

УДК 619:615.28:614.48

Кривенок Л.Л., магистр ветеринарных наук

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

СОЗДАНИЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА «КРИОКС», ЕГО БАКТЕРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ И ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Резюме

В статье описан процесс создания дезинфицирующего средства на основе стабилизированной перекиси водорода, исследованы его антимикробная активность и токсикологические свойства.

Ключевые слова: перекись водорода, органические кислоты, бактерицидная активность, белковая нагрузка.

Summary

The article describes the process of creating a disinfectant based on stabilized hydrogen peroxide, its antimicrobial activity and toxicological properties have been studied.

Keywords: hydrogen peroxide, organic acids, bactericidal activity, protein load.

Поступила в редакцию 03.06.2024 г.

ВВЕДЕНИЕ

Современные подходы к ведению интенсивного животноводства направлены на создание наиболее оптимальных условий для содержания животных, что включает полноценное кормление, поддержание необходимого микроклимата и снижение микробной нагрузки с помощью эффективных современных дезинфицирующих средств.

Помимо снижения микробной нагрузки, использование дезинфицирующих средств в системе санитарно-противоэпизоотических мероприятий позволяет предупредить возникновение, распространение и способствует ликвидации патогенных микроорганизмов на объектах внешней среды, что обеспечивает прерывание передачи инфекции [1].

Для осуществления дезинфекционных мероприятий предложено значительное количество химических средств, но, невзирая на их обилие и разнообразие, поиск новых средств и композиций, обладающих дезинфицирующими свойствами, продолжается [2, 3].

Поэтому целью нашего исследования стало создание композиции дезинфекционного препарата, изучение его бактерицидной эффективности и токсичности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При создании композиции дезинфицирующего средства в качестве основного компонента была использована перекись водорода, так как она имеет широкий спектр биоцидного действия, быстро разлагается во внешней среде на нетоксичные компоненты. Резистентные формы микроорганизмов к перекиси водорода отсутствуют, а органические кислоты, помимо бактерицидных свойств, обладают способностью стабилизировать неустойчивую при хранении перекись водорода [4].

Лабораторный образец средства, показавший наиболее высокую активность, далее исследовали на культурах микроорганизмов с различной устойчивостью: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micobacterium terra* и грибах *Candida albicans* при микробной нагрузке 1 млрд клеток/см³ и экспозициях 15, 30 и 60 минут. Использовали 0,1, 0,5 и 1,0%ные растворы препарата. В качестве белковой нагрузки использовали 20%-ную сыворотку крови. Рост микроорганизмов на питательных средах учитывали через 24–48 часов, грибов – через 10 суток и 21 день в отношении *Micobacterium terra*. Контролем служили исходные культуры и применяемые питательные среды.

Токсикологическую оценку препарата проводили на линейных белых мышах согласно Методическим указаниям по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Согласно литературным данным и проведенным предварительным опытам было установлено, что наиболее перспективными из органических кислот являются молочная, уксусная и муравьиная. Нами были созданы три композиции препарата, состоящие из перекиси водорода и данных кислот.

По результатам предварительных лабораторных испытаний лучшая бактерицидная активность наблюдалась у композиции с уксусной кислотой. Решено включить ее в состав будущего средства.

На втором этапе определяли процентное соотношение перекиси водорода и уксусной кислоты. Для этого были созданы 3 композиции с разным соотношением перекиси водорода и уксусной кислоты: № 1 – 95 % перекиси водорода + 5 % уксусной кислоты; № 2 – 90 % перекиси водорода + 10 % уксусной кислоты; № 3 – 85 % перекиси водорода + 15 % уксусной кислоты. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты исследования антимикробных свойств композиций на тест-культурах

