

УДК: 619:614.48:631.862:636.03
© 2018

В.В. ЗАЖАРСЬКИЙ,
кандидат ветеринарних наук

Т.І. ФОТІНА,
А.В. БЕРЕЗОВСЬКИЙ,
доктори ветеринарних наук

П.О. ДАВИДЕНКО,
О.М. КУЛІШЕНКО,
В.О. ЧУМАК,
кандидати ветеринарних наук

О.А. КРИВА,
старший викладач

І.В. БОРОВИК,
завідуюча бактеріологічного відділу
Дніпровський державний
аграрно-економічний університет,
Україна –
Сумський національний
аграрний університет, Україна –
Дніпропетровська регіональна
лабораторія Державної
служби України
з питань безпеки
харчових продуктів
та захисту споживачів, Україна
E-mail: zzharskiyv@gmail.com
вул. Сергія Єфремова, 25, м. Дніпро
вул. Герасима Кондратьєва, 160, м. Суми
пр. Олександра Поля, 48, м. Дніпро

ВПЛИВ
ДЕЗІНФІКУЮЧИХ ЗАСОБІВ
НА КРІОГЕННІ ШТАМИ
МІКРООРГАНІЗМІВ

*Визначено, що дослідні препарати “Альдовет ФФ” та “Альдовет Супер плюс” за концентраціями 1; 5; 10 та 25 % володіють бактерицидними властивостями відносно криогенних штамів мікроорганізмів: *Staf. aureus* ATCC № 25923, *S. typhimurium* 144, *E. coli* (F 50) ATCC № 25922, *List. monocytogenes* ATCC № 19112, *Prot. vulgaris* HX 19 № 222, *Serratia marcescens* 1, *Ps. aeruginosa* ATCC № 2853 (F), *Enterococcus faecalis* ATCC № 19433 та *Yersinia enterocolitica*. На мікроорганізми *Bac. cereus* ATCC № 10702 препарати впливали бактеріостатично: виявлено ріст колоній на середовищі з додаванням 1%-вого розчину “Альдовет ФФ” та 1-; 5- і 10%-вого розчинів “Альдовет Супер плюс”. Провідна роль у забезпеченні стабільного ветеринарного благополуччя тваринництва й охорони здоров'я населення*

відведена ефективним дезінфекційним заходам. До перевірки препаратів для дезінфекції долучені лабораторні аналізи з використанням методик біотестування, зокрема *Paramecium caudatum*, *Tetrahymena pyriformis*. Максимальну токсичність у разі застосування препаратів на *Paramecium caudatum* виявлено в “Альдовет ФФ” та “ФАГ”, найменш шкідливий “ДЗПТ-2” (у 14–15 разів безпечніший). “Альдовет Супер плюс” має проміжне значення шкідливості. Токсичність для *Tetrahymena pyriformis* найнижча у “ДЗПТ-2” та “ФАГ”, а найвища в “Альдовет Супер плюс”.

Ключові слова: дезінфектант, бактерицидна дія, токсичність, *Paramecium caudatum*, *Tetrahymena pyriformis*.

Постановка проблеми. Попередження хвороб інфекційної етіології, обумовлених умовно-патогенною мікрофлорою, потребує розірвання епізоотичного ланцюга поширення хвороб від джерел інфекції. Забезпеченню стабільного ветеринарного благополуччя тваринництва й охорони здоров'я населення ефективно сприяє проведення дезінфекційних заходів, водночас за якнайменшої шкоди довкіллю. Тому до перевірки препаратів для дезінфекції долучають лабораторні аналізи з використанням методик біотестування, зокрема інфузорій.

За токсичністю до інфузорій речовини розподіляються на чотири класи, а саме: 1 – ЛК понад 0,001 %; 2 – ЛК понад 0,1 %; 3 – ЛК понад 1 %; 4 – нетоксичні [1].

З метою контролю за рівнем забруднення питної води в системах водопостачання, а також попередження зростання умовно-патогенних мікроорганізмів у травному каналі на поверхні устаткування та всередині тваринницьких приміщень запропоновано чимало препаратів. Деякі з цих препаратів містять у своєму складі метали у формі різних сполук. Проведено порівняння токсичного впливу препаратів, які містять мідь, срібло та цинк на тест-об'єктах *Tetrahymena pyriformis* [2].

