

УДК: 619:614.48:616.98:579.873.2

Купрієнко Л.С., аспірант, (kuprienko_1981@mail.ru),[©]

Сумський національний аграрний університет, провідний лікар ветмедицини – мікробіолог, Сумська региональна державна лабораторія ветеринарної медицини

Зон Г.А., к.вет.н., професор, завідувач кафедри вірусології, патанатомії і хвороб птиці,

Сумський національний аграрний університет

Степченко Н.В., завідувач відділом ВСЕ,

Сумська региональна державна лабораторія ветеринарної медицини

Безвершенко О.С., лікар ветмедицини,

Сумська региональна державна лабораторія ветеринарної медицини

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ЕЛЕКТРОХІМІЧНОАКТИВНИХ РОЗЧИНІВ НАТРИЮ ХЛОРИДУ ЗА УМОВ КОНТАМІНАЦІЇ М'ЯСА ПТИЦІ *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

У статті наведені результати досліджень щодо ефективності знезараження продуктів птахівництва від *Clostridium perfringens* на основі застосування електрохімічно активних розчинів гіпохлориту натрію (*EXA ГХН*) та аноліту. Визначено бактерицидні концентрації розчину *EXA ГХН* та аноліту щодо *C. perfringens*. Встановлено, що при обробці продукції розчини *EXA ГХН* з концентрацією активного хлору 150 мг/л при pH 5,0, а також розчин аноліту з вмістом активного хлору – 175 мг/л при pH 7,0 і pH 2,5 чинять бактерицидну дію на *Clostridium perfringens* та виявилися найбільш ефективними, екологічно безпечними та економічно доцільними методами знезараження м'яса птиці.

Ключові слова: аноліт, електрохімічноактивний розчин гіпохлориту натрію, *Clostridium perfringens*.

Вступ. Застосування ефективних і екологічно безпечних дезінфектантів в птахівництві та на підприємствах переробки птахівничої продукції є запорукою отримання якісного та безпечного продукту. Результати моніторингових досліджень та аналіз літературних джерел свідчить про те, що на даний час на птахопідприємствах України гостро стоїть питання пошуку методів та препаратів для дезінфекції, що відповідали б необхідним вимогам щодо якості та безпечності, простоті, зручності та економічній доцільності у використанні. Тому пошук нових методик та засобів дезінфекції в птахівництві є актуальною проблемою сьогодення [4, 5].

В останні роки науковці повернулися до поглиблена вивчення властивостей *EXA ГХН* та аноліту, як екологічно безпечних препаратів з вираженими дезінфікуючими властивостями. Існують наукові публікації щодо бактерицидної дії розчинів *EXA ГХН* та аноліту на кишкову паличку,

[©] Купрієнко Л.С., Зон Г.А., Степченко Н.В., Безвершенко О.С., 2013

стафілококи, сальмонели. Але достаменно не вивчено вплив даних препаратів на інші види умовно патогенної мікрофлори, наприклад, на *C. perfringens*, яка може спричинити токсикоінфекцію у людей при споживанні продукції птахівництва [3].

Метою досліджень було дослідження ефективності застосування електрохімічно активних розчинів натрію хлориду (*EXA ГХН* та аноліту) за умов контамінації м'яса птиці *C. perfringens*.

Матеріали і методи. У досліді використовували розчини *EXA ГХН*, виготовлених на апараті для непрямої електрохімічної детоксикації організму моделі ЭДО - 3М та розчини аноліту, виготовленого на установці СТЕЛ-МЕДИКОМ 10Н-120-01; тест-культури *C. perfringens*, зразки м'яса птиці. Було використано загальноприйняті методи вирощування тест-культур згідно Настанови №1514/3, затв.11.01.2003р [5], мікробіологічних досліджень харчових продуктів за ГОСТом 10444.9-88 [1], ГОСТом 7702.2.6-93 [2], ГОСТом 29185-97 [3].

