

УДК 619:579.62:57.83.1.004.4.

**В. М. ЯНЕНКО**

*Інститут ветеринарної медицини НААНУ, м. Київ*

## **ВИВЧЕННЯ ДІЇ ДЕЗІНФЕКТАНТІВ НА АНТИЛІЗОЦИМНУ АКТИВНІСТЬ КУЛЬТУР САЛЬСМОНЕЛ І ЕШЕРИХІЙ**

*У статті подані результати щодо визначення впливу субінактивуючих концентрацій дезінфікуючих засобів (аргіцид, віроцид, молочна кислота, 2 %-й розчин їдкового натру, 2% розчин формальдегіду) на ріст патогенних штамів сальмонел та ешерихій і показано виражену їх бактерицидну дію по відношенню до цих мікроорганізмів.*

*Ключові слова: лізоцим, ешерихія, сальмонела, дезінфікуючий засіб.*

Масове використання антибактеріальних засобів не приводить до бажаних результатів, оскільки утворюються нові мікробні популяції, які не чутливі або мало чутливі до певної речовини. Виникають мутаційні зміни у патогенних мікроорганізмах, які сприяють виникненню їх стійкості у стресових ситуаціях і мікроби залишаються в організмі або довкіллі [1]. На сьогодні актуальним є вивчення субінгібууючих доз засобів, які не знешкоджують патогени, але активно впливають та модифікують їх біологічні характеристики, серед яких важливе значення має здатність мікроорганізму до персистенції. Малі концентрації (субінактивуючі) антибіотиків, дезінфектантів та інших антибактеріальних засобів призводять до суттєвих змін в морфології, біохімії та фізіології бактерій, що впливає на їх вірулентність та патогенність і має відображення в патогенезі взаємодії “паразит–господар” [2].

Основним методом протиепізоотичних заходів є дезінфекція, яка спрямована на зменшення мікробної дії на організм тварин, але часто-густо ці речовини негативно впливають на довкілля та біологічні властивості представників мікрофлори. Довготривале застосування одних і тих самих дезінфектантів зумовлює виникнення стійких форм збудників, тобто виникає персистенція патогенів [3].

Персистенція (від лат. *Persistere* – залишатися, наполягати) – це форма коезу із збереженням довготривалої стійкості мікроорганізма в організмі господаря. За умов інактивації персистенція бактерій в макроорганізмі називається косеним інфекційним процесом або бактеріоносіємством, коли збудник забезпечує своє збереження в організмі [4]. Персистентних властивостей бактерії набувають при умові подолання механізмів захисту макроорганізму. Таким чином механізми персистенції – це механізми виживання бактеріальних патогенів, які включають продукування секретів, що інактивують фактори захисту у господаря; антигенну мімікрію; утворення L – форм бактерій із відсутністю клітинної стінки. Одним із факторів персистенції є здатність мікроорганізмів проявляти антилізоцимну активність завдяки інактивації лізоциму [1].

**Метою** наших досліджень було визначення дії субінактивуючих доз дезінфікуючих речовин на один із маркерів персистенції антилізоцимну активність (АЛА) патогенних ешерихій і сальмонел.

**Матеріали та методи дослідження.** Робота проводилась у лабораторії сибірки та маловивчених хвороб ІВМ НААН.

За період 2010-2012 рр. були проведені дослідження по вивченню впливу субінактивуючих доз на АЛІА ешерихій та сальмонел таких дезінфекційних речовин як: біодез (ВАТ ВВП “Укрзооветпромпостач”), віроцид (фірма Сід Лайнс Н.В./С.А., Бельгія), аргіцид (ІВМ НААН), екоцид (КРКА, д.д. Нове место, Словенія), медікарин (“Ecolab GmBH“, Німеччина), молочна кислота (ВАТ ВВП “Укрзооветпромпостач”), 2%-й розчин їдкого натру (NaOH) та 2%-1 розчин формальдегіду (H<sub>2</sub>CO, метаналь).

