

2. ВЕТЕРИНАРНА ВІРУСОЛОГІЯ ТА МІКРОБІОЛОГІЯ

УДК 619:615.28.076.7:582.28:57.085:636

DOI 10.36016/VM-2021-107-4

ФУНГІЦИДНА ДІЯ ДЕЗІНФІКУЮЧОГО ПРЕПАРАТУ «БІОЛАЙД»

Коваленко В. Л.

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, Київ, Україна, e-mail: kovalenkodoktor@gmail.com

Чечет О. М.

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, Київ, Україна

Умовно-патогенна та патогенна мікрофлора негативно впливає на загальний стан і продуктивність тварин навіть за забезпечення належних умов годівлі та утримання. Значної шкоди промисловим фермам завдають такі грибкові інфекції, як *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Candida albicans*. Метою роботи було визначити ефективні концентрації препарату «Біолайд» для дезінфекції стосовно еталонних штамів *Candida albicans* ATCC 10231 і *Aspergillus niger* ATCC 16404. Дослідження проводили в Державному науково-дослідному інституті лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи. Використовували бактерицидний препарат «Біолайд» на основі перекису водню, надмолочної кислоти та молочної кислоти. Визначали фунгіцидну дію різних концентрацій «Біолайду» та параметри використання відповідно до загальноприйнятих рекомендацій. Визначення ефективних концентрацій препарату «Біолайд» проводили методами: суспензійним та паперових дисків. З цією метою готували водні розчини «Біолайд» у концентраціях 0,5, 1,0, 2,0 і 2,5 % та суспензії спор з еталонних штамів *Candida albicans* ATCC 10231 ($2,5 \times 10^7/\text{см}^3$) і *Aspergillus niger* ATCC 16404 ($1,8 \times 10^7/\text{см}^3$) з музею ДНКІБШМ. Контроль — культури мікроорганізмів досліджували в робочому розведенні. Установлено, що дезінфікуючий засіб Біолайд у концентрації 2,0 % чинить ефективну фунгіцидну дію стосовно еталонних штамів *Candida albicans* ATCC 10231 і *Aspergillus niger* ATCC 16404. Розчин дезінфікуючого препарату «Біолайд» у 2,0 %-й концентрації за експозиції 60 хв виявляє фунгіцидні властивості на тест-об'єктах (дерево, залізо, цегла та штукатурка)

Ключові слова: *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, тест-об'єкти

Одна з основних проблем збереження поголів'я птиці на птахофабриках та отримання якісних і кількісних показників продукції — це боротьба із грибовою мікрофлорою. Недотримання ветеринарно-санітарних заходів на підприємствах за умов якісної годівлі й утримання може привести до появи резистентних патогенних мікроорганізмів. Такої великої шкоди у птахогосподарствах завдають мікроміцети родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Saccharomyces cerevisias*, *Candida albicans* та ін. Останнім часом науковці проводять розробки сучасних ефективних препаратів за рахунок синтезу нових хімічних сполук або створення композицій з активних діючих хімічних речовин. Композиційні препарати можуть доповнювати функціональні властивості кожного зі складників і, як результат, відбувається посилення активності компонентів. Створення композиційних дезінфікуючих засобів і проведення ротації дезінфектантів з різними діючими речовинами дозволяє ефективно боротися зі стійкими мікроорганізмами, такими як мікроміцети. Під час вибору для застосування ефективних дезінфікуючих препаратів бажано звертати увагу на препарати, які згідно листівки-вкладки до реєстраційного посвідчення досліджувалися на широкий спектр мікроорганізмів, зокрема мікроміцети [1, 2].

Профілактика від інфекційних хвороб значною мірою залежать від якості дезінфекції та дезінфікуючих препаратів [3–6].

Метою роботи було визначити ефективні концентрації препарату «Біолайд» для дезінфекції стосовно еталонних штамів *Candida albicans* ATCC 10231 і *Aspergillus niger* ATCC 16404.

Матеріали та методи. Дослідження проводили у лабораторії Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи. Застосовували дезінфікуючий препарат «Біолайд» на основі перекису водню, надмолочної кислоти та молочної кислоти.

