

УДК 619:614.48

Кривенок Л.Л., младший научный сотрудник
Каменская Т.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент
Лукьянчик С.А., кандидат сельскохозяйственных наук

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь

УСТАНОВЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ТОКСИЧНОСТИ И БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ СРЕДСТВА ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО «КРИОКС»

Резюме

Проведены исследования токсичности и бактерицидной активности средства дезинфицирующего «Криокс», состоящего из экологичных компонентов. Выявлено, что данное средство проявляет высокую антимикробную активность по отношению к контрольным бактериальным и грибковым тест-объектам, обладая при этом умеренной токсичностью.

Ключевые слова: перекись водорода, надкислоты, токсичность, лабораторные животные, бактерии.

Summary

Studies of the toxicity and bactericidal activity of the Cryox disinfectant, consisting of environmentally friendly components, have been carried out. It was found that this agent exhibits high antimicrobial activity in relation to control bacterial and fungal test objects, while possessing moderate toxicity.

Keywords: hydrogen peroxide, peracids, toxicity, laboratory animals, bacteria.

Поступила в редакцию 29.05.2023 г.

ВВЕДЕНИЕ

В процессе ведения животноводства первоочередная цель специалистов сельского хозяйства – увеличение производства животноводческой продукции. Однако следует учитывать, что немаловажным фактором, сдерживающим рост продуктивности животноводства, является риск возникновения инфекционных болезней, вызываемых как патогенной, так и условно-патогенной микрофлорой. Ветеринарным персоналом проводятся меры по специфической профилактике с использованием вакцин и иммунных сывороток, однако эти мероприятия влияют только на организм животного и не затрагивают резервуары инфекции и факторы ее передачи [1, 2, 3]. Поэтому ведущее место для прерывания передачи инфекции путем уничтожения патогенных микроорганизмов на объектах внешней среды отводится дезинфекционным мероприятиям [4]. Снижение концентрации болезнетворных микробов в помещениях для животных и птицы приводит к возможности сконцентрировать иммунные резервы поголовья на борьбу с заболеваниями [5, 6, 7].

Для осуществления дезинфекции предложено значительное количество химических средств. Но вместе с тем следует указать, что эффективность их во многом зависит от тех условий, при которых дезинфицирующее средство воздействует на микробы [8].

Препараты на основе перекиси водорода и органических кислот обладают широким спектром активности, в том числе и на споровые формы бактерий, малотоксичны, разлагаются на нетоксичные для человека и животных компоненты (кислород и вода), не накапливаются в помещениях, не способствуют мутациям и выработке у микроорганизмов механизмов защиты при их применении [1, 2].

Цель исследования – установить фактические параметры токсичности и бактерицидной активности средства дезинфицирующего «Криокс», которое используется для обработки помещений, ограждающих конструкций и санации помещений в присутствии животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проводилась на базе РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», в лаборатории ветеринарной санитарии и экологии, а также в виварии.

Исследования по определению дезинфицирующих свойств средства дезинфицирующего «Криокс» проводили согласно СанПиН 21-112-99 [9].

На первом этапе при определении противобактериальной и противогрибковой активности средства дезинфицирующего «Криокс» с использованием количественного суспензионного метода использовали тест-культуры микробов *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*. Количество микробов в микробной взвеси в среднем составляло $1,1 \times 10^9$ КОЕ/см³. Для увеличения устойчивости тест-организмов к воздействию средства дезинфицирующего «Криокс» использовали 20%-ную лошадиную сыворотку. После соответствующей экспозиции средства с тест-культурами микробную взвесь нейтрализовали раствором бикарбоната натрия в течение 10 мин, потом высевали на чашки Петри с дифференциальной питательной средой. В контрольных образцах вместо дезинфектанта использовали стерильную дистиллированную воду. После соответствующей инкубации для каждой тест-культуры подсчитывали количество колоний в опытных и контрольных образцах, определяли десятичные логарифмы и фактор редукции (RF) числа бактерий. Оценивали уровень активности дезинфектанта при различных экспозициях, концентрациях, в том числе в присутствии белковой нагрузки (БН).

