УДК 619:614.48

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ, БАКТЕРИЦИДНЫХ СВОЙСТВ И КОРРОЗИЙНОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ АММОНИЯ

Готовский Д.Г.
УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

Для дезинфекции воздуха и поверхностей помещений в присутствии животных предложен новый препарат на основе четвертичных соединений аммония, который обладает выраженным бактерицидным действием и не токсичен для животных при длительном использовании.

For disinfection in the air and premise surfaces in the animal presence a new preparation was suggested on the basis quarter ammonium connections, which possessing expressed bacterial activity and non toxic for animal use for a long period of time.

Ключевые слова: дезинфекция и санация воздуха и животноводческих помещений, четвертичные соединения аммония, препарат «Эставет».
Keywords: disinfection and sanation in the air of animal houses, quarter ammonium connections, preparation of «Estavetum».

Введение. Важнейшим звеном в общем комплексе ветеринарно-санитарных мероприятий, направленных на биологическую (санитарную) защиту крупных животноводческих и птицеводческих предприятий с производством продукции на промышленной основе, является дезинфекция, основной задачей которой является уничтожение возбудителей инфекционных заболеваний во внешней среде [1, 2, 4, 5, 9].

Следует отметить, что для проведения дезинфекции на объектах ветеринарного надзора в настоящее время используют довольно ограниченный набор традиционных дезинфицирующих средств, главным образом, это препараты на основе альдегидов (формальдегид и его производные, глутаровый альдегид), хлорная известь и др. хлорсодержащие средства, каустическая сода, однохлористый йод и некоторые др.

Однако в результате многолетнего использования одних и тех же традиционных дезинфектантов участилось появление резистентных к их воздействию штаммов микроорганизмов, грибов и вирусов. Многие из традиционных препаратов, в частности альдегиды, хлор, производные фенола опасны для окружающей среды, так как являются потенциальными ксенобиотиками.Такие традиционные дезинфицирующие средства как йод, хлорсодержащие препараты, щёлочи и кислоты также агрессивны в отношении производственного оборудования животноводческих (птицеводческих) предприятий.

Поэтому, для повышения качества дезинфекции в условиях современных животноводческих предприятий,возникает необходимость в создании и внедрении малотоксичных и неагрессивных дезинфектантов отечественного производства [2, 4, 6, 8, 11].

В последнее время вышеуказанным критериям безопасности, предъявляемым к дезинфицирующим средствам, отвечают многокомпонентные препараты из группы ПАВ (поверхностно-активных веществ), сочетающие в себе моющие и дезинфицирующие свойства. Их подразделяют на анионные, катионные и амфотерные соединения. При этом наибольшей бактерицидной активностью обладают катионные ПАВ, из которых чаще всего применяют препарат группы четвертичных аммониевых соединений (ЧАС).

В отличие от традиционных дезинфицирующих веществ, препараты на основе ЧАС обладают рядом преимуществ: моющие свойства, низкая токсичность для животных, слабое коррозийное действие. Следует отметить, что большинство препаратов на основе ЧАС, применяемых в нашей республике, производится за рубежом [2, 3, 7, 8, 10, 12].

Исходя из вышеизложенного, основная цель работы – изучение токсичности, эффективности бактерицидного действия и коррозийных свойств нового отечественного дезинфектанта на основе ЧАС – «Эставет».

Материал и методы исследований. Исследования проводились в три этапа. На первом этапе изучалась токсичность и коррозийная активность дезинфицирующего средства. В частности исследовались: острая токсичность при введении в желудок, острая ингаляционная токсичность, местно-раздражающее действие на кожные покровы; кожно-резорбтивное действие, раздражающее действие на слизистые оболочки и орган зрения; сенсибилизирующая активность.

Исследования проводили на линейных белых крысах, мышах, морских свинках и кроликах. В работе использовали животных 2,5–4- месячного возраста. Опытные и контрольные группы формировались по принципу аналогов.