Дослідження фунгіцидної дії препарату «Біолайд» за різних концентрацій та експозицій було проведено згідно із загальноприйнятими рекомендаціями «Методи контролю ефективності дії дезінфектантів на мікроміцети», затвердженими науково-методичною радою Державного комітету ветеринарної медицини (протокол № 1 від 23.12.2009 р.) та вимог ДСТУ EN 1275:2004 «Засоби хімічні дезінфеційні та антисептичні. Основна фунгіцидна активність. Метод випробування та вимоги (стадія 1)» [4, 7–9]. Визначення ефективних концентрацій препарату «Біолайд» проводили методами: суспензійним та паперових дисків. З цією метою готували водні розчини «Біолайд» у концентраціях 0,5, 1,0, 2,0 і 2,5 % та суспензії спор з еталонних штамів *Candida albicans* ATCC 10231 ($2,5 \times 10^7/\text{см}^3$) і *Aspergillus niger* ATCC 16404 ($1,8 \times 10^7/\text{см}^3$) з музею Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів. Контроль — культури мікроорганізмів досліджували в робочому розведенні. Застосовували *Neutralizing fluid* — середовище для нейтралізації активності антимікробних агентів відповідно до ЄФ (Himedia, Lot 0000342787; придатний до: травень 2022). Нейтралізуючі речовини: твін-80 (30 г/дм^3), лицетин (3 г/дм^3), гістидину гідрохлорид (1 г/дм^3).

Суспензійний метод: розчин дезінфектанту «Біолайд» у кількості $0,1 \text{ см}^3$ змішували мікроорганізмами у робочих розведеннях (експозиція контакту складала 30 та 60 хв і висівали на тверде поживне середовище Чапека та на агар зі солодовим екстрактом. Посіви культивували в термостаті за температури 27°C упродовж 14 діб. Спостереження проводили через 3, 5, 7, 10 і 14 діб. Облік результатів проводили за наявністю чи відсутністю росту гриба [9–11].

Метод паперових дисків: робочі розведення еталонних штамів *Candida albicans* ATCC 10231 і *Aspergillus niger* ATCC 16404, у кількості $0,2 \text{ см}^3$, висівали на тверде поживне середовище Чапека та на агар зі солодовим екстрактом у чашках Петрі. Для дифузії культур в агар чашки, культури грибів витримували впродовж 15–30 хв за кімнатної температури. Стерильні диски з фільтрувального паперу (діаметром 5 мм) змочували водними розчинами дезінфектанту у відповідних концентраціях у кількості $0,1 \text{ см}^3$ на диск і розкладали стерильним пінцетом на чашки Петрі, притискаючи до агару. У кожену чашку розкладали по 5 дисків, які витримували в термостаті за температури 27°C впродовж 10 діб. Облік результатів проводили через 7 і 10 діб, визначали діаметр зон затримки росту грибів навколо паперових дисків за допомогою лінійки [10].

Для підтвердження остаточної ефективної концентрації дезінфікуючого препарату «Біолайд» проводили дослідження на тест-об'єктах: залізо, штукатурка, дерево та цегла.

Результати досліджень. За результатами досліджень визначення фунгіцидних властивостей дезінфікуючого препарату «Біолайд» на еталонних штамів *Candida albicans* ATCC 10231 і *Aspergillus niger* ATCC 16404 суспензійним методом були отримані результати, наведені у табл. 1.

Таблиця 1 — Дослідження фунгіцидної активності препарату «Біолайд» суспензійним методом

Дослідні мікроорганізми	Контроль	Концентрація препарату, %							
		0,5		1,0		2,0		2,5	
		Експозиція, хв							
		30	60	30	60	30	60	30	60
<i>Aspergillus niger</i>	+	+	+	+	+	+	–	–	–
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	+	–	+	–	–	–

Примітки: «+» — наявність росту гриба; «–» — відсутність росту гриба.

Установлено, що препарат «Біолайд» починаючи із 2,5 %-ї концентрації за експозиції 30 та 60 хв проявляє фунгіцидну активність, про що свідчить відсутність росту мікроорганізмів. А з 2,0 % концентрації встановлено активний вплив розчину препарату на мікроорганізми за експозиції 60 хв.

Ураховуючи, що за суспензійного методу експозиція 60 хв виявилася більш оптимальною для дослідження, тому її застосовували під час досліджень методом з паперовими дисками. Результати дослідів з використанням паперових дисків наведено у табл. 2 і 3.