Кроме того, изучали активность средства дезинфицирующего «Криокс» на тест-объектах, имитирующих строительные материалы, используемые на животноводческих комплексах (деревянные и металлические бруски, кусочки кирпича, батистовая ткань).

На втором этапе работ была дана токсикологическая оценка средства дезинфицирующего «Криокс».

Исследования по определению острой токсичности, аллергенных и раздражающих свойств образца средства проводили согласно [10].

Острую токсичность при внутрижелудочном введении изучали на клинически

здоровых беспородных белых мышах обоего пола (шесть групп по 10 голов в каждой) живой массой $19,0 \pm 1,0$ г. Мышам 1-й группы натошак в желудок вводили средство в количестве 6000,0 мг/кг, 2-й группы – 5000,0 мг/кг, 3-й – 4000,0 мг/кг, 4-й – 3000,0 мг/кг, 5-й – 2000,0 мг/кг. Животным 6-й группы ввели натошак в желудок максимальный объем физраствора, идентичный максимально введенному объему средства из опытной группы (0,5 см³). Наблюдение за животными вели в течение 14 суток. ЛД₅₀ рассчитывали по Кёрберу. Группу опасности средства определяли по ГОСТ 12.1.007-76 [11].

Местное действие средства на кожу исследовали на кроликах. На выстриженные участки кожных покровов равномерно наносили 0,1 мл средства в виде аппликации в нативном виде, выдерживали в течение 4 ч. По окончании 4-часовой аппликации остатки средства удаляли теплой водой с мылом. За животными вели наблюдение в течение 14 дней. Контрольным животным на выстриженные участки кожи наносили дистиллированную воду.

Для изучения раздражающего действия препарата на слизистые оболочки и глаза провели опыт на трех кроликах живой массой $2,0 \pm 0,5$ кг. Для этого в нижний конъюнктивальный свод правого глаза наносили однократно изучаемое средство в максимальной рабочей концентрации (5 %), а в левый (контроль) – дистиллированную воду по 1-2 капли. За животными наблюдали в течение двух недель, а первые 8 ч после инстилляции – ежечасно. Регистрировали признаки раздражения слизистой оболочки, их выраженность и длительность, состояние век и давали оценку степени выраженности раздражающего действия средства согласно [9].

Для изучения сенсibilизирующих свойств средства провели опыт на кроликах живой массой 2 кг, которым на один и тот же участок многократно в течение 15 суток наносили нативное средство, контрольным животным – дистиллированную воду. После 14-дневного интервала нанесли разрешающую дозу в той же концентрации и в том же количестве. После нанесения разрешающей дозы препарата проводили учет реакции кожи через 24, 48 и 72 ч.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Дезинфицирующее средство «Криокс» состоит из перекиси водорода, продуктов каталитического взаимодействия органических кислот, стабилизатора и воды, представляет собой прозрачную бесцветную жидкость с запахом входящих элементов.

При изучении антимикробных свойств было установлено, что гибель ис-

пользуемых тест-организмов происходила при контакте с испытуемым средством в концентрациях от 0,5 % и выше после экспозиции 30 мин. RF в количественном суспензионном тесте в концентрациях 0,5 % и выше при экспозиции 30 мин был более 5 lg, что говорит о соответствии средства дезинфицирующего «Криокс» требованиям СанПиН 21-112-99 [9] (таблица 1).

Таблица 1. – Испытания антимикробной активности средства дезинфицирующего «Криокс» с белковой нагрузкой и без неё по отношению к тест-культурам при экспозиции 30 мин

Показатель	Тест-культура								
	<i>S. aureus</i>			<i>E. coli</i>			<i>C. albicans</i>		
	КОЕ/см ³	lg	RF	КОЕ/см ³	lg	RF	КОЕ/см ³	lg	RF
0,5 %	2,4×10 ²	2,38	5,20	2,4×10 ²	2,38	5,19	2,2×10 ²	2,34	5,17
Контроль	3,8×10 ⁷	7,58		3,7×10 ⁷	7,57		3,2×10 ⁷	7,51	
0,5 %+БН	2,7×10 ³	3,43	5,18	2,8×10 ²	2,44	5,15	2,4×10 ²	2,38	5,15
Контроль с БН	4,1×10 ⁸	8,61		3,9×10 ⁷	7,59		3,4×10 ⁷	7,53	
1,0 %	1,3×10 ³	2,11	5,47	2,2×10 ²	2,34	6,13	2,2×10 ²	2,34	5,19
Контроль	3,8×10 ⁷	7,58		3,0×10 ⁸	8,47		3,4×10 ⁷	7,53	
1,0 %+БН	2,9×10 ²	2,46	5,17	2,4×10 ²	2,38	6,14	2,8×10 ²	2,44	5,16
Контроль с БН	4,3×10 ⁷	7,63		3,3×10 ⁸	8,52		4,0×10 ⁷	7,60	