Бактеріостатичні властивості розчинів *EXA ГХН* та аноліту різної концентрації та кислотності визначали *in vitro* методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі (МППБ). Як тест-культури використовували польові та музейні штами *C. perfringens*, а бактеріальну суспензію розводили фізіологічним розчином до отримання концентрації 9×10^8 клітин/мл. Концентрацію бактеріальних клітин визначали за Мак-Фарлендом за допомогою денситометра DEN – 1. Після внесення тест-культур у поживні середовища серійних розведень досліджуваних розчинів *EXA ГХН* і аноліту у співвідношенні 1:9 проводили інкубування в термостаті за температури $37,0 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 24 год в анаеробних умовах. Результати досліджень реєстрували за фактом відсутності росту мікроорганізмів у пробірках.

За допомогою люмінесцентної мікроскопії бактеріальних клітин підтверджували ефективність бактерицидного впливу *EXA ГХН* та аноліту на *C. perfringens*. Для цього суспензії *C. perfringens* у концентрації 9×10^8 клітин/мл вносили у розчини *EXA ГХН* та аноліту. Співвідношення бактеріальної суспензії до *EXA ГХН*, аноліту доводили до 1:9. Експозицію проводили протягом 15 хв. Оброблені електрохімічними розчинами натрію хлориду бактеріальні суспензії фарбували флюорохромом – 0,1% розчином акридинового оранжевого, готували препарати «роздавлена крапля». Бактерицидну дію *EXA ГХН* та аноліту оцінювали, враховуючи те, що під час люмінесцентної мікроскопії мертві клітини набували червоного свічення, а живі – зеленого.

Дослідження дезінфікуючої дії розчинів *EXA ГХН* та аноліту проводили на зразках м'яса птиці, штучно контамінованих тест-культурами польових та музейних штамів *C. perfringens*. Контрольні посіви на вміст *C. perfringens* проводили на середовище Вільсон-Блера і середовище Кітт-Тароцци. Контаміновані зразки занурювали у розчини *EXA ГХН* з вмістом активного хлору (37-300) мг/л з pH 9,0 і 5,0 та аноліту з вмістом активного хлору (43-350) мг/л з pH 7,0 і 2,5 на 5 та 15 хв з подальшим промиванням їх водопровідною

водою. Потім зразки досліджували на забрудненість *C. perfringens* шляхом посіву на середовище Вільсон-Блера і Кітт-Тароцци з інкубацією в термостаті при $37,0 \pm 1^{\circ}\text{C}$ протягом 24 год в анаеробних умовах. Результати досліджень реєстрували за фактом відсутності росту мікроорганізмів на середовищах.

Результати дослідження. Під час дослідження бактеріостатичної дії розчинів ЕХА ГХН та аноліту на *C. perfringens* було встановлено, що розчини ЕХА ГХН залежно від вмісту активного хлору та pH проявляли різні властивості по відношенню до росту сульфітредукуючих клостридій (на прикладі *C. perfringens*).

Так було виявлено, що на поживних середовищах із серійними розведеннями розчинів ЕХА ГХН з концентрацією активного хлору 300 мг/л при pH 9,0 та 5,0 ріст *C. perfringens* повністю припиняється. При зниженні концентрації активного хлору до 150 мг/л розчин ЕХА ГХН проявляє бактеріостатичну активність лише при pH 5,0, тоді як при pH 9,0 вже спостерігається ріст сульфітредукуючих клостридій. Розчини з концентрацією активного хлору 75 мг/л не залежно від кислотності середовища зовсім не проявляли бактеріостатичної дії (табл. 1).

Було також досліджено вплив розчинів аноліту на ріст клостридій. Встановлено, що аноліт з концентрацією активного хлору 350 та 175 мг/л при pH середовища 7,0 та 2,5 проявляє бактеріостатичний ефект на *C. perfringens*. У розведеннях аноліту з концентрацією 87 та 43 мг/л при pH 7,0 та 2,5 на середовищах спостерігається виражений ріст колоній мікроорганізмів, характерних для клостридій (табл. 2).

Під час люмінесцентної мікроскопії бактеріальних суспензій, оброблених розведеннями ЕХА ГХН та аноліту, що проявляли бактеріостатичні властивості, спостерігали червоне свічення мертвих клітин *C. perfringens*, що свідчить про бактерицидні властивості даних розчинів.