Таблиця 2 — Дослідження фунгіцидної активності препарату «Біолайд» з використанням паперових дисків за експозиції 60 хв (7 діб) ($M \pm m$, $n = 5$)

Дослідні мікроорганізми	Діюча концентрація, %			
	0,5	1,0	2,0	2,5
	Діаметр зон затримки росту, мм			
<i>Aspergillus niger</i>	4,0 ± 0,1	5,0 ± 0,1	10,0 ± 0,2	13,0 ± 1,3
<i>Candida albicans</i>	11,0 ± 1,1	12,0 ± 0,8	14,0 ± 1,2	17,0 ± 1,5

Аналізуючи дані табл. 2 встановлено, що на сьому добу починаючи з концентрацій 1,0 і 2,0 % препарат «Біолайд» активно затримував ріст вегетативних клітин *Candida albicans* (зона затримки росту > 5 мм). Затримка росту суспензії спор плісняви *Aspergillus niger* була 10 мм вже за 2,0 %-ї концентрації досліджуваного препарату.

Установлено, що «Біолайд» на десяту добу (табл. 3) фунгіцидну активність виявляв у 1,0 %-ї концентрації, де зона затримки росту *Aspergillus niger* дорівнювала 9 мм. Під час дослідження візуально спостерігалася зона затримки росту до 20 мм за концентрації препарату 2,0 %. Збільшення концентрації дезінфікуючого засобу спричиняло відповідне збільшення зон затримки росту мікроорганізмів *Aspergillus niger* і *Candida albicans*.

Таблиця 3 — Дослідження фунгіцидної активності препарату «Біолайд» з використанням паперових дисків за експозиції 60 хв (10 діб), ($M \pm m$, $n = 5$)

Дослідні мікроорганізми	Діюча концентрація, %			
	0,5	1,0	2,0	2,5
	Діаметр зон затримки росту, мм			
<i>Aspergillus niger</i>	4,0 ± 0,1	9,0 ± 0,3	13,0 ± 1,3	17,0 ± 1,5
<i>Candida albicans</i>	12,0 ± 0,6	18,0 ± 0,5	20,0 ± 1,2	22,0 ± 1,2

Згідно ДСТУ EN 1275:2004 передбачено (табл. 4), що продукт задовольняє вимогам, якщо показник зниження рівня життєздатності бактерій дорівнює не менше 10^4 протягом часу випробування не більше 60 хв, за температури 20 °С, в умовах, визначених для аналізування з використанням випробних мікроорганізмів *Candida albicans* ATCC 10231 і *Aspergillus niger* ATCC 16404. За цим показником 2 %-й розчин препарату «Біолайд» забезпечує основну фунгіцидну активність стосовно еталонних *Candida albicans* ATCC 10231 і *Aspergillus niger* ATCC 16404.

Таблиця 4 — Результати випробування фунгіцидної активності препарату «Біолайд»

Дослідні мікроорганізми	Діюча концентрація, %					
	1,0			2,0		
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	$2,5 \times 10^7$			$2,5 \times 10^7$		
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	$1,8 \times 10^7$			$1,8 \times 10^7$		
Показник зниження рівня життєздатності вегетативних клітин <i>Candida albicans</i> та суспензії спор плісняви <i>Aspergillus niger</i> за зазначених випробних концентрацій продукту						
	15 хв	30 хв	60 хв	15 хв	30 хв	60 хв
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	$2,0 \times 10^7$	$7,9 \times 10^6$	$3,2 \times 10^3$	$2,4 \times 10^7$	$2,3 \times 10^5$	$4,8 \times 10^2$
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	$1,7 \times 10^7$	$8,4 \times 10^6$	$1,5 \times 10^4$	$1,7 \times 10^7$	$1,5 \times 10^5$	$7,6 \times 10^3$

Дезінфікуючий препарат «Біолайд» у 2,0 %-й концентрації за експозиції 60 хв повністю знезаражував тест-об'єкти дерева, заліза, цегли та штукатурки (табл. 5). Це підтвердило ефективність даної концентрації для застосування на виробництві.

