

ЕФЕКТИВНІСТЬ ДЕЗІНФІКУЮЧОГО ЗАСОБУ «ГУАНІДЕЗ» НА ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ БДЖІЛ У ЛАБОРАТОРНИХ УМОВАХ

Сіренко О. С., Десятникова О. В., Гур'єва В. Б.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: elenasirenko88@gmail.com

Визначено високі дезінфікуючі властивості дослідного засобу «Гуанідез» відносно збудників гнильцевих захворювань бджіл. За результатами досліджень складено технологічний регламент виготовлення препарату: полігексаметиленгуанідину-гідрохлорид у концентрації не менше 20,0 %, перекис водню в концентрації не менше 35,0 % та ДМСО — 0,05 %.

Ключові слова: бджоли, гнильці, «Гуанідез», дезінфекція.

Невід'ємною складовою технології виробництва продукції бджільництва є дотримання гігієнічних правил при догляді за бджолиними сім'ями, отриманні різних видів продукції. Особливої уваги вимагає проведення ветеринарних заходів, спрямованих на профілактику та ліквідацію масових захворювань бджолиних сімей [1–4]. Пошук ефективних профілактичних засобів із груп фармацевтичних сполук лікарських рослин або біологічних засобів — першочергове завдання ветеринарного фахівця. Найголовнішим критерієм відбору повинна бути безпечність засобів для довкілля у зв'язку з тим, що мед, як харчовий продукт, вживається без переробки. Застосування профілактичних засобів і проведення своєчасної дезінфекції надає змогу відмовитись від використання антибіотиків у бджільництві, а також покращити фізіологічний стан бджіл та отримувати екологічно чисту продукцію від сімей бджіл [5–7].

Серед відомих інфекційних захворювань медоносних бджіл найбільшу небезпеку представляють гнильцеві хвороби: американський, європейський гнилець. Ці захворювання мають схожі клінічні ознаки та вражають печатний і відкритий розплід робочих бджіл і трутнів [8]. З метою удосконалення заходів боротьби та профілактики з інфекційними хворобами бджіл у ННЦ «ІЕКВМ» розроблено новий дезінфікуючий засіб «Гуанідез», до складу якого включено три компоненти: полігексаметиленгуанідін, перекис водню та диметилсульфоксид.

З метою підтвердження бактерицидних властивостей засобу «Гуанідез» і можливості його застосування безпосередньо у бджільництві були проведені лабораторні випробування засобу та його компонентів.

Мета роботи. Вивчити дію дезінфікуючого засобу «Гуанідез» на збудників інфекційних захворювань бджіл у лабораторних умовах.

Матеріали та методи. Було випробувано дезінфікуючі властивості полігексаметиленгуанідину-гідрохлориду (ПГМГ-гх) і перекису водню, а також сумісно обох речовин, як компонентів засобу «Гуанідез» із додаванням диметилсульфоксиду (ДМСО). Для досліджень використовували: стерильні предметні скельця, смужки зі шпону, на які наносили суспензії спорових клітин у концентрації $(10 \times 10^6 \pm 0,5)$ клітин/см³ — збудників гнильцевих захворювань бджіл *Paenibacillus alvei*, *Paenibacillus larvae*, *Melissococcus pluton*; шматочки стільників від сімей, уражених збудниками гнильцевих захворювань бджіл.

Дослідні тест-об'єкти обробляли розчинами різних концентрацій (від 0,5 до 10 %) засобу «Гуанідез» методами зрошення та занурення на певний час (2, 4, 6, 8, 24, 48 годин), контрольні — стерильним фізіологічним розчином. Потім тест-об'єкти промивали водою та висушували. Надалі з кожного тест-об'єкту готували змиви відповідно до «Методичних вказівок по диференційній діагностиці інфекційних хвороб бджіл» [9], які висівали на спеціальні середовища (Уілліса-Гобза, МПА, Черепова) та інкубували у термостаті за температури 24 ± 1 і 37 ± 1 °C протягом 14 діб з подальшою ідентифікацією збудників. Упродовж вказаного терміну реєстрували наявність чи відсутність росту культур мікроорганізмів для оцінки ефективності дезінфікуючого засобу [10–12]. Дослідження на комах проведено з урахуванням принципів біоетики. У лабораторних дослідженнях використовували медоносних бджіл *Apis mellifera* L, які не є видом, що

охороняється законом чи знаходиться під загрозою зникнення. Для лабораторних досліджень отримували бджіл із сімей, що утримувались на пасіці, яка належить ННЦ «ІЕКВМ». Утримання, догляд за бджолами та їх годівля здійснювалися згідно з нормами та раціонами, рекомендованими для даного виду комах [10]. Польові дослідження проводили на приватних пасіках із дозволу власників та у господарствах із дозволу керівництва. Евтаназія особин різних стадій розвитку бджіл проведена шляхом заморожування.