Наступним етапом досліджень було визначення дезінфікуючої дії ЕХА ГХН та аноліту різних концентрацій та кислотності при обробці м'яса птиці, контамінованого сульфітредукуючими клостридіями. Так виявилося, що після експозиції протягом 5 та 15 хв зразків м'яса птиці в розчинах ЕХА ГХН з вмістом активного хлору 300 мг/л при pH 9,0 та 5,0 ріст клостридій на поживних середовищах не спостерігається, тобто обробка розчинами ЕХА ГХН таких концентрацій та pH повністю звільняла проби продукції від *C. perfringens*. Розчини з вмістом активного хлору 150 мг/л проявляли бактеріостатичну дію лише з pH 5,0 при експозиції від 5 до 15 хв, тоді як при pH 9,0 навіть при подовжений витримці у розчині до 15 хв – такого ефекту не спостерігалось. Концентрація активного хлору в розчинах 75 мг/л при pH 9,0 та 5,0 незалежно від часу дії не впливалася на ріст *C. perfringens* (табл. 3).

При обробці зразків м'яса птиці розчином ЕХА ГХН pH 9,0 з вмістом активного хлору 150 мг/л протягом 15 хв спостерігали зменшення КУО *C. perfringens* у посівах на чашках із середовищем Вільсон-Блера з 120 до 24, що свідчить про зниження рівня контамінації на 80%.

Під час вивчення деконтамінуючих властивостей аноліту було встановлено, що розчини із концентрацією активного хлору 175 та 350 мг/л при pH 7,0 та 2,5 з часом експозиції зразків від 5 до 15 хв проявили бактеріостатичний ефект до *C. perfringens*. Нижчі концентрації розчинів при аналогічних показниках pH та часом витримки не впливали на ріст колоній *C. perfringens* (табл 4).

Таблиця 1

Бактеріостатична активність розчинів ЕХА ГХН відносно *C. perfringens* в залежності від вмісту активного хлору та pH середовища

| Вміст активного хлору, мг/л | pH 9,0 | pH 5,0 |
|-----------------------------|--------|--------|
| 300 | - | - |
| 150 | + | - |
| 75 | + | + |
| 37 | + | + |

Примітка: «+»- ріст культур; «-»- відсутність росту культур

Таблиця 2

Бактеріостатична активність розчинів аноліту відносно *C. perfringens* в залежності від вмісту активного хлору та pH середовища

| Вміст активного хлору, мг/л | pH 7,0 | pH 2,5 |
|-----------------------------|--------|--------|
| 350 | - | - |
| 175 | - | - |
| 87 | + | + |
| 43 | + | + |

Примітка: «+»- ріст культур; «-»- відсутність росту культур.

Таблиця 3

Ефективність деконтамінуючої дії розчинів ЕХА ГХН відносно *C. perfringens* залежно від вмісту активного хлору та pH

| Вміст активного хлору, мг/л | pH 9,0 | | pH 5,0 | |
|-----------------------------|--------|------|--------|------|
| | 5хв | 15хв | 5хв | 15хв |
| 300 | - | - | - | - |
| 150 | + | + | - | - |
| 75 | + | + | + | + |

Примітка: «+»- ріст культур; «-»- відсутність росту культур

Таблиця 4

Ефективність деконтамінуючої дії розчинів аноліту відносно *C. perfringens* залежно від вмісту активного хлору та pH

| Вміст активного хлору, мг/л | pH 7,0 | | pH 2,5 | |
|-----------------------------|--------|------|--------|------|
| | 5хв | 15хв | 5хв | 15хв |
| 350 | - | - | - | - |
| 175 | - | - | - | - |
| 87 | + | + | + | + |
| 43 | + | + | + | + |

Примітка: «+»- ріст культур; «-»- відсутність росту культур

Під час дослідження люмінесцентною мікроскопією змивів з поверхонь м'яса птиці, оброблених розчинами ЕХА ГХН і аноліту виявили, що всі

розчини, які чинили бактеріостатичну дію, проявляли і бактерицидну дію щодо *C. perfringens*, як представника сульфітредууючих клостридій. Бактерицидна дія проявлялася червоним свіченням мертвих бактеріальних клітин.