Таблиця 5 — Фунгіцидна активність препарату Біолайд у 2,0 %-й концентрації за експозиції 60 хв

Культури мікроорганізмів	Тест-об'єкти			
	дерево	залізо	цегла	штукатурка
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	100	100	100	100
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	100	100	100	100

Висновки. 1. Проведеними дослідженнями встановлено, що дезінфікуючий засіб Біолайд у концентрації 2,0 % чинить ефективну фунгіцидну дію стосовно еталонних штамів *Candida albicans* ATCC 10231 і *Aspergillus niger* ATCC 16404.

2. Розчин дезінфікуючого препарату «Біолайд» у 2,0 %-й концентрації за експозиції 60 хв виявляє фунгіцидні властивості на тест-об'єктах.

Перспективи подальших досліджень. Наступний етап дослідження дезінфікуючого препарату «Біолайд» передбачає визначення його віруліцидної активності.

Список літератури

1. Канищев В. В., Еремеева Н. И. Выбор и применение современных дезинфицирующих средств. Желаное и реальность. *Дезинфекционное дело*. 2016. № 1. С. 28–36. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25650563>.
2. Апатенко В. М. Инфекционная патология и преволуция микробов. *Ветеринарна медицина* : міжвід. темат. наук. зб. 2009. Вип. 92. С. 36–38. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed_2009_92_10.
3. Палий А. П., Палий А. П., Родионова Е. А. Дезинфицирующие средства в системе противозпизоотических мероприятий. *Известия Великолукской государственной сельскохозяйственной академии*. 2017. № 2. С. 24–33. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29385396>.
4. Коваленко В. Л., Лясота В. П., Синицин В. А., Головка А. М., Кухтин М. Д. Загальні методи профілактики шляхом застосування комплексних дезінфікуючих засобів : наук. посіб. Київ ; Ніжин : ПП Лисенко М. М., 2017. 407 с. ISBN: 9786176403326.
5. Rodionova K. O., Paliy A. P. Analysis of quality and safety indicators of poultry meat during primary processing. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*. 2017. Vol. 3, iss. 2. P. 5–9. URL: http://jvmbbs.kharkov.ua/archive/2017/volume3/issue2/oJVMBBS_2017032_005-009.pdf.
6. Gilbert P., Moore L. E. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *Journal of Applied Microbiology*. 2005. Vol. 99, iss. 4. P. 703–715. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02664.x>.
7. Сфімова О. М., Касянчук В. В. Аналіз мікробіологічної безпечності національної продукції тваринного походження, призначеної для експорту. *Ветеринарна медицина України*. 2014. № 1. С. 30–34. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetm_2014_1_11.
8. ДСТУ EN 1275:2004. Засоби хімічні дезінфекційні та антисептичні. Основна фунгіцидна активність. Метод випробування та вимоги (стадія 1) (EN 1275:1997, IDT). Київ : Держспоживстандарт України, 2005. 20 с.
9. Коваленко В. Л., Васянович О. М., Загребельний О. В. Дослідження впливу дезінфектанту «Оргасепт» на гриби родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* та *Candida*. *Ветеринарна біотехнологія* : бюл. 2016. Вип. 29. С. 132–137. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vbtb_2016_29_16.
10. Коваленко В. Л., Гаркавенко В. М. Дослідження ефективності бактерицидного засобу Барез за визначенням фунгіцидної дії. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2017. Вип. 2. С. 55–58. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnm_2017_2_11.
11. Давлеев А. Д., Сорокин П. П. Производственные стандарты микробиологической безопасности при переработке птицы в США. *Птица и птицепродукты*. 2014. № 1. С. 56–58. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21400324>.

FUNGICIDAL EFFECT OF “BIOLIDE” DISINFECTANT

Kovalenko V. L.

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

Chechet O. M.