Токсикологическую оценку дезинфицирующего средства проводили согласно «Методическим указаниям по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии», утверждены Главным управлением ветеринарии с Государственной ветеринарной и Государственной продовольственной инспекциями Минсельхозпрода Республики Беларусь 16.03.2007, № 10-1-5/198.

Острую токсичность дезинфицирующего средства «Эставет» при введении в желудок изучали на клинически здоровых белых мышах живой массой 18–25 г, ранее не подвергавшихся токсическому воздействию. Концентрированный раствор дезинфицирующего средства «Эставет» белым мышам

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

вводился принудительно в желудок, натощак в виде водного раствора с помощью автоматической пипетки-дозатора по 0,5-0,6 мл в следующих дозах: 1 группа - 7000 мг/кг; 2 группа - 6000 мг/кг; 3 группа – 5000 мг/кг; 4 группа – 4000 мг/кг; 5 группа – 3000 мг/кг; 6 группа (контрольная) – 0,6 мл водопроводной воды.

После затравки за животными наблюдали в течение 2 недель, обращая внимание на их поведение, внешний вид, аппетит, жажду, степень проявления реакции на внешние раздражители, наличие рвоты, саливации, видимых кровоизлияний, частоту дыхания, тремор, наличие судорог, парезов, параличей и других патологических симптомов. Особое внимание обращали на время возникновения и характер интоксикации, сроки гибели животных. Для оценки токсического действия препаратов использовали статистически точную величину $ЛД_{50}$ (среднесмертельная доза), представляющую собой количество вещества, вызывающее гибель 50% подопытных животных, выраженную в мг/кг.

По степени опасности при однократном введении в желудок «Эставет» классифицировали согласно ГОСТ 12.1.007-76.

Острую ингаляционную токсичность изучали при воздействии разовой концентрации препарата в виде 2 и 4% рабочих растворов в период экспозиции методом статической затравки, по насыщающей концентрации. Для этого белых мышей помещали на 4 часа в герметично закрытый эксикатор. Животные контрольной группы находились в пустом эксикаторе. В течение проведения опыта и на протяжении 16 суток наблюдали за клиническими признаками отравления. О токсическом действии судили по изменению массы тела, температуры и состоянию нервной системы.

Оценку кожно-резорбтивного действия и местно-раздражающее действие дезинфицирующего средства «Эставет» на кожные покровы изучали на кроликах и морских свинках. На выстриженные участки кожных покровов размером 2х3 см равномерно, открытым способом на 4 часа при температуре окружающей среды 18–24°С, наносили концентрированный раствор дезинфицирующего средства в объеме 0,1 мл, а на симметричный участок кожи – воду. Для исключения слизывания средства с кожи и поступления его через органы дыхания, животных фиксировали в специальных индивидуальных клетках. По окончании четырехчасовых аппликаций остатки вещества удаляли теплой водой с мылом, избегая повреждений кожи. Период наблюдений за состоянием кожных покровов и состоянием животных составлял две недели. О наличии раздражающих свойств судили по появлению на месте аппликации гиперемии, отека, утолщения кожной складки, расчесов, болезненности участка при пальпации и др. аллергических реакций.

Исследование раздражающего действия на слизистые оболочки и орган зрения дезинфицирующего средства «Эставет» проводили на 6 кроликах (по 3 на каждый опыт) методом конъюнктивальных проб. Исследовали наибольшую рабочую концентрацию, применяемую в практических условиях для дезинфекции (2%), и концентрат дезсредства. Для этого в нижний конъюнктивальный свод правого глаза однократно вносили 2%-ный водный и нативный растворы в количестве 50–100 мкл (2 капли), левый глаз при этом служил в качестве контрольного (закапывали 1–2 капли дистиллированной воды).

Коррозийные свойства дезинфицирующего средства по отношению к металлам, используемым при строительстве животноводческих помещений, определяли по изменению веса металла в результате коррозии, отнесенному к единице поверхности (потеря массы, Δm) и единице времени (скорость коррозии, К).

