

УДК 619:614.48

Борисевич А.С., аспирант¹

Высоцкий А.Э., кандидат ветеринарных наук, доцент²

Лысенко А.П., доктор ветеринарных наук, профессор²

¹УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

²УП «НИИ БИОФАРМ», Минский филиал, г. Минск, Республика Беларусь

ДЕЙСТВИЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ КОМПОЗИЦИЙ НА ОСНОВЕ ТЕОТРОПИНА НА ЭПИЗООТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ

Резюме

Композиции теотропина и четвертичных аммониевых соединений оказывали выраженное действие на эпизоотически значимые виды бактерий и грибов при концентрации теотропина 0,2–0,5 % (в зависимости от вида), причем эффективность действия не снижала органическая защита. Композиция теотропина, четвертичного аммониевого соединения и поверхностно-активного вещества (ПАВ) в 2%-ной концентрации при кратковременном контакте (до 30 минут) бактериостатически действовала на *Mycobacterium bovis*, а в 3%-ной концентрации обеспечивала их инактивацию на поверхностях с органической защитой 88,8 % популяции.

Тенденция роста резистентности микрофлоры к 1%-ным композициям на основе теотропина нарастала медленнее, чем к хлорсодержащему дезинфектанту, но этот эффект проявлялся в меньшей степени при использовании 0,5%-ного рабочего раствора.

Оптимальный вариант дезинфицирующей композиции на основе теотропина может быть использован в качестве нового дезинфицирующего средства для объектов ветеринарного надзора.

Ключевые слова: теотропин, четвертичные аммониевые соединения (ЧАС), антимикробная активность, микобактерии туберкулеза, рост резистентности микрофлоры к дезинфектантам.

Summary

The compositions of theotropin and quaternary ammonium compounds had a pronounced effect on epizootically significant species of bacteria and fungi at a concentration of theotropin of 0,2–0,5 % (depending on the species), and the effectiveness of the action was not reduced by organic protection. The composition of theotropin, quaternary ammonium compound and surfactant in 2 % concentration with short-term contact (up to 30 min) bacteriostatically acted on *Mycobacterium bovis*, and in 3 % concentration ensured their inactivation on surfaces with organic protection 88,8 % of the population.

The tendency of microflora resistance to 1 % theotropin-based compositions increased more slowly than to a chlorine-containing disinfectant, but this effect was manifested to a lesser extent when using 0,5 % working solution.

The optimal variant of the disinfectant composition based on theotropin can be used as a new disinfectant for veterinary surveillance facilities.

Keywords: theotropin, quaternary ammonium compounds, antimicrobial activity, mycobacterium tuberculosis, increased resistance of microflora to disinfectants.

Поступила в редакцию 28.07.2023 г.

ВВЕДЕНИЕ

Интенсификация производства продуктов животноводства вызывает необходимость постоянной санации среды обитания животных. За технологический цикл происходит более чем стократный рост микробной популяции преимущественно представителей семейства *Enterobacteriaceae* – родов *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, а также родов *Staphylococcus*, *Bacillus* и др., при этом бактериальная обсемененность поверхностей и воздуха достигает несколько миллионов КОЕ/см² (см³)

[1]. В связи с этим дезинфекция – ключевое звено профилактических мероприятий при получении продуктов животноводства. Большинство дезинфицирующих средств для ветеринарии обладают широким диапазоном и уничтожает вирусы, бактерии, грибы, а некоторые препараты – яйца гельминтов и ооцисты эймерий. Однако практика ведения промышленного животноводства и птицеводства показывает, что длительное применение одних и тех же дезинфектантов вызывает появление устойчивой микрофлоры [2, 3]. Кроме того, многие ак-

тивно действующие вещества (АДВ), такие как формальдегид, глутаровый альдегид, гидроокись натрия, хлорсодержащие соединения, представляют угрозу здоровью животных и загрязняют внешнюю среду [2, 3]. Ротация антимикробных средств с малотоксичными АДВ предупреждает появление резистентной микрофлоры [4], но для этого необходим постоянный поиск соответствующих АДВ для создания эффективных дезинфицирующих композиций.