State Scientific Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, Kyiv, Ukraine

Conditionally pathogenic and pathogenic microflora negatively affects the general condition and productivity of animals, even with the provision of proper feeding and maintenance conditions. Significant damage to industrial farms is caused by fungal infections such as Aspergillus, Penicillium, Fusarium, and Candida albicans which associate with using of different disinfectants. The work aimed to determine the

effective concentration of "Biolide" for disinfection concerning reference strains *Candida albicans* ATCC 10231 and *Aspergillus niger* ATCC 16404. The tests were conducted in the State Scientific Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise. We used bactericidal drug "Biolide" based on hydrogen peroxide, perlactic acid and lactic acid. We determined the fungicidal action of different concentrations of "Biolide" and parameters of use following generally accepted recommendations. The study and determination of fungicidal concentrations of "Biolide" were carried out by the following methods: suspension, paper disks. For this purpose, we prepared the following aqueous solutions of "Biolide" — 0.5, 1.0, 2.0, 2.5% and prepared spore suspensions of reference strains of *Candida albicans* ATCC 10231 ($2.5 \times 10^7/\text{cm}^3$) and *Aspergillus niger* ATCC 16404 ($1.8 \times 10^7/\text{cm}^3$). Control: the culture of fungi with working dilutions was the control. The tests revealed that a 2%-concentrated "Biolide" disinfectant has fungicidal effect concerning the reference strains *Candida albicans* ATCC 10231 and *Aspergillus niger* ATCC 16404. "Biolide" disinfectant solution at 2.0% concentration and an exposure time of 60 minutes exhibits fungicidal properties on the test objects (wood, iron, brick, plaster)

Keywords: *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, test objects

УДК 619:616.98-078:579.873.21:57.083.32:636.22/.28

DOI 10.36016/VM-2021-107-5

ВИЗНАЧЕННЯ ПРИЧИН АЛЕРГІЧНИХ РЕАКЦІЙ НА ТУБЕРКУЛІН У ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

**Завгородній А. І., Білушко В. В., Позмогова С. А.,
Калашник М. В., Калашник Н. В., Кіптенко А. В., Стешенко Л. М.**
Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: nick.v.kalashnik@gmail.com

У статті наведено результати обстеження великої рогатої худоби в чотирьох вільних від туберкульозу тваринницьких господарствах протягом 2020–2021 рр. Зразки біологічного матеріалу відбирали та досліджували в лабораторії вивчення туберкульозу ННЦ «ІНЦВМ». Комплексним методом встановлено причини алергічних реакцій на мікобактеріальні алергени. Метою досліджень було проведення епізоотологічного моніторингу та визначення причин позитивних шкірних туберкулінових проб великої рогатої худоби в чотирьох вільних від туберкульозу господарствах. Ці господарства знаходилися в різних регіонах України. Використовували епізоотологічний, клінічний, алергічний, патологоанатомічний, бактеріологічний та біологічний методи, у тому числі патологоанатомічне дослідження зразків біологічного матеріалу (лімфатичних вузлів та внутрішніх органів), фарбування за методом Ціля–Нільсена під час бактеріоскопії. Зразки біологічного матеріалу попередньо обробляли за методом А. П. Алікаєвої та 0,9 %-м розчином цетилпіридинію хлориду та висівали на селективні поживні середовища для культивування мікобактерій. У результаті проведеного дослідження із зразків біологічного матеріалу трьох гуртів великої рогатої худоби виділено сім культур нетуберкульозних мікобактерій. Установлено, що ці ізоляти представлені чотирма видами мікобактерій — *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. fortuitum*, *M. scrofulaceum*. Крім того, дві культури *M. avium* subsp. *paratuberculosis* було ізольовано в одному гурті великої рогатої худоби. Короткострокова сенсibiliзація до туберкуліну для ссавців у великої рогатої худоби в трьох господарствах була обумовлена атипovими мікобактеріями чотирьох видів: *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. fortuitum* і *M. scrofulaceum*, що персистують в організмі тварин і не спричиняють розвитку інфекційного туберкульозного процесу. Мікобактерії підвиду *M. avium* subsp. *paratuberculosis* обумовлюють латентну форму перебігу інфекційного процесу в організмі великої рогатої худоби та сенсibiliзацію до туберкуліну, а також патологоанатомічні ураження у тонкому відділі кишковика. Кролі місячного віку, сприйнятливі до збудника паратуберкульозу, можуть бути використані як експериментальна модель для визначення біологічних властивостей епізоотичних культур *M. avium* subsp. *paratuberculosis* і встановлення діагнозу на паратуберкульозний ентерит. Гурти великої рогатої худоби, в яких сенсibiliзація обумовлена атипovими мікобактеріями, слід вважати благополучними щодо туберкульозу, а контроль благополуччя та диференціацію