Результати досліджень. Випробувано бактерицидні властивості дослідного засобу «Гуанідез» відносно таких культур мікроорганізмів: *Paenibacillus larvae* (збудник американського гнильця), *Melissococcus pluton*, *Paenibacillus alvei* (збудники європейського гнильця), а також дезінфікуючі властивості на тест-об'єктах: дерево щойно відбудованої вощини та стільника двох-трьох років використання. Контролем служив стерильний фізіологічний розчин. Результати досліджень впливу дезінфектанту на збудників гнильцевих захворювань бджіл наведені в табл. 1.

Таблиця 1 — Чутливість мікроорганізмів до дезінфікуючих речовин (метод серійних розведень) на 48 годину досліджень

Концентрація засобу, %		Культури мікроорганізмів			
		<i>P. alvei</i>	<i>M. pluton</i>	<i>P. larvae</i>	
ПГМГ-гх	1,0	±	–	+	
	1,5	–	–	±	
	2,5	–	–	–	
Перекис водню, 35 %	1,5	+	+	+	
	3,0	+	–	±	
	4,5	–	–	–	
«Гуанідез»	ПГМГ-гх	1,5	–	–	±
		2,0	–	–	–
		3,0	–	–	–
	Перекис водню, 35 %	2,0	–	–	±
		3,0	–	–	–
		4,5	–	–	–
	ДМСО		0,005	–	–
Контроль (фіз. розчин)			+	+	+

Примітки: «+» — наявність росту; «–» — відсутність росту; «±» — сумнівний результат.

За результатами досліджень встановлено, що розведення ПГМГ-гх, яке затримувало зростання усіх мікроорганізмів становило 2,5 %. Перекис водню затримував зростання мікроорганізмів у концентрації 4,5 %.

Засіб «Гуанідез», що являє собою комплекс компонентів: ПГМГ-гх, перекис водню та диметилсульфоксид, показав найкращі результати за умови використання ПГМГ-гх у концентрації 2,0 та 3,0 %, перекису водню 3,0 та 4,5 %, ДМСО — 0,005 на 48-му годину дослідження.

Результати відпрацювання режимів дезінфекції на найбільш наближених до виробничих умов об'єктах (дереві, з якого виготовлені самі вулики та конструкції стільників, шматочках вощини, що вперше мають контакт зі збудниками гнильців у виробничих умовах і стільників із сімей бджіл, уражених гнильцями) представлені у табл. 2.

ПГМГ-гх не проявив дезінфікуючих властивостей у концентраціях 1,0 та 1,5 %, особливо за умови мінімальної експозиції — 3 год. На стільниках із хворих на гнильці сімей навіть за експозиції 6 год. ПГМГ-гх у концентраціях 1,0 та 1,5 % не проявив ефекту. За використання пергідролю найкращі результати було отримано у концентрації 6 %.

Для остаточного визначення кінцевої робочої концентрації компонентів дослідного засобу «Гуанідез» були проведені дослідження, результати яких представлено у табл. 3.

Із даних табл. 3 видно, що на 48-му годину досліджень найвищі бактерицидні властивості компонентів засобу «Гуанідез» були отримані у концентраціях: ПГМГ-гх — 2,0 %, перекис водню — 3,5 %, ДМСО — 0,05 %. Додавання ДМСО покращило проникнення хімічних речовин у товщу стільників, що сприяло підвищенню ефективності дії дослідних засобів.