Перспективным АДВ является теотропин, который стабилен, хорошо растворим в воде (до 50 %). Показатель водородных ионов (рН) 10%-ного раствора теотропина – 9,3–9,5, что облегчает его применение на загрязненных навозом поверхностях, имеющих щелочную реакцию. Теотропин обладает антикоррозионными свойствами и не обесцвечивает окрашенные поверхности. Антимикробная активность теотропина невысока – в концентрации 0,5–0,75 % он действует бактериостатически, в 1%-ной концентрации проявляется бактерицидное действие, но через 16–18 ч экспозиции [5]. Это вызывает необходимость создания композиций с добавлением к теотропину веществ, усиливающих бактерицидную активность, разрушающих органические загрязнения и биопленки микроорганизмов, но существенно не повышающие токсичность препарата.

Цель исследования – изучение действия композиций теотропина, четвертичных аммониевых соединений и некоторых вспомогательных веществ на эпизоотически значимые микроорганизмы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Salmonella dublin*, *Pasteurella multocida* А выращивали на Brain Heart Infusion Agar, *Trichophyton verrucosum* ТФ130 – на среде Сабуро, *Mycobacterium bovis* № 8 – на среде Гельберга.

Исследовали композиции № 1–5 с разным содержанием теотропина, ЧАС, головной фракции этилового спирта и диметилсульфоксида.

На водопроводной воде готовили разведения вариантов дезинфектантов (0,25 %, 0,5 %, 1 %, 3 %), а также растворы с удвоенной концентрацией.

Для диффузионного теста чашки с питательной средой засеивали микроорганизмами. В слое среды вырезали по 4 лунки, в которые вносили по 100,0 мкл разведений каждой композиции. Через 20–22 ч инкубирования при температуре 37 °С определяли размеры зон его задержки.

Trichophyton verrucosum выращивали на среде Сабуро 2 недели при комнатной температуре, микобактерии – 22–32 дня при температуре 37 °С.

Для суспензионного теста *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* суспендировали (5 единиц по стандарту мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича) в изотоническом растворе с 20 % сыворотки крови крупного рогатого скота и добавляли варианты композиций до 0,2 %, 0,4 %, 0,8 %, 1 %. Через 10 и 30 минут проводили посев на Brain Heart Infusion Agar по 50,0 мкл суспензий с дезинфектантами. Через 18–20 ч инкубирования при температуре 37 °С учитывали результаты.

Для изучения действия на тест-микроорганизмы, находящиеся на поверхностях с органической защитой, использовали стерильные керамические плитки (5×5 см = 25 см²), на которые наносили по 1,0 мл суспензии *Staph. aureus* (5 единиц по стандарту мутности). Подсохшие инфицированные поверхности покрывали 20%-ной сывороткой крови крупного рогатого скота. После подсушивания на поверхности наносили растворы композиций из расчета 0,5 л/м² (1,25 мл на плитку) и 0,75 л/м² (1,875 мл на плитку). Контрольный тест-объект обрабатывали стерильной водой. Через 30 минут на все поверхности наносили по 1,0 мл стерильной воды, стерильными тампонами делали смывы и посева на Brain Heart Infusion Agar.

Для изучения действия дезинфектантов на микобактерии на 0,9%-ном растворе хлорида натрия с 20 % сыворотки крови крупного рогатого скота готовили суспензию *Mycobacterium bovis* 8 (1 мг/мл), затем смешивали с равными объемами дезинфектантов (составы № 2, № 4, № 5 в конечной концентрации 1,5 %, 2 %, 3 %, 4 %). Через 30 минут инкубирования при комнатной температуре смеси сеяли (по 0,3 мл) на пробирки со средой Гельберга. Посевы инкубировали при температуре 37 °С 32 дня.

