

В.К. ГУРИН¹, С.В. СЕРГУЧЕВ¹, Т.Н. КАМЕНСКАЯ²,
С.А. ЛУКЪЯНЧИК², И.В. СУЧКОВА³, Л.А. ВОЗЬМИТЕЛЬ³

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НОВОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО ДЕЗИНФЕКТАНТА «ВАЛИСАН-2» ДЛЯ САНАЦИИ ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ ПОМЕЩЕНИЙ

¹РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству»

²РДУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. Вышелесского
Национальной академии наук Беларуси»

³УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

Введение. В настоящее время в Республике Беларусь фирмой ЗАО «БелАсептика» широко рекламируются дезинфектанты нового поколения. Однако они относительно дорогостоящи, а также летучие, вследствие чего не обладают достаточным пролонгирующим действием [1, 2].

В животноводческих хозяйствах республики в качестве дезинфектантов главным образом применяется раствор щелочи NaOH (каустическая сода), который, обладая хорошим антимикробным действием, представляет угрозу здоровью сельскохозяйственным животным и обслуживающему персоналу, а также загрязняет окружающую среду [1, 3, 4, 5, 6].

В связи с этим, назрела необходимость разработки дезинфектанта на основе сорбентов, имеющихся в республике, и использования его в малой концентрации методом орошения перед комплектацией комплекса поголовьем и распыления в виде аэрозолей в присутствии животных.

Учитывая вышеизложенное, целью работы явилась разработка высокоэффективного отечественного дезинфектанта и способа санации помещений для содержания молодняка крупного рогатого скота.

Материал и методика исследований. Лабораторные исследования по разработке оптимального состава дезинфектанта на основе сорбирующих компонентов из местного дешевого сырья, находящихся на территории Республики Беларусь, проведены в научно-исследовательском институте физико-химических проблем Белорусского государственного университета (НИИ ФХП БГУ); санитарно-токсикологические свойства лабораторного образца препарата – в РДУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского Национальной академии наук Беларуси».

В виварии РДУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского Национальной академии наук Беларуси» проведен предварительный опыт по изучению эффективности пяти композиций препарата на лабораторных животных (мышьях, кроликах, морских свинках). Определена оптимальная композиция.

После прохождения лабораторных испытаний в НИИ ФХП БГУ препарату было присвоено название «Валисан-2».

Определение острой, хронической токсичностей, а также изучение кожно-раздражающего воздействия на слизистые оболочки и аллергенных свойств препарата проводили согласно «Методическим указаниям по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве», а также «Методическим указаниям» ВНИВС-72 [2].

Для изучения хронической (внутрижелудочной) токсичности препарата было сформировано 4 группы белых мышей живой массой 18,0-20,0 г по 10 голов в каждой. Препарат вводили лабораторным животным ежедневно внутрижелудочно в течение 1 месяца. Животным I группы (опытной) вводили 1/25 от летальной дозы (LD₅₀), II (опытной) – 1/50 от LD₅₀, III (опытной) – 1/100 от LD₅₀. Мышам IV (контрольной) группы вводили растворитель (дистиллированная вода) в тех же дозах и тем же способом, как и в опыте.

Препарат для изучения противомикробной и противогрибковой активности брали в концентрациях 0,01 %, 0,1, 0,5 и 1,0 %, для изучения противомикробактериальной активности – 1,0 %, 1,5, 2,0, 2,5 и 3 %.

Для определения аллергенных свойств препарата использовали морских свинок массой 200-300 г и кроликов массой 1500-1800 г по 12 голов каждый. Животных подвергали обработке путем многократных (14 дней) аппликаций препарата «Валисан-2» (3 %) на один и тот же выстриженный участок кожи. В контрольной группе на кожу наносили физиологический раствор.

