

## ЕКОЛОГІЯ, ГІГІЄНА ТВАРИН, ВЕТЕРИНАРНА САНІТАРІЯ, ВЕТЕРИНАРНО-САНІТАРНА І РАДІОЛОГІЧНА ЕКСПЕРТИЗА

## ECOLOGY, HYGIENE OF ANIMAL, VETERINARY SANITATION, VETERINARY-SANITARY AND RADIOLOGICAL EXAMINATION

УДК 637.072:576.08

Адаменко Л.В., асистент ([adamenkolida@gmail.com](mailto:adamenkolida@gmail.com))<sup>©</sup>

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

### РОЗРОБКА МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛИШКОВИХ КІЛЬКОСТЕЙ ДЕЗІНФЕКЦІЙНИХ ЗАСОБІВ МЕТОДАМИ IN VITRO

*В статті наведені розроблені методи визначення залишкових кількостей дезінфекційних та мийно-дезінфекційних засобів на технологічному обладнанні підприємств з виробництва, переробки та транспортування харчових продуктів шляхом визначення їх цитотоксичності.*

**Ключові слова:** молоко, цитотоксичність, культура клітин, дезінфекційний засіб, безпека.

**Вступ.** Невід'ємним складником технології отримання продукції тваринництва гарантованої якості є дотримання належної гігієнічної практики (GMP) під час всього технологічного процесу, важливим компонентом якої є санітарна обробка технологічного обладнання [1].

Сучасні дезінфекційні засоби, які використовуються для санітарної обробки доїльного та технологічного обладнання молокопереробних підприємств є багатокомпонентними. До них входять не лише діючі речовини дезінфекційних засобів, а і поверхнево-активні речовини, стабілізатори тощо. Застосування таких засобів дозволяє поєднати в одній операції миття та дезінфекцію, скоротити тривалість санітарної обробки і витрати води. Варто зауважити, що проводити санітарну обробку доїльного та технологічного обладнання необхідно проводити відповідно до технологічних інструкцій [2]. При порушенні режимів заключного змивання дезінфекційних засобів з поверхонь технологічного обладнання ймовірність потрапляння ксенобіотиків у молоко та молочні продукти значно зростає.

Внаслідок потрапляння до харчових продуктів засобів для миття і дезінфекції за даними іноземної літератури виникає до 25 % випадків харчових отруєнь [3].

Статистичних даних щодо України з цього питання не існує, оскільки чинними нормативно-правовими актами не передбачено дослідження продукції тваринництва, в т. ч. молока, на наявність дезінфекційних, мийно-дезінфекційних засобів, їх залишків та метаболітів. Дана проблема в Україні є практично невивченою внаслідок відсутності ефективних методів визначення мікроконцентрацій деззасобів у молоці.

Існуюча методика визначення залишкових кількостей дезінфекційних та мийно-дезінфекційних засобів на технологічному обладнанні підприємств з виробництва, переробки та транспортування харчових продуктів ґрунтується на визначенні рН поверхні за допомогою смужок паперу універсального індикатора з діапазоном величин від 2 до 11. За зміною кольору індикатора встановлюють наявність залишків дезінфекційних та мийно-дезінфекційних засобів [4]. Але, оскільки значна частина сучасних мийних та мийно-дезінфекційних засобів у робочих концентраціях має рН близьке до рН питної води (6,0–9,0), даний спосіб є недостатньо ефективним, і тому достовірно неможливо встановити наявність дезінфекційних та мийно-дезінфекційних засобів на технологічному обладнанні.

Існують методики визначення дезінфекційних та мийно-дезінфекційних засобів у останній порції змивної води. Але ці методики є специфічними для кожного дезінфекційного засобу, їх діючої речовини, або хімічного класу.

**Метою** нашої роботи було розробка методу визначення залишків дезінфекційних та мийно-дезінфекційних засобів на технологічному обладнанні для виробництва, переробки та транспортування харчових продуктів.