Використовували референтні та епізоотичні культури *S. Gallinarumpullorum* (5 штамі), *S. Typhimurium* (2 штамі) – *S. Choleraesuis* (2 штамі), *S. Enteritidis* (1штам) та 10 штамі *E. Coli* (1, 4, 08, 7, 9, 13, 2, 84, 30, 109).

Антиізоцимну активність мікроорганізмів визначали чашковим методом відстроченого антагонізму за О. В. Бухаріним зі співавт. [4].

Визначення субінактивуючих доз дезінфекційних речовин. У пробірки з МПБ додавали дезінфектанти в різних концентраціях (1% від робочих розчинів, приготування яких вказані в настановах [5]), в контролі – фізіологічний розчин натрію хлориду. До цих пробірок піпетками засівали по 0,5 см<sup>3</sup> добової бульйонної культури відповідного дослідного штаму. Дослідний матеріал ставили до термостату за температури 37<sup>0</sup> С на 24 години. Після інкубації, культуру з дослідними дез.речовинами пересівали у пробірки зі скошеним МПА. Інкубували 24 год. За температури 37<sup>0</sup> С. Після інкубації проводили контроль росту культур мікроорганізмів. За субклінічну дозу вважали ту концентрацію, після якої на МПА виростали поодинокі колонії (1-3) при суцільному рості у контролях.

Субінактивуючі дози дії традиційних дезінфікуючих засобів (молочної кислоти, їдкого натру та формальдегіду) та сучасних (віроцид, аргіцид, біодез, медікарин та косез): на сальмонели і ешерихії представлені у таблиці.

Таблиця

### Визначення субінактивуючих доз дезінфікантів для дослідних культур бактерій

№ п/п	Культури мікроорганізмів	Субінактивуюча концентрація дезінфектантів у МПБ (%)							
		Молочна кислота	Їдкий натр	формальдегід	медікарин	віроцид	аргіцид	біодез	екосез
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	<i>S. gallinarumpullorum</i> (Л)	0,2	0,1	0,05	0,05	0,05	0,01	0,01	0,1
2	<i>S. gallinarumpullorum</i> (Т)	0,2	0,1	0,01	0,05	0,05	0,01	0,01	0,05
3	<i>S. gallinarumpullorum</i> (ІІ)	0,1	0,2	0,05	0,05	0,05	0,05	0,01	0,05
4	<i>S. gallinarumpullorum</i> (88)	0,2	0,3	0,01	0,05	0,05	0,05	0,01	0,05
5	<i>S. gallinarumpullorum</i> (Б)	0,1	0,2	0,01	0,05	0,05	0,05	0,01	0,1
6	<i>S. typhimurium</i> (670)	0,3	0,1	0,05	0,05	0,05	0,01	0,05	0,05
7	<i>S. typhimurium</i> (354)	0,2	0,2	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,05
8	<i>S. choleraesuis</i> (Л)	0,1	0,3	0,01	0,05	0,01	0,05	0,05	0,05
9	<i>S. choleraesuis</i> (Т)	0,2	0,1	0,1	0,05	0,1	0,05	0,05	0,05
10	<i>S. enteritidis</i>	0,2	0,2	0,05	0,05	0,1	0,05	0,05	0,05
M ±m		0,18±0,02	0,3±0,06	0,04±0,01	0,05±0,01	0,05±0,01	0,03±0,01	0,03±0,01	0,06±0,01

