляхом кип'ятіння 5 хв. Після підсихання, тест-об'єкт клали горизонтально і піпеткою наносили 2-х міліардну суміш культур, що вивчалися, із розрахунку 0,5 см³ на 100 см².

Культури рівномірно розташовували по поверхні скляним шпателем, підсушували при кімнатній температурі (18-20 °С) і відносній вологості повітря 50-60 %. Потім тест-об'єкти розкладали горизонтально і вертикально і піпеткою наносили дезінфікуючий препарат водний розчин діоксиду хлору у кількості 200 см³/м². Досліджували 0,5-1,0 мг/дм³ розчини препарату. Після зрошення, поверхню залишали до повного висихання.

Контрольні тест-об'єкти зрошували стерилізованою водопровідною водою в тій же кількості. Контроль ефективності дезінфекції проводили за допомогою стерильного вологого тампона. Ватний тампон відмивали в 10 мл води протягом 10 хвилин. Змив, який ми отримали з дослідних пластинок, вносили на чашки Петрі, заливали агаром при температурі 40-50 °С. Змиви з контрольних пластинок перед посівом розводили в 100 разів з метою рівномірного розподілення мікроорганізмів у агарі, проводили змішування поживного середовища. Висіви витримували в термостаті при 37 °С, а потім підраховували кількість колоній, які виростили на чашках Петрі. Потім визначали щільність контамінації на 100 см² і відсоток знезараження. Результати розраховували за формулою:

$$X = a \times 100 / v,$$

де: а – кількість мікробних клітин з досліджуваних пластинок;

v – кількість мікробних клітин з контрольних пластинок.

Результати власних досліджень. Визначення антимікробної активності до водного розчину діоксиду хлору проводили на патогенних культурах, які були ізольовані з різних господарчих об'єктів (знарядь лову, інвентарю, живорибної тари) рибних господарств, зокрема до *A. hydrophila*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. faecalis*. В якості контролю служила культура на МПА без обробки.

В результаті проведених досліджень було виявлено, що при нанесенні водного розчину діоксиду хлору з концентрацією 0,5 мг/дм³ проявився виражений бактерицидний ефект на всіх тест-об'єктах від 93 до 98 %.

Таблиця 1

Результати вивчення дезінфікуючих властивостей діоксиду хлору з концентрацією 0,5 мг/дм³ до польових ізолятів мікроорганізмів отриманих з рибних господарств (M±m, n=6)

Культури бактерій	Тест-об'єкти				
	цегла	Плитка	дерево	метал	пластик
<i>A. hydrophila</i>	94,82±0,9	95,72±0,9	94,98±0,3	95,82±0,9	95,67±0,8
<i>E. coli</i>	93,89±0,4	95,78±0,6	94,28±0,4	97,78±0,4	96,78±0,4
<i>P. vulgaris</i>	95,93±0,8	94,86±0,6	98,22±0,4	98,36±0,8	96,86±0,9
<i>P. aeruginosa</i>	95,86±0,9	95,72±0,8	94,89±0,2	96,82±0,4	96,76±0,8
<i>S. aureus</i>	94,46±0,6	96,24±0,2	93,28±0,9	96,42±0,2	95,78±0,5
<i>S. faecalis</i>	93,67±0,4	94,76±0,8	95,68±0,8	96,53±0,9	95,28±0,2

При збільшенні концентрації розчину дезінфектанту до 1 мг/дм³ (табл. 1), встановлено, що діоксид хлору має бактерицидну та бактеріо-

статичну дію по відношенню до більшості всіх мікроорганізмів, які були нанесені на всі тест-об'єкти (цегла, плитка, дерево, залізо та пластик).

Таблиця 2

Результати вивчення дезінфікуючих властивостей діоксиду хлору з концентрацією 1 мг/дм³ до польових ізолятів мікроорганізмів отриманих з рибних господарств (M±m, n=6)

Культури бактерій	Тест-об'єкти				
	цегла	плитка	дерево	метал	пластик
<i>A. hydrophila</i>	100	100	100	100	100
<i>E. coli</i>	100	100	99,89±0,6	100	100
<i>P. vulgaris</i>	99,93±0,8	100	99,92±0,4	100	100
<i>P. aeruginosa</i>	100	100	100	100	100
<i>S. aureus</i>	100	100	99,46±0,2	100	100
<i>S. faecalis</i>	100	100	100	100	100

Таким чином отримані дані наведені в табл. 2 свідчать про те, що використання водного розчину діоксиду хлору з концентрацією 1 мг/дм³, мав бактерицидну і бактеріостатичну дію по відношенню до патогенних ізолятів мікроорганізмів, що були нанесені на тест-об'єкти. Даний дезінфектант викликав 100 % знезараження плитки, метала і пластика, цегли – 99,93±0,8 % та 99,46±0,2 – 100 % дерева.