Наименование культуры	Композиция № 1			Композиция № 2			Композиция № 3		
	0,5 %	1,0 %	1,5 %	0,5 %	1,0 %	1,5 %	0,5 %	1,0 %	1,5 %
<i>E. coli</i>	±	–	–	±	–	–	±	–	–
<i>S. aureus</i>	±	–	–	±	–	–	±	–	–
<i>Bac. subtilis</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–
при белковой нагрузке (20 % сыворотки крови)									
<i>E. coli</i>	±	–	–	±	–	–	±	–	–
<i>S. aureus</i>	±	–	–	±	–	–	±	–	–
<i>Bac. subtilis</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–

Примечание – микробная нагрузка 1 млрд клеток/см³; экспозиция 15 минут; «+» – рост; «–» – отсутствие роста; «±» – уменьшение роста. Контроль культур – все положительно, контроль среды – отрицательно

По результатам опыта было принято решение использовать композицию перекиси водорода и уксусной кислоты в соотношении 90:10 (композиция № 2). Увеличение в препарате количества уксусной кислоты до 15 % (композиция № 3) не привело к усилению активности композиции, а уменьшение концентрации до 5 % (композиция № 1) ее снижало, что выражалось проявлением роста *Bacillus subtilis* в опыте с белковой нагрузкой.

Так как композиция дезинфицирующего средства имела явный запах уксусной кислоты, что при аэрозольной дезинфекции в присутствии животных, возможно, будет негативно отражаться на их поведении, нами было принято решение в выбранную композицию внести вторую органическую кислоту, что должно улучшить характеристики средства.

Для этого нами отобраны три органические кислоты – молочная, яблочная и янтарная, были сконструированы композиции № 2.1, 2.2, 2.3 соответственно. Было принято решение внести по 5 % данных кислот в выбранную композицию препарата, при этом в исходной композиции снизить концентрацию уксусной кислоты с 10 до 5 %. Антимикробную активность данных композиций исследовали на тест-культуре *Staphylococcus aureus* при микробной нагрузке 1 млрд клеток/см³ и экспозиции 15 минут. Использовали композиции в концентрации 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 и 1,0 %.

Посевы делали на мясо-пептонном агаре (МПА) в чашках Петри. Рост учитывали через 24–48 ч при температуре инкубации 37–38 °С. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты исследования антимикробных свойств композиций со второй органической кислотой на тест-культуре

Наименование тест-культуры	Композиция № 2.1					Композиция № 2.2					Композиция № 2.3				
	0,1 %	0,3 %	0,5 %	0,7 %	1,0 %	0,1 %	0,3 %	0,5 %	0,7 %	1,0 %	0,1 %	0,3 %	0,5 %	0,7 %	1,0 %
<i>S. aureus</i>	+	+	+	±	–	+	+	±	–	–	+	±	±	–	–
<i>S. aureus</i> +БН	+	+	+	+	±	+	+	+	±	–	+	+	±	–	–

Примечание – «+» – рост, «–» – отсутствие роста, «±» – уменьшение роста, БН – белковая нагрузка (20 % сыворотки крови). Контроль культуры – положительно, контроль среды – отрицательно

Как видно из таблицы, композиция № 2.3 обладает лучшими показателями по антимикробной активности, при этом резкий запах уксусной кислоты исчез, и в дальнейшем было решено использовать композицию, состоящую из перекиси водорода с добавлением уксусной и янтарной кислот.

Из литературных источников известно, что внесение поверхностно-активных веществ в средство способствует созданию на обрабатываемых поверхностях защитной бактерицидной пленки, улучшает показатели адгезии, снижает скорость испарения дезинфектантов, а многие из них обладают антимикробной активностью. Поэто-

му в третьей части опыта мы проводили исследования по возможности включения в состав композиции № 2.3 различных поверхностно-активных веществ. Для исследования были использованы 1%-ные растворы лаурилсульфата натрия, алкилбензолсульфокислоты марки А, неонола, алкилбензосульфоната и фосфоновой кислоты (торговое название – секвион). В дальнейшем все композиции, а также композиция, на 80 % состоящая из перекиси водорода, были испытаны на антимикробную активность на тест-культуре *Staphylococcus aureus* при микробной нагрузке 1 млрд клеток/см³ с экспозицией 15, 30 и 60 минут в концентрациях 0,1; 0,5 и 1,0 % (таблица 3).