Опыты по изучению антимикробной активности дезинфицирующего препарата «Валисан-2» проводили согласно методическим указаниям «Методы испытания противомикробной активности антисептиков профилактического назначения», Временной инструкции «Методы испытания противомикробной активности дезинфицирующих средств» и СанПиН 21-112-99 «Дезинфекционные средства и технологии. Нормативные показатели безопасности и эффективности дезинфекционных средств» на тест культурах микробов *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida rubrum*, *Proteus mirabilis* 5, *Salmonella choleraesuis*, *Micrococcus citreus* с микробной концентрацией 5×10^8 колониеобразующих единиц (КОЕ/мл), экспозиции 30 и 60 минут и с использованием 20%-ной белковой нагрузки (сывотки крови). Изучение действия препарата «Валисан-2» на культуру *Mycobacterium ter-*

га 15755 АТСС проводили согласно методике Вашкова В.И. (1977) с микробной нагрузкой 1×10^9 КОЕ/мл и экспозицией 60 минут.

Определение коррозионного действия препарата проводили весовым методом путем вычисления разницы до и после воздействия дезинфектанта. Были подготовлены образцы оцинкованной стали и сплава алюминия общей площадью $0,001 \text{ м}^2$. Пластины помещали в стеклянные стаканы с испытуемыми растворами «Валисан-2» из расчета 20 мл/см^2 тест-объекта на 7 дней. Контрольные образцы помещали в стакан с дистиллированной водой. На основании данных 7-дневного нахождения пластинок в стаканах рассчитывали потери массы сплава алюминия и жести оцинкованной из расчета в год.

Для дезинфекции помещений методом орошения в отсутствие животных после тщательной механической очистки использовали свежеприготовленный 1%-ный водный раствор препарата «Валисан-2» из расчета $0,5 \text{ л на } 1 \text{ м}^2$ поверхности перед заполнением зданий поголовьем.

Испытания препарата «Валисан-2» методом полива (орошения) и аэрозольно обработку проводили согласно программе производственных испытаний.

Смывы с обрабатываемых поверхностей брали до обработки, через 3 и 24 часа после проведения дезинфекции из 12 точек (пол, стена, кормушки, поилки).

Патогенность выделенных культур проверяли на биологических объектах (белых мышах), которых заражали взвесью агаровых культур с концентрацией бактерий 2 млрд./см^3 внутрибрюшинно в дозах $0,3\text{-}0,4 \text{ мл на } 1 \text{ голову}$.

Аэрозольную обработку помещения проводили в присутствии телат 1%-ным рабочим раствором «Валисан-2» из расчета $15 \text{ см}^3/\text{м}^3$ установками IGEBA IP 40 NEBULO (Германия) и генератора холодного тумана «Циклон» (Литва).

При бактериологическом контроле качества дезинфекции определяли наличие на поверхности обеззараживаемых объектов – бактерий группы кишечной палочки, стафилококков и спорообразующих микроорганизмов. Для количественного учета кокковой микрофлоры делали посевы на мясо-пептонный агар с 6,5%-го натрия хлорида; энтеропатогенных типов кишечной палочки – на среду Эндо; сальмонеллы – на висмут-сульфитный агар; грибов – на агар Сабуро, спорообразующие – на среду Китт-Тароцци после прогревания в течение 30 минут при 65°C . Чашки ставили в термостат на 7 дней при температуре 25°C для инкубации грибов, на 240 ч при температуре 37°C – для спорообразующих микроорганизмов и на 24-48 ч при температуре 37°C – для остальных культур.

Во время опыта для учета эффективности дезинфекции использо-

вали также тест-объекты – металлические и керамические пластины площадью 100 см², контаминированные тест-культурой золотистого стафилококка (концентрации бактериальной суспензии по стандарту мутности – 2 млрд./мл) при белковой нагрузке (стерильный навоз), выдержанные в течение 1,5 часа в помещении с животными, подвергнутому аэрозольной обработке.

Испытания дезинфектанта «Валисан-2» методом полива (орошения) и распыления проводили на комплексе по выращиванию и откорму молодняка крупного рогатого скота в СПК «Вишневка-2002» Минского района. Контролем служило помещение, в котором обработка производилась каустической содой методом орошения перед комплектацией комплекса поголовьем. В контрольном помещении находилось 360, а в опытном – 350 голов телят. Для оценки живой массы и среднесуточных приростов в каждом помещении из общего количества молодняка было подобрано по 32 головы телят по принципу аналогов.

Схема профилактической санации помещений разрабатывалась на основании предварительных исследований полученных в опытах, а также общепринятой методики проведения дезинфекции.

