

АНТИМИКРОБНАЯ, АНТИВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ И ТОКСИЧНОСТЬ СРЕДСТВА ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО «МС ГИПЕРДЕЗ»

Т. Н. КАМЕНСКАЯ, Л. Л. КРИВЕНОК, С. А. ЛУКЬЯНЧИК,
Н. В. КНЫШ, О. В. ХЕНДОГИНА

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеслесского»,
г. Минск, Республика Беларусь, 220003

А. А. АНИШЕВ

ООО «Скипер-РАША»,
г. Белгород, Российская Федерация, 308007

(Поступила в редакцию 29.09.2020)

В статье идет речь об антимикробной и антивирусной активности и токсичности дезинфицирующего средства «МС Гипердез», разработанного на базе ООО «Скиперс-Продакшн», (Россия). Установлено, что бактерицидное разведение средства дезинфицирующего «МС Гипердез» составило 1:164,65, фенольный коэффициент – 1,68. Средство оказывает действие на микрофлору I–II группы устойчивости в 0,25 % концентрации, расход средства 0,2–0,3 л/м², экспозиция 30 минут, III группы устойчивости в 0,5 % концентрации, расход средства 0,3 л/м², экспозиция 40 минут, при туберкулезе – 1,0 % концентрации, расход 0,5 л/м², экспозиция 3–4 часа. Фактор редукции в количественном суспензионном тесте составил 5 lg и выше, что согласно СанПиН 21-112-99, считается удовлетворительным для данной категории средств.

Антивирусное воздействие против вируса гриппа птиц штамма «КМИЭВ-V 107» (H5N2) и штамма «КМИЭВ-V 109» (H7N1) проявлялось в концентрации 0,2 % экспозиция 120 минут.

Дезинфицирующее средство «МС Гипердез» при внутрижелудочном введении согласно ГОСТ 12.1.007 – 76, соответствует 3 классу опасности – умеренно опасные вещества (LD₅₀ = 730,0 мг/кг), не обладает хронической токсичностью, среднесуточные приросты мышей в опытных группах были несколько ниже по сравнению с контролем: при введении 1/10 LD₅₀ масса одного животного была ниже на 1,5 г, 1/20 LD₅₀ – на 1,0 г, 1/50 LD₅₀ – на 0,6 г. При вскрытии мышей по окончании опыта изменений во внутренних органах не обнаружено, что говорит об отсутствии хронической токсичности.

Раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки средство не обладало (отсутствие раздражения). Ежедневные накожные аппликации кроликам в течение 15 дней по 0,1 см³ средства «МС Гипердез» и нанесение после 14-дневного перерыва разрешающей дозы не вызывало изменений в реакции организма и состоянии кожного покрова, что говорит об отсутствии сенсибилизирующих свойств.

Ключевые слова: дезинфицирующее средство, бактерицидные свойства, токсичность, антимикробная активность.

The article deals with the antimicrobial and antiviral activity and toxicity of disinfectant «MS Hyperdez», developed on the basis of ООО «Skippers-Production», (Russia). It was found that the bactericidal dilution of the disinfectant «MS Hyperdez» was 1:164.65, the phenolic coefficient was 1.68. The agent has an effect on the microflora of I–II group of resistance at 0.25 % concentration, the consumption of the agent is 0.2–0.3 l / m², the exposure is 30 minutes, the III group of stability is at 0.5 % concentration, the consumption of the agent is 0.3 l / m², exposure 40 minutes, with tuberculosis – 1.0 % concentration, consumption 0.5 l / m², exposure 3–4 hours. The reduction factor in the quantitative suspension test was 5 lg and higher, which, according to SanPiN 21-112-99, is considered satisfactory for this category of agents.

Antiviral effect against avian influenza virus strain «KMIEV-V 107» (H5N2) and strain «KMIEV-V 109» (H7N1) was manifested at a concentration of 0.2 % and exposure for 120 minutes.

