

PLAUNAMŪJŲ IR DEZINFEKAVIMO MEDŽIAGŲ KARVIŲ TEŠMENIUI PARUOŠTI PRIEŠ MELŽIMĄ LABORATORINIAI TYRIMAI

Ramutė Mišeikienė¹, Jūratė Šiugždaitė², Henrikas Stankevičius³, Josifas Tacas¹, Viktorija Stankūnienė¹

¹Lietuvos veterinarijos akademija, Melžimo mokymo centras, Tilžės g. 18, LT–3022 Kaunas; tel./faks. 8 37 36 14 83; el. paštas: mmc@lva.lt

²Lietuvos veterinarijos akademija, Užkrečiamųjų ligų katedra, Tilžės g. 18, LT–3022 Kaunas; tel. 8 37 36 23 92; el. paštas: Jurate.Siugzdaite@lva.lt

³Lietuvos maisto institutas, Taikos pr. 92, LT–3031 Kaunas; tel. 8 37 31 23 93

Santrauka. LVA Mikrobiologijos laboratorijoje buvo tirta plaunamųjų ir dezinfekavimo priemonių – „Dermisan“ (Prancūzija), „Trionet“ (Belgija), „Vissi-tissi“ (Estija), „ProfilacIopre“ (Vokietija), naudojamų karvių tešmeniui prieš melžimą plauti ir dezinfekuoti, poveikis mikroorganizmams *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* ir *Escherichia coli*. Nustatyta mažiausia sanitarinių dezinfekavimo medžiagų inhibicinė koncentracija (MIK). Tiriant *in vitro*, didžiausią poveikį *S.aureus*, *S.agalactiae* ir *E.coli* turėjo „Dermisan“ (mažiausia augimą slopinanti koncentracija – 3,13%).

Raktažodžiai: tešmuo, patogenai, dezinfekavimo medžiaga, MIK.

THE LABORATORY INVESTIGATIONS OF WASHING AND DISINFECTIONS MATERIALS IN USE COWS UDDER PREPARATION BEFORE MILKING

Summary. The study has been carried out in LVA microbiological laboratory to test the influence of sanitizers and disinfection materials “DERMISAN” (France), “TRIONET” (Belgium), “VISSI-TISSI” (Estonia), “ProfilacIopre” (Germany) used for cows udder preparation before milking on microorganisms *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* and *Escherichia coli*.

The minimal inhibition concentration (MIC) of washing and disinfection materials was determined. During investigations “*in vitro*” “DERMISAN” had the most influence on *S. aureus*, *S. agalactiae* and *E. coli* (the minimal inhibition concentration was 3.13 %).

Keywords: udder, pathogens, disinfection materials, MIC.

Įvadas. Viena neigiamai veikiančių pieno kokybę priešasčių yra mikroorganizmai. Pieno kokybei gerinti, kartu ir mastito profilaktikai, svarbios tešmens priežiūrai skirtos sanitarijos ir higienos priemonės. Plovikliai gerai plauna, pašalina nešvarumus, tačiau nedezinfekuoja. Taigi juos naudoti reikėtų su dezinfekavimo medžiaga speniams ir tešmeniui dezinfekuoti. Ji turi būti lengvai įperkama, baktericidiška, greitai veikti, kuo mažiau dirginti odą. Dezinfekuojamoji medžiaga neturi patekti į pieną (Špakauskas, 2000).

Dezinfekavimo tirpalai naikina daugelį oportunistinių ir kontaginių patogenų, esančių ant spenio odos, ir neleidžia jiems patekti į tešmenį (Ingalls, 1998; Jones, 2000). Nustatyta, kad teisingas spenių dezinfekavimas gali sumažinti iki 75% bakterijų. (Pankey, Drechsler, 1993). Kitų mokslininkų duomenimis, dezinfekavimas mastitų plitimą sumažina nuo 50 iki 95%. (Johnson, 1998; Nickerson, 1999). Dezinfekavimas prieš melžiant ypač mažina aplinkos patogenų kiekį (Fetrow, 2000; Rasmussen, 2000; Reneau, 1997; Rueg, 1998; Wattiaux, 1998).