Для изучения действия дезинфектантов на микобактерии туберкулеза, находящиеся на поверхности с органической защитой, суспензией *Mycobacterium bovis* 8 (1,0 мг/мл) контаминировали керамические плитки (25,0 см², по 1,0 мл). После подсушивания поверхности покрывали (по 1,0 мл) 20%-ной сывороткой крови крупного рогатого скота. На высохшие поверхности наносили растворы композиции № 5 и контрольного хлорсодержащего дезинфектанта «Профит» (1,5 %, 2 %, 3 %) из расчета 0,75 л/м² (1,875 мл на плитку). Через 30 минут делали смывы стерильным 0,9%-ным раствором хлорида натрия и посеяв на среду Гельберга. Посевы инкубировали при температуре 37 °С до 31 дня.

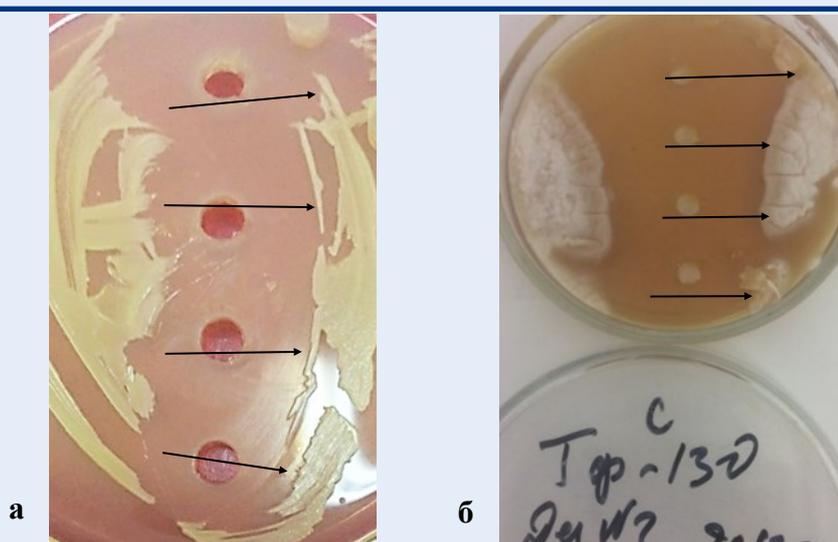
Развитие резистентности *Staphylococcus aureus* к дезинфицирующим композициям изучали путем проведения пасажей в диффузионном тесте, делая пересевы с границ зоны задержки роста.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На I этапе сравнили эффективность 4 композиций (таблицы 1, 2). Установлено, что они оказывали выраженное действие на эпизоотически значимые виды бактерий, вызывая образование зон задержки их роста. При суммировании размеров таких зон (таблица 2) стало заметно, что большей активностью обладала композиция № 2 (таблица 2, рисунок 1).

Таблица 1. – Действие 4 вариантов композиций на основе теотропина в диффузионном тесте на эпизоотически значимые виды бактерий (диаметры зон задержки роста в мм)

Концентрация, %	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella dublin</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
№ 1						
0,25	24	16	9	12	14	27
0,5	20	19	13	13	13	28
1,0	26	22	14	14	13	29
3,0	28	23	17	16	15	32
Сумма	98	80	53	55	55	116
№ 2						
0,25	24	18	15	16	19	23
0,5	23	19	15	17	20	25
1,0	23	21	17	19	21	27
3,0	28	22	22	25	23	35
Сумма	98	80	69	77	83	110
№ 3						
0,25	22	15	12	13	18	18
0,5	24	16	12	13	19	20
1,0	32	22	15	13	19	22
3,0	34	24	22	20	23	28
Сумма	112	77	61	59	79	88
№ 4						
0,25	24	11	14	9	16	20
0,5	27	13	15	11	18	24
1,0	30	14	16	12	18	31
3,0	34	18	22	19	21	34
Сумма	115	67	67	51	73	109



а – *Pasteurella multocida*; б – *Trichophyton verrucosum*

Рисунок 1. – Действие композиции № 2 в концентрациях 0,25–3 % в диффузионном тесте

Таблица 2. – Сумма диаметров зон задержки роста, рейтинг композиций

Номер композиции			
№ 1	№ 2	№ 3	№ 4
457 мм	517 мм	476 мм	471 мм
IV	I	II	III

В таблице 3 представлен формальный рейтинг действия композиций на отдельные виды микроорганизмов. Как вид-

но, именно композиция № 2 оказывала более эффективное действие и в разрезе видового состава бактерий.