Disinfectant «MS Hyperdez» when administered intragastrically according to GOST 12.1.007-76, corresponds to hazard class 3 – moderately hazardous substances (LD₅₀ = 730.0 mg / kg), does not have chronic toxicity, the average daily growth of mice in the experimental groups was slightly lower compared with the control: with the introduction of 1/10 LD₅₀, the weight of one animal was lower by 1.5 g, 1/20 LD₅₀ - by 1.0 g, 1/50 LD₅₀ – by 0.6 g. When mice were dissected at the end of the experiment no changes in the internal organs were found, which indicates the absence of chronic toxicity.

The agent did not have an irritating effect on the skin and mucous membranes (no irritation). Daily cutaneous applications to rabbits for 15 days of 0.1 cm³ of «MS Hyperdez» and the application of a resolving dose after a 14-day break did not cause changes in the reaction of the body and the state of the skin, which indicates the absence of sensitizing properties.

Key words: disinfectant, bactericidal properties, toxicity, antimicrobial activity.

Введение

На базе ООО «Скиперс-Продакшн» (Россия), было разработано дезинфицирующее средство «МС Гипердез». Действующие вещества: глутаровый альдегид, алкилдиметилбензиламмония хлорид и вспомогательные вещества.

В качестве действующих веществ содержит глутаровый альдегид, алкилдиметилбензиламмония хлорид, а также вспомогательные вещества: изопропанол, этиленгликоль, сурфактанты. Срок годности

средства 3 года при условии хранения в невскрытой упаковке. Для регистрации дезинфицирующего средства «МС Гипердез» в Республики Беларусь нами были проведены экспериментальные исследования по антимикробной, антивирусной активности и токсичности вышеуказанного средства. Были поставлены задачи изучить бактерицидные, вирулицидные свойства, острую, хроническую токсичности, а также определить раздражающие и аллергенные свойства дезинфицирующего средства «МС Гипердез».

Основная часть

Работа выполнялась на базе РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелеского» в лаборатории экологии и ветсанитарии, на виварии института.

Антимикробную активность средства изучали согласно СанПиН 21-112-99 «Нормативные показатели безопасности эффективности дезинфекционных средств» [3] и Временной инструкции «Методы испытания противомикробной активности дезинфицирующих средств» рег. № 4718 от 24 декабря 1998 г. [1].

Выявленные в суспензионном тесте эффективные концентрации проверяли на инфицированных тест-объектах (дерево, металл, бетон, кафель, резина, стекло) с белковой нагрузкой и с использованием различных экспозиций. Контролем служили тест-объекты, обработанные стерильной водопроводной водой. В качестве тест-культуры использовали золотистый стафилококк. Оценку качества дезинфекции проводили по наличию или отсутствию роста исходной тест-культуры на питательных средах, взятых с опытных и контрольных тест-объектов.

Изучение вирулицидной активности средства проводили на модели вируса гриппа птиц. В опыте использовали вирусосодержащую экстраэмбриональную жидкость развивающихся эмбрионов кур (РЭК) с титром $10^{6,7}$ ЭИД_{50/мл} вируса гриппа птиц (штамм «КМИЭВ-V 107» (H₅N₂)) и титром $10^{8,2}$ ЭИД_{50/мл} вируса гриппа птиц (штамм «КМИЭВ-V 109» (H₇N₁)). Вирусосодержащую экстраэмбриональную жидкость ставили на контакт с «МС Гипердез» в концентрации 0,1 %, 0,2 %, 0,3 %, 0,4 % и 0,5 % при комнатной температуре (20 °С) в течение 120 минут. После чего к каждой пробе добавляли нейтрализатор (1 % раствор сульфанола) в объеме, равном объему пробы. По истечении времени экспозиции с нейтрализатором 1 час, заражали 9-суточные РЭК в аллантоисную полость в дозе 0,1 мл (по 4 РЭК на разведение) и инкубировали в течение 72 часов при температуре 37,5 °С. Контролем служили РЭК, зараженные необработанным вирусом. Ежедневно проводили овоскопию эмбрионов. Результаты исследования учитывали по результатам реакций РГА.

Исследования по определению острой и хронической токсичности, аллергенных и раздражающих свойств образца средства проводили согласно «Методических указаний по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии» [2].

