

УДК 636.09: 579.84:579.63

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ПРОМИСЛОВИХ ДЕЗИНФІКУЮЧИХ ЗАСОБІВ НА СТІЙКІСТЬ ІЗОЛЯТІВ ВИДІЛЕНИХ ВІД ПТИЦІ

Пустовіт Н. А., Пінчук Н. Г.

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів,
м. Київ, Україна, e-mail: nat_pinchuk@mail.ru

Забруднення води та їжі, прямий контакт з інфікованими тваринами все це може бути причиною зараження. Удосконалення методів дослідження та аналізу харчових продуктів на наявність в них збудників гострих кишкових інфекцій (ГКІ), у тому числі бактерій роду *Campylobacter* spp. — одна з найбільш актуальних задач гігієни харчування. Таким чином, знання про загальну ефективність дезінфікуючих засобів, які використовуються при боротьбі зі збудниками, а особливо кампілобактеріозом необхідні. У даній статті наведені результати дослідження впливу промислових дезінфікуючих засобів на стійкість ізолятів виділених від птиці.

Ключові слова: кампілобактеріоз, дезінфіканти, матеріал, об'єкти навколишнього середовища, контамінація, ізолят

Антисептики та дезінфікуючі засоби широко використовуються в сучасному ветеринарному виробництві. Вони є невід'ємною частиною ветеринарної практики і допомогою у профілактиці інфекційних хвороб [1]. Для дезінфекції застосовують цілий ряд деззасобів, проте більшість з них володіють вузьким спектром бактерицидних властивостей і є високотоксичними [2].

Через те, що *Campylobacter* є важливим кишковим патогеном людини, нами було вивчено вплив широко використовуваних дезінфікуючих засобів на життєздатність цього збудника. Для порівняння брали самі розповсюджені ізоляти виділені від птиці [3]. Основними шляхами передачі інфекції в організмі людини є споживання забрудненого або недовареного м'яса (особливо птиці), непастеризованого молока або молочних продуктів, а також забрудненої води. Зараження можливе також через контакт з інфікованими тваринами або фекаліями [4].

Метою роботи було дослідження впливу промислових дезінфікуючих засобів на стійкість ізолятів виділених від птиці.

Матеріали та методи. Оцінку ефективності дезінфікуючих засобів проводили згідно Руководства Р 4.2. 2643-10 «Методы лабораторных исследований и испытаний медико-профилактических дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности: Руководство. — М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2009. Разработаны: Федеральным государственным учреждением науки «НИИ дезинфектологии» Роспотребнадзора и кафедрой дезинфектологии ММА им. И. М. Сеченова; та згідно методик, викладених у збірнику «Методы испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности», Москва, 1998 г.

В якості тест-мікроорганізмів були використані наступні ізоляти: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* SS/15, *Campylobacter jejuni*.

Результати досліджень. Робочі розчини деззасобів готували ex tempore шляхом змішування відповідних кількостей деззасобів і стерильної питної води. Бактерицидну активність визначали суспензійним методом та методом з використанням тест-об'єктів [5].

Першим використовували **суспензійний метод**. Для приготування розчинів у різних концентраціях препарат розчиняли у стерильній питній воді, потім по 4,5 см³ розливали у стерильні пробірки, в які додавали 0,5 см³ суспензії тест-мікроорганізмів, яка містить 1×10⁹ КУО/см³ та ретельно перемішували.

Через певні інтервали часу (у залежності від експозиції деззасобу по 0,5 см³ суспензії «тест-мікроорганізм+ДЗ» додавали до 4,5 см³ відповідного нейтралізатора, знов ретельно струшували і залишали на 5 хвилин. Потім по 0,5 см³ суспензії вносили в пробірку з 4,5 см³ стерильної питної води, після чого 0,1 см³ з цієї проби вносили у пробірку з 5 см³ рідкого й на поверхню твердого поживного середовища.

У контрольних дослідах замість розчинів дезінфікантів використовували стерильну питну воду, а посіви робили в середовище без нейтралізації. Результати дослідження оцінювали за присутністю або відсутністю росту мікроорганізмів у рідкому й на твердому поживному середовищі.

Отримані результати порівнювали з контролем дослідження, яким являвся посів тест-мікроорганізмів в поживне середовище без додавання дезінфіканту або субстанції.

Ефективним вважали дезінфікант, якщо тричі повторений дослід за певний проміжок часу дає негативний результат (відсутність росту мікроорганізмів) за наявності типового росту тест-культури в контролі (табл. 1).