Таблица 3. – Рейтинг действия композиций на отдельные виды микроорганизмов

Микроорганизмы	Номер композиции			
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4
Стафилококки	98 (III-IV)	98 (III-IV)	112 (II)	115 (I)
Стрептококки	80 (I-II)	80 (I-II)	77 (III)	56 (IV)
Кишечная палочка	53 (IV)	69 (I)	61(III)	67 (II)
Сальмонеллы	55 (III)	77 (I)	59 (II)	51 (IV)
Клебсиеллы	79 (II)	73 (III)	55 (IV)	83 (I)
Пастереллы	88 (IV)	109 (III)	116 (I)	110 (II)
Сумма	18	13	15	14

Все композиции на основе теотропина эффективно действовали на *Trichophyton verrucosum* (таблица 4, рисунок 1).

Таблица 4. – Действие вариантов композиций на *Trichophyton verrucosum* (в диффузионном тесте (диаметры зон задержки роста в мм))

Номер композиции	Концентрация, %			
	0,25	0,5	1,0	3
№ 1	55	52	56	63
№ 2	40	41	47	63
№ 3	23	32	47	59
№ 4	50	53	65	70

Анализ результатов позволил скорректировать состав и предложить вариант № 5, который был сравнен с лучшими композициями № 2 и № 4.

В таблице 5 приведены результаты сравнения действия композиций № 2 и № 5 на эпизоотически значимые виды бакте-

рий. Как видно, более эффективной оказалась композиция № 5 (сумма диаметров задержки роста – 349 мм при 290 мм у композиции № 2), которая оказывала более эффективное действие и на *Trichophyton verrucosum* (таблица 6).

Таблица 5. – Действие композиций № 2 и № 5 в диффузионном тесте на эпизоотически значимые виды бактерий (диаметры зон задержки роста в мм)

Концентрация, %	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
№ 2 0,25	20	12	14	12	13	12
0,5	30	13	15	13	13	15
1,0	31	16	16	17	13	15
Сумма	81	41	45	42	39	42
№ 5 0,25	34	13	13	12	12	15
0,5	42	16	17	13	13	16
1,0	50	17	18	14	16	18
Сумма	126	46	48	39	41	49
3	60	20	21	17	20	21

Дезинфицирующие композиции на основе теотропина (№ 2, № 4, № 5) даже в концентрации 0,2 % в суспензионном тесте с органической защитой полностью инактивировали *Staphylococcus aureus* и *Esche-*

richia coli при экспозиции 10 минут. На поверхностях с органической защитой такой эффект достигался в концентрации 0,5 % и расходе 0,5 л/м².

Таблица 6. – Действие композиций № 2 и № 5 на *Trichophyton verrucosum* в диффузионном тесте (диаметры зон задержки роста в мм)

Номер композиции	Концентрация, %			
	0,25 %	0,5 %	1,0 %	3 %
№ 2	17	20	35	41
№ 5	25	Больше 50	Больше 50	Больше 50

Композиции № 2 и № 4 в концентрациях 2 % и 3 % при экспозиции 30 минут оказали выраженное действие на суспензию *Mycobacterium bovis*. При посеве обработанных суспензий на питательной среде появлялись лишь единичные очень мелкие колонии. При посеве суспензии *Mycobacterium bovis*, обработанной 2%- и

