

ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЗІНФІКУЮЧОЇ ДІЇ УФ У ЗАБЕЗПЕЧЕННІ ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОПОТЕНЦІАЛУ БДЖОЛОСІМЕЙ

*М. А. Романченко, І. Г. Маслій, М. П. Кунденко,
Ю. К. Санін, О. С. Цехмейстер*

*Харківський національний технічний університет сільського
господарства імені Петра Василенка*

Анотація. Наведено результати досліджень впливу УФ-опромінення на спори *Paenibacillus larvae, subsp. larvae*. Встановлено, що спори бактерії *Paenibacillus larvae, subsp. larvae* є чутливими до УФ-опромінення довжиною хвилі 254 нм, причому, отримані результати свідчать про необхідність проведення подальших досліджень у виробничих умовах.

Ключові слова: *УФ-опромінення, Paenibacillus larvae, subsp. larvae, американський гнилець.*

Дезінфекція є важливою складовою профілактики і боротьби з поширенням інфекційних захворювань у бджільництві. Основними факторами передачі збудників захворювань розплоду є вощина, кормові запаси, контаміновані спорами, інвентар, запасні стільники, вулики, медогонки. Спори збудника особливо небезпечного захворювання розплоду бджіл – американського гнильцю – палички *Paenibacillus larvae, subsp. larvae*, є особливо стійкими до фізичних і хімічних чинників, якщо вони знаходяться у залишках плівок, медові, перзі та воску. За літературними даними спори гинуть у воді за температури у 90 °С через 3 години, а за 95 °С – через годину. При кип'ятінні трупів личинок у воді протягом 1 хв гине 80 % спор, за 5 хв – 99 % та за 14 хв – усі.

Спори зберігають життєздатність у сухому ґрунті пасік 228 днів, у вологому – до 19 місяців. У заражених стільниках спори залишалися патогенними упродовж 35 років, у вуликах, вощині – 20, в медогонці – 5, у медові й перзі – 1 рік (термін спостереження) [1, 2, 3].

Сучасні дезінфікуючі засоби повинні відповідати таким вимогам: мати широкий спектр бактерицидної, віруцидної та фунгіцидної дії, низьку токсичність; не мати корозійних властивостей; бути нешкідливими для навколишнього середовища; сумісними з обробленими матеріалами; екологічно безпечними, економічними та зручними у застосуванні [4, 5, 6].

Цьому завданню відповідає використання УФ-опромінення для профілактичної, поточної та заключної дезінфекції стільників на пасіці.

Бактерицидну дію ультрафіолетових променів було виявлено близько 100 років тому. УФ почали активно застосовувати з 1930-х років і в 1936 р. його було вперше використано для стерилізації повітря в хірургічній операційній кімнаті.

Ультрафіолетова компонента сонячного світла викликає ушкодження мікроорганізмів на клітинному і генетичному рівнях. Знезаражуючий ефект УФ-випромінювання, в основному, зумовлений реакціями, в результаті яких відбуваються незворотні пошкодження ДНК та РНК і клітинних мембран. Ультрафіолет уражає саме живі клітини, не впливаючи на хімічний склад середовища, що має місце для хімічних дезінфектантів. Остання властивість дуже вигідно відрізняє його від усіх хімічних способів дезінфекції. Для різних застосувань УФ-випромінювання промисловість випускає ртутні, водневі, ксенонові та ін. газорозрядні лампи, вікна яких (або цілком колби) виготовляють із прозорих для УФ-випромінювання матеріалів (частіше з кварцу).

Мета досліджень – визначити дезінфікуючі властивості УФ-опромінення на тест-об'єкти, контаміновані спорами бактерії *Paenibacillus larvae, subsp. larvae* у лабораторних та виробничих умовах.

Матеріали та методика досліджень. Дезінфікуючу дію УФ-опромінення вивчали на тест-об'єктах – шпоні, вощині, штучно контамінованих спорами бактерії *Paenibacillus larvae, subsp. larvae*, а також на стільниках, відібраних від сімей, уражених гнильцевими хворобами бджіл.

У процесі досліджень було використано клінічний штам-ізолят *Paenibacillus larvae, subsp. larvae*, виділений з хворої на американський гнилець бджолиної сім'ї. Для отримання спор *Paenibacillus larvae, subsp. larvae* готували змив зі стільників, що містили загиблих від цього захворювання личинок. У комірки стільника заливали стерильний фізіологічний розчин на 1–2 год, потім стерильною пастерівською піпеткою відсмоктували вміст комірок. Отриману суспензію центрифугували, рідину зливали, а до осаду додавали нову порцію стерильного фізрозчину та центрифугували знову.