Розділ 2. Ветеринарна вірусологія та мікробіологія

Таблиця 1 – Дослідження зразків дезінфікуючих засобів при різних експозиціях

№ п/п	Дезинфікант	Концентрація	Експозиція	Ріст мікроорганізмів			
				<i>Salmonella enteritidis</i> SS/15	<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	Санфорт Дез	0,5 %	10-12 год	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
2	Агріжерм	0,5 %	10-12 год	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
3	Віросан-макс	0,5 %	10-12 год	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
4	ТН-4	0,5 %	10-12 год	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
5	Біоконтакт +	0,5 %	10-12 год	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
6	Dr. Phosteril D25	2-5 %	15-20 хв	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
7	Віп-2	3-5 %	20-30 хв	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
8	Віп-1	0,5-1 %	15 с	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
			20 с	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
			25 с	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
9	Dr. Сір Flux	0,5-1 %	15 с	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
			20 с	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
			25 с	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
10	Віркон-С	1 %	1 год	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
11	*Пентасол 237	1 %	12 с	відсутній	ріст	ріст	відсутній
		1 %	40 с	відсутній	ріст	ріст	відсутній
		1 %	48 с	відсутній	ріст	ріст	відсутній
		1 %	3 хв	відсутній	ріст	ріст	відсутній
12	Перфект Алка	1 %	12 с	відсутній	ріст	ріст	відсутній
		1 %	40 с	відсутній	ріст	ріст	відсутній
		1 %	48 с	відсутній	ріст	ріст	відсутній
13	* Ансеп Сіп	1 %	12 с	ріст	ріст	ріст	ріст
		1 %	40 с	відсутній	ріст	ріст	відсутній
		1 %	48 с	відсутній	ріст	ріст	відсутній
		1 %	3 хв	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
15	ПЗ Топакс 66	2 %	20 хв	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
15	Фоам 136	2 %	20 хв	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
16	Гіпохлорид натрію	1 %	20 хв (190 мл активного хлору)	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
17	ПЗ Аксонія Актив 150	0,02%	110 хв	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній

		0,2 %	20 хв	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
		1 %	20 хв	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
18	ПЗ-Маносан (миючий засіб для рук)	1 мл	5 с	ріст	ріст	ріст	ріст
19	*ПЗ-Манодез (дезінфікант для рук)	1 мл	5 с	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
20	Фоам 2000	2 %	20 хв	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
21	Торасбіве Des	2 %	20 хв	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній
22	Des Foam PAA	2 %	20 хв	відсутній	відсутній	відсутній	відсутній

Результати досліджень, представлені в таблиці 1, дають змогу зробити наступні висновки:

- **Пентасол 237** в концентрації 1,0 % за експозиції 12, 40, 48 с та 3,0 хвилини проявляв бактеріостатичну дію у відношенні *Staphylococcus aureus* та *Campylobacter*;
- **Ансеп Сіп** у концентрації 1,0 % за експозиції 12 с проявляв бактеріостатичну дію у відношенні *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* та *Salmonella enteritidis* та в концентрації 1,0 % за експозиції 40 і 48 с проявляв бактеріостатичну дію у відношенні *Staphylococcus aureus* та *Campylobacter*;
- **ПЗ-Манодез** за експозиції 5 с проявляв бактеріостатичну дію у відношенні *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* та *Salmonella enteritidis*.

Другим був метод використання **тест-об'єктів**. Дослідження проводили в залежності від виду матеріалу, способу та експозиції обробки. За основу було взято поверхні розміром 10х10 см з різних матеріалів: дерев'яні, поверхні з лінолеумних покриттів, поверхні з нефарбованого металу. Усі поверхні обробляли механічною чисткою – мили водою з милом та щіткою, протирали декілька разів стерильною серветкою, зволоженою стерильною питною водою. Висушені поверхні розташовували горизонтально і на них піпетдозатором наносили суспензії мікроорганізмів в кількості 0,5 см³ 1 млрд. мікробної суспензії кожної культури на площу в 10 см² і рівномірно розподіляли її на поверхні.

Поверхні підсушували (до повного висихання) за температури + 18–20 °С, потім обробляли згідно системи дезінфекції птахокоплексів відповідним дезінфікуючим розчином. Для імітації забруднення поверхонь використовували білкове забруднення: 40% інактивовану сироватку. Дослідження проводили за температури + 18–20 °С.