Острую токсичность проводили на шести группах клинически здоровых мышей, по 10 голов в каждой, обоего пола и массой $18,0 \pm 1,0$ г. Мышам первой группы вводили натошак (по АДВ) в желудок 940,0 мг/кг, второй группы – 850,0 мг/кг, третьей – 750,0 мг/кг, четвертой – 640,0 мг/кг, пятой – 530,0 мг/кг. Животным шестой группы ввели натошак в желудок воду. Наблюдение за животными вели в течение 14 суток. ЛД₅₀ рассчитывали по Кёрберу. Группу опасности определяли по ГОСТ 12.1.007 – 76.

Для определения хронической токсичности в опыте на белых мышах формировали 4 подопытных группы. Животным первой группы вводили в течение 16 дней внутрь $1/10$ LD₅₀, 2-ой – $1/20$ LD₅₀, 3-й – $1/50$ LD₅₀. Четвертая группа – контрольная (вводили дистиллированную воду). При проведении опыта учитывали общее клиническое состояние организма подопытных животных, поедаемость корма, приросты живой массы и патологоанатомические изменения в органах по окончании опыта.

При изучении местного действия на выстриженные участки кожных покровов кроликов равномерно наносили 0,1 мл средства в виде аппликации и выдерживали в течение 4 часов. По окончании четырехчасовой аппликации остатки средства удаляли ватным тампоном, смоченным теплой водой. После этого за животными вели наблюдение в течение 14 дней. Контрольным животным наносили дистиллированную воду. О наличии или отсутствии раздражения средства судили по появлению на месте аппликации гиперемии, отека, утолщения кожной складки и расчесов.

Для изучения раздражающего действия средства на слизистые оболочки и глаза провели опыт на 3-кроликах живой массой $2,0 \pm 0,5$ кг. Для этого в нижний конъюнктивальный свод правого глаза наносили однократно изучаемое средство в рабочей концентрации, а в левый (контроль) – дистилли-

рованную воду по 1–2 капли. За животными наблюдали в течение 2-недель, а первые 8 часов после инстилляций – ежечасно. Регистрировали признаки раздражения слизистой оболочки (слезотечение, птоз, инъекцию сосудов, набухание век и др.), их выраженность и длительность, состояние век и давали оценку степени выраженности раздражающего действия препарата, согласно таблице Методических указаний [2].

Для изучения сенсibiliзирующих свойств средства морским свинкам на один и тот же выстриженный участок кожи размером 1,5x2,0 см ежедневно в течение 15 суток наносили 0,1 см³ средства, контрольным животным – дистиллированную воду. После 14-дневного интервала наносили разрешающую дозу. После нанесения разрешающей дозы средства проводили учет реакции кожи (эритема, отек кожи, геморрагии, некроз) через 24, 48 и 72 часа.

Бактерицидные и вирулицидные свойства дезинфицирующего средства «МС Гипердез»

Опыты начинали с приготовления основного разведения средства (1:50). Приготовленный раствор путем последовательных разведений доводили до соответствующего разведения, в котором бактериальная культура могла быть обеззаражена. Установлено, что бактерицидное разведение средства составляло 1:164,65, фенольный коэффициент – 1,68.

В таблице отражены десятичные логарифмы и фактор редукции по отношению опытных образцов к контрольным.