За оптичним стандартом мутності готували суспензію спор мікробу, яка містила 1×10^7 КУО / мл (1млрд мікробних клітин (колонієутворюючих одиниць) в 1мл), якою контамінували стандартні тест-об'єкти (шпон, вощина) шляхом занурення, з подальшою експозицією протягом однієї хвилини. З подальшим висушуванням на повітрі.

Для УФ-опромінення тест-об'єктів використовували спеціальну установку, подану на рисунку.

На рисунку подано установку для знезаражування вуликових сотових рамок із використанням бактерицидного ефекту УФ-випромінювання. Установка складається з рами, цепного кільцевого конвеєра 3, реверсивного електродвигуна редуктора, підвісів для сотових вуликових рамок 5, блока джерел УФ випромінювання 1, пускорегулювальної та комутаційної апаратури, таймеру і засобів індикації. Враховуючи форму рельєфу відбудованого бджолами соту, знезаражування поверхні всіх бджолиних комірок можливе в режимі динамічного опромінення, тобто при переміщенні джерела УФ- випромінювання і об'єкта опромінювання таким чином, щоб досягти обробки 100% поверхні комірок і конструктивних елементів вуликових рамок.

Замкнена траекторія руху транспортера забезпечує опромінення соторамок з двох сторін за один повний оберт його ланцюга. Гнучкість цепної передачі транспортера надає можливість до мінімуму скоротити відстань між поверхнею соторамки і джерелом УФ-випромінювання. Переміщення конвеєра зумовлює періодичність заданої експозиції для даного об'єкта. Дискретність опромінення нівелюється рівномірним розміщенням джерел УФ- випромінювання паралельно траекторії руху вуликівих сотових рамок [7, 8].

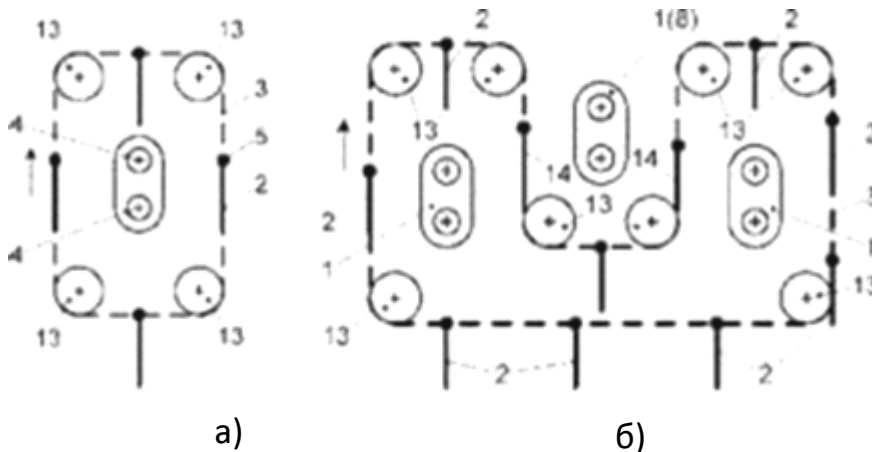


Схема а) однокільцевого конвеєра і схема б) *m*-кільцевого конвеєра установки для обеззаражування вуликівих сотових рамок:

1 – блок джерел УФ-випромінювання у середині контуру конвеєра; 1 (8) – блок джерел УФ-випромінювання зовні контуру конвеєра; 2 – об'єкти знезаражування (вуликіві сотові рамки), 3 – цепний контур конвеєру; 4 – УФ лампи; 5 – підвіс для вуликівих сотових рамок, 13 – опорні зірочки конвеєра

У процесі дослідження визначали дезінфікуючу дію УФ у таких концентраціях та експозиціях:

а) один повний оберт навколо ламп УФ-опромінювачів – 30 хв;
 б) два повних оберти; в) три; г) чотири; д) п'ять.

Контаміновані тест-об'єкти підвішували на спеціальних пазах у пластикових рамках. Через зазначені проміжки часу тест-об'єкти виймали, від шпону та воцини відрізали шматочки, на які наносили стерильний фізіологічний розчин, який через 3–5 хв відсмоктували стерильними пастерівськими піпетками у стерильні пробірки.

Підготовлені таким чином змиви висівали на чашки Петрі з середовищами МПА, Уліса-Гобза та Черепова, які поміщали в термостат за температури у $+37 (\pm 1,0) ^\circ \text{C}$ на 72 години. Дослід повторювали тричі.