Контроль ефективності знезараження тест-поверхонь проводили за наступною методикою: марлевою серветкою (розміром 5х5 см²), змоченою у розчині нейтралізатора, ретельно протирали тест-поверхні, потім її вносили в 10 см³ цього ж нейтралізатора, який знаходився у пробірках. Час відмивання марлевої серветки 10 хвилин при постійному струшуванні. Відмивну рідину засівали (на 2–3 пробірки с ТСБ по 0,1–0,2 см³ у кожну), а через 48 годин на ТСА та тверді диференційно-діагностичні поживні середовища (табл. 2).

Таблиця 2 – Результати досліджень впливу систем дезінфекції на різні типи поверхні

№ п/п	Характер оброблюваної поверхні	Дезінфіканти		
		Формалін (37 %), 24- 48 год	UV-20 хв	UV-2 год
	<i>Salmonella enteritidis</i> SS/15			
1	Метал+сироватка	відсутній		
2	Лінолеум+сироватка	відсутній	ріст	ріст
3	Дерево+сироватка	відсутній	ріст	ріст
4	Метал	відсутній		
5	Лінолеум	відсутній	ріст	ріст
6	Дерево	відсутній	ріст	ріст

Розділ 2. Ветеринарна вірусологія та мікробіологія

<i>E. coli</i>				
1	Метал+сироватка	відсутній		
2	Лінолеум+сироватка	відсутній	ріст	ріст
3	Дерево+сироватка	відсутній	ріст	ріст
4	Метал	відсутній	ріст	
5	Лінолеум	відсутній	ріст	ріст
6	Дерево	відсутній	ріст	ріст
<i>Campylobacter jejuni</i>				
1	Метал+сироватка	відсутній	ріст	ріст
2	Лінолеум+сироватка	відсутній	ріст	
3	Дерево+сироватка	відсутній	ріст	ріст
4	Метал	відсутній		
5	Лінолеум	відсутній		
6	Дерево	відсутній	ріст	ріст
<i>Staphylococcus aureus</i>				
1	Метал+сироватка	ріст	ріст	ріст
2	Лінолеум+сироватка	ріст	ріст	ріст
3	Дерево+сироватка	ріст	ріст	ріст
4	Метал	ріст	ріст	ріст
5	Лінолеум	ріст	ріст	ріст
6	Дерево	ріст	ріст	ріст

Примітка: *ріст - ріст досліджуваної мікрофлори; *відсутній – відсутність росту досліджуваної мікрофлори

Аналіз результатів досліджень, представлених у таблиці 2 свідчить про неефективність використання ультрафіолету як самостійного засобу дезінфекції поверхонь різних типів за експозицій 20 хвилин та 2 години, що може бути обумовлено «сліпими зонами» приміщення та про бактеріостатичний вплив формаліну при експозиції 24–48 год на *Staphylococcus aureus*.

Висновок. Отже можна сказати, що дезінфікант Пентасол 237, Ансеп Сіп, ПЗ-Манодез проявляє бактеріостатичну дію по відношенню до мікроорганізмів, а використання ультрафіолету як самостійного засобу дезінфекції поверхонь різних типів, контамінованих бактеріями за експозицій 20 хвилин та 2 години є неефективним.

Список літератури

1. Phenotypes and genotypes of campylobacter strains isolated after cleaning and disinfection in poultry slaughterhouses / Peyrat M. B., Soumet C., Maris P., Sanders, P. // *Veterinary Microbiology*. – 2008. – № 128. – P. 313 – 326.
2. Коваленко В. Л. Актуальні проблеми застосування дезінфікуючих препаратів / В. Л. Коваленко // *Ветеринарна біотехнологія*. – Київ, 2008. – № 12. – С. 78 – 90.
3. Detection of *Campylobacter jejuni* in dairy farm environmental samples using SYBR green real-time polymerase chain reaction / H. M. Nam, V. A. Srinivasan, S. E. Murinda, S. P. Oliver // *Foodborne Pathogens and Disease*. – 2005. – Vol. 2, № 2. – P. 160–168.
4. Prevalence and numbers of *Campylobacter* on broiler carcasses collected at rehang and postchill in 20 U.S. processing plants / Berrang M. E., Bailey J. S., Altekruze S. F., Patel B., Shaw W. K. Jr, Meinersmann R. J., Fedorka-Cray P. J. // *Journal of Food Protection*. – 2007. - Vol. 70. – P. 1556-1560.
5. Методы лабораторных исследований и испытаний медико-профилактических дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности: Руководство Р 4.2. 2643 -10. – Москва: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2009.