**Розділ 4. Якість і безпечність продукції тваринництва.
Ветеринарно-санітарна експертиза. Ветеринарна фармакологія та токсикологія**

Таблиця 2 — Чутливість мікроорганізмів до дезінфікуючих речовин (метод серійних розведень) на 48-му годину досліджень

Концентрація засобу, %		Тест-об'єкт, експозиція, год.								
		вощина			дерево			стіленьник		
		<i>P. alvei</i>	<i>M. pluton</i>	<i>P. larvae</i>	<i>P. alvei</i>	<i>M. pluton</i>	<i>P. larvae</i>	<i>P. alvei</i>	<i>M. pluton</i>	<i>P. larvae</i>
ПГМГ-гх	1,0	+	–	–	+	–	–	+	+	–
	1,5	–	–	–	+	–	–	+	+	–
	2,5	–	–	–	–	–	–	–	–	–
перекис водню, 35 %	1,5	+	+	–	+	+	+	±	+	+
	3,0	±	–	–	±	–	–	±	–	–
	6,0	–	–	–	–	–	–	–	–	–
«Гуанідез»	ПГМГ-гх	2,0	–	–	–	–	–	–	–	–
		2,5	–	–	–	–	–	–	–	–
		3,0	–	–	–	–	–	–	–	–
	перекис водню, 35 %	3,5	–	–	–	–	–	–	–	–
		4,5	–	–	–	–	–	–	–	–
		6,0	–	–	–	–	–	–	–	–
		ДМСО	0,005	–	–	–	–	–	–	–
Контроль (фіз. розчин)		+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітки: «–» — відсутність росту культури *P. larvae*, *M. pluton* та *P. alvei*; «+» — наявність росту культури *P. larvae*, *M. pluton* та *P. alvei*; «±» — сумнівний ріст.

Таблиця 3 — Чутливість збудників *Penibacillus larvae*, *Melisococcus pluton* та *Penibacillus alvei* до дослідного препарату «Гуанідез» на 48-му годину досліджень

Компоненти препарату	Концентрація, %	Стіленьник із сім'ї, спосіб застосування					
		<i>Penibacillus larvae</i>		<i>Melisococcus pluton</i>		<i>Penibacillus alvei</i>	
		зрошення	занурення	зрошення	занурення	зрошення	занурення
ПГМГ-гх	0,5	–	–	–	–	–	–
	1,0	–	–	–	–	–	–
	2,0	–	–	–	–	–	–
	2,0	–	–	–	–	–	–
	5,0	–	–	–	–	–	–
Перекис водню	0,35	+	+	+	+	+	+
	0,7	±	±	±	±	±	±
	1,5	±	±	±	±	±	±
	3,5	–	–	–	–	–	–
	3,5	–	–	–	–	–	–
ДМСО	0,001	+	+	+	+	+	+
	0,002	+	+	+	+	+	+
	0,008	+	+	+	+	+	+
	0,05	–	–	–	–	–	–
	0,1	–	–	–	–	–	–
Контроль (фіз. розчин)		+	+	+	+	+	+

Примітки: «–» — відсутність росту культури *P. larvae*, *M. pluton* та *P. alvei* на середовищах; «±» — сумнівний ріст культури *P. larvae*, *M. pluton* та *P. alvei* на середовищах; «+» — наявність росту культури *P. larvae*, *M. pluton* та *P. alvei* на середовищах.

Таким чином, за результатами досліджень встановлено дезінфікуючі властивості дослідного засобу «Гуанідез» відносно збудників гнильцевих захворювань бджіл. За результатами досліджень складено технологічний регламент виготовлення препарату:

полігексаметиленгуанідину-гідрохлорид у концентрації не менше 20,0 %, пергідроль в концентрації не менше 35,0 % та ДМСО — 0,05 %.

Висновки. 1. Засіб «Гуанідез» проявляє виражені бактерицидні властивості відносно таких культур мікроорганізмів: *Paenibacillus larvae* (збудник американського гнильця), *Melissococcus pluton*, *Paenibacillus alvei* (збудники європейського гнильця).

2. Результати випробування засобу «Гуанідез» свідчать про ефективність сумісного застосування полігексаметиленгуанідин-гідрохлориду, перекису водню та диметилсульфоксиду.

3. Аналіз результатів лабораторних випробувань дезінфікуючого засобу «Гуанідез» для профілактичної та вимушеної дезінфекції підтверджують його ефективність та доцільність застосування при гнильцевих захворюваннях бджіл шляхом вологої обробки бджолознаряддя та стільників.