Також використовували стільники із сімей бджіл, у яких діагностували американський гнилець. Стільники підвішували на спеціальні пази в установці. Випробування проводили у зазначених вище концентраціях і експозиціях установки. Після кожного циклу від стільника відрізали шматочки розміром 10 x 15 см та заливали фізрозчином. Подальші дослідження проводили аналогічно. Для контролю ефективності дії ультрафіолетових променів паралельно проводили два контролю: № 1 – шматочки тест-об'єктів

(шпон, вощину), стільника з хворої сім'ї не піддавали УФ-опроміненню, а змочували стерильним фізіологічним розчином; № 2 – шматочки тест-об'єктів (шпон, вощину), стільника з хворої сім'ї оброблювали хімічним дезінфектантом (Д. Р. полігексаметиленгуанідін – ПГМГ). Підготовку змивів та висів на поживні середовища проводили аналогічно.

Результати досліджень. У процесі роботи отримано дані, які свідчать про те, що спори *Paenibacillus larvae, subsp. larvae* є чутливими до УФ- опромінення. Результати наведено в таблиці.

Чутливість спор бактерії *P. larvae* до УФ-опромінення на тест-об'єктах за різних експозицій

Експозиція	Тест-об'єкти*		
	стільник	шпон	вощина
1 оберт (30 хв)	+	±	±
2	+	–	–
3	±	–	–
4	–	–	–
5	–	–	–
Контроль № 1 (фізрозчин)	+	+	+
Контроль № 2 (2 % ПГМГ)	–	–	–

*Примітка. “–” – відсутність росту культури *P. larvae* на середовищі Уіліса-Гобза; “+” – наявність росту культури *P. larvae* на середовищі Уіліса-Гобза; “±” – сумнівний ріст.

При порівняльній оцінці результатів експериментального дослідження ми встановили, що за експозиції один оберт установки не було отримано позитивного результату. У змивах із тест-об'єктів (шпону і вощини) було виявлено життєздатні спори збудника американського гнильцю розплоду бджіл. На поживному середовищі Уіліса-Гобза реєстрували поодинокі колонії, характерні для *Paenibacillus larvae, subsp. larvae*.

У процесі висіву змиву зі стільника отримано ріст культури *Paenibacillus larvae, subsp. larvae* за експозиції 1, 2, 3 цикли обертів установки. Це підтверджено контролем № 1. У всіх випадках було отримано ріст вихідної культури. Для повної стерилізації поверхонь експериментальних зразків достатнім часом впливу було 4 та 5 циклів роботи установки. Аналізуючи дані таблиці далі, бачимо, що ці дані зіставні з контролем № 2. В усіх випадках (у процесі висіву змивів зі шматочків стільників, тест-об'єктів) на поживні середовища росту збудника американського гнильцю виявлено не було.

Найбільша ефективність дії УФ-опромінення зареєстрована за експозиції 4 та 5 обертів дослідної установки. Враховуючи вищезазначене бачимо, що профілактика та підвищення ефективності лікувальних заходів у комплексі боротьби з хворобами бджіл полягає у своєчасній дезінфекції обладнання, з яким контактують бджоли. Тому розробці ефективних схем використання нових дезінфікуючих хімічних засобів та фізичних заходів, за умови ураження бджіл хворобами, приділяється особливе практичне значення.

Висновки

На основі аналізу наукових літературних джерел, присвячених питанням розробки технологій і способів боротьби з патогенною мікрофлорою бджіл, перевагу віддають фізичним способам боротьби з застосування УФ-випромінювання короткохвильового діапазону оптичного випромінювання.

На ефективність бактерицидної дії УФ-випромінювання впливає довжина хвилі, інтенсивність опромінення, тривалість впливу, видова належність оброблюваних мікроорганізмів, відстань від джерела. Украї складно врахувати всі параметри, щоб можна було одноразово впливати на весь спектр мікроорганізмів.

Ефективність застосування УФ-випромінювання для знезараження поверхонь у кожному конкретному випадку розраховується окремо з урахуванням всіх параметрів, які впливають на процес опромінення мікроорганізмів.

УФ-випромінювання високоактивне, якщо мікроорганізми розташовані на поверхні об'єктів, що оброблюються, в один шар. За багат шарового розташування верхні захищають ті, що знаходяться під ними (явище екранування).