STUDY OF INDUSTRIAL DISINFECTANTS THE STABILITY OF ISOLATES ISOLATED FROM POULTRY

Puštvit N. A., Pinchuk N. G.

State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms, Kyiv, Ukraine

Contamination of food and water, direct contact with infected animals can all be the cause of infection. Improved methods for the analysis of food products for the presence of pathogens of acute intestinal infections (AII), including bacteria of the genus *Campylobacter* spp. - one of the most pressing problems of food hygiene. as follows, knowledge about the overall effectiveness of disinfectants, used in the fight against pathogens, especially campylobacteriosis necessary. This article the study of the effect of industrial disinfectants on the stability of selected isolates from poultry and assessment of bacteriostatic or bactericidal effect.

The purpose of our study the effect of industrial disinfectants on the stability of selected isolates from poultry.

Materials and methods. Evaluating the effectiveness of disinfectants conducted accordingly from Manual P 4.2. 2643 -10 hardening on Russia republic.

In the anchor test-microorganism boules of vicarities next isolates: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* SS/15, *Campylobacter jejuni*.

Results. Working solutions were prepared disinfectants ex tempore by mixing appropriate quantities of disinfectants and sterile drinking water. Bactericidal activity was determined by suspension and method using test objects.

Conclusions. So we can say, that disinfectants Pentasol 237, Ancep cip, P3-Manodes manifests bacteriostatic effect with respect to microorganisms, and the use of ultraviolet disinfection as an independent agent for various types of surfaces, contaminated by bacteria for exhibitions 20 minutes and 2 hours ineffective.

Keywords: campylobacteriosis, disinfectants, environmental specimens, material, contamination, isolates

УДК 597-12:576.85.08

ЕКСПРЕС-ДІАГНОСТИКА ЧОТИРЬОХ ПАТОГЕННИХ
БАКТЕРІЙ У РАЙДУЖНОЇ ФОРЕЛІ *ONCHORHYNCHUS MYKISS*Рудь Ю. П.^{1,2}, Залоїло О. В.^{1,2}, Бучацький Л. П.²¹ Інститут рибного господарства НААН України, м. Київ, Україна² Київський національний університет імені Тараса Шевченка, м. Київ, Україна, e-mail: rud@if.org.ua

Представлено результати підбору олігонуклеотидних праймерів, специфічних до чотирьох патогенних бактерій райдужної форелі *Onchorhynchus mykiss* та на основі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) розроблено метод мультиплексної ПЛР (мПЛР) для ідентифікації *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium columnarae*, *Aeromonas salmonicida* та *Aeromonas hydrophila*. Показано специфічність та ефективність олігонуклеотидних праймерів, а також дієвість мПЛР для ідентифікації бактерій як в сукупності, так і кожного збудника окремо. Перевагою запропонованого методу над бактеріологічною діагностикою даних патогенів є швидкість отримання результату та висока чутливість.

Ключові слова: молекулярна діагностика, мПЛР, бактеріальні хвороби риб

За останні 10–15 років в умовах аквакультури та у природних водоймах було ідентифіковано велику кількість нових бактеріальних патогенів риб. Ізоляція цих збудників тісно пов'язана із збільшенням обсягів ведення світової аквакультури. В умовах аквакультури бактерії спричиняють масову загибель риб і наносять великі збитки промислового рибництву [1].

Такі інфекційні захворювання риб як фурункульоз (*Aeromonas salmonicida*), хвороба "червоного рота" лососевих (*Yersinia ruckeri*), бактеріальна геморагічна септицимія (*Aeromonas hydrophila*) та колумнарна хвороба (*Flavobacterium columnarae*) широко поширені у всьому світі [2]. Традиційно діагностика цих захворювань проводилась за допомогою бактеріологічних посівів на щільні поживні середовища з наступною ідентифікацією фенотипових чи серологічних властивостей досліджуваних штамів. Але ці методи є трудомісткими та низькочутливими, до того ж вони потребують обов'язкового попереднього виділення патогену [3].

Використання методу мПЛР дозволяє ідентифікувати одразу декілька збудників інфекційних хвороб в одному зразку, взятого безпосередньо від риби. До того ж цей різновид ПЛР зменшує затрати на реагенти для реакції та скорочує час на ідентифікацію кожного збудника завдяки використанню специфічних наборів олігонуклеотидів [4].

Тому **метою** нашої роботи було підібрати олігонуклеотидні праймери, специфічні до вищезгаданих бактеріальних збудників інфекційних захворювань риб, та використати їх в експрес діагностиці за допомогою методу мПЛР.