Для испытания подбирались образцы из листовой стали марки Ст-3, алюминия марки А и оцинкованной жести размером 50×20×1 мм. В качестве контроля использовали водопроводную воду. Для проведения испытаний образцы металлов погружались в сосуды с дезинфицирующим раствором и водопроводной водой на 8 суток. До и после погружения образцы взвешивались.

На втором этапе проводилось испытание бактерицидных свойств и определение эффективной концентрации рабочих растворов «Эставет» качественным суспензионным методом. Препарат изучали в виде 0,1-1,5% растворов.

Для проведения исследований использовали суспензии тест-культур микроорганизмов: Staphylococcus aureus № 25923, Escherichia coli ATCC № 25922 и Mycobacterium smegmatis cip 73.26. Для приготовления суспензии использовали суточные культуры, выращенные на скошенном МПА (стафилококк и кишечная палочка) и среде Гельберга (микобактерии) вышеуказанных микроорганизмов, которые смывали стерильным физиологическим раствором и доводили до концентрации 1 миллиард микробных тел в 1 мл суспензии. К 0,1 мл испытательной суспензии каждого из тест-микроорганизмов добавляли 9 мл испытуемого дезсредства в вышеуказанных концентрациях. Кроме того, проводили дополнительные испытания бактерицидных свойств «Эставет» в условиях имитации органического загрязнения, для чего в смесь дезсредства и суспензий вводили 20% (от общего объёма смеси) лошадиной сыворотки. Время экспозиции суспензии и дезинфицирующего средства составляло 15, 30, 60 и 90 мин. После чего каждое разведение суспензии в дезрастворе встряхивали и давали пересев в пробирки со средой КОДА (Escherichia coli) и чашки Петри с МПА (Staphylococcus aureus) или средой Гельберга (Mycobacterium smegmatis) и помещали в термостат для инкубации. Об эффективности дезинфицирующего средства судили по наличию роста колоний тест-микроорганизмов на поверхности питательных сред и изменению цвета среды КОДА на жёлтый.

Также изучали бактерицидную и фунгицидную эффективность аэрозоля «Эставет». Дезинфицирующее средство изучалось в виде 0,1-2 % растворов. Для оценки степени бактерицидного действия использовали вышеуказанные тест-культуры, в том числе Aspergillus niger. Из суточных тест-культур готовили взвесь на физиологическом растворе с концентрацией 1 миллиард микробных тел по оптическому стандарту. Взвесь микробных культур наносили равномерным слоем на поверхность тест-объектов (доски, бетон, оцинкованное железо, пластмасса, стекло и керамическая плитка) из расчёта 10 млн. на 1 $см^2$. Для чего на каждые 100 $см^2$ поверхности тест-объектов наносили по 1 мл суспензии.

После контаминации тест-объектов на их поверхность равномерно наносили испытуемые

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

разведения дезинфицирующего средства методом орошения с помощью спрея, создающего грубодисперстный аэрозоль.

Через 30 и 60 мин после проведения аэрозольной дезинфекции с участков тест-объектов, подвергаемых бактериологическому контролю (размером 10х10 см), стерильными ватными тампонами отбирали пробы, нейтрализовали их в стерильной водопроводной воде. В дальнейшем проводили двукратное центрифугирование проб при 2500 об/мин по 30 мин. Осадок, полученный после второго центрифугирования, разбавляли 1 мл стерильного физиологического раствора и высевали по 0,5 мл на среду КОДА, солевой агар, среду Гельберга и сусло-агар.

Один из заражённых тест-объектов служил контролем. Дезинфицирующее средство на его поверхность не наносилось. О качестве дезинфекции судили по наличию роста колоний вышеуказанных микроорганизмов и изменению цвета жидкой питательной среды КОДА.