Висновки. 1. Розчин ЕХА ГХН, виготовлений на апараті для непрямої електрохімічної детоксикації організму моделі ЭДО -3М та аноліт, виготовлений на установці СТЕЛ-МЕДИКОМ 10Н-120-01 доцільно використовувати для деконтамінації продуктів птахівництва від *C. perfringens*.

2. Розчини ЕХА ГХН із вмістом активного хлору 300 мг/л при pH 5,0 та 9,0, а також 150 мг/л при pH 5,0; розчини аноліту з концентрацією активного хлору 175-350 мг/л при pH 2,5 та 7,0 володіють вираженою бактеріостатичними та бактерицидними властивостями щодо *C. perfringens*.

3. Для дезінфекції м'яса птиці доцільно застосовувати розчини ЕХА ГХН (з концентрацією 300 мг/л при pH 5,0 та 9,0 та 150 мг/л при pH 5,0) з часом експозиції 5-15 хв, а також розчини аноліту (175 -350 мг/л при pH 2,5 та 7,0) протягом 5 - 15 хвилин, які виявилися ефективними та екологічно безпечними методами деконтамінації зразків м'яса птиці від *C. perfringens*.

Література

1. ГОСТ 10444.9-88. Продукты пищевые. Метод определения *Clostridium perfringens*.
2. ГОСТ 7702.2.6-93. Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птичьи. Метод выявления и определения количества сульфитредуцирующих клостридий.
3. ГОСТ 29185-91. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества сульфитредуцирующих клостридий.
4. Методика визначення бактеріостатичної та бактерицидної концентрації антибактеріальних препаратів методом серійних розведенъ / Державний науково-контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок; редкол.: М.В. Косенко [та ін.]. – Київ, 2003.- 8с.
5. Настанови по застосуванню набору тест-культур для бактеріологічного контролю якості живильних середовищ» №1514/3, затв.11.01.2003р
6. Вербицький П.І. Спільні зусилля на сторожі якості й безпеки продукції (прес-конференції) / П.І. Вербицький // Ветеринарна медицина України – 2009. - № 3. - С. 8.
7. Коцюмбас І.Я. Перспективи застосування гіпохлоритів у ветеринарній медицині/ І.Я. Коцюмбас, О.Б. Веліченко - Львів, -2009.-310с.
8. Семенюк В.І. Мікробіологічні дослідження об'єктів довкілля, харчових продуктів тваринного походження, кормів / І.В. Семенюк, О.Я. Захарів. – Львів, - 2004.-54 с.
9. Сорокова В.В. Вивчення патогенних властивостей культур *C. perfringens*, ізольованих від курей / В.В. Сорокова, Г.А. Зон // Вісник Сумського НАУ. Науково-методичний журнал. Серія „Ветеринарна медицина”.– 2002. – Вид. 7. – С. 88-90.

Summary

L.S. Kupriyenko, H. A. Zon, N.V. Stecenko, O.S. Bezvershenko

**EFFICIENCY OF USING ELECTROCHEMICALLY ACTIVE SOLUTION
OF SODIUM CHLORIDE IN CONDITIONS OF CONTAMINATION OF
POULTRY MEAT BY CLOSTRIDIUM PERFRINGENS**

The paper presents results of research on the effectiveness of disinfection of poultry products from Clostridium perfringens on the basis of electrochemically active sodium hypochlorite (ECHA SHCL) and anolyte. It was defined bactericidal concentrations of the ECHA HHN and anolyte on C. perfringens and was found that processing solutions of ECHA SHCL with concentration of active chlorine 150 mg/L at pH 5.0 and anolyte solution containing active chlorine - 175 mg/L at pH 7.0 and pH 2.5 had bactericidal effect on Cl. perfringens and were the most effective, environmentally safe and remunerative methods of decontamination of poultry meat.

Рецензент – д.вет.н., професор Коцюмбас Г.І.