

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА**ПРИЛОЖЕНИЕ ВЪВ ВЕТЕРИНАРНАТА МЕДИЦИНА НА АНОЛИТИ,
ПОЛУЧЕНИ ЧРЕЗ ЕЛЕКТРОХИМИЧНО АКТИВИРАНЕ НА ВОДНИ
РАЗТВОРИ ОТ АЛКАЛНИ И АЛКАЛОЗЕМНИ СОЛИ**

КАЛИНКА ГУРГУЛОВА, СТОИЛ КАРАДЖОВ, ЙОРДАН ГОГОВ,
ТЕОДОРА ГЕОРГИЕВА, ИВАН ЙОРДАНОВ¹

Национален диагностичен научноизследователски
ветеринарномедицински институт - София

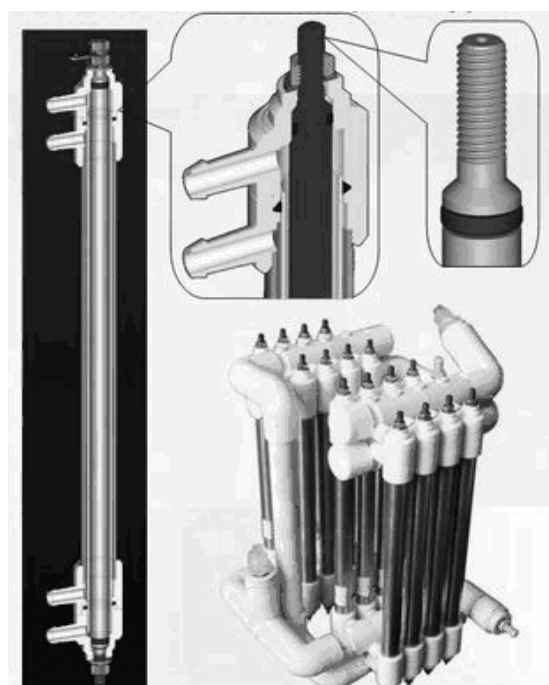
¹Фирма "Еколит" ООД - София

Съвременните технологии за производство на високоефективни, безвредни за хората, животните и околната среда антимикуробни средства водят началото си от втората половина на миналия век, след откритието за електрохимичното активиране на т.н. "разредени водни разтвори". Явлението е известно като "електрохимична активация", а самите разтвори - като "електрохимично активирани водни разтвори" (ЕХАВР), популярно наричани "жива" и "мъртва" вода.

Електрохимичното активиране се осъществява чрез протичане на слабо концентрирани водни разтвори от неорганични соли (най-често натриев хлорид), с концентрация 1, 3, 5 g за 1000 ml вода (0.1 до 0.5%) в проточни диафрагмени електролизни клетки с неразтворими електроди (фиг. 1).

В резултат на този процес възникват електрохимично активирани вещества с уникални екологични, биологични, химични и физични свойства, които никой от разрешените към момента химически биоциди не притежава. На изхода на проточната клетката се получава високоефективен дезинфекционен продукт, с широк спектър на антимикуробно действие, който е изключително безопасен за хора, животни и околна среда. ЕХАВР биват два типа: анолит и католит. Различават се един от друг по физикохимичните и биологичните си характеристики.

Анолитът представлява безцветна течност със специфична миризма на оксиданти. Характеризира се със следните показатели: рН 2 ÷ 7, окислително-редукционен потенциал (ORP) = +800 mV ÷ +1200 mV, концентрация на оксиданти (С_{ох}) = 0.005% ÷ 0.05%. Активно действащите вещества в анолита са метастабилна смес от хлоркислородни и перок-



Фиг. 1. Проточни диафрагмени електролизни клетки (единични и в блок), по Бахир
Fig.1. Flow-through electrolytic diaphragm cells (single and in block) by Bahir

сидни съединения, които в периода на своята релаксация променят относителните си концентрации. След този период анолитът се връща в изходното си състояние – ниско минерализиран воден разтвор.

Католитът също представлява безцветна течност без миризма и показатели: рН 9 ч 12, ORP = - 400 mV ÷ - 900 mV.