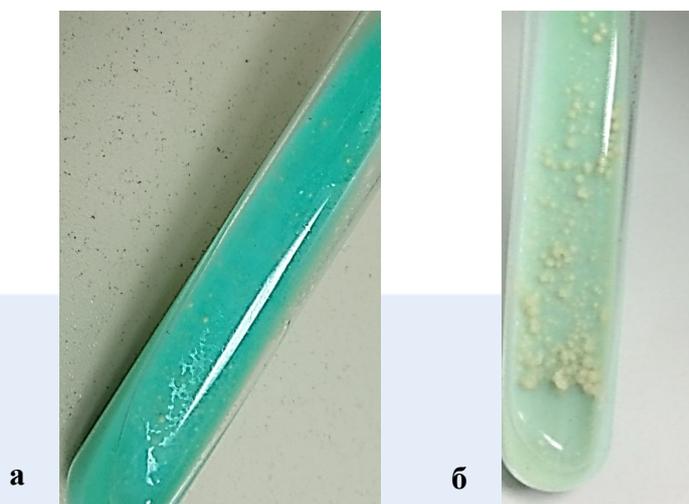
3%-ной композицией № 5, поверхность питательной среды была абсолютно чистой, что свидетельствовало о 100%-ном подавлении популяции. При этом в посеве контрольной суспензии было заметно до 800 отдельных крупных и мелких колоний (таблица 7).

Таблица 7. – Результаты посева *Mycobacterium bovis*, обработанных в суспензионном тесте с органической защитой, дезинфектантами (3%-ные растворы композиций № 2, № 5), экспозиция 30 минут

		
<p>Рост в контроле</p>	<p>Дезинфектант № 2, единичные колонии (стрелка)</p>	<p>Дезинфектант № 5, отсутствие признаков роста</p>

При обработке поверхностей, загрязненных *Mycobacterium bovis*, покрытых органической пленкой, при мелкокапельном орошении и экспозиции 30 минут композиция № 5 оказывала бактериостатическое действие. Через 21 день после посевов смывов с поверхностей в кон-

трольных пробирках наблюдался рост крупных и средних по размеру колоний, порядка 800 КОЕ (рисунок 2б). В посевах смывов с поверхностей, обработанных композицией № 5 в концентрациях 1,5–3 %, были заметны мелкие точечные колонии (рисунок 2а).



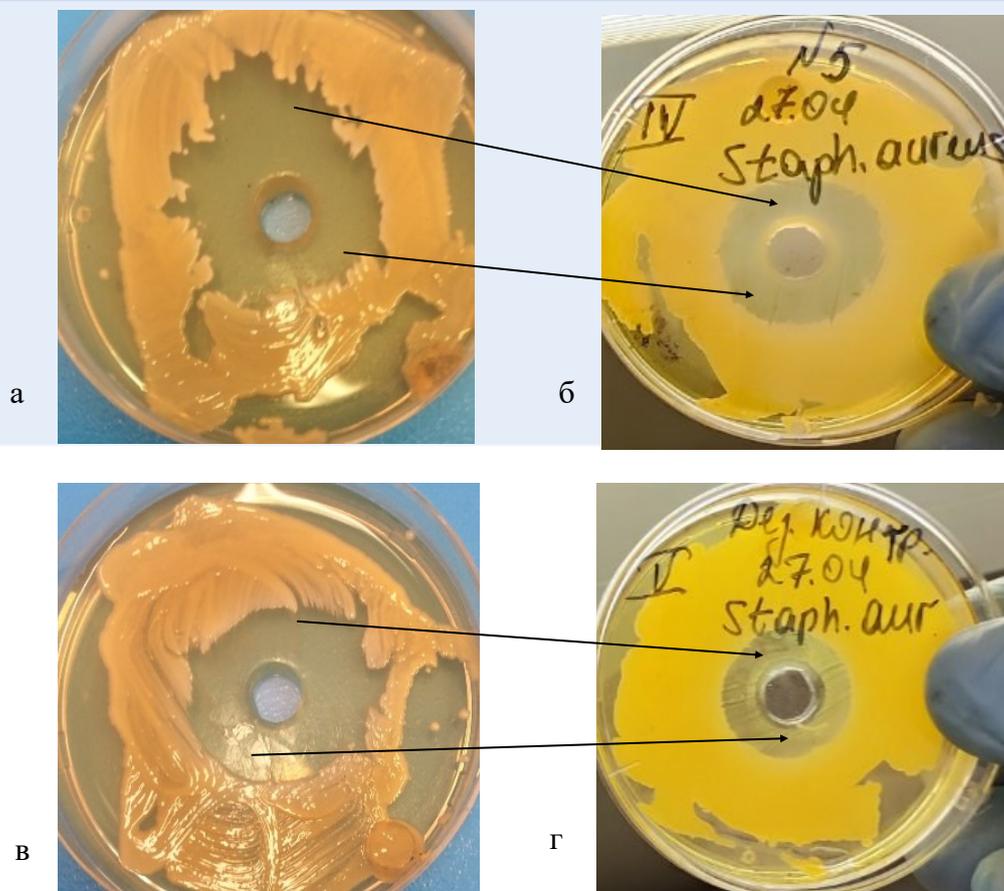
а – эффективность обеззараживания;
б – рост в контроле