В процессе исследований изучали следующие показатели:

- морфологический состав крови: количество эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина – прибором Medonic CA 620;

- макро- и микроэлементы: калий, натрий, магний, железо, цинк, марганец и медь – на атомно-абсорбционном спектрофотометре AAS, производства Германия;

- биохимический состав сыворотки крови: общий белок, альбумины, глобулины, мочевины, глюкоза, кальций, фосфор – прибором CORMAV LUMEN;

- резервная щелочность – по Неводову;

- каротин – по Кар-Прайсу в модификации Анисимовой А.А.

Живую массу и среднесуточные приросты определяли путем индивидуального взвешивания бычков в начале и конце опыта.

Состояние естественной резистентности организма определяли по тестам: бактерицидная активность сыворотки крови – фотоколориметрическим методом по О.В. Смирновой и Т.А. Кузьминой (1966) в модификации Ю.М.Маркова (1968), лизоцимная активность сыворотки крови – фотоколориметрическим методом по В.Т. Дорофейчику (1968), бета-лизинная активность сыворотки крови – методом О.В. Бухарина (1970), титр нормальных агглютинов – путем постановки реакции агглютинации.

Результаты эксперимента и их обсуждение. В опыте по изучению острой токсичности «Валисан-2» на белых мышах живой массой 18 г при внутрижелудочном введении с помощью шприца и зонда

установлено, что LD₅₀ составила 2500 мг/кг живой массы, что согласно ГОСТ 12.1.007 позволило отнести композицию препарата к III классу опасности – умеренно опасные вещества. Полученные данные по определению острой токсичности явились основанием для проведения опытов по определению хронической токсичности препарата.

Установлено, что летальная концентрация (LK₅₀) препарата (концентрат) «Валисан-2» составила 2100 мл/м³, LK₁₀₀ – 2600 мл/м³, пороговая – 1600 мл/м³.

При постановке опыта по хронической ингаляционной токсичности на белых мышках установлено, что только при первом использовании аэрозоля препарата в дозе 1/25 ЛК₅₀ отмечалось незначительное беспокойство животных (I группа). При повторных обработках животные не реагировали. Прирост живой массы в I группе составил 2,1, во II – 1,8, в III – 2,1 г/голову. При патолого-анатомическом вскрытии мышей отклонений со стороны внутренних паренхиматозных органов, как в контрольной, так и в опытных группах, не обнаружено.

После нанесения препарата в течение суток на коже у всех кроликов и морских свинок не наблюдали изменений, т. е. рабочий раствор препарата (3 %) не обладал аллергенными свойствами.

Установлено, что «Валисан-2» в 1% и 3%-ных концентрациях оказывает слабо выраженные коррозионные свойства по отношению к сплаву алюминия, жесть оцинкованная подвержена коррозионному действию препарата. Потери массы сплава алюминия составили 2,48 и 4,62 г/м² в год, жести оцинкованной – 77,7 и 78,4 г/м² в год соответственно сплаву.

Общая микробная обсемененность исследуемых поверхностей в среднем колебалась в пределах 200-500 тыс. КОЕ/см², пола внутри клеток – 19000-2000 тыс. КОЕ/см². Препарат в 0,01-0,05%-ной концентрации обладал бактериостатическим действием по отношению к выделенным из смывов культурам, в 0,1%-ной концентрации – бактерицидным.

Проведенными опытами по определению антимикробной активности дезинфицирующего препарата «Валисан-2» на тест-микроорганизмах установлено, что препарат в 1,0%-ной концентрации оказывает бактерицидное действие на культуры *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* и *Candida rubrum* при экспозиции 60 минут.

Mycobacterium terra оказались относительно устойчивыми к дезинфектанту. Так, рост микробов при культивировании в условиях термостата при температуре 37°C наблюдался при концентрациях препарата «Валисан-2» 1,0-, 1,5- и 2,0%-ные. При концентрации препарата 2,5 и 3% рост культур не наблюдался в течение 7 суток культивирования.

На основании проведенных лабораторных исследований предлага-

ется использовать 1%-ные рабочие водные концентрации препарата «Валисан-2» из расчета 0,5 л на 1 м² поверхности перед заполнением зданий поголовьем и во время технологических перерывов.

Для профилактической санации воздуха помещений в присутствии животных предлагается использовать 1%-ные водные растворы дезинфектанта в виде мелкодисперсных объемных аэрозолей «холодного тумана» из расчета 15 мл/м³, экспозиция 1 час.