За разлика от анолита, който е с добре изразена оксидантна активност, католитът е мощен антиоксидант. Това му качество се дължи на разтворените в него електрондонорни съединения на водорода и кислорода, които се намират в метастабилно състояние, продуцирайки високата отрицателна стойност на ORP = - 400 mV ÷ - 900 mV.

Особена значение има фактът, че срещу произвеждания анолит няма изградена устойчивост от страна на патогенните микроорганизми. Приема се, че не е възможно и да се изгради такава устойчивост, тъй като ано-

литите са с непрекъснато изменящ се динамичен състав, ограничаващ се в рамките на вложените суровини. За широкоспектърното антимикробно действие много показателни са данните, отразени в табл. 1.

Добрите антимикробни качества на ЕХАВР дават основание за широкото им приложение във ветеринарномедицинската дейност. Установено е, че чрез поене на животните с анолит се осъществява лекуване и профилактика на стомашно-чревните вирусни и бактериални инфекции, повишават се биологичните качества на хранителните продукти от животински произход, в това число и на яйцата за люпене.

Според данните в литературата по-важните области за приложение на ЕХАВР във ветеринарната медицина са следните:

В птицевъдството анолитите могат да бъдат използвани за поене на младите птици за профилактика и лечение на стомашно-чрев-

Таблица 1. Сравнителна характеристика на най-често използвани антимикробни средства
Table 1. Comparison of the most commonly used antimicrobial agents

| Антимикробно средство Antimicrobial means | Концентрация на работния разтвор Concentration of working solution | антимикробно действие | | | | | Алергогенност и токсичност Allergenicity and toxicity | Washing and disinfection properties | | | Resistance of microorganisms |
|---|---|-----------------------|--------------|---------|-------|--------|--|-------------------------------------|-----------|-----------|------------------------------|
| | | Bacteria | Mycobacteria | Viruses | Fungi | Spores | | Да Yes | Не No | Да Yes | |
| Анолит Anolyte | 0.01 – 0.05 | + | + | + | + | + | IV | Да Yes | Не No | Да Yes | |
| Натриев хипохлорит Sodium hypochlorite | 0.1 – 0.5 | + | + | + | + | - | IV | Не No | Да Yes | Да Yes | |
| Пресепт Presept | 0.5 | + | + | + | - | - | III | Не No | Да Yes | Да Yes | |
| Хлорамин Chloramine | 1.0 – 3.0 | + | + | + | + | - | IV | Не No | Да Yes | Да Yes | |
| Хлорхексидин биглюконат Chlorhexidine bygluconate | 0.5 – 4.0 | + | + | + | - | - | IV | Не No | Да Yes | Да Yes | |
| Лизоформин-специал Lysoformine - special | 0.5 – 4.0 | + | - | + | - | - | III | Не No | Да Yes | Да Yes | |
| Виркон S Vircon S | 0.5 – 2 | + | - | + | - | - | III | Да Yes | Да Yes | Да Yes | |
| Лизетол-АФ Lisetol-AF | 2.0 – 5.0 | + | + | + | + | - | III | Да Yes | Да Yes | Да Yes | |
| Сайдек Sidex | 2 | + | + | + | + | + | III | Не No | Да Yes | Да Yes | |
| Колд Спор Cold Spor | 2 | + | + | + | + | + | IV | Не No | Да Yes | Да Yes | |
| Деконекс 50ФФ Deconex 50 FF | 0.5 – 4.0 | + | + | + | - | - | III | Да Yes | Да Yes | Да Yes | |

Забележка: Графично са показани съотношенията на концентрацията

Note: Graphic shows the ratios of concentration

ните инфекции; при дезинфекция на обувки и на ръце; дезинфекция на помещения и оборудване; обработка и обеззаразяване на добитото трупно месо за увеличение срока на съхранение; миене и дезинфекция на инкубатори и на яйцата за люпене и консумация; обработка на въздушната среда в инкубаторните и в люпилните шкафове; поене с католит на птиците в режим на обикновено хранене; поене на птиците с цел профилактика срещу контаминиране на яйцата. Дезинфекцията с анолит на въздуха, на пода, на всички повърхности в помещението и на птиците напълно инактивира вируса на птичата инфлуенца. Чрез обработката с анолит се ликвидират заболяванията на дихателните пътища и инфекциите със салмонели (**Bennett, K., 1995; Ehlers, H., 1999; Manual for Decontamination, 2000, Martin J. & A. Choosing, 1998**).