Список літератури

1. Домбровський О. Б. [та ін.]. Практикум з питань бджільництва та хвороб бджіл. Біла Церква, 2002. 248 с.
2. Сохликов А. Б., Игнатъева Г. И. Получение экологически чистой продукции. *Пчеловодство*. 2005. № 1. С. 213.
3. Лебедев В. И., Мурашова Е. А. Экологическая чистота продуктов пчеловодства. *Пчеловодство*. 2003. № 4. С. 21–24.
4. Інструкція щодо попередження та ліквідації хвороб і отруєнь бджіл [Електронний ресурс] : затв. наказом Гол. держ. інспектора вет. медицини України 30.01.2001, № 9 ; зареєстр. в Мінюсті України 12.02.21, № 131/5322. Режим доступу: <http://zakon.rada.gov.ua/laws/z0131-01>.
5. Бойко Т. В. Сравнительная оценка дезинфицирующих препаратов для дезинфекции в пчеловодстве. *Учёные Записки УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»*. 2014. Т. 50, вып. 1., ч. 1. С. 89–92.
6. Галатюк О. Є., Романишина Т. О., Лемешинська Л. Ф., Лахман А. Р. Використання продуктів бджільництва для здоров'я людей. *Трофологія (вчення про закономірності живлення біоти та правильного харчування людей) новітній міждисциплінарний напрям в Україні : матеріали I Всеукраїнської науково-освітньо-практичної конференції (м. Житомир, 25–26 квітня 2019 р.)*. Житомир: Житомирський національний агроекологічний університет, 2019. С. 163–166
7. Двилюк І. В. Санітарно-гігієнічні основи превентивних заходів у бджільництві. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*. 2014. Том 16, № 3(60), ч. 3. С. 286–294.
8. Мусієнко О. В., Кистерна О. С. Гнильцеві хвороби бджіл, особливості діагностики та боротьби. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія : Ветеринарна медицина*. 2017. Вип. 11. С. 90–95.
9. Методичні вказівки з диференційної діагностики інфекційних хвороб розплоду бджіл : затв. наказом Гол. держ. інспектора вет. медицини України 27.12.2001, № 15-14/369.
10. Ступак Л. П., Маслій І. Г. Моніторингові дослідження зразків розплоду бджіл на гнильці у лабораторних умовах. *Ветеринарна медицина : міжвід. темат. наук. зб.* 2009. Вип. 92. С. 471–475.
11. Руденко Е. В. Питательная среда для культивирования возбудителя американского гнильца пчёл. *Ветеринария*. 1987. № 2. С. 72–73.
12. Руденко Е. В. Об особенностях эпизоотологии американского гнильца пчёл и его диагностике. *Ветеринария : респ. межвед. темат. науч. сб.* Киев, 1987. Вып. 62. С. 74–76.

EFFECTIVENESS OF THE “GUANIDEZ” DISINFECTANT ON THE AGENTS OF BEE INFECTIOUS DISEASES IN LABORATORY CONDITIONS

Sirenko O. S., Desyatnikova O. V., Gurieva V. B.

National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkiv, Ukraine

*The aim of the work is to study the effect of the disinfectant “Guanidez” on bee infectious diseases agents in vitro. Clinical-epizootological and microbiological methods have been used in the work. There were detected high disinfecting properties of the disinfectant “Guanidez” against pathogens of putrefactive diseases of bees. According to the results of the research, the technological regulation for the manufacturing of the preparation was developed: polyhexamethyleneguanidine hydrochloride at a concentration of at least 20.0%, hydrogen peroxide at a concentration of at least 35.0% and dimethylsulfoxide — 0.05 %. Disinfectant “Guanidez” exhibits pronounced bactericidal properties against the following cultures of microorganisms: *Paenibacillus larvae* (pathogen of American foulbrood), *Melissococcus pluton*, *Paenibacillus alvei* (pathogens of European foulbrood). The results of the “Guanidez” test indicate the effectiveness of the combined use of polyhexamethyleneguanidine hydrochloride, hydrogen peroxide and dimethylsulfoxide. The analysis of the results of laboratory tests of the “Guanidez” disinfectant for prophylactic and forced disinfection confirm its effectiveness and expediency of use for the control of putrefactive diseases.*

Keywords: bees, foulbroods, “Guanidez”, disinfection