Таблица 3 – Антимикробная активность композиции дезинфицирующего средства с содержанием различных поверхностно-активных веществ

Состав композиции	Экспозиция 15 минут			Экспозиция 30 минут			Экспозиция 60 минут		
	0,1 %	0,5 %	1,0 %	0,1 %	0,5 %	1,0 %	0,1 %	0,5 %	1,0 %
H ₂ O ₂ 80 %	+	+	+	+	+	±	+	±	–
H ₂ O ₂ 80 % + УК 5 % + ЯК 5 % + H ₂ O _(д) 10 % (композиция № 2.3)	+	±	–	±	–	–	–	–	–
Композиция № 2.3 + 1 % лаурилсульфата натрия	+	+	+	+	±	–	±	±	–
Композиция № 2.3 + 1 % алкилбензолсульфокислоты	+	+	±	+	+	–	±	±	–
Композиция № 2.3 + 1 % неонола	+	+	+	+	+	±	±	±	–
Композиция № 2.3 + 1 % алкилбензосульфоната	+	+	+	+	+	±	±	±	–
Композиция № 2.3 + 1 % секвиона	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Примечание – «+» – рост культуры; «±» – снижение роста; «–» – рост отсутствует. H₂O₂ – перекись водорода; УК – уксусная кислота; ЯК – янтарная кислота; H₂O_(д) – дистиллированная вода. Контроль культур – все положительно, контроль среды – все отрицательно

По результатам исследования было установлено, что 80%-ный водный раствор перекиси водорода в концентрациях 0,1–1,0 % и экспозиции 15 минут не проявлял активности в отношении тест-культуры *Staphylococcus aureus* и только в концентрации 1,0 % при экспозиции 30 минут и 0,5 % – при экспозиции 60 минут действовал бактериостатически.

Добавление к перекиси водорода уксусной (5 %) и янтарной (5 %) кислот значительно усиливало ее бактерицидность: при концентрации 0,5 % и 15 минутах экспозиции и концентрации 0,1 % и 30-минутной экспозиции проявлялся бактериостатический эффект в отношении тест-культуры, а при концентрации 1,0 % с экспозицией 15 минут проявлялся бактерицидный эффект, который усиливался с увеличением экспозиции.

Наиболее выраженное усиление бактерицидной активности наблюдалось при добавлении к выбранной композиции 1 % секвиона. В дальнейшем именно эта компо-

зиция с условным названием «Криокс» была выбрана как лабораторный образец препарата и подверглась дальнейшим исследованиям по определению антимикробной активности и токсичности.

Антимикробная активность была испытана в отношении тест-культур *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micobacterium terra* и *Candida albicans*. Для этого использовали концентрации препарата 0,1; 0,5 и 1,0 %, микробная нагрузка составила 1 млрд клеток в 1 см³, экспозиция – 5, 15 и 30 минут. Все посевы, кроме микобактерий и кандид, производились на МПА в чашки Петри, термостатирование осуществлялось при температуре 37–38 °С. Учет результата проводили через 24–48 часов и 7 дней. Грибы *Candida albicans* выращивали на среде Сабуро в течение 10 дней при температуре 25–28 °С, микобактерии – на среде Гельберга в течение 21 дня при температуре 37–38 °С. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Антимикробная активность дезинфицирующего средства по отношению к показательным тест-культурам

Тест-культуры	Экспозиция 5 минут			Экспозиция 15 минут			Экспозиция 30 минут		
	0,1 %	0,5 %	1,0 %	0,1 %	0,5 %	1,0 %	0,1 %	0,5 %	1,0 %
<i>Escherichia coli</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–
+ белковая нагрузка	+	–	–	±	–	–	–	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–
+ белковая нагрузка	±	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Bacillus subtilis</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–
+ белковая нагрузка	+	±	±	+	–	–	±	–	–
<i>Candida albicans</i>	+	–	–	+	–	–	±	–	–
+ белковая нагрузка	+	±	±	+	–	–	+	–	–
<i>Micobacterium terra</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+ белковая нагрузка	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание – «+» – рост, «±» – снижение роста, «–» – отсутствие роста. Контроль культур – все положительно, контроль среды – все отрицательно