Pasaulyje atliktų tyrimų duomenimis, dezinfekavimo priemonės, kurių veiklioji medžiaga yra chlorheksidinas (0,35% koncentracijos), jodoformas (0,1% ir 0,25% koncentracijos) mažina stafilokokų bei kitų patogenų kiekį. 0,25% jodo tirpalas mažina gramneigiamas bakterijas ir daugelį patogenų. Sodos chlorito (0,64%) turinti dezinfekavimo medžiaga mažina *S. aureus*, *S. uberis* kiekį, fenolio – *S. uberis*, *S. dysgalactiae*,

gramneigiamas bakterijas, koaguliazei neigiamus stafilokokus (KNS) (Boddie, Wats, 1990; Boddie, Nickerson, 1993; Hemling, 1998; Pankey, Philpot, 1983).

Dezinfekavimo medžiagų veiksmingumas priklauso nuo dezinfekuojamų paviršių švarumo, mikroorganizmų rūšies, tirpalo koncentracijos ir temperatūros, dezinfekavimo trukmės bei kitų veiksnių (Reneau, 1997).

Šiuo metu Lietuvos rinką pasiekia įvairios dezinfekuojamosios priemonės speniams ir tešmeniui apdoroti prieš melžimą. Populiariausios – belgų „Trionet“, „Agrisept tabs“ ir prancūzų „Dermisan“, estų „Vissi-tissi“, vokiečių „ProfilacIopre“, suomių „Nänneli“ ir kt. Mažai tyrinėta, kaip konkreiti dezinfekuojamoji priemonė veikia ant tešmens ir spenių odos esančius mikroorganizmus.

Darbo tikslas – laboratorijos sąlygomis ištirti mažiausią kai kurių sanitarijos ir dezinfekavimo medžiagų inhibicinę koncentraciją (MIK).

Medžiagos ir metodai. Sanitarijos ir dezinfekavimo priemonių poveikį vertinome atskiroms mikroorganizmų rūšims iš *Staphylococcus*, *Streptococcus* genties ir *Escherichia coli*. Laboratoriniai tyrimai atlikti su šiomis medžiagomis:

- „Vissi-tissi“ (1 l talpa) – šarminė plovimo priemonė, pagaminta iš natūralių žaliavų, turinčia odą minkštinančių komponentų. Tirpale yra amfoterinės paviršiaus aktyviosios medžiagos (Ampholak MSX-2) 1–5%, anijoninės paviršiaus aktyviosios medžiagos (Ungerol AM 3-70) 3–15%, glicerino 0,5–2%, natrio chlorido 1–3%, etilo spirito 1–3%;

- „Dermisan“ (10 l talpa, serijos Nr. EMB 35288H-5700/146-34/00) – veiklioji medžiaga – laurilo propilaminas. Neskiesto pH 7,0±0,5 užšalimo temperatūra 0^o C, tankis (20^o temperatūroje) 1,005±0,01 g/cm³;

- „Trionet“ (10 l talpa, serijos Nr. 741006763) sudėtyje yra odą minkštinančių medžiagų su alantoinu;

- „ProfilacIopre“ (5 l talpa, serijos Nr. 7722-5070-500) – riebalus šalinantis plovimo koncentratas su jodu (sudėtyje yra 0,16–0,07 g jodo, 0,2–3 g etileno laurilo alkoholio, glicerolio).

100% koncentracijos šių plaunamųjų ir dezinfekavimo medžiagų tirpalai iki 10⁸ (100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,13, 1,57 ir 0,79% koncentracijos) praskiesti mėsos peptono sultinio (MPS) mitybinėje terpėje.

Norint sužinoti mažiausią minėtų plaunamųjų dezinfekavimo medžiagų inhibicinę koncentraciją (MIK mg/l), stabdančią tiriamos rūšies mikroorganizmų augimą, laboratoriniai tyrimai buvo atliekami keturis kartus. Tirtas jų poveikis įvairiomis mikroorganizmų rūšims – *S.aureus*, *S.agalactiae*, *E.coli*. Tyrimai atlikti 2002 m. spalio ir lapkričio mėn. LVA Mikrobiologijos laboratorijoje.