Висновки. Встановлено, що препарат діоксид хлору з концентрацією 1 мг/дм³ є ефективним екологічно безпечним засобом дезінфек-

ції у рибництві, а саме: знарядь лову, інвентарю, живорибної тари. Дезінфектант знезаражує робочі поверхні експериментально контаміновані ізолятами культур *A. hydrophila*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. faecalis*: плитки, метала та пластику – 100 %, цегли – 99,46±0,2 %, та дерев'яної поверхні – 99,93±0,8 %.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження з даної проблеми дозволять провести дослідження запропонованого дезінфектанту у виробничих умовах з метою профілактики різних хвороб риб.

Список використаної літератури:

1. Биологические препараты и химические вещества в аквакультуре / [Давыдов О.Н., Абрамов А.В., Куровская Л.Я. и др.]. – К.: Логос, 2009. – 307 с.
2. Давидов О.М. Ветеринарно-санітарний контроль у рибництві / О.М. Давидов, Ю.Д. Темніханов. – К.: "Фірма "Інкос"", 2004. – 114 с.
3. Давыдов О.Н. Болезни пресноводных рыб / О.Н. Давыдов, Ю.Д. Темниханов. – К.: "Ветинформ", 2003. – 544 с.
4. Знезараження води та стоків розчинами діоксиду хлору, отриманого за допомогою генераторів діоксиду хлору з реагентів Divosan CD-7,5 та Divoact Н-чи реагентів Blandidas-C 7,5CD та Blandidas-A 9H / Т.І. Фотіна, Р.В. Петров, С.М. Назаренко. – Київ, 2014 – 29 с.
5. Методика визначення бактеріостатичної та бактерицидної концентрації антибактеріальних препаратів методом серійних розведень // Методичні рекомендації. Затв. Науково-методичною радою Державного департаменту ветеринарної медицини України, 2003 – 6 с.
6. Микробиологические и вирусологические методы исследования в ветеринарной медицине: справочное пособие. / [А.Н. Головкин, В.А. Ушкалов, В.Г. Скрыпник и др.]. – Х.: «НТМТ», 2007. – С. 472-475.
7. Рекомендації щодо санітарно-мікробіологічного дослідження змивів з поверхонь тест-об'єктів та об'єктів ветеринарного нагляду і контролю / методичні рекомендації / О.М. Якубчак, В.І.Хоменко, С.В. Мідик та ін. – Київ, 2005. – 18 с.

Назаренко С. Н. Бактерицидная активность диоксида хлора на тест-объектах в отношении полевых изолятов культур микроорганизмов.

В статье приведены результаты использования диоксида хлора на тест-объектах (кирпич, плитка, дерево, металл, пластик) в отношении полевых изолятов культур *A. hydrophila*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. faecalis*. В результате проведенных исследований было выявлено, что при нанесении водного раствора диоксида хлора с концентрацией 0,5 мг/дм³ проявлял выраженный бактерицидный эффект на всех тест – объектах от 93 до 98 %. Установлено, что дезинфектант диоксид хлора в концентрации 1 мг/дм³ проявляет биоцидные свойства в отношении полевых изолятов культур микроорганизмов на различных видах тест - объектов, использованных в эксперименте. Дезинфектант обеззараживает рабочие поверхности экспериментально контаминированные полевыми изолятами культур *A. hydrophila*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. faecalis*: плитки, металла и пластика – 100 %, кирпича – 99,46±0,2 %, и деревянной поверхности – 99,93±0,8 %.

Ключевые слова: бактерицидная активность, диоксид хлора, тест-объекты культуры микроорганизмов.

Nazarenko S. M. Bactericidal activity of chlorine dioxide at the test objects relatively field isolates of cultures of microorganisms.

In the article the results of the use of chlorine dioxide at the test-objects (bricks, tiles, wood, metal, plastic) relatively field isolates of cultures of A. hydrophila, E. coli, P. vulgaris, P. aeruginosa, S. aureus, S. faecalis. It is established that the disinfectant chlorine dioxide in a concentration of 1 mg/dm³ exhibits a bactericidal effect relatively field isolates of cultures of microorganisms, on various types of the test objects used in the experiment.