Примечание – БН – белковая нагрузка

В опыте по изучению дезинфицирующей активности средства на тест-объектах установлено, что полная гибель тест-культур на металлической поверхности, кирпиче, дереве и батистовой ткани достигалась при обработке 0,5%-ным раствором средства «Криокс» через 60 мин, 1,0%-ным – через 30 мин, тогда как на контрольных тест-объектах (экспозиция в дистиллированной воде без изучаемого средства) наблюдался рост исходных тест-микробов.

В опытах по изучению острой токсичности дезинфицирующего средства «Криокс» при его внутрижелудочном введении белым мышам установлено, что в первой группе (доза препарата 6000 мг/кг) пали все животные. Гибель мышей наблюдали в течение первых 10 мин после введения препарата. У животных отмечали выраженное возбуждение, одышку, цианоз видимых слизистых и кожи. Затем наступало

глубокое угнетение, кома и смерть в результате асфиксии. Во второй группе (5 000 мг/кг) падеж составил 80 % голов. Гибель животных происходила при схожих явлениях токсикоза, что и у мышей 1-й группы. Смерть наблюдалась в течение первого часа после введения. Оставшиеся в живых животные в течение 2-3 дней отказывались от корма, отмечались признаки адинамии, угнетения, затем их общее состояние постепенно улучшалось и на 7-е сутки животные активно реагировали на внешние раздражители, охотно принимали корм и воду. В 3-й группе (4 000 мг/кг) падеж составлял 50 % мышей, гибель происходила при схожей клинике, что и у мышей 1-й и 2-й групп, однако признаки проявлялись в меньшей степени. Смерть животных наблюдали в течение 7–10 ч после введения препарата. Животные, оставшиеся в живых, в течение 2 дней отказывались

от корма, затем их состояние улучшалось, и на 5-е сутки они принимали корм и воду, адекватно реагировали на внешние раздражители. В 4-й группе (3 000 мг/кг) отмечен падеж 20 % мышей. Смерть животных наблюдали в течение трех-пяти суток после введения препарата. Животные, оставшиеся в живых, в течение 2 дней отказывались от корма, затем их состояние улучшалось,

и на 3-и сутки они принимали корм и воду, реагировали на внешние раздражители. В 5-й опытной группе, как и в контрольной (6-й), падежа животных не отмечено. В течение всего опыта животные вели себя адекватно, охотно принимали корм и воду, реагировали на внешние раздражители. (таблица 2).

Таблица 2. – Результаты опыта по определению острой токсичности средства дезинфицирующего «Криокс» при внутрижелудочном введении белым мышам

Группа	Доза препарата, мг/кг	Количество животных, гол.	Из них		
			погибло	осталось в живых	% гибели
1	6000	10	10	0	100
2	5000	10	8	2	80
3	4000	10	4	6	40
4	3000	10	2	8	20
5	2000	10	0	10	0

Среднесмертельную дозу определяли по формуле:

$$ЛД_{50} = ЛД_{100} - \frac{\sum(zd)}{m},$$

где z – половина суммы числа животных, павших от двух последующих доз;

d – разница в величинах двух последующих доз;

m – количество животных, взятых в опыте на каждую дозу.

В результате получено:

$$ЛД_{50} = 6000 - \frac{21000}{10} = 3900 \text{ (мг/кг)} .$$

Таким образом, согласно ГОСТ 12.1.007-76 [11] средство дезинфицирующее «Криокс» относится к III классу – умеренно опасным веществам.