Į mėgintuvėlius buvo supilstyta po 2 ml sterilus mėsos peptono sultinio (MPS) ir dėta po 0,05 ml dezinfekuojamosios medžiagos. Praskiesta iki 10⁸. Tada į kiekvieną mėgintuvėlį inokuluota po 0,1 ml tiriamųjų bakterijų – *S.aureus*, *S.agalactiae* ir *E.coli* (1 ml/10⁷ kolonijas sudarančių vienetų, KSV). Kultivuota 37^o C temperatūroje 24 val. Jei skysta mitybinė terpė mėgintuvėlyje skaidri, mikroorganizmai jautrūs plaunamosios dezinfekavimo medžiagos koncentracijai. Taip nustatėme mažiausią koncentraciją, inhibuojančią mikroorganizmų augimą (Pavilonis ir kt., 2000).

Tyrimų rezultatai. Nustatydami mažiausią inhibicinę koncentraciją (MIK mg/l), stabdančią *S.aureus*,

S. agalactiae ir *E. coli* mikroorganizmų augimą, atlikome tyrimus su įvairių koncentracijų dezinfekuojamųjų medžiagų tirpalais (nuo 100% iki 0,79%) ir ištyrėme jų slopinamąjį poveikį mikroorganizmų kultūrų augimui.

Tyrimai su įvairių koncentracijų tirpalais buvo atliekami keturis kartus.

Iš 1 lentelės duomenų matome, kad, esant skirtingai tirpalo koncentracijai, *S.aureus* augimą geriausiai stabdė „Dermisan“. Mažiausia koncentracija, slopinusi šių mikroorganizmų augimą – 3,13%. Esant koncentracijai nuo 100% iki 12,5%, *S.aureus* augimą slopino visi šios koncentracijos „Dermisan“ tirpalo mėginiai. „ProfilacIopre“ šio mikroorganizmo augimą slopino esant 100% ir 50% koncentracijai. Kitokios koncentracijos tirpalai mikroorganizmų augimo neslopino. 100% ir 50% koncentracijos „Trionet“ tirpalų mėginiai slopinamo poveikio *S.aureus* augimui neturėjo. Tik 25% ir 12,5% tirpalo koncentracija mikroorganizmų kultūros augimą slopino visų „Trionet“ tirpalo mėginiai. *S.aureus* augo nepriklausomai nuo „Vissi-tissi“ tirpalo koncentracijos.

Iš 2 lentelės duomenų matome, kaip įvairių dezinfekavimo medžiagų tirpalai inhibuoja *S.agalactiae* augimą – visi 100, 50, 25, 12,5 ir 6,25 proc. koncentracijos „Dermisan“ tirpalai. Mikroorganizmų augimo neslopino 1,57% ir 0,79% šios dezinfekavimo priemonės tirpalai. *S.agalactiae* augimą stabdė 100%, 50% ir 25% „ProfilacIopre“ koncentracijos tirpalas. Esant 25% koncentracijai, mikroorganizmo augimą inhibavo pusė tirtų mėginių. *S.agalactiae* augimą inhibavo visi tirti 25% ir 12,5% koncentracijos „Trionet“ tirpalo mėginiai. Kitos koncentracijos tirpalai mikroorganizmo augimui jokio slopinamojo poveikio neturėjo. „Vissi-tissi“ įvairios koncentracijos tirpalai *S.agalactiae* augimui slopinamojo poveikio neturėjo.

1 lentelė. Įvairios koncentracijos dezinfekavimo medžiagų darbinių tirpalų poveikis *Staphylococcus aureus*

Dezinfekuojamoji medžiaga	Tirta mėginių	Darbinių tirpalų koncentracija, %							
		100	50	25	12,5	6,25	3,13	1,57	0,79
		augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.
DERMISAN	32*	100	100	100	100	75	25	–	–
PROFILACIOPRE	32*	100	100	–	–	–	–	–	–
TRIONET	32*	–	–	100	100	–	–	–	–
VISSI-TISSI	32*	–	–	–	–	–	–	–	–

PASTABA. * – tyrimai atlikti keturis kartus (naudoti skiedimai 10⁸)