Keywords: bactericidal activity, chlorine dioxide, the test objects of a culture of microorganisms.

Рецензент: д.вет.н., професор Березовський А. В.

Дата надходження до редакції: 24.11.2015 р.

УДК 619:614.48

ДЕЯКІ МІКРОБІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ МИЙНО-ДЕЗІНФІКУЮЧОГО ЗАСОБУ "САН-АКТИВ" ДЛЯ САНІТАРНОЇ ОБРОБКИ НА М'ЯСОПЕРЕРОБНИХ ПІДПРИЄМСТВАХ

В. З. Салата, к.вет.н., доцент, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

У статті наведено результати досліджень фенольного та білкового індексу мийно-дезінфікуючого засобу "Сан-актив", вплив його на бактерії сформовані у біоплівки та виявлено наявність адаптації у E. coli шт. 125 та S. aureus шт. 209-Р до розчинів засобу. Встановлено, що мийно-дезінфікуючий засіб "Сан-актив" має високу бактерицидну дію на грампозитивну та грамнегативну мікрофлору. Бактерицидна дія "Сан-активу" в 14,8 разів активніша, порівняно з фенолом, а за умови наявності в середовищі дії засобу білкових субстанцій його активність знижується в 2,3-2,4 рази. Засіб "Сан-актив" у 0,5 % концентрації діє бактерицидно на клітини S. aureus та E. faecalis, які перебувають у біоплівці через 10 хв. експозиції. Для інактивації клітин E. coli і P. aeruginosa, які перебувають у біоплівці, необхідно, щоб "Сан-актив" діяв у концентрації не нижче 0,5 % і не менше 30 хв. Зокрема, встановлено, що тест-культури E. coli та S. aureus не адаптуються до розчинів засобу "Сан-актив" і його можна довгостроково застосовувати для санітарної обробки на підприємствах м'ясопереробної галузі.

Ключові слова: мийно-дезінфікуючий засіб, бактерицидна дія, "Сан-актив", санітарна обробка.

Постановка проблеми у загальному вигляді. Забезпечення мікробіологічної безпеки харчових продуктів прямо пов'язане із якісною санітарною обробкою технологічного обладнання на підприємствах харчової промисловості, у тому числі м'ясопереробної галузі. Проведення санітарної обробки технологічного обладнання необхідне для досягнення його виробничої стерильності.

Аналіз основних досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання проблеми. Забезпечити виробничу стерильність обладнання можливо тільки за умови використання сучасних мийних і дезінфікуючих засобів [1]. Сьогодні на ринку України є значна кількість мийних і дезінфікуючих засобів для санітарної обробки технологічного обладнання на підприємствах м'ясопереробної галузі. Проте, засоби, які поєднують у собі одночасно мийні та дезінфікуючі властивості, практично відсутні. Використання таких засобів є актуальним, так як суттєво знижується ціна санітарної обробки, а отже і собівартість виробленої продукції.

Нами, співробітниками лабораторії ветеринарної санітарії та експертизи продуктів тварин-

ництва Тернопільської дослідної станції ІВМ НААН і Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького, було розроблено мийно-дезінфікуючий засіб "Сан-актив" для санітарної обробки технологічного обладнання на м'ясопереробних підприємствах [2]. Діючими речовинами мийно-дезінфікуючого засобу "Сан-актив" є ЧАС, ПАВ, луг, комплексони та інгібітори корозії. Важливість розробки мийно-дезінфікуючих засобів полягає у тому, що вони поєднують у собі дві важливі властивості – миття і дезінфекцію.

Метою роботи було визначити фенольний та білковий індекс мийно-дезінфікуючого засобу "Сан-актив", вплив його на бактерії сформовані у біоплівки та встановити наявність адаптації у E. coli шт. 1257 та S. aureus шт. 209-Р до розчинів засобу.

Матеріали і методи досліджень. Фенольний та білковий індекс засобу "Сан-актив" відносно E. coli шт. 1257 та S. aureus шт. 209-Р визначали згідно рекомендацій О.М. Якубчак, та ін., 2005 [3]. Вплив засобу "Сан-актив" на умовно-патогенні мікроорганізми, які сформовані у біоп-