При отглеждането на преживни животни ЕХАВР с успех може да бъдат използвани за ликвидиране на хроничната диария при крави; за предпазване и лекуване на чревните инфекции при подрастващите животни; при оток на ставите при говеда; при вътрешни кръгли паразити по телетата и възрастните животни; за стерилизация на доилните инсталации; за почистване и дезинфекция на млекосъбирателните пунктове и на млековозите; за премахване на налепите по доилните инсталации и млекопроводите; за обработка на наранявания, открити рани и бактериални инфекции; за лекуване на копитен гнилец; при инфекция на дихателните пътища и диария по овцете; за повишаване устойчивостта на животните към заболявания и за по-лесното им лекуване. Чрез използването на анолит се намаляват разходите за лекуване до 90%. Анолит се използва за предварителна обработка на силажите (**Baldry, M. & L. Fraser, 1988; Ehlers, H., 1999; <http://www.radicalwaters.com>**).

В свиневъдството след обработка на помещенията с анолит, в това число и на животните, не се установяват микроорганизми. След дезинфекцията неприятната миризма от животните изчезва. Добавката на анолит към хра-

ната предотвратява контаминирането ѝ с микроорганизми, а също се извършва и вътрешна дезинфекция на животните. Значително се намаляват ветеринарномедицинските манипулации. Животните достигат необходимото кланично тегло около 3 седмици по-рано в сравнение с контролната група. Постига се пълноценно отглеждане на свинете, без антибиотици.

При отглеждането на риба и скариди употребата на анолит води до намаление на смъртността с 30 до 70%; напълно се спира употребата на антибиотици; подобрява се качеството на водата и се постига контрол върху растежа на водорасли; увеличава се добивът с 50 – 60%; съкращава се периодът на растеж от 120-160 дни на 70 дни, с което се повишава и годишният добив; подобрява се усвояването на храната; осъществява се ефикасен контрол на вирусните и бактериалните заболявания. Обработката на храната с анолит осигурява по-бърз растеж, по-малка смъртност и по-добро качество на водата в басейна. Чрез обработката с анолит се постига добро обеззаразяване на хайвера (**Manual for Decontamination, 2000; Martin J. & A. Choosing, 1998**).

В пчеларството използването на анолит за дезинфекция на инвентара и питите, а също и за профилактика и лекуване на болните семейства при отглеждането на пчели води до ефикасен контрол върху заболяванията (включително американски гнилец, аскофероза, нозематоза и др.), до повишаване на имунната защита на пчелното семейство и добива на мед (**Гургулова, К. и сътр., 2006; Ehlers, H., 1999**).

Широко приложение намират ЕХАВР и във военната област, хранително-вкусовата промишленост, за дезинфекция на кораби, вагони, самолети и др.

Като отчитаме световния опит и главно този на руските изследователи, ние си поставихме за цел:

1. Да произведем антиминокробен продукт чрез електрохимична обработка на ниско концентрирани водни солеви разтвори от нат-

риев хлорид (самостоятелно и в комбинация с натриев карбонат).

2. Да установим антимикуробното им действие по отношение на едни от най-значимите за ветеринарномедицинската практика патогенни причинители.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Експериментите проведохме с произведения от нас четири анолита, представляващи различни съотношения на анолит към католит и от различни комбинации на суровините (табл. 2).