2 lentelė. Įvairios koncentracijos dezinfekavimo medžiagų darbinių tirpalų poveikis *Streptococcus agalactiae*

Dezinfekuojamoji medžiaga	Tirta mėginių	Darbinių tirpalų koncentracija, %							
		100	50	25	12,5	6,25	3,13	1,57	0,79
		augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.
DERMISAN	32*	100	100	100	100	100	75	–	–
PROFILACIOPRE	32*	100	100	50	–	–	–	–	–
TRIONET	32*	–	–	100	100	–	–	–	–
VISSI-TISSI	32*	–	–	–	–	–	–	–	–

PASTABA. * – tyrimai atlikti keturis kartus (naudoti skiedimai 10⁸)

Palyginę 3 lentelės duomenis matome, kad efektyviausiai *E.coli* augimą inhibavo „Dermisan“ koncentracija nuo 100% iki 3,13%. Esant tirpalo koncentracijai 100, 50, 25 ir 12,5 proc., *E.coli* augimą slopino visi tirti šios koncentracijos „Dermisan“ tirpalo mėginiai. *E.coli* neaugo 100% ir 50% koncentracijos

„ProfilacIopre“ tirpalo mėginiuose. *E.coli* augimą slopino 25%, 12,5% ir 6,25% koncentracijos „Trionet“ tirpalo mėginiai. Kitokios koncentracijos ši dezinfekavimo priemonė, tiriama laboratoriskai, jokio poveikio neturėjo. *E.coli* kultūros augimui slopinti „Vissi-tissi“ įtakos neturėjo.

3 lentelė. Įvairios koncentracijos dezinfekavimo medžiagų darbinių tirpalų poveikis *Escherichia coli*

Dezinfekuojamoji medžiaga	Tirta mėginis	Darbinių tirpalų koncentracija, %							
		100	50	25	12,5	6,25	3,13	1,57	0,79
		augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.	augimo inhibicijos proc.
DERMISAN	32*	100	100	100	100	50	50		
PROFILACIOPRE	32*	100	100	–	–	–	–		
TRIONET	32*	–	–	50	100	50	–		
VISSI-TISSI	32*	–	–	–	–	–	–		

PASTABA. * – tyrimai atlikti keturis kartus (naudoti skiedimai 10^8)

Aptarimas ir išvados. Mikroorganizmai – viena pagrindinių priežasčių, neigiamai veikiančių pieno kokybę. Pieno švarumas ir tešmens sveikatingumas labai priklauso nuo tešmens švaros. Todėl tešmenį prieš melžiant reikia kuo geriau nuplauti, dezinfekuoti ir nušluostyti (Rueg, Rasmussen et al., 1998).

Palyginę dezinfekuojamųjų medžiagų karvių tešmeniui prieš melžimą plauti laboratorinių tyrimų duomenis su naudojimo instrukcijose nurodyta koncentracija matome, kad nė viena *in vitro* tirta medžiaga pagal siūlomą koncentraciją *S.aureus*, *S.agalactiae* ir *E.coli* augimo neslopino.

„Vissi-tissi“ naudojimo instrukcijoje rašoma, kad 0,5% tirpalas mažina bakterijų kiekį ant tešmens ir spenių. Tačiau mūsų atliktų laboratorinių tyrimų duomenimis, net ir 100% koncentracijos „Vissi-tissi“ *S.aureus*, *S.agalactiae* ir *E.coli* augimo neinhibavo.

Laboratorinių tyrimų duomenimis *S.aureus* ir *S.agalactiae* slopina tik 25% ir 12,5% „Trionet“ koncentracija. *E.coli* augimas slopinamas esant 25%, 12,5% ir 6,25% „Trionet“ tirpalo koncentracijai. O „Trionet“ naudojimo instrukcijoje rašoma, kad į 10 l vandens reikia pilti 25 ml „Trionet“ tirpalo.

Tešmenį prieš melžimą instrukcija siūlo plauti 0,5–0,75% „Dermisan“ tirpalu. Atlikus laboratorinius tyrimus nustatyta, kad mažiausia šio tirpalo koncentracija, stabdanti *S.aureus*, *S.agalactiae* ir *E.coli* augimą, yra 3,13%.