Таблица 1. Антимикробная активность «МС Гипердез» к тест-культурам

Тест-культура	Концентрация раствора, %	KOE	log	RF*
Экспозиция 30 минут				
Escherichia coli	0,2	2,2 x 10 ²	2,34	5,09
	контроль	2,7 x 10 ⁷	7,43	
	0,2 + л.с.	2,2 x 10 ³	3,34	4,12
	контроль с л.с.	2,9 x 10 ⁷	7,46	
Staphylococcus aureus	0,2	2,2 x 10 ³	3,34	4,15
	контроль	3,1 x 10 ⁷	7,49	
	0,2 + л.с.	2,8 x 10 ³	3,44	4,05
	контроль с л.с.	3,1 x 10 ⁷	7,49	
Экспозиция 30 минут				
Escherichia coli	0,25	2,2 x 10 ²	2,34	5,1
	контроль	2,8 x 10 ⁷	7,44	
	0,25 + л.с.	2,2 x 10 ³	3,34	4,12
	контроль с л.с.	2,9 x 10 ⁷	7,46	
Staphylococcus aureus	0,25	2,2 x 10 ²	2,34	5,12
	контроль	2,9 x 10 ⁷	7,46	
	0,25 + л.с.	2,2 x 10 ²	2,34	4,98
	контроль с л.с.	2,1 x 10 ⁷	7,32	
Экспозиция 40 минут				
Staphylococcus aureus	0,25	2,8 x 10 ²	2,45	5,08
	Контроль	3,4 x 10 ⁷	7,53	
	0,25 + л.с.	2,8 x 10 ²	2,44	4,99
	Контроль с л.с.	2,7 x 10 ⁷	7,43	
Staphylococcus aureus	0,5	1,8 x 10 ³	3,26	5,35
	Контроль	4,1 x 10 ⁸	8,61	
	0,5 + л.с.	2,3 x 10 ²	2,36	5,07
	Контроль с л.с.	2,7 x 10 ⁷	7,43	
Экспозиция 180 минут				
M.terra	0,5	2,2 x 10 ²	2,34	5,00
	Контроль	2,2 x 10 ⁷	7,34	
	0,5 + л.с.	4,2 x 10 ³	3,63	4,0
	Контроль с л.с.	4,3 x 10 ⁷	7,63	
M.terra	1,0	6,0 x 10 ²	2,77	5,64
	Контроль	6,2 x 10 ⁷	7,79	
	1,0 + л.с.	6,1 x 10 ²	2,78	5,03
	Контроль с л.с.	6,4 x 10 ⁷	7,81	

Примечание. л.с – лошадиная сыворотка, RF* – фактор редукции более 5 lg.

Как видно из таблицы, средство оказывало воздействие на тест-микробы, относящиеся к I, II и III группам по чувствительности к дезинфектантам в количественном суспензионном методе с белковой нагрузкой и без нее: Escherichia coli (I группа) – в концентрации 0,25 %, экспозиция 30 минут,

Staphylococcus aureus (II группа) – в концентрации 0,5 %, экспозиция 40 минут, *M.terra* (III группа и микобактерии) – 1,0 % экспозиция 180 минут. В вышеуказанных концентрациях фактор редукции был выше 5 lg, что соответствует нормативным микробиологическим показателям дезинфицирующих средств (СанПиН 21-112-99).

Выявленные в суспензионном тесте эффективные концентрации проверяли на инфицированных тест-объектах (дерево, металл, бетон, кафель, резина, стекло) с использованием различных экспозиций. Контролем служили тест-объекты, обработанные стерильной водопроводной водой. Учет бактерицидного действия вели по наличию или отсутствию роста в опыте и контроле. Установлено, что рабочие растворы «МС Гипердез» обладают дезинфекционным эффектом в концентрации 0,5 %, расход средства 0,3 л/м² экспозиция 40 минут. Результаты данных исследований являются основой для проведения производственных испытаний и отработки режимов дезинфекции.

При постановке опыта по эффективности средства «МС Гипердез» против вируса гриппа птиц штамма «КМИЭВ-V 107» (H₅N₂) и штамма «КМИЭВ-V 109» (H₇N₁) установлено, что полная инаktivация вируса гриппа птиц наступала уже при концентрации препарата в 0,2 % с экспозицией 120 минут.

Острая и хроническая токсичности, раздражающие и аллергенные свойства дезинфицирующего средства «МС Гипердез».

В опытах по изучению острой токсичности средства «МС Гипердез» при его внутрижелудочном введении белым мышам установлено, что в первой группе после введения препарата гибель мышей наблюдали в 100 % случаев в течение первых 30 минут после введения средства. У животных наблюдали возбуждение, одышку, цианоз видимых слизистых и кожи. Затем наступало глубокое угнетение и кома, в результате асфиксии. Во второй группе падеж составил 80 % голов. Гибель животных происходила при схожих явлениях токсикоза, что у мышей 1-й группы. Животные, оставшиеся в живых, в течение 2 дней отказывались от воды и корма, затем их состояние улучшалось. В третьей группе падеж составлял у 50 % мышей, гибель происходила при схожих явлениях токсикоза, что у мышей 1 и 2 группы, однако признаки проявлялись в меньшей степени. В четвертой группе отмечен падеж 20 % мышей, гибель происходила с явлениями токсикоза менее выраженными, чем в 3-й группе. Смерть наблюдалась в течение 16–18 часов после введения. Оставшиеся в живых животные в течение 1–2 дней отказывались от корма, у них отмечались признаки адинамии, угнетения, затем их общее состояние постепенно улучшалось и на 2 сутки животные реагировали на внешние раздражители, охотно принимали корм и воду. В пятой группе все животные остались живы, однако в течение суток отказывались от еды, пили воду, затем их состояние на следующие сутки улучшалось, мышки принимали корм и воду, реагировали на внешние раздражители. В шестой группе (контрольной) падежа животных не отмечено. В течение всего опыта животные вели себя адекватно, охотно принимали корм и воду, реагировали на внешние раздражители.