Из таблицы 4 следует, что бактерицидная активность дезинфицирующего средства проявляется в отношении *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* в 0,1%-ной концентрации при экспозиции 5 минут, при белковой нагрузке в той же экспозиции – при 0,5%-ной концентрации. В отношении

тест-культур *Bacillus subtilis* и *Candida albicans* бактерицидная активность средства проявляется в 1,0%-ной концентрации после 5 минут, а при белковой нагрузке в 0,5%-ной концентрации – при экспозиции 15 минут.

Тест-культура *Micobacterium terra* при данных режимах сохраняла жизнеспособность, бактериостатическое действие препарата отмечалось после применения 1%-ного раствора при экспозиции 60 минут, бактерицидное – через 30 минут при 2%-ной концентрации раствора.

Экспериментально было установлено, что среднесмертельная доза (ЛД₅₀) средства при внутрижелудочном введении равна 3900 мг/кг, что соответствует 3-му классу опасности согласно ГОСТ 12.1.007-76 (вещества умеренно опасные).

В опыте по изучению хронической токсичности препарата при внутрижелудочном введении белым мышам в течение 16 дней в дозе от 1/10; 1/25 и 1/50 LD₅₀ изменений в их поведении, общем состоянии и поедаемости корма не наблюдалось. По окончании опыта при вскрытии мышей патологических изменений во внутренних органах не обнаружено, статистически достоверных изменений в показателях относительных коэффициентов масс внутренних органов у подопытных мышей по сравнению с контрольными животными не отмечено.

В опыте по изучению острой ингаляционной токсичности (ЛК₅₀) на белых мышках установлено, что она составляла 2000 мл/м³, максимально недействующая доза – 1500 мл/м³.

Ингаляционные обработки белых мышей в герметических камерах в течение 20 дней из расчета 1/10 и 1/20 ЛК₅₀ в виде 3%-ного водного раствора не вызывали изменений в поведении, общем состоянии и поедаемости корма. При вскрытии животных после окончания опыта у некоторых подопытных мышей, обрабатываемых дозой из расчета 1/10 ЛК₅₀, в легких отмечалась застойная гиперемия, в других внутренних органах видимые изменения отсутствовали. В контрольной группе мышей отклонений от нормы не обнаружено.

Для выявления влияния аэрозольных обработок на организм животных на протяжении длительного времени был проведен дополнительный опыт на 16 морских свинок весом 530–620 г. Опыт проводился в течение 60 суток.

Процедуру проводили в герметичных камерах объемом 1 м³. Животных разделили на 3 группы – 2 опытные (ОГ) и контрольная. Первую ОГ через день обрабатывали 3%-ным раствором препарата из расчета 20 мл/м³, вторая ОГ подвергалась обработке ежедневно в том же количестве и с той же концентрацией препарата. Контрольная группа обработкам не подвергалась. Экспозиция при обработках составляла 30 минут. Учитывали привесы животных, поведение, гематологические показатели, состояние видимых слизистых оболочек. В конце опыта проводили отбор проб внутренних органов для гистологических исследований.

Результаты опыта показали, что длительная аэрозольная обработка дезинфицирующим средством «Криокс» не вызывала у животных изменений в поведении и поедаемости корма, общем клиническом состоянии, изменении видимых слизистых оболочек. При вскрытии животных после окончания опыта видимые изменения отсутствовали, результаты гистосрезов органов опытных групп существенно не отличались от контрольной. Достоверных изменений гематологических показателей также не выявлено.

ВЫВОДЫ

1. Дезинфицирующее средство «Криокс» оказывает бактерицидное действие на тест-культуры *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* в 0,1%-ной концентрации при экспозиции 5 минут, на культуру *Bacillus subtilis* и грибы *Candida albicans* – в 0,5%-ной концентрации при такой же экспозиции, на культуру *Mycobacterium terra* – в концентрации 2 % и экспозиции 30 минут.