Результаты бактериологических исследований показали, что на поверхности исследуемых объектов опытных и контрольного помещений до обработки дезинфицирующими препаратами микробная обсемененность была равнозначной, с незначительными колебаниями. Так, в 1 здании и во 2-ом на поверхности пола было выделено соответственно 144,7-206 тыс. КОЕ/см², стен – 62,4-81, кормушек – 209-196, поилок – 142,2-146 тыс. КОЕ/см². После дезинфекции препаратом «Валисан-2» в 0,5%-ной концентрации при экспозиции 3 часа количество выделенных микробов снижалось на поверхностях пола в 155 раз (в контроле – в 166 раз), стен – в 105 (116), кормушек – в 293 (199), поилок – 294 (194). При обработке поверхностей помещения методом полива 1%-ным раствором «Валисан-2» и экспозиции 3 часа рост микробов в смывах отсутствовал, через 24 часа после обработки выросли единичные колонии. При проверке патогенности выделенных микроорганизмов методом биопробы установлено, что как при обработке 0,5%-ным рабочим раствором «Валисан-2», так и при обработке 1,0%-ным раствором препарата культуры являлись непатогенными для лабораторных животных.

Из данных таблицы 1 видно, что общая микробная обсемененность воздуха после обработки через 1 и 24 часа снижалась соответственно в 43 и 10 раз, рост грибов – в 40,2 и 14 раз соответственно. Через 1 час после обработки препаратом «Валисан-2» рост микрофлоры из группы кишечной палочки и кокковой отсутствовал. Через 24 часа наблюдался незначительный рост кокковой и кишечной микрофлоры, однако количество бактерий находилось ниже исходного уровня.

Таблица 1 - Результаты бактериологических исследований воздуха при аэрозольной обработке «Валисан-2» помещения в присутствии телят

Время отбора проб		Общая микробная обсемененность, КОЕ/м ³	Кокковая микрофлора, КОЕ/м ³	Группа кишечной палочки, КОЕ/м ³	Грибы, КОЕ/м ³
До обработки		67846	8097	1730	13915
после обработки «Валисан-2»	через 1 ч	1588	-	-	346
	через 24 ч	6513	407	250	997

Заболело животных на протяжении периода наблюдения (120 дней) в контрольной группе 63 головы, в опытной – 30 голов. Основные причины заболевания соответственно: бронхопневмония – 59 и 28 голов, травмы – 3 и 1, тимпания – 1 и 1 головы.

Среднесуточные приросты телят при обработке помещений каустической содой и препаратом «Валисан-2» составили соответственно в контрольной группе 679 г, а в опытной повысились на 30 г, или на 4,4 %.

Показатели крови составили: гемоглобин – 88,3-91,5 г/л, эритроциты – $5,8-6,1 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты – $8,9-9,29 \times 10^9$ /л, резервная щелочность – 490,3-505,3 мг%, мочевины – 4,50-4,9 ммоль/л, общий белок – 72,4-76,8 г/л, глюкоза – 4,63-5,18 ммоль/л, кальций – 2,31-2,83 ммоль/л, фосфор – 2,0-2,6 ммоль/л, альбумины – 36,7-41,1 г/л, глобулины – 36,3-40,2 г/л, каротин – 8,02-8,51 мкмоль/л, калий – 11,5-12,5 ммоль/л, натрий – 96,6-98,6 ммоль/л, магний – 1,6-1,94 ммоль/л, медь – 8,9-11,9 мкмоль/л, цинк – 34,1-37,1 мкмоль/л, витамин А – 0,34-0,39 мкмоль/л.

Тем не менее, по показателям общего белка, альбуминов, глобулинов отмечены различия в пользу опытной группы на 4-5%, 10-11%, 6-9% соответственно. Отмечено снижение в крови опытных бычков содержания мочевины на 6-8%.

По показателям лизоцимной, бета-лизинной и бактерицидной активности установлены существенные различия в пользу опытной группы на 21-27 %, 12-18 и 5-7 % соответственно. По среднему титру агглютининов различия оказались выше во II опытной группе на 5-7%.