При вскрытии павших мышей всех групп обнаруживали застойные явления в паренхиматозных органах, наблюдалась дистрофия печени, почек, желтушность слизистых оболочек, на слизистой желудка кровоизлияния. Среднесмертельную дозу определяли методом Кербера, где установлено, что LD₅₀ средства составила 730 мг/кг. Таким образом, согласно ГОСТ 12.1.007 – 76, дезинфицирующее средство «МС Гипердез» относится к III классу – умеренно опасным веществам.

В опыте по изучению хронической токсичности, внутрижелудочное введение белым мышам в течение 16 дней 1/10, 1/20 и 1/50LD₅₀ не вызвало изменений в их поведении, общем состоянии и поедаемости корма. Среднесуточные приросты мышей в опытных группах были несколько ниже по сравнению с контролем: при введении 1/10 ЛД₅₀ масса одного животного была ниже на 1,5 г, 1/20 ЛД₅₀ – на 1,0 г, 1/50LD₅₀ – на 0,6 г. При вскрытии мышей по окончании опыта изменений во внутренних органах не обнаружено.

Исследования раздражающих свойств показали, что однократное нанесение на кожу кроликов средства «МС Гипердез» отмечалась незначительная гиперемия, сухость, утолщение кожной складки в среднем через 60 минут на 1,8 мм, через 4 часа – на 1,3 мм, через 24 часа реакция кожи практически отсутствовала. Многократное в течение 20 дней нанесение кроликам рабочих растворов средства раздражения кожи не вызывало.

Нанесение на слизистую оболочку глаза кроликов вызывало незначительную инъекцию сосудов конъюнктивы в течение первых часов, исчезающую через 4 часа, при дальнейшем наблюдении в течение 24 часов признаков раздражения глаз не наблюдалось.

Ежедневные накожные аппликации морским свинкам в течение 15 дней по 0,1 см³ средства «МС Гипердез» и нанесение после 14-дневного перерыва разрешающей дозы не вызывало изменений в реакции организма и состоянии кожного покрова, что говорит об отсутствии сенсibiliзирующих свойств.

Заключение

1. Дезинфицирующее средство «МС Гипердез» оказывало действие на микрофлору I–II группы устойчивости в 0,25 % концентрации, расход средства 0,2–0,3 л/м², экспозиция 30 минут, III группы устойчивости 0,5 %, расход средства 0,3 л/м², экспозиция 40 минут, при туберкулезе – 1,0 % рабочий раствор, расход 0,5 л/м², экспозиция 3–4 часа, против вируса гриппа птиц штамма «КМИЭВ-V 107» (H₅N₂) и штамма «КМИЭВ-V 109» (H₇N₁) проявлялась в концентрации 0,2 % экспозиция 120 минут.

2. «МС Гипердез» при внутрижелудочном введении согласно ГОСТ 12.1.007 – 76, соответствует 3 классу опасности – умеренно опасные вещества (LD₅₀ = 730,0 мг/кг), не обладает хронической токсичностью, не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистые оболочки и не аллергенно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Временная инструкция «Методы испытания противомикробной активности дезинфицирующих средств»: утв. М-вом здравоохранения Республики Беларусь рег. № 4718 от 24.12.98 г. – Минск: БелНИИЭМ, 1998. – 8 с.

2. Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии / А. Э. Высоцкий [и др.]. – Минск, 2007. – 156 с.

3. СанПиН 21-112-99 «Нормативные показатели безопасности эффективности дезинфекционных средств». – Минск, – 1999.