Кореляція між показниками токсичності за порівняльного дослідження гострої токсичності для лабораторних тварин, інфузорій та тимоцитів свідчила про те, що інфузорії *Tetrahymena pyriformis* можуть бути використані як альтернативна модель у прогнозуванні гострої токсичності фармакологічних субстанцій на етапі їх скринінгу та доклінічного дослідження [3]. Враховуючи, що інфузорії – це біологічний об'єкт, який є досить чутливим до впливу токсичних речо-

вин, їх можна використовувати у практиці санітарного контролю ступеня токсичності дезінфектантів. Встановлено, що дезінфікуючий препарат “Аргіцид” у концентраціях від 0,1 до 0,5 % за експозиції 10 хв є нетоксичним щодо культур інфузорії *Tetrahymena pyriformis* [4].

Результати досліджень з використання експрес-методу визначення токсичності на інфузоріях показали, що розчин препарату “Геоцид” в 0,03–0,5%-вих концентраціях та експозиції 1–10 хв не виявляв токсичної дії на культуру інфузорій *Tetrahymena pyriformis* [5].

Величина гострої токсичності за внутрішньошлункового введення мишам засобу “Унівайт” DL50 становить 5200 мг/кг маси тварини. По результатах досліджень розроблений засіб належить до четвертого класу згідно з класифікацією хімічних речовин за ступенем небезпечності. Дезінфікуючий засіб “Унівайт” у концентраціях від 0,1 до 0,5 % за експозиції 10 хв є малотоксичним щодо культур інфузорії *Tetrahymena pyriformis* [6].

Тетрагімена часто використовується як модельний організм для оцінки *in vitro* впливу засобів, що містять поверхнево-активні речовини. Зокрема, це стосується речовини Тритон Х-100. Визначення стану культури, темпів її наростання та морфологічні зміни інфузорій є найпростішими токсикологічними аналізами [7].

Запобігання росту *Tetrahymena pyriformis* – загальноприйнятий інструмент скринінгу на токсичність, який був розроблений та впроваджений Шульцем і колегами. Ця група дослідників опублікувала результати стандартних протоколів випробувань токсичності для більш ніж 1000 різних сполук,

що забезпечують унікальний набір даних для моделювання водної токсичності [8, 9].

Усе частіше в дослідженнях пропонують різні методи моделювання, наприклад, множинну лінійну регресію (MLR) і декілька нелінійних регресій (MNLR), які використовують для прогнозування токсичності ароматичних альдегідів до *Tetrahymena pyriformis* [10].

Метою нашого дослідження було вивчення впливу дезінфектантів “Альдовет ФФ”, “Альдовет Супер плюс”, “ДЗПТ-2”, “ФАГ” на криогенні штами мікроорганізмів.

Матеріал та методи досліджень. Роботу проводили в лабораторіях кафедр епізоотології та інфекційних хвороб тварин, фізіології та біохімії сільськогосподарських тварин факультету ветеринарної медицини Дніпровського державного аграрно-економічного університету, бактеріологічному відділі Дніпропетровської регіональної державної лабораторії Державної служби України з питань безпеки харчових продуктів та захисту споживачів протягом 2017–2018 рр. У дослідженнях використані живильні середовища, рекомендовані Інструкціями та настановами зі застосування (табл. 1).

1. Живильні середовища, які застосовані в досліді

№ п/п	Штам мікроорганізму	Середовище
1.	Candida albicans ATCC № 885-653	Агар Сабуро з глюкозою
		Агар Сабуро з хлорамфениколом
2.	Clostridium perfringens ATCC № 13124	Залізовмісний сульфідний агар
3.	Corinobacterium xerosis 1911	Агар Ендо
4.	Enterobacter aerogenes 10006	Агар Ендо
5.	Enterococcus faecalis ATCC № 19433	Середовище Сланец-Бартлі для ентерококів
6.	Escherichia coli (F 50) ATCC № 25922	Агар Ендо
7.	Escherichia coli 055 K 59 № 3912/41	Агар диференційний Сальмонела М 1078 / Середовище Радж Ханса
8.	Klebsiella pneumoniae K-56 № 3534/51	Агар Ендо
9.	Proteus mirabilis ГІСК № 160208	Дезоксихолат-лактозний агар
10.	Proteus vulgaris HX 19 № 222	Дезоксихолат-лактозний агар
11.	Pseudomonas aeruginosa ATCC № 2853(F)	Основа агару для псевдомонад
12.	Pseudomonas aeruginosa 27/99	Основа агару для псевдомонад
13.	Salmonella tiphymurium 144	Ксилозо-лизинний дезоксихолатний агар (КЛД-агар)
14.	Salmonella adobracol	Агар диференційний Сальмонела М 1078 / Середовище Радж Ханса
15.	Serratia marcencens 1	Агар Ендо
16.	Staphylococcus aureus ATCC № 25923	Основа агару Бейд-Паркера
17.	Staphylococcus epidermidis 14990	Основа агару Бейд-Паркера
18.	Campylobacter jejuni	Основа агару для кампілобактерій
19.	Campylobacter coli	Основа агару для кампілобактерій
20.	Bacillus cereus ATCC № 10702	Основа агару для бацелюс цереус
21.	Bacillus subtilis ATCC № 6633	Хромогенний агар Bacillus
22.	Yersinia enterocolitica	Агар Ендо
23.	Listeria monocytogenes ATCC № 19112	Агар для лістерій (PALKAM) Основа Оксфордського середовища
24.	Listeria innocua ATCC № 33090	
25.	Listeria ivanovi	