Продовження табл.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	<i>E. coli</i> 1	0,6	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2
12	<i>E. coli</i> 4	0,5	0,05	0,01	0,3	0,5	0,5	0,1	0,2
13	<i>E. coli</i> 08	0,5	0,05	0,1	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1
14	<i>E. coli</i> 7	0,5	0,05	0,01	0,1	0,01	0,05	0,05	0,1
15	<i>E. coli</i> 9	0,6	0,05	0,01	0,1	0,05	0,05	0,05	0,1
16	<i>E. coli</i> 13	0,6	0,05	0,1	0,05	0,05	0,01	0,05	0,1
17	<i>E. coli</i> 2	0,5	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,1
18	<i>E. coli</i> 84	0,5	0,05	0,1	0,3	0,01	0,05	0,05	0,05
19	<i>E. coli</i> 30	0,3	0,05	0,1	0,1	0,01	0,01	0,01	0,2
20	<i>E. coli</i> 109	0,5	0,05	0,1	0,05	0,5	0,1	0,01	0,1
M ± m		0,51± 0,02	0,06± 0,01	0,07± 0,02	0,12± 0,03	0,18±0, 08	0,11±0, 04	0,06± 0,01	0,13± 0,02

З вищевикладених даних видно, що до сучасних дезінфектантів дослідні культури мають високу чутливість, так, мінімальна інгібуюча доза при якій реєстрували ріст одиничних колоній патогенів становить для медикарину –  $0,05 \pm 0,01$  % для сальмонел і  $0,12 \pm 0,03$  % для ешерихій, віроциду –  $0,05 \pm 0,01$  % для сальмонел і  $0,18 \pm 0,08$  % для ешерихій, екодезу –  $0,06 \pm 0,01$  % для сальмонел і  $0,13 \pm 0,02$  % для ешерихій, та біодезу –  $0,03 \pm 0,01$  % для сальмонел і  $0,06 \pm 0,01$  % для ешерихій. Деззасіб аргіцид, що розроблений на базі лабораторії гігієни і санітарії ІВМ НААН, має досить ефективні характеристики: його мінімальна інгібуюча становить для сальмонел –  $0,03 \pm 0,01$ , а для ешерихій –  $0,11 \pm 0,04$ .

Субінгібуюча концентрація для молочної кислоти становить –  $0,18 \pm 0,02$  % для сальмонел і  $0,51 \pm 0,02$  % для ешерихій; їдконого натру –  $0,3 \pm 0,06$  % для сальмонел і  $0,06 \pm 0,01$  % для ешерихій, формальдегіду –  $0,04 \pm 0,01$  % для сальмонел і  $0,07 \pm 0,02$  % для ешерихій.

У дослідних культур сальмонел та ешерихій (після дії на них деззасобів у субінактивуючих дозах) визначали АЛА. Одержаний показник порівняли з рівнем АЛА ентеробактерій, які не піддавались дії дезінфектантів і слугували за контроль. Отримані результати відображені на рисунку 1.

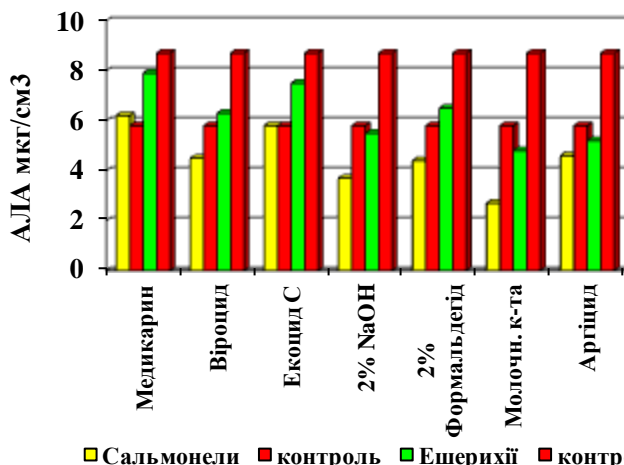


Рис. 1 Вплив субінактивуючих доз дезінфектантів на рівень АЛА дослідних культур бактерій (M ± m)