Използвани бяха следните микроорганизми: тест щам *Staphylococcus aureus* NB/MCC 3703, спорова суспензия на тест щам *Bacillus cereus* ATCC 11778 и теренни щамове от причинители на гнилцови заболявания по пчелното пило: *Paenibacillus larvae*, *Paenibacillus alvei* (спорови форми), *Melissococcus pluton*. Приложена беше следната методична постановка: Към 9 ml анолит от различните комбинации прибавяхме 1 ml бульонна суспензия от 18-часова култура на съответния тест-микроорганизъм, стандартизирана чрез McFarland Standarts $-1,5 \cdot 10^6$ бактериални клетки в 1 ml, а при пчелните патогени – $1 \cdot 10^8$. Епруветките със суспензията поставихме на клатачна машина, при 22 °C и 500 движения за 1 min. След време на действие от 5, 10, 15, 30, 60, 120 и 240 min от всяка епруветка по-

сявахме по 0.1 ml върху подходяща твърда хранителна среда в петриеве панички. Заложени бяха общо 6 проби: 4 от анолит, 1 - от 1% Virkon S и 1 бульонна суспензия, смесена вместо с дезинфектант със стерилна дестилирана вода (контрола). При експериментите със *Staphylococcus aureus* проби вземахме на 5^{-ата}, 10^{-ата}, 15^{-ата} и 30^{-ата} минута, при *Bacillus cereus* – на 15^{-ата} и 30^{-ата} минута, 60^{-ата}, 120^{-ата} и 240^{-ата} минута и при пчелните патогени – на 15^{-ия} и 30^{-ия} минута, 60^{-ия} и 120^{-ия} минута. Степента на появилия се бактериален растеж отчитахме на 24^{-ия}, 48^{-ия}, 72^{-ия} и 96^{-ия} час от култивирането в термостат, при 37 °C. Най-масовият бактериален растеж отбелязвахме с ++++ (четири плюса), а отрицателната бактериална находка (100% инактивиране на бактериите) – с - (минус).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Получените от нас резултати показват, че при проби с №№ 1, 2, 3 и 4 е налице различна степен на антимикуробно действие, в зависимост от вида на тест-микроорганизмите и използваните за получаването на анолити изходни субстанции.

При експериментите със *Staphylococcus aureus* се констатира, че четирите анолита са с много добре изразено бактерицидно действие. Пълен бактерициден ефект е установен и при най-ниската експозиция от 5 min. (табл. 3).

Таблица 2. Характеристика на параметрите, използвани за производството на пробите анолит

Table 2. Characteristic of parameters used to produce anolyte samples

| Проба-№ Sample-No | Изходен състав Composition | pH | ОП / ORP mV | Сокс. / Socs mg/l |
|----------------------|---|--------|-------------|-------------------|
| 1 | Натриев карбонат и натриев хлорид Sodium carbonate and sodium chloride | pH 7.5 | 800 mV | 80 mg/l |
| 2 | Натриев карбонат и натриев хлорид Sodium carbonate and sodium chloride | pH 5.5 | 940 mV | 140 mg/l |
| 3 | Натриев карбонат и натриев хлорид Sodium carbonate and sodium chloride | pH 5 | 960 mV | 180 mg/l |
| 4 | Натриев хлорид / Sodium chloride | pH 4 | 1220 mV | 180 mg/l |

Таблица 3. Антимикробно действие на анолити по отношение на *Staphylococcus aureus*Table 3. Antimicrobial action of the anolyte to *Staphylococcus aureus*

| Дезинфектант Desinfectant | Бактериален растеж / Bacterial growth | | | | |
|------------------------------|---------------------------------------|---|------|------|------|
| | Проба № Sample No | Време на действие (в min) / Time of action (in min) | | | |
| | | 5 | 10 | 15 | 30 |
| 1 | - | - | - | - | - |
| 2 | - | - | - | - | - |
| 3 | - | - | - | - | - |
| 4 | - | - | - | - | - |
| Virkon S | + | - | + | + | + |
| Контрола Control | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |

(-) = отсъствие на бактериален растеж (100% инактивиране)
absence of bacterial growth (100% inactivation)

(+) = наличие на бактериален растеж / presence of bacterial growth

Подобен е и антимикробният ефект на анолитите спрямо микроорганизмите, причинители на гнилцовите заболявания по пчелното пило. Спороцидно действие спрямо спорите на изпитаните бацили и бактерицидно по отношение на *Melissococcus pluton* се регистрира при време на действие от 15 min. (табл. 5).