Порівняльний аналіз впливу дезінфікуючих засобів на криогенні штами мікроорганізмів проводили за загальноприйнятою методикою.

Культивування інфузорій *Paramecium caudatum* та *Tetrahymena pyriformis* проводили на молочному середовищі. Культуру утримували за кімнатної температури (18–20 °С). Для біотестування використовували добову культуру, яка знаходилась у фазі експоненціального (активного) росту.

Для проведення токсикологічного дослідження готували ряд розведень препаратів “Альдовет ФФ”, “Альдовет Супер”, “ДЗПТ” та “ФАГ” у концентраціях 1,0; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001; 0,00001 та 0,000001 %.

У 5 лунк мікроакваріуму вносили 20 мкл середовища з інфузоріями. У кожну лунку додавали 20 мкл водного розчину дослідних препаратів різних концентрацій та підраховували кількість клітин у кожному акваріумі, після чого додавали по 200 мкл водного розчину препарату у відповідній концентрації. Через годину експозицію повторно підраховували чисельність *Paramecium caudatum* у кожній лунці мікроакваріуму та визначали відсоток їх виживання.

За використання культури *Tetrahymena pyriformis*, через невеликі розміри клітин та неможливість їх точного підрахунку, оцінку

результатів біотесту здійснювали за реакцією загибелі інфузорій та характером зміни руху.

Контролем слугувала проба, в якій замість препарату до культури додавали відповідну кількість середовища.

Результати дослідження та їх обговорення. Дослідні препарати “Альдовет ФФ” та “Альдовет Супер плюс” за різними концентраціями (1,0; 5,0; 10,0 та 25,0 %) володіють бактерицидними властивостями відносно криогенних штамів мікроорганізмів: *S. aureus* ATCC № 25923, *S. typhimurium* 144, *E. coli* (F 50) ATC № 25922, *L. monocytogenes* ATCC № 19112, *P. vulgaris* HX 19 № 222, *S. marcencens* 1, *Ps. aeruginosa* ATCC № 2853 (F), *E. faecalis* ATCC № 19433 та *Y. enterocolitica*. На мікроорганізми *Bac. cereus* ATCC № 10702 препарати впливали бактеріостатично: виявлений ріст колоній на середовищі з додаванням 1%-вого розчину “Альдовет ФФ” та 1-; 5- і 10%-вого розчину “Альдовет Супер плюс”.

За експозиції 24 год Тетрахімени залишаються неушкодженими, перебуваючи в середовищі, яке містить 100 мг/л таких препаратів, як “ДЗПТ-2” та “ФАГ”, 10 мг/л препарату “Альдовет ФФ” та лише 1 мг/л препарату “Альдовет Супер плюс” (табл. 2).

2. Вплив різних концентрацій дослідних препаратів на *Tetrahymena pyriformis* (n=3, експозиція 1 год)

Препарат	Концентрація			
	1 г/л	100 мг/л	10 мг/л	1 мг/л
“Альдовет ФФ”	Повне знерухомлення за 2 хв	Додавання прискорює рух, змінює напрямок, через 60 хв поодинокі рухливі екз., рух уповільнений	Уповільнений рух	Рух активний
“Альдовет Супер плюс”	Знерухомлення після додавання	Знерухомлення після додавання	Обертання, уповільнений рух, зниження щільності	Уповільнений рух, незначне зниження щільності
“ДЗПТ-2”	Знерухомлення після додавання	Незначне зниження щільності	Рух активний	Рух активний
“ФАГ”	Порушення локомоторної функції за 2 хв	Незначне зниження щільності	Рух активний	Рух активний