Исследования раздражающих свойств показали, что однократное нанесение на кожу кроликов нативного раствора средства не вызывало реакции в виде эритемы, покраснения, болезненности или отека кожи. Многократное в течение 14 дней нанесение кроликам средства на один и тот же участок кожи также не вызывало раздражения. Средняя оценка выраженности

местно-раздражающих свойств средства в нативном виде для экспериментальных животных (кролики) составила 0 баллов, что означает отсутствие раздражающего действия.

Нанесение на слизистую оболочку глаза кроликов 5,0%-ного водного раствора средства вызывало незначительную инъекцию сосудов конъюнктивы в течение первых часов, исчезающую через 1 ч, при дальнейшем наблюдении в течение 24 ч признаков раздражения глаз не наблюдалось, что соответствует 1-й группе – отсутствие раздражения.

Ежедневные кожные аппликации кроликам в течение 15 дней по 0,1 см³ нативного препарата и нанесение после 14-дневного перерыва разрешающей дозы не вызывало изменений в реакции организма и состоянии кожного покрова, что говорит об отсутствии сенсibilизирующих свойств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показывают, что состоящее из экологических компонентов средство дезинфицирующее «Криокс» проявляет высокую антимикробную активность по отношению к тест-

объектам, обладая при этом умеренной токсичностью.

Средство дезинфицирующее «Криокс» обладает выраженной бактерицидной активностью и является эффективным, так как в количественном суспензионном методе фактор редукции по отношению к тест-микроорганизмам в концентрации 0,5 % и выше и экспозиции 30 мин и более равен 5 lg, что согласно СанПиН 21-112-99 [9] характерно для данной группы средств. При этом белковая нагрузка не оказывает существенного влияния на эффективность действия средства.

Средство дезинфицирующее «Криокс» проявляет активность на тест-объектах, имитирующих строительные материалы, используемых на животноводческих комплексах (металл, дерево, кирпич, батист) и обсемененных санитарно-показательными микробами в концентрации 0,5 % и выше.

Данное средство согласно ГОСТ 12.1.007-76 [11] относится к III классу (умеренно опасные вещества), не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистые оболочки и не является аллергеным.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Преимущества санации животноводческих помещений дезинфицирующими средствами на основе перекиси водорода / А. А. Богуш [и др.] // Экология и животный мир. – 2018. – № 1. – С. 51–55.*
2. *Кривенок, Л. Л. Использование перекисного препарата для дезинфекции помещений и санации животных / Л. Л. Кривенок // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2020. – № 4. – С. 17–21.*
3. *Дезинфекционные мероприятия в условиях интенсивного животноводства / Т. Н. Каменская [и др.] // Экология и животный мир. – 2021. – № 1. – С. 45–49.*
4. *Поляков, А. А. Еще раз о теории и практике ветеринарной дезинфекции / А. А. Поляков, А. В. Куликовский // Ветеринария. – 1989. – № 2. – С. 19–23.*
5. *Эффективность дезинфекции птичников, производственных цехов мясокомбинатов и доильного оборудования пероксидом оксон / Б. Я. Бирман [и др.] // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2004. – № 6. – С. 41–43.*
6. *Кузнецов, А. Ф. Гигиена содержания животных: справочник / А. Ф. Кузнецов. – 2-е изд. – СПб. : Издательство «Лань», 2004. – С. 447–475.*
7. *Влияние длительного периода эксплуатации животноводческих помещений на микробиологическое состояние объекта / Ю. Г. Лях [и др.] // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2004. – № 4. – С. 10–11.*
8. *Хуснутдинова, Л. С. Изыскание дезинфицирующих средств для аэрозольной санации воздушной среды птичников при выращивании племенного молодняка: дис. ... канд. биол. наук / Л. С. Хуснутдинова. – Казань, 1998. – 133 с.*
9. *Дезинфекционные средства и технологии. Нормативные показатели безопасности и эффективности дезинфекционных средств : СанПиН 21-112-99. – Минск, 1999. – 12 с.*
10. *Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии / А. Э. Высоцкий [и др.]. – Минск, 2007. – 156 с.*
11. *Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности: ГОСТ 12.1.007-76. – Минск : Госстандарт, 1999. – 8 с.*