**Матеріали та методи.** Досліджувані клітини А-549 (отримані з Банку клітинних ліній ІЕПОР ім. Р.Є.Кавецького НАН України), дезінфекційні засоби.

**Результати дослідження.** Метод включає взяття змивів з поверхонь технологічного обладнання, внесення змивів до ростового середовища для культивування культур клітин, культивування та оцінку цитотоксичного впливу змивів на культуру клітин.

Даний спосіб ґрунтується на визначенні цитотоксичної дії залишків дезінфекційних та мийно-дезінфекційних засобів в тесті на клітинних культурах з урахуванням кількості клітин та їх метаболічного стану. Зміни метаболічного стану оцінювали за зниженням сумарної активності мітохондріальних дегідрогеназ в мікротетразолієвому тесті (МТТ-тест), який відображає інгібування інтенсивності клітинного дихання.

Спочатку шляхом експерименту було підібрано метод визначення цитотоксичності мікроконцентрацій ксенобіотиків, а потім розроблено метод виявлення залишків дезінфекційних та мийно-дезінфекційних засобів на технологічному обладнанні для виробництва, переробки та транспортування харчових продуктів.

Культури клітин клітини А-549 (отримані з Банку клітинних ліній ІЕПОР ім. Р.Є.Кавецького НАН України) культивували в повному поживному середовищі RPMI 1640 ("SIGMA", США), що містить 4 ммоль/л L-глутаміну, 10 % ембріональної сироватки теляти ("SIGMA", США), 40 мкг/мл гентаміцину у

зволоженої атмосфері з 5% CO<sub>2</sub> при 37°C в матрацях (SenteLab, Україна). Заміну середовища проводили кожні 2 доби. Пересів клітин здійснювали за допомогою розчину Версена при утворенні клітинами на субстраті суцільного моношару (4–5-та доба росту) Для дослідження чутливості клітин до дезінфекційних препаратів суспензію клітин висаджували на 96-лункові планшети в концентрації 5x10<sup>3</sup> - 1x10<sup>4</sup> клітин/лунку в 100 мкл повного поживного середовища. Через 24 год. вносили досліджувані змиви з поверхні технологічного обладнання площею 100 см<sup>2</sup>, проведені деіонізованою дистильованою водою до ростового середовища для культивування клітин в кількості 2 % та інкубували клітини за стандартних умов 24 год., після чого фарбували клітини за допомогою МТТ.

Нами було проведено дослідження щодо виявлення дезінфекційних та мийно-дезінфекційних засобів на тест моделях з нержавіючої сталі після проведення дезінфекції в лабораторних умовах. Тест-моделі обробляли окремими дезінфекційними та мийно-дезінфекційними засобами відповідно до методичних рекомендацій з їх застосування для дезінфекції технологічного обладнання у харчовій промисловості та молочного і доїльного обладнання.

Контроль залишків дезінфекційних та мийно-дезінфекційних засобів проводили за рН за допомогою смужок паперу універсального індикатора.

Потім брали змиви та проводили цитотоксичне дослідження. Кількість клітин, яка вижила після культивування у ростовому середовищі з додаванням змивів наведена у табл. 1.

Таблиця 1.

**Дослідження змивів з технологічного обладнання після дезінфекції, M±m, n=7**

Назва ДЗ	Кількість клітин, які вижили, % до контрольних проб	Концентрація ДЗ у змивах, мкл/л
Біодез	61,41±1,94***	36,47±8,32
Віркон	81,59±7,24*	120,66±12,58
Неохлор	88,45±8,86	33,12±4,82
Фан	80,51±2,90***	106,91±17,9

Примітки: \*P < 0,05; \*\*P < 0,01; \*\*\*P < 0,001 – відносно до контролю

Кількість клітин, які вижили при культивуванні їх у ростовому середовищі з додаванням змивів з тест-моделі після обробки вірконом-С, неохлором, та фаном складає більше 80 %. Але кількість клітин, які вижили при культивуванні їх у ростовому середовищі з додаванням змивів з тест-моделі після обробки біодезом складає лише 61,41±1,94 %. Таким чином, після остаточного змивання є залишки дезінфекційних засобів, які є небезпечними для здоров'я людини і тому необхідно провести повторне змивання залишків, а в подальшому збільшити час остаточного обполіскування технологічного обладнання.