Рисунок 2. – Поверхность, загрязненная *Mycobacterium bovis* под органической защитой, 3%-ная композиция № 5 при экспозиции 30 минут

При продолжении культивирования (до 31 дня) колонии увеличивались в размерах. В целом эффективность действия композиции № 5 в 3%-ной концентрации составила 88,8 %.

При изучении формирования резистентности тест-штамма к композиции № 5 в концентрации 1 % в сравнении с кон-

трольным хлорсодержащим дезинфектантом «Профит» в концентрации 1 % установлено, что при 4-кратном контакте эффективность действия композиции № 5 на *Staph. aureus* снижалась на 4,8 %, а у контрольного дезинфектанта – на 10 % (рисунок 3, таблица 8).



а – I; б – II; в – III; г – IV

Рисунок 3. – Результаты пассажа в диффузионном тесте для сравнения скорости формирования резистентности *Staph. aureus* к дезинфектантам в 1%-ной концентрации

Таблица 8. – Формирование резистентности стафилококков к дезинфектантам в диффузионном тесте (диаметры зон задержки роста в мм)

Дезинфектанты, 1 %	Пассаж			
	I	II	III	IV
Композиция № 5	21	19,5	25	20
«Профит» (контроль)	21	20	20	18

Вместе с тем, если дезинфектанты использовались в меньшей концентрации (0,5 %), то уже 3-кратный контакт с ними

приводил к развитию резистентности у *Staph. aureus* (таблица 9).

Таблица 9. – Результаты диффузионного теста при определении скорости формирования резистентности стафилококков к композициям № 2 и № 5 в концентрации 0,5 % (зоны задержки роста в мм)

Пассаж	Номер композиции	
	№ 2	№ 5
I	34	31
II	18	23
III	19	22
IV	15	21
V	12	19

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Известно, что бактерицидная эффективность теотропина невысока. В концентрации 0,5–0,75 % он действует бактериостатически, а в 1%-ной концентрации – бактерицидно, но эффект проявляется через 16–18 ч [5]. В изученных вариантах композиций действие теотропина усиливалось добавлением ЧАС. В результате они оказывали бактерицидное действие уже при концентрации теотропина 0,2–0,51 %, причем эффект проявлялся уже через 10 минут, в том числе и при наличии органической защиты.

Сравнение вариантов композиций показало, что без ущерба бактерицидному действию можно отказаться от введения в состав головной фракции этилового спирта и диметилсульфоксида, но усилить его введением поверхностно-активного вещества (композиция № 5).

Наряду с установленным действием на бактерии, композиции на основе теотропина оказывали выраженное действие на представителей дерматомицетов, даже в 0,25%-ной концентрации.