На третьем этапе изучалась эффективность бактерицидного действия препарата при проведении дезинфекции различных животноводческих объектов (коровников и птичников). Бактериологический контроль качества дезинфекции проводили по наличию в воздухе и на поверхностях обрабатываемых помещений жизнеспособных клеток санитарно-показательных микроорганизмов, относящихся к 1-ой и 2-ой группе устойчивости к дезинфицирующим средствам (контроль качества проведения дезинфекции, по которому контролируют наличие кишечной палочки и стафилококков).

Результаты исследований. Было установлено, что при однократном внутрижелудочном введении дезинфицирующего средства «Эставет» максимально недействующая доза составила 3000 мг/кг, а минимальное количество дезинфектанта, приводящее к гибели всех мышей ($ЛД_{100}$), – 7000 мг/кг. Картина острого отравления белых мышей проявлялась беспокойством и агрессивностью, учащённым дыханием, бледностью видимых слизистых оболочек, порезом и судорогами задних конечностей, которые заканчивались гибелью животных в течение первых двух суток.

Таким образом, $ЛД_{50}$ дезинфицирующего средства «Эставет» составляет 5500 мг/кг, а препарат согласно ГОСТ 12.1.007–76, относится к IV классу опасности (вещества малоопасные).

При оценке острой ингаляционной токсичности препарата, установлено, что состояние подопытных животных за весь период ингаляционного воздействия и в последующие дни наблюдений не отличалось от животных контрольной группы. Гибели мышей не отмечено. Хроническая ингаляционная токсичность не изучалась, так как средство «Эставет» в силу низкой его летучести заведомо не будет обладать хронической ингаляционной токсичностью и может быть отнесено к IV классу малоопасных веществ по параметрам острой ингаляционной токсичности.

Также установлено, что при нанесении на выстриженную кожу кроликов нативного дезинфицирующего средства «Эставет» не было отмечено признаков раздражения (наличие эритемы, отеков кожи, утолщения кожной складки) у всех подопытных животных. Повторные аппликации нативного раствора «Эставет» не оказывали повреждающего действия на кожные покровы подопытных кроликов.

При однократном нанесении на слизистые глаз рабочего (2%) раствора препарата он оказывал умеренное раздражающее действие. Нанесение на слизистые глаз дезсредства в нативном виде сопровождалось блефароспазмом, значительной гиперемией конъюнктивы, обильным выделением из глаз и выраженным отеком век.

При изучении коррозийных свойств «Эсавет» отмечено, что препарат оказывает слабое коррозийное действие на образцы металлов. Так, потеря массы образцов, подвергшихся воздействию дезсредства, составляла 0,0039-0,0364 г, против 0,0018-0,0818 г в образцах, находящихся в водопроводной воде. Скорость коррозии при воздействии дезинфицирующего средства на образцы металлов составила 0,24-2,27 г/м^{2}хсутки против 0,11-6,46 г/м^{2}хсутки у водопроводной воды.

При проведении лабораторных исследований бактерицидных свойств препарата отмечено, что бактерицидное действие препарата при испытании в качественном суспензионном тесте проявлялось в минимальных разведениях 0,1-0,3% при экспозиции не менее 60 мин. В остальных изучаемых разведениях (0,4-1,5%) препарат проявлял свои бактерицидные свойства при минимальной экспозиции – 15 мин.

Полное обеззараживание всех тест-объектов из непористых материалов (жесть, керамическая плитка, пластмасса, стекло) контаминированных Staphylococcus aureus, Escherichia coli и Mycobacterium smegmatis достигалось при использовании дезинфицирующего сресства во всех испытуемых разведениях рабочих растворов от 0,1 до 2,0 %, при экспозиции 30 и 60 мин. Полное обеззараживание всех тест-объектов от тест-микробов (в т.ч. объектов из пористых материалов: бетон, деревянные доски) отмечено при использовании рабочих растворов дезсредства в концентрации от 0,75 до 2,0 %, при экспозиции не менее 30 мин. Инактивация Aspergillus niger достигалась только при использовании 3% раствора препарата при экспозиции не менее 6 ч.

При проведении производственных испытаний водных растворов препарата при дезинфекции животноводческих (птицеводческих) помещений «Эставет» применяли в виде объёмного аэрозоля и методом орошения.