При спорите на *Bacillus cereus* се установява известно забавяне в спороцидното действие. Съществуват различия в антимикробния ефект и при отделните анолити (табл. 4).

Получените от нас резултати потвърждават тези на други изследователи при изпитване действието на анолити към различни видове

микроорганизми, включително и бацили (Coates, 1996; <http://www.radicalwaters.com>). Това ни дава основание да подкрепим становището им, че електрохимично активираните водни разтвори притежават значителен потенциал от биоцидно действие. Особен интерес представлява фактът, че дори и едни от най-устойчивите на дезинфектанти спори на *Bacillus cereus* се инактивират за 15 min време на въздействие при анолити с №№ 7 и 9 и до 30 min при анолит № 8 и 30 min при анолит № 6.

При съпоставяне на антимикробното действие на анолитите с това на други дезинфек-

Таблица 4. Спороцидно действие на анолити към спорите на *Bacillus cereus* ATCC 11778Table 4. Sporocidal effect of anolyte to spores of *Bacillus cereus* ATCC 11778

| Дезинфектант Desinfectant | Бактериален растеж / Bacterial growth | | | | |
|------------------------------|---------------------------------------|---|------|------|------|
| | Проба № Sample No | Време на действие (в min) / Time of action (in min) | | | |
| | | 15 | 30 | 60 | 120 |
| 1 | ++++ | ++ | - | - | - |
| 2 | - | - | - | - | - |
| 3 | ++ | - | - | - | - |
| 4 | - | - | - | - | - |
| Контрола Control | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |

(-) = отсъствие на бактериален растеж (100% инактивиране)
absence of bacterial growth (100% inactivation)

(+) = наличие на бактериален растеж / presence of bacterial growth

Таблица 5. Антимикробно действие на анолити към *Paenibacillus larvae*, *Paenibacillus alvei* и *Melissococcus pluton*Table 5. Antimicrobial action of the anolyte to *Paenibacillus larvae*, *Paenibacillus alvei* and *Melissococcus pluton*

| Вид микроорганизми Kind of microorganisms | Проба № Sample № | Време на въздействие (в min) Time of action (in min) | | | | Контрола Control |
|--|---------------------|---|----|----|-----|---------------------|
| | | 15 | 30 | 60 | 120 | |
| <i>Paenibacillus larvae</i> | 1 | - | - | - | - | |
| | 2 | - | - | - | - | ++++ |
| | 3 | - | - | - | - | |
| | 4 | - | - | - | - | |
| <i>Paenibacillus alvei</i> | 1 | - | - | - | - | |
| | 2 | - | - | - | - | ++++ |
| | 3 | - | - | - | - | |
| | 4 | - | - | - | - | |
| <i>Melissococcus pluton</i> | 1 | - | - | - | - | |
| | 2 | - | - | - | - | ++++ |
| | 3 | - | - | - | - | |
| | 4 | - | - | - | - | |

(-) = отсъствие на бактериален растеж (100% инактивиране)
absence of bacterial growth (100% inactivation)

(+) = наличие на бактериален растеж / presence of bacterial growth

ционни средства се вижда, че единствено пероцетната киселина притежава близки до анолитите биоцидни качества. Впечатляващ е фактът, че високата им биоцидна активност е съпроводена и с изключителна безвредност за хора, животни и околна среда. Това се демонстрира и от положителното влияние на вътрешно приети анолити върху оздравителния процес на някои заболявания по животните - гастроентерити при подрастващи и възрастни, опаразитяване с нематоди, цестоци и трематоди при едри и дребни преживни животни и др. (Ehlers, 1999). Чрез вътрешно приемане на анолити може да се стимулира и имунната защита на животните.

Резултатите от проведените експерименти ни дават основание да смятаме, че анолитите са подходящи и за употреба в условията на пчеларската практика за дезинфекция на пчеларски инвентар и восъчни пити, където не се налага допълнително измиване на работните повърхности с анолити, както и

за профилактика на някои заразни заболявания.