Стоимость 1 кг каустической соды составила 8,2 тыс. руб. (2008 г.), а «Валисан-2» – 8,5 тыс. руб. Стоимость обработки 1 м² методом полива каустической содой составила 154 руб., а препаратом «Валисан-2» – 60 руб., или в 2,6 раза дешевле за счет меньшей концентрации (1%-ный раствор вместо 3%-ного). Стоимость обработки 1 м³ помещения препаратом «Валисан-2» аэрозольно составила 17 руб.

Применение дезинфектанта на комплексе по выращиванию и откорму крупного рогатого скота с поголовьем 6 тыс. голов дало возможность получить расчетный годовой экономический эффект в размере 64 млн. руб.

Заключение. В результате исследований установлено, что острая токсичность «Валисан-2» в исследованиях на мышах при внутрижелудочном введении составляет 2500 мг/кг живой массы. Острая ингаляционная токсичность препарата составляет ЛК₅₀ – 2100 мл/м³. Хроническая внутрижелудочная и ингаляционная токсичности препарата «Валисан-2» в опыте на мышах отсутствовали. Рабочий раствор (3 %) препарата «Валисан-2» обладает слабым местно-раздражающим свойством и не сенсибилизирует организм кроликов в течение опыта. «Ва-

лисан-2» в 0,1%-ной концентрации обладает бактерицидными свойствами к выделенным из смывов с поверхностей помещения для содержания кроликов культурам.

Использование препарата в 1,0%-ной концентрации оказывает бактерицидное действие на культуры *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* и *Candida rubrum* при экспозиции 30-60 минут. На культуру *Mycobacterium terrae* дезинфектант воздействовал в концентрации 2,5 и 3 %, рост культур не наблюдался в течение 7 суток культивирования.

Выявлено, что общая микробная обсемененность воздуха при аэрозольной дезинфекции в присутствии животных через 1 и 24 часа снижалась соответственно в 43 и 10 раз, грибов – в 40 и 14 раз соответственно. Через 1 час после обработки препаратом «Валисан-2» рост микрофлоры из группы кишечной палочки и кокковой отсутствовал. Через 24 часа наблюдался незначительный рост кокковой и кишечной микрофлоры, однако количество бактерий находилось ниже исходного уровня.

Разработана схема профилактической санации помещений комплекса по выращиванию и откорму молодняка крупного рогатого скота, предусматривающая предварительную механическую очистку поверхностей, мойку и после этого дезинфекцию методом полива 1%-ным препаратом «Валисан-2» из расчета 0,5 л/м², через 24 часа выдержки и при дальнейшей комплектации сектора животными проводится аэрозольная обработка помещения в их присутствии 1%-ным раствором «Валисан-2» из расчета 15 см³/м³, экспозиции 1 час – 3 дня подряд.

Литература

1. Баланин, В. И. Микроклимат животноводческих зданий / В. И. Баланин. – Санкт-Петербург : Профикс, 2003. – 140 с.
2. Методические указания токсикологической оценки химических веществ и фармакологических препаратов / А. Э. Высоцкий [и др.]. – Минск, 2007. – 156 с.
3. Хайруллин, И. Н. Биологические аэрозоли (полифагов) при дезинфекции воздуха помещений и профилактики болезней молодняка / И. Н. Хайруллин, А. М. Шарафутдинов, И.И. Богданов // Ульяновская гос. с.-х. акад. – Ульяновск, 1999. – 6 с. – Деи. В УГСХА 12.05.1999. - № 131-BC99.
4. Зубов, Н. Д. Микробная и пылевая загрязненность воздуха коровника / Н. Д. Зубов, Р. Г. Ягудин // Ветеринария. – 1995. – № 3. – С. 27-29.
5. Hctliennngtun, S. The Relationship between Anthracnose Severity and Population of Bacteria on the Phytophane of the Tropical pasture Legume *Stylosanthes scabra* / S. Chaki-aborty, M. Thomas, J. Irwin // Biological control. – 1995. – № 5. – P. 39-46, 177.
6. Tweddel, R. J. Endo- 1,4-(3- glucanase production by *Stactybotrys solam* / R. J. Tweddel, J. Marshall, S. H. Jabji-Hare // Mycologia. – 1996. – Vol. 88, № 3. – P. 410-415.

(поступила 20.02.2008 г.)