Tešmeniui ir speniams prieš melžimą plauti bei dezinfekuoti siūloma naudoti 0,2–0,4% (priklausomai nuo užterštumo) „ProfilacIopre“ tirpalą. Kai kurių autorių duomenimis (Hemling, 2001; Boddie, Nickerson, 1993), dezinfekuojamieji tirpalai, kurių sudėtyje yra jodo, turėtų mažinti stafilokokų bei kitų patogenų kiekį. Tiriant *in vitro*, mažiausia „ProfilacIopre“ *S.agalactiae* augimą slopinanti tirpalo koncentracija yra 25%, o *S.aureus* ir *E.coli* mikroorganizmų augimą stabdo 50% koncentracija.

Ištyrus dezinfekavimo medžiagų poveikį *in vitro*, ateityje bus atliekami tyrimai *in vivo*.

Išvados

1. Tiriant *in vitro*, didžiausią poveikį *S.aureus*, *S.agalactiae* ir *E.coli* augimo slopinimui turėjo „Dermisan“ (mažiausia *S.aureus*, *S.agalactiae* ir *E.coli* inhibicinė koncentracija – 3,13%).

2. „Vissi-tissi“ neinhibavo *S.aureus*, *S.agalactiae* ir *E.coli* mikroorganizmų augimo.

Literatūra

- Boddie R.L., Nickerson S.C., Adkinson R.W. Evaluation of teat germicides of low iodine concentrations for prevention of bovine mastitis by *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. *Perv. Vet. Med.* 1993. Vol. 16. P. 111.
- Boddie R.L., Wats J.L., Nickerson S.C. In vitro and in vivo evaluation of a 0.5% chlorhexidine gluconate teat dip. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1990. Vol. 196. P. 890.
- Fetrow J. Milking Routine for Milk Quality. University of Minnesota. National Mastitis Council. 2000.
- Hemling Th.C. The effect of free iodine on the germicidal activity of iodine teat dips. Summary of Peer-Reviewed Publications of Efficacy of Pre-milking and Postmilking teat Disinfectants. National Mastitis Council.
- Ingalls W. Teat Dips, Teat Dipping and Mastitis Control. University of Wisconsin. National Mastitis Council. 1998.
- Johnson P.E. The ABCs of Teat Dipping. D.V.M., Enterprise, Alabama. 1998.
- Jones Gerald M. Milk Quality & Milking Management. National Mastitis Council's Guidelines for Testing Teat Dips. 2000.
- Pankey J.W., Drechsler P.A. Evolution of udder hygiene. Premilking teat sanitation. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* 1993. Vol. 9. Nr. 3. P. 519–529.
- Pankey J.W., Philpot W.N., Boddie R.L. Efficacy of low concentration iodophor teat dips against *Staphylococcus aureus*. *J. Dairy Sci.* 1983. Vol. 66. P. 155.
- Pankey J.W., Philpot W.N., Boddie R.L. Evaluation of nine teat dip formulations under experimental challenge to *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. *J. Dairy Sci.* 1983. Vol. 66. P. 161.
- Pavilonis A., Lasinskaitė-Čerkašina A., Vaičiuvėnas V., Čerkašinas G. Mikrobiologijos, virusologijos ir imunologijos laboratorinių darbų metodika. I dalis. Kaunas, 2000.
- Rasmussen M.D. A Review of Milking Preparation: The Science. 2000 National Mastitis Council. Annual Meeting Proceedings. 2000. Vol. 39. P. 104–110.
- Reneau J.K. Factors to Consider in Udder Preparation for Quality Milk Production. Milker Training Seminar. 1997.
- Rueg P., Rasmussen M.D., Reinemann D. The Seven Habits of

Highly Successful Milking Routines. University of Wisconsin, Madison. 1998.

15. Špakauskas V. Karvių mastito ankstyva diagnostika, profilaktika ir gydymas. Habilitacinis darbas. Kaišiadorys, 2000. P.14–16, 76–81.

16. Wattiaux M.A. 25 Milking Procedure. Babcock Institute for International Dairy Research and Development. University of Wisconsin-Madison. 1998.

2003 03 20