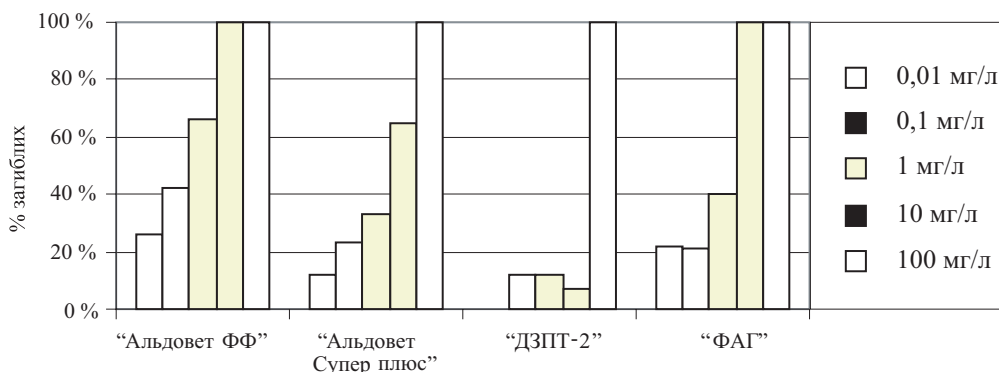


Рис. 1. Динаміка токсичності для Paramecium caudatum препаратів у різних розведеннях (n=3)

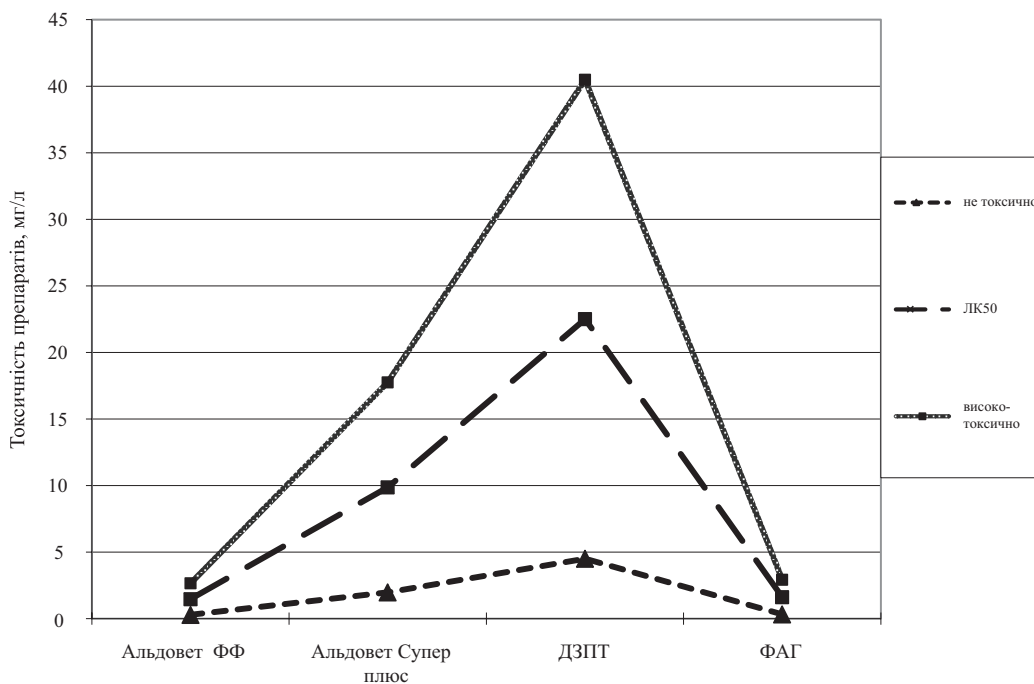


Рис. 2. Динаміка токсичності для Paramecium caudatum препарату в зразках (n=3)

У разі використання однакових розведень дослідних препаратів нами визначено, що під впливом концентрації 0,01 мг/л “Альдовет ФФ” та “ФАГ” отриманий найвищий рівень загиблених інфузорій – 26,0 та 22,0 % відповідно (рис. 1).