Найефективніший спосіб боротьби з патогенною мікрофлорою бджіл є динамічний спосіб опромінення біооб'єктів, що забезпечує більш повне знищення за експозиції $1,2 \cdot 10^4$ мкВт·с/см² і швидкості руху об'єкта опромінення 0,01 м/с.

Список літератури

1. Гробов О. Ф. Болезни и вредители медоносных пчел / Гробов О. Ф., Смирнов А. М., Попов Е. Т. – М. : Агропромиздат, 1987. – 336 с.
2. Токсикологическое действие озона на микроорганизмы *Staphylococcus aureus*, дрожжеподобные грибы *Candida albicans* и споровые формы *Bacillus subtilis* / И. А. Белых, И. П. Высеканцев, А. М. Грек [и др.] // Современные проблемы токсикологии – 2010. – № 2–3. – С. 45–49.
3. Лабинская В. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований / В. С. Лабинская. – М. : Медицина, 1978. – 394 с.
4. Дьяченко И. В. Очистка и дезинфекция диализного оборудования / И. В. Дьяченко, А. А. Жураков // http://www.bbmed.ru/info/clean_desinfection.html
5. Обеззараживание и дезинфекция воздуха. Разбираемся в ультрафиолетовых бактерицидных облучателях [Электронный ресурс]. – Режим доступа : www.home-ecology.ru
6. Авчинников А. В. Гигиенические основы обеззараживания и консервации питьевой воды комбинированным физико-химическими способами : автореф. дис. на соискание учен. степени д-ра мед. наук / А. В. Авчинников. – М., 2002. – 46 с.
7. Костюченко С. В. Технологические особенности выбора оборудования для обеззараживания воды УФ-излучением / С. В. Костюченко, С. В. Волков, А. В. Якименко [и др.] // Водоснабжение и санитарная техника. – 2003. – № 3. – С. 21–24.
8. ПУ №58825 МПК (2011.01) А 01 К 51/00. Пристрій для сонячної внутрішньої поверхні вулика, рамок та бджолосім'ї / М. А. Романченко, О. С. Нікітіна, С. П.

Нікітін, В. М. Романченко. – № 2010 11882 ; заявл. 07.10.2010 ; опубл. 26.04.2011, Бюл. № 8.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ УФ В ОБЕСПЕЧЕНИИ СОХРАНЕНИЯ БИОПОТЕНЦИАЛА ПЧЕЛОСЕМЕЙ

*Н. А. Романченко, И. Г. Маслий, Н. П. Кунденко.,
Ю. К. Санин, О. С. Цехмейстер*

Аннотация. *Представлены результаты исследования влияния УФ-облучения на споры *Paenibacillus larvae larvae*. Установлено, что споры бактерий *Paenibacillus larvae, subsp. larvae* чувствительны к УФ-облучению с длиной волны в пределах 254 нм.*

Ключевые слова: *УФ-облучение, *Paenibacillus larvae, subsp. larvae*, американский гнилец.*

RESEARCH DISINFECTING EFFECT OF UV IN THE CONSERVATION ACTION POTENTIAL OF BEE COLONIES

*N. A. Romanchenko, I.G. Masli, N. P. Kundenko,
Y. K. Sanin, E. C. Tsekhmeister*

Annotation. *The article presents the results of studies of the effect of UV-irradiation on the controversy *Paenibacillus larvae larvae*. It was found that the spores of bacteria *Paenibacillus larvae, subsp. larvae* have sensitive to UV-radiation having a wavelength in the range 254 nm.*

Key words: *UV-radiation, *Paenibacillus larvae, subsp. larvae*, American foulbrood.*

УДК 638.144- 124.4

ВИЖИВАНІСТЬ БДЖІЛ ЗА РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ КАРБОКСИЛАТІВ ХАРЧОВИХ КИСЛОТ У СКЛАДІ ЦУКРОВОГО СИРОПУ

М. В. Себа, О. М. Лосєв, кандидати сільськогосподарських наук

Б. М. Чорний, магістр

Національний університет біоресурсів

і природокористування України

В. Г. Каплуненко, доктор технічних наук

Український державний науково-дослідний інститут

нанобіотехнологій та ресурсозбереження

Анотація. *Досліджено виживаність бджіл за різних концентрацій (1:10, 1:12, 1:14, 1:16) карбоксилатів харчових кислот Cr, Mn, Se, Ge, Si у складі цукрового сиропу. Встановлено, що застосування карбоксила-*

© М. В. Себа, О. М. Лосєв,
Б. М. Чорний, В. Г. Каплуненко, 2015