Вначале изучались бактерицидные свойства аэрозоля «Эставет» при санации воздуха в присутствии цыплят-бройлеров в условиях птицеводческого предприятия. Объёмную аэрозольную дезинфекцию проводили в двух птичниках бройлерного цеха в присутствии 37030 цыплят-бройлеров 21-го дневного возраста. Для создания аэрозоля использовали генератор «холодного» тумана типа «ЦИКЛОН-1». Дезинфицирующее средство применяли в виде 0,5% раствора из расчёта 3-4 мл/м^3 воздуха. Экспозиция аэрозоля после распыления в каждом птичнике составила 20-25 мин.

Было установлено, что после проведения объёмной аэрозольной дезинфекции отмечено снижение общего количества микроорганизмов в воздухе помещений с 520 тыс. КОЕ/м^3 до 340 КОЕ/м^3 воздуха (т.е. в 1,5 раза ниже по сравнению с исходным бактериальным фоном). При бактериологическом исследовании смывов, взятых с поверхности оборудования птичников (бункерные кормушки, поилки, стены), в 50% от

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

общего числа взятых проб-смывов кишечной палочки не обнаружено. После повторной санации воздуха в птичниках наличия кишечной палочки на поверхностях оборудования птичников не обнаружено. При бактериологическом исследовании смывов, взятых с поверхности ограждающих конструкций до проведения дезинфекции в птичниках, в них отмечено наличие кишечной палочки.

В период проведения аэрозольной дезинфекции воздуха не наблюдалось изменений клинического состояния цыплят-бройлеров (беспокойства, кашля и др. патологических реакций).

В дальнейшем изучались бактерицидные свойства «Эставет» при проведении дезинфекции методом орошения с помощью ДУК. Дезинфекцию проводили в птичнике, освобожденном от птиц. Перед проведением дезинфекции в помещении проводилась механическая чистка и мойка. Препарат применяли в виде 1,5% раствора из расчета 0,75 л/м^2 площади помещения. Экспозиция препарата после проведения дезинфекции в птичнике составила 1 час.

Было установлено, что при взятии смывов с различных поверхностей помещения после обработки и проведения их бактериологического исследования наличия кишечной палочки и стафилококков не обнаружено. При бактериологическом исследовании смывов, взятых с поверхности ограждающих конструкций до проведения дезинфекции птичника, отмечено наличие санитарно-показательной микрофлоры (кишечной палочки и стафилококков).

На следующем этапе были проведены производственные испытания дезинфицирующего средства «Эставет» на молочно-товарной ферме.

Профилактическую дезинфекцию преддоильной площадки и доильного зала молочного блока, освобожденного от животных, проводили методом орошения с помощью ДУК. Перед дезинфекцией молочный блок подвергался механической чистке и мойке. Дезинфицирующее средство применяли в виде 1,5% раствора из расчета 0,75 л/м^2 площади помещения. Экспозиция после проведения дезинфекции на молочном блоке составила 1 час.

Контроль качества дезинфекции проводили по наличию на поверхностях обрабатываемых помещений санитарно-показательной микрофлоры (бактерий группы кишечной палочки) после обработки.

Было установлено, что при взятии не менее 20 смывов с различных поверхностей каждого из помещений после дезинфекции и проведения их бактериологического исследования, наличия бактерий группы кишечной палочки не обнаружено. При бактериологическом исследовании смывов, взятых с поверхности ограждающих конструкций до проведения дезинфекции помещений молочного блока, отмечено наличие бактерий группы кишечной палочки (кишечной палочки и протея).