Ці дослідження достатні для якісного визначення залишків дезінфекційних та мийно-дезінфекційних засобів на технологічному обладнанні для виробництва, переробки та транспортування харчових продуктів.

З метою кількісного визначення залишків дезінфекційних та мийно-дезінфекційних засобів на технологічному обладнанні для виробництва, переробки та транспортування харчових продуктів необхідно проводити додатково дослідження цитотоксичності дезінфекційного (мийно-дезінфекційного) засобу, яким проводили дезінфекцію. Для цього готували робочий розчин дезінфекційного засобу, з яких робили десятикратні розведення та вносили їх до лунок тієї ж

плашки, що і змиви у кількості 100 мкл. Інкубування проводили так як описано вище. Кількість клітин, які вижили, обчислювали відносно контролю. За отриманими даними цитотоксичності змивів встановлювали кількість дезінфекційного засобу у змивах з технологічного обладнання.

**Висновок.** Таким чином розроблений метод можна придатний для виявлення на технологічному обладнанні залишкових кількостей дезінфекційних засобів та встановлення їх концентрації у змивах. Для підтвердження наявності та встановлення більш точної концентрації можна застосовувати специфічні методи виявлення хімічних речовин.

Відповідно до чинного ДСТУ 3662–97 [5] в молоці-сировині не допускається вміст інгібувальних речовин, тому розроблений метод можна використовувати арбітражними лабораторіями ветеринарної медицини та лабораторіями та науковими установами про розробці дезінфекційних засобів та контролі їх безпеки та якості, при розробці інструкцій щодо застосування розроблених дезінфекційних засобів для санітарної обробки.

#### Література

1. Адаменко Л.В. Належна практика виробництва молока / Адаменко Л.В., Якубчак О.М., Сириця О.В. // Матеріали VII Міжнародного конгресу спеціалістів ветеринарної медицини. – 2009 р.– С. 144-145

2. Список зареєстрованих ветеринарних препаратів 2009-2010 рр. станом на 28.01.2011 р. [Електронний ресурс]. Режим доступу // <http://vet.gov.ua/db/drugs> – 16 с.

3. Змарліцькі С. Виявлення в молоці залишків ветеринарних ліків та інших забруднень. / Змарліцькі С. // Гігієна. – 2001. – №3. – С. 8.

4. Методи визначення та оцінки показників безпеки і якості дезінфікуючих, мийно-дезінфікуючих засобів, що застосовуються під час виробництва, зберігання, транспортування та реалізації продукції тваринного походження. Методичні рекомендації., затвержені Рішенням науково-методичної ради Державного комітету ветеринарної медицини України, протокол №1, 23.12.2009 р. І. Я. Коцюмбас, О. І. Сергієнко, О. М. Якубчак, Л. В. Адаменко, О. В. Косенко та ін. – К., 2009 – 125 с,

5. ДСТУ3662-97 „Молоко незбиране. Вимоги при закупівлі”. чинний від 2002– 01.–01. Затв. наказом Держстандарту України № 736 від 05.12.1997 р. – К., 1998 – 16 с.

#### Summary

**Adamenko L.V.** [adamenkolida@gmail.com](mailto:adamenkolida@gmail.com)

*National University life and environment sciences of Ukraine, Kiev*

#### DEVELOPMENT OF METHODS OF RESIDUES DEZINFEEKTSIYNYH METHODS OF IN VITRO

*The article contains the methods of determining residual amounts of disinfection and cleaning-disinfection of production equipment for companies with production, processing and transporting food by determining their tsytotokchychnosti.*

**Key words:** Milk, cytotoxicity, cell culture, a means of disinfection, safety.

Рецензент - к.вет.н., проф. Козак М.В.