Дезинфицирующая композиция на основе теотропина № 5 уже в 2%-ной кон-

центрации при 30-минутном контакте бактериостатически действовала на микобактерии туберкулеза бычьего вида, а в 3%-ной концентрации обеспечивала 88,8%-ную инактивацию их популяции на поверхностях с органической защитой. Для достижения 100%-ного микобактерицидного эффекта необходимы дополнительные исследования с использованием более высоких концентраций рабочих растворов и увеличении доли ПАВ для разрушения кластеров микобактерий.

Важно, что к 1%-ным дезинфицирующим композициям на основе теотропина тенденция роста резистентности микрофлоры нарастала гораздо медленнее, чем к контрольному хлорсодержащему дезинфектанту, но этот эффект проявлялся в меньшей степени при использовании 0,5%-ного рабочего раствора.

Результаты исследований показали, что оптимальный вариант дезинфицирующей композиции на основе теотропина может быть использован в качестве нового дезинфицирующего средства для объектов ветеринарного надзора.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Влияние длительного периода эксплуатации животноводческих помещений на микробиологическое состояние объекта / Ю. Г. Лях [и др.] // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2004. – № 4. – С. 10–11.
2. Тарасов, И. И. Анализ микробиологических аспектов дезинфекции / И. И. Тарасов // Ветеринарная медицина. – 2011. – 95. – С. 430–431.
3. Высоцкий, А. Э. Сравнительная биоцидная активность дезинфектанта «Сандим-Д» / А. Э. Высоцкий // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии: сб. науч. тр. ВНИИВСГЭ. Т. 117. – М., 2006. – С. 176–182.
4. Шандала, М. Г. Новые дезинфекционные технологии для профилактики инфекционных болезней / М. Г. Шандала // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2006. – № 4. – С. 15–17.
5. Изучение бактерицидного и бактериостатического действия теотропина на микроорганизмы различной морфологической структуры / Д. А. Васильев // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. Научно-теоретический журнал. – 2011. – № 1(13). – С. 75–79.

УДК 615.918:582.28

Кучинский М.П., доктор ветеринарных наук, профессор
Крашевская Т.П., кандидат биологических наук, доцент
Кучинская Г.М., научный сотрудник

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

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ СНИЖЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ МИКОТОКСИНОВ В РАЦИОНАХ ЖИВОТНЫХ (ОБЗОР)

Резюме

В статье представлен обзорный материал по уровню контаминации микотоксинами кормов животных. Приведены сведения о возможностях лабораторной практики при выявлении и оценке уровня различных микотоксинов в кормах. Приведены наиболее перспективные адсорбенты из группы биологических методов снижения уровня микотоксинов в кормах животных.

Ключевые слова: микотоксины, контаминация кормов микотоксинами, методы детоксикации кормов, неорганические адсорбенты, органические адсорбенты, комплексные адсорбенты.

Summary

The article provides an overview of mycotoxin contamination of animal feed. The article includes information on the modern laboratory methods to identify and assess the degree of various mycotoxins' contamination. The most promising adsorbents of the group of the biological methods used to reduce the degree of mycotoxins in animal feed are presented.

Keywords: mycotoxins, contamination of animal feed with mycotoxins, methods of detoxication of animal feed, nonorganic adsorbents, organic adsorbents, compound adsorbents.

Поступила в редакцию 12.12.2023 г.

В связи с рядом причин, доминирующей из которых является глобальное изменение климата, в последние годы значительно ухудшились условия сбора и хранения урожая. Следствием этого стал тот факт, что зерно и другие сельскохозяйственные культуры всё чаще идут на корм животным пораженными микроскопическими грибами. Микотоксины, продуцируемые микроскопическими грибами, начинают доминировать среди природных за-

грязнителей продовольственного и сельскохозяйственного сырья, что представляет собой серьезную угрозу для здоровья населения и животных. Согласно данным FAO (Food and Agriculture Organization), более 25 % производимого в мире зерна подвергается загрязнению микотоксинами. До 36 % всех заболеваний в развивающихся странах прямо или косвенно связаны с микотоксинами [4, 14].