Извършените от нас експерименти по недвусмислен начин очертават електрохимично активираните водни разтвори като изключително перспективни за ветеринарномедицинската практика. Поради своята безвредност те биха могли да се определят като биоциди на бъдещето, наричани от някои автори „студен пламък”, който инактивира всички познати патогенни микроорганизми. Особено перспективно е тяхното успешно прилагане в условията на биологичното животновъдство.

ИЗВОДИ

Отделните анолити показват различен антимикробен ефект спрямо изпитаните микроорганизми – от 5 до 60 min.

Четири анолита са с много добре изразено бактерицидно действие спрямо *Staphylococcus aureus*. Констатира се, че пълно бакте-

рициден ефект е установява при най-ниската експозиция от 5 min.

Спороцидно действие спрямо спорите на изпитаните бацили и бактерицидно по отношение на *Melissococcus pluton*, причинители на гнилцовите заболявания по пчелното пило, се регистрира при време на действие 15 min.

При спорите на *Bacillus cereus* се установява известно забавяне на спороцидното действие на някои от анолитите от 15 до 60 min.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гургулова, К., Д. Илиева, Й. Христов, С. Караджов, Е. Илиев, 2006. Дезинфекция на обекти в пчеларството, контаминирани с *Paenibacillus alvei* и *Ascosphaera apis*. Екология и бъдеще, год. V, №4, 24-28.
2. Каврук, Л. С., Е. А. Зиборова, 2002. Применение анолита АНК при кишечной инфекции, Сборник „Ветеринарный консультант”, №23, Москва
3. Baldry, M. G. C., J. A. L. Fraser, 1988. Disinfection with peroxygens. Crit. Rep. Appl. Chem., 22, 91-116.
4. Bennett, Mary K., 1995. The evaluation of the efficacy of Virkon S against *Bacillus cereus* in the presence of AOAC synthetic hard water and 5% soil load. Report title VIROMED lab, Inc. July 31, p. 1-8.
5. Coates D., 1996. Sporicidal activity of sodium dichloroisocyanurate, peroxygen and glutaraldehyde disinfectants against *B. Subtilis*. J. Hos., Infect., 32, 283-294.
6. Ehlers, Hans-Joachim, 1999. Aktiviertes Wasser: Totale Desinfektion ohne Nebenwirkungen. Zeit & Raum, 99, 2.
7. Manual for Decontamination, 2000. Emergency Disease Control: The critical Need for Modern Formulated Disinfectants. Part 2: A Review of Disinfectant Types not selected by AUSVET-PLAN.
8. Martin J., Choosing A., 1998. Disinfectant The Merck Veterinary Manual, Eighth Edition, pp. 1846-1851.
9. <http://www.radicalwaters.com>.

APPLICATION IN VETERINARY MEDICINE OF ANOLYTES, OBTAINED BY ELECTROCHEMICAL ACTIVATION OF AQUEOUS SOLUTIONS FROM ALKALI AND ALKALINE EARTH SALTS

K. Gurgulova, S. Karadzov, Y. Gogov, T. Georgieva, I. Yordanov¹
National Diagnostic & Research Veterinary Medical Institute, Sofia
¹ „Ekolit” LTD, Sofia

SUMMARY

Through the course of low concentrated aqueous solutions of inorganic salts in the flow diaphragm cell are received electrochemically activated aqueous solutions (EHAVR, anolytes). The laboratory experiments were carried out to establish their antimicrobial activity. In the experiments were used test strains of *Staphylococcus aureus* NB / MCC 3703, spore forms of *Bacillus cereus* ATCC 11778 and field strains causing brood diseases - *Paenibacillus larvae*, *Paenibacillus alvei* (spore forms), *Melissococcus pluton*.

It was found that all tested anolytes have well pronounced biocidal effect against the pathogens used in the experiment. In some of them this action occurred on the 5th min, while for others - on the 15th, 30th or 60th min.

Key words: *veterinary medicine, electrochemically activated aqueous solutions (EHAVR) anolyte, biocides*