Якщо використано однакові розведення всіх препаратів, то максимальна

токсичність за споживання кормів, забруднених залишками дослідних препаратів, виявлена в “Альдовет ФФ” та “ФАГ” (>2,65 та 2,92 мг/л відповідно), а найменш шкідливим виявився “ДЗПТ-2” (у 14–15 разів безпечніший) (рис. 2). “Альдовет Супер плюс” має проміжне значення шкідливості.

Висновки

1. Препарати “Альдовет Супер плюс” та “Альдовет ФФ” характеризуються бактерицидними властивостями на кріогенні штами мікроорганізмів *Staf. aureus*, *S.typhimurium*, *E. coli*, *List. monocyt.*, *Prot. Vulgaris*, *Serracia marcescens*, *Ps. aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Yersinia enterocolitica*.

2. Максимальна токсичність під час застосування препаратів на *Paramecium caudatum*

zareєстрована в “Альдовет ФФ” та “ФАГ”, а найменш шкідлива – “ДЗІТТ-2”. “Альдовет Супер плюс” має проміжне значення шкідливості.

3. Токсичність для *Tetrahymena pyriformis* найнижча у препаратів “ДЗІТТ-2” та “ФАГ”, а найвища – в “Альдовет Супер плюс”.

У подальших дослідженнях триватиме вивчення дезінфекційної ефективності препаратів в умовах виробництва.

Бібліографія

1. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / [І.Я. Коцюмбас, О.Г. Малик, І.П. Патерега та ін.]; за ред. І.Я. Коцюмбаса. – Львів: Тріада плюс, 2006. – 360 с.

2. Крива О.А. Біотестування на інфузоріях засобів знезараження води, які містять метали / О.А. Крива, В.О. Чумак, В.М. Сухін // Наукові праці ПДАА. – 2012. – Вип.5. – С. 42–45. – Режим доступу: <https://www.pdaa.edu.ua/sites/default/files/nppdaa-vet/5/042.pdf>.

3. Жмійко П.Г. Досвід використання різних тест-систем у скринінгових дослідженнях токсичності лікарських засобів / П.Г. Жмійко, Н.В. Кокиарьова, М.П. Дмитренко // Вісник фармакології та фармації. – 2006. – № 4. – С. 21–27.

4. Коваленко В.Л. Порівняльне визначення токсичності бактерицидних засобів за показниками гострої токсичності та альтернативних методів / В.Л. Коваленко, А.В. Гнатенко, Г.В. Пономаренко // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. – 2012. – Вип. 25, ч. 2. – С. 169–173.

5. Балацький Ю.О. Експериментальне обґрунтування застосування геоциду для санзації приміщень при утриманні свиней: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук; спеціальність 16.00.06 – гігієна тварин та ветеринарна санітарія / Ю.О. Балацький; Національний університет біоресурсів і природокористування України. – К., 2015. – 19 с.

6. Димко Р.О. Санітарно-гігієнічне обґрунтування застосування дезінфікуючого

засобу на основі органічних кислот і наночастинок металів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук; спеціальність 16.00.06 – гігієна тварин та ветеринарна санітарія / Р.О. Димко; Національний університет біоресурсів і природокористування України. – К., 2016. – 22 с.

7. Dias N. Morphological and physiological changes in *Tetrahymena pyriformis* for the in vitro cytotoxicity assessment of Triton X-100 / N. Dias, R.A. Mortara, N. Lima // Toxicology in Vitro. – 2003. – № 17. – P. 357–366. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12781214>.

8. An evaluation of global QSAR models for the prediction of the toxicity of phenols to *Tetrahymena pyriformis* / S.J. Enoch, M.T.D. Cronin, T.W. Schultz, J.C. Madden // Chemosphere. – 2008. – № 71. – P. 1225–1232. doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.12.011

9. Netzeva T.I. QSARs for the aquatic toxicity of aromatic aldehydes from *Tetrahymena* data / T.I. Netzeva, T.W. Schultz // Chemosphere. – № 61. – 2005. – P. 1632–1643. doi: 10.1016/j.chemosphere.2005.04.040

10. Quantitative structure-toxicity relationship studies of aromatic aldehydes to *Tetrahymena pyriformis* based on electronic and topological descriptors / A. Ousaa, B. Elidrissi, M. Ghamali, S. Chtita, A. Aouidate, M. Bouachrine, T. Lakhlifi // J. Mater. Environ. Sci., 2018, Vol. 9, issue 1. – P. 256–266. <https://doi.org/10.26872/jmes.2018.9.1.29>