Аналізуючи дані, представлені на діаграмі видно, що застосовані дезінфекційні препарати суттєво впливають на рівень АЛА епізоотичних культур: так формальдегід знижує рівень антилізоцимної активності на  $1,8 \text{ мкг/см}^3$ ; аргіцид –  $2,3 \text{ мкг/см}^3$ , їдкий натр –  $2,6 \text{ мкг/см}^3$ ; молочна кислота –  $3,3 \text{ мкг/см}^3$ , тоді як із сучасних препаратів виражена інгібуюча дія притаманна віроциду: він знижує рівень АЛА культур на  $3,5 \text{ мкг/см}^3$  в середньому. Медикарин збільшує рівень АЛА у сальмонел на  $0,4 \text{ мкг/см}^3$ , тобто має стимулюючу дію, що необхідно враховувати при його застосуванні у випадках виникнення сальмонельозу таприн. Екоцид не змінював величину АЛА у сальмонел, що свідчить про його індиферентність по відношенню до даного виду збудника і знижує рівень АЛА у ешерихій на  $1,2 \text{ мкг/см}^3$ .

На підставі проведеного досліді зроблено висновок **ВИСНОВОК**, що застосований новий дезінфікуючий засіб – аргіцид, а також традиційні речовини: молочна кислота, їдкий натр і формальдегід хоч і мають менший відсоток субінактивуючої дози ніж застосовані сучасні препарати (екоцид С, віроцид, медикарин, біодез), але вагомо впливають на рівень АЛА мікроорганізмів, що виражається у зниженні цього показника до  $3,3 \text{ мкг/см}^3$ . Це сприяє зменшенню рівня персистенції сальмонел та ешерихій, а значить слугує запорукою ефективної санації приміщень та обладнання.

1. Бухарин О. В. Персистенция бактериальных патогенов как результат отношений в системе паразит-хозяин // Журн. микробиол. – 1997. – № 4. – С. 3- 9.

2. Скрипник В. Г. Антилізоцимна активність ешерихій і сальмонел / В. Г. Скрипник, У. М. Яненко, В. М. Яненко, О. О. Марчук // Ветеринарна біотехнологія. – Ніжин : ПП Лисенко М.М., 2010. – Бюл. № 16. – С. 217–224.

3. Бран Л. Е. Бактериальная резистентность и чувствительность к химио-препаратам. / Л. Е. Бран. – М.: Медицина, 1984. – 272с.

4. Бухарин О. В. Метод определения антилизоцимной активности микроорганизмов/ О. В.Бухарин, Б. Я.Усвятцов, А. П. Малышкин, Н. ВНем-цева // Журн. микробиол. – 1984.– № 2. – С. 27 – 28.

5. Загальні методи лабораторних досліджень у лабораторіях вете-ринарної медицини/ В. М. Івченко, Г. М. Денисенко, В. В. Шарандак, О. І. Горбатюк// Методичні рекомендації.– Видавництво БДАУ, 2007. – 65 с.

## ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ДЕЗИНФЕКТАНТОВ НА АНТИЛИЗОЦИМНУЮ АКТИВНОСТЬ КУЛЬТУР САЛЬМОНЕЛЛ И ЕШЕРИХИЙ/ В. М. Яненко

*В статье представлены результаты с определения влияния субинактивирующих концентраций дезинфицирующих веществ (аргицид, вироцид, молочная кислота, 2 %-й раствор едкого натра, 2% раствор формальдегида) на рост патогенных штаммов сальмонелл и ешерихий и показано их выраженное бектерициднаое действие на эти микроорганизмы.*

*Ключевые слова:* лизоцим, ешерихия, сальмонелла, дезинфицирующее вещество

**STUDY ON THE INFLUENCE OF THE DISINFECTORS ON  
ANTILYSOZYME ACTIVITY IN SALMONELLA AND ESCHERICHIA  
CULTURES/ V. M. Yanenko**

*The article presents the results on the influence of subinactivating concentrations of disinfectants (arhitsyd, virotskyd, lactic acid, 2% solution of sodium hydroxide, 2% formaldehyde solution) on the growth of pathogenic strains of Salmonella and Escherichia and it is shown their expressed bactericidal action against these microorganisms.*

*Key words: lysozyme, Salmonella, Escherichia, disinfectant.*

**Рецензент – доктор ветеринарных наук В. Л. Коваленко.**