2. Среднесмертельная доза (ЛД₅₀) средства при внутрижелудочном введении составляет 3900 мг/кг, что соответствует 3-му классу опасности согласно ГОСТ 12.1.007-76. Не обладает хронической токсичностью при внутрижелудочном введении.

3. Ингаляционная токсичность (ЛК₅₀) для белых мышей составляет 2000 мл/м³, хроническая ингаляционная токсичность в дозах 1/10 и 1/20 ЛК₅₀ не проявляется.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Каменская, Т. Н. Микробная обсемененность помещений на комплексе по откорму крупного рогатого скота и их аэрозольная санация в присутствии телят / Т. Н. Каменская, С. А. Лукьянич, Л. Л. Кривенок // *Экология и животный мир*. – 2017. – № 2. – С. 35–39.
2. Шандала, М. Г. Методологические проблемы современной дезинфектологии / М. Г. Шандала // *Актуальные проблемы дезинфектологии в профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний : материалы Всероссийской науч. конф., посвященной 100-летию со дня рождения В.И. Вашкова*. – М. : ИТАР-ТАСС, 2002 – 244 с.
3. Кривенок, Л. Л. Использование перекисного препарата для дезинфекции помещений и санации животных / Л. Л. Кривенок // *Животноводство и ветеринарная медицина*. – 2020. – № 4. – С. 17–21.
4. Высоцкий, А. Э. Бицидная активность и токсикологическая характеристика дезинфицирующего препарата САНДИМ-Д / А. Э. Высоцкий // *Ветеринарная медицина Беларуси*. – 2005. – № 2. – С. 27–30.
5. Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии / А. Э. Высоцкий [и др.]. – Минск, 2007. – 156 с.

УДК 619:615.28:614.48

Кривенок Л.Л., магистр ветеринарных наук

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

ИЗУЧЕНИЕ КОРРОЗИЙНОЙ АКТИВНОСТИ И СТАБИЛЬНОСТИ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА «КРИОКС»

Резюме

В статье изложены результаты исследования экологически чистого дезинфицирующего средства на основе стабилизированной перекиси водорода. В качестве стабилизатора использованы органические кислоты и модифицированная фосфоновая кислота. Описаны коррозионные свойства, стабильность средства при длительном хранении и его токсикологическая характеристика. Среднесмертельная доза (LD_{50}) дезинфицирующего средства при внутрижелудочном введении составляет 3900 мг/кг, что соответствует 3-му классу опасности согласно ГОСТ 12.1.007-76.

Ключевые слова: перекись водорода, органические кислоты, коррозионные свойства, стабильность препарата.

Summary

The article presents the results of a study of an environmentally friendly disinfectant based on stabilized hydrogen peroxide. Organic acids and modified phosphonic acid were used as stabilizers. The corrosive properties, stability of the product during long-term storage and its toxicological characteristics are described. The average lethal dose (LD_{50}) of the disinfectant after intragastric administration is 3900 mg/kg, which corresponds to the 3rd hazard class according to GOST 12.1.007-76.

Keywords: hydrogen peroxide, organic acids, corrosion properties, stability of the preparation.

Поступила в редакцию 03.06.2024 г.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из наиболее эффективных и экономически выгодных методов профилактики заболеваний животных является дезинфекция животноводческих помещений. Стоит отметить, что для её проведения в условиях хозяйства на данный момент разработано, внедрено и находится в продаже множество дезинфицирующих средств [1, 2, 3, 4]. Современные дезинфицирующие средства, как правило, представляют собой композицию на основе одного или

нескольких активнодействующих веществ с различными функциональными добавками [1, 5, 6].

Основная масса дезинфекционных средств может применяться в отсутствие животных, но освободить помещение от них не всегда возможно. Наиболее актуальна такая проблема для крупных животноводческих комплексов, где сам технологический период занимает много времени, поскольку нужно подобрать эффективный по отношению к микроорганизмам и безо-