Заключение. Таким образом, дезинфицирующее средство «Эставет» при однократном внутрижелудочном введении относится к IV классу опасности, согласно ГОСТ 12.1.007–76 (вещества малоопасные), с величиной $ЛД_{50}$ для белых мышей 5500 мг/кг. По параметрам острой ингаляционной токсичности средство относится к IV классу малоопасных веществ. При однократном воздействии в виде нативного раствора на неповрежденную кожу не вызывает раздражение и не оказывает сенсибилизирующего действия. При нанесении на слизистые глаз рабочего (2%) раствора оказывает умеренное раздражающее действие, а при нанесении нативного раствора на слизистые оболочки глаз оказывает резко выраженное раздражающее действие. Препарат оказывает слабое коррозийное действие в отношении образцов стали, алюминия и оцинкованной жести. Лабораторные и производственные испытания «Эставет» показали, что средство обладает выраженным бактерицидным действием в отношении возбудителей инфекционных заболеваний, относящихся к 1-ой, 2-ой и 3-ей группам устойчивости к дезинфицирующим средствам. Таким образом, данный дезинфектант в виду малой токсичности, слабой коррозийной активности и хороших дезинфицирующих свойств, вполне может быть рекомендован для проведения профилактической и вынужденной (текущей и заключительной) дезинфекции животноводческих помещений, в том числе санации воздуха в присутствии животных и птиц.

Литература. *1. Аэрозоли в профилактике инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных / Ю.И. Боченин [и др.] // Ветеринарный консультант. - 2004. - №23-24. - С. 10-18. 2. Байдевлятов, Ю.А. Токсикологічна характеристика дезінфікуючого засобу «ВВ-1» із групи четвертинних амонійних сполук / Ю.А. Байдевлятов // Вісник Сумського національного аграрного університету. Сер. «Ветеринарна медицина». – 2005. – Вип. № 1–2 (13–14). – С. 67–70. 3. Банников, В. Вироцид в промышленном птицеводстве / В. Банников // Птицеводство. – 2006. - № 10. – С.44-45. 4. Высоцкий, А.Э. Биоцидная активность и токсикологическая характеристика дезинфицирующего препарата САНДИМ-Д / А.Э. Высоцкий // Ветеринарная медицина Беларуси. - 2005. - № 2.- С.27-30. 5. Высоцкий, А.Э. Методы испытания противомикробной активности дезинфицирующих препаратов в ветеринарии / А.Э. Высоцкий, С.А. Иванов // Ветеринарная медицина Беларуси. - 2005. - № 1.- С.46-48. 6. Высоцкий, А.Э. Коррозионное действие отечественных дезинфекционных препаратов / А.Э. Высоцкий // Сб. науч. тр. / УО ВГАВМ. – Витебск, 2008.: в 2 ч. – Т. 44, Ч. 1: Ученые записки ВГАВМ. – С. 32–36. 7. Натопен - дезинфектант широкого спектра действия / Равилов А.З. [и др.] // Ветеринария. – 2010. – С. 8-12. 8. Бактерицид вместо формальдегида / В.Д. Николаенко [и др.] // Животноводство России. – 2004. – № 3. – С. 26-27. 9.Шкарин, В.В. Дезинфекция. Дезинсекция и дератизация: руководство для студентов медицинских вузов и врачей / В.В. Шкарин. – Н. Новгород: Изд-во Нижегородской государственной медицинской академии, 2006. – 580 с. 10. Клёнова, И.Ф. Ветеринарные препараты России: Справочник в 2 томах. Т.1. / И.Ф. Клёнова [и др.]. – М.: Сельхозиздат, 2004. - С. 419-453. 11. Bill, G. Exposure to Glutaraldehyde Alone or in a Fume Mix: a Review of 26 cases / G. Bill // Journal of the NZMRT. - Volume 40. - No 2. - June, 1997. - P.13-17. 12. Grigonis, A. The effect of aerosol and electro aerosol quaternary ammonium saline solutions on bacteria on horizontal and vertical surfaces / A. Grigonis, A. Matusevicius, J. Dobilas, M. Virgailis, A. Stankevicius // Veterinarija ir zootechnika / Lietuvos veterinarijos akad. - Kaunas. – 2005. - T. 31. - N. 53. - P. 20-26.*

Статья передана в печать 05.03.2014 г.

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