

ХИСАМУТДИНОВ АЛМАЗ ГАПТРАУПОВИЧ

**НОВОЕ ИМПОРТОЗАМЕЩАЮЩЕЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕЕ
СРЕДСТВО РЕКОДЕЗ, ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТЬ В ОТНОШЕНИИ
ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА**

06.02.05 – ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-санитарная экспертиза

06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Работа выполнена в ЗАО «Научно-производственный центр «Химтехно» и ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»

Научный руководитель	Угрюмов Олег Викторович доктор технических наук
Научный консультант	Равилов Рустам Хаметович доктор ветеринарных наук, профессор
Официальные оппоненты	Дмитриев Анатолий Федорович доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»
	Протодияконова Галина Петровна доктор ветеринарных наук, доцент, декан факультета ветеринарной медицины, заведующий кафедрой паразитологии и эпизоотологии животных ФГБОУ ВО «Якутская государственная сельско- хозяйственная академия»
Ведущая организация	ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии–МВА имени К.И. Скрябина»

Защита состоится «20» декабря 2018 года, в 12⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.034.01 при ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» по адресу: 420929, г.Казань, Сибирский тракт, 35.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» на сайтах <http://www.vak.ed.gov.ru> и <http://www.казветакадемия.рф>

Автореферат разослан «__» _____ 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Юсупова Галия Расыховна

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В системе ветеринарно-санитарных мероприятий, обеспечивающих благополучие животноводства по заразным болезням, повышение санитарного качества продуктов, сырья и кормов животного происхождения, дезинфекция занимает одно из важных мест.

Особое внимание уделяется туберкулезу – классической хронической зооантропонозной инфекции, которой подвержены многие виды домашних и диких животных, птиц и человек. Актуальность борьбы с ним обусловлено огромным экономическим ущербом, наносимым туберкулезом, и представляет острейшую проблему для ветеринарии и медицины.

Туберкулез крупного рогатого скота распространен во многих регионах мира, лишь в некоторых странах Европы и Северной Америки он близок к практической ликвидации. Прогноз о возможности искоренения туберкулеза, высказанный экспертами Всемирной организации здравоохранения в 1969 году, не оправдался как в мировом масштабе, так и в отдельных странах и регионах. Несмотря на успехи, достигнутые в борьбе с туберкулезом сельскохозяйственных животных, эта инфекция остается одной из ведущих, наиболее сложных, социально и экономически значимых инфекций. Эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в России, в целом остается напряженной (Muhlberger G., 1995; Heifets L., 1999; Healing T., 2000; Pfyffer G., 2001; Шуршук, Ю.Ю., 2006; Torossian A., 2006).

Способность микобактерий туберкулеза длительное время сохраняться в объектах внешней среды, высокая устойчивость к воздействиям различных неблагоприятных факторов, а также восприимчивость к ним практически всех позвоночных животных, птиц и человека делают эту инфекцию трудноискоренимой. В комплексе проводимых в неблагополучных хозяйствах противотуберкулезных мер важное место занимает ветеринарно-санитарные мероприятия и, в частности, дезинфекция. Разработаны и широко применяются достаточно эффективные методы и средства уничтожения микобактерий туберкулеза во внешней среде. Однако наряду со сравнительно неплохой эффективностью большинство дезинфицирующих средств, применяющихся при этой инфекции, имеют ряд существенных недостатков.

Исходя из этого, разработка новых импортзамещающих дезинфицирующих препаратов является актуальной задачей ветеринарной практики.

Степень разработанности проблемы. Несмотря на широкий ассортимент дезинфицирующих средств, разработанных и выпускаемых отечественной и зарубежной промышленностью, постоянно идет поиск новых средств и форм антимикробных препаратов, что связано с повышением требований к свойствам биоцидов (эффективность, безопасность для человека и окружающей среды, дешевизна), изменчивость микроорганизмов, приводящей к возникновению резистентных штаммов, появлению новых объектов, требующих специального подхода к их обеззараживанию.

Особое место занимают исследования по разработке композиционных дезинфицирующих средств на основе четвертичных соединений аммония. Антибактериальная активность их определяется строением и свойствами молекулы в

целом, которые зависят как от гидрофобной, так и гидрофильной части молекулы и их взаимного влияния (Угрюмова В.С., Равилов А.З. и др., 2013).

Композиционные препараты с содержанием четвертичных аммониевых соединений позволяют увеличить продолжительность контакта дезинфектанта с возбудителями инфекционных болезней, что в свою очередь помимо увеличения обеззараживающего действия, позволяет снизить концентрацию действующих веществ и тем самым снизить затраты на проведение ветеринарно-санитарных мероприятий (Николаенко А.В., 2002; Гатиатуллин И.Г., 2002; Зарипов М.Р., 2004; Гайфуллин Р.М., 2017).

Кроме того, импортные препараты, которые преобладают на рынке современных композиционных дезосредств, эффективные в отношении туберкулеза и других патогенных микроорганизмов, достаточно дороги, что зачастую делает их недоступными для предприятий АПК России.

Цели и задачи исследований. Целью исследований является изучение эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Татарстан и разработка нового эффективного импортозамещающего дезинфицирующего средства для обеззараживания животноводческих объектов, включая неблагополучные по туберкулезу.

В соответствии с указанной целью были поставлены следующие задачи:

- изучить эпизоотическую ситуацию по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Татарстан;
- определить широту спектра антимикробного действия нового импортозамещающего дезинфицирующего средства Рекоdez, включая микобактерии;
- изучить дезинфицирующую активность препарата Рекоdez в лабораторных и производственных условиях в животноводческих комплексах, в том числе неблагополучных по туберкулезу; оценить эффективность санации воздушной среды помещений при влажной дезинфекции;
- изучить токсикологические свойства разработанного препарата;
- испытать эффективность препарата в качестве биоцидной добавки к побелочному материалу;
- изучить коррозионность и пенообразующие свойства разработанного препарата;
- провести ветеринарно-санитарную экспертизу продукции животноводства, полученную после дезинфекции помещений и оборудования препаратом;
- определить экономическую эффективность санации помещений при влажной дезинфекции препаратом.

Научная новизна. На основе отечественного сырья (альдегида, гидроксида натрия и алкилдиметилбензиламмоний хлорида) разработано новое дезинфицирующее средство Рекоdez широкого спектра антимикробного действия на микроорганизмы, включая микобактерии.

Изучены физико-химические, бактерицидные, токсикологические, антикоррозионные и пенообразующие свойства препарата Рекоdez.

Разработаны режимы дезинфекции с использованием препарата Рекоdez, установлена его эффективность в качестве биоцидной добавки к побелочному

материалу. Показано снижение бактериальной обсемененности воздушной среды при проведении влажной дезинфекции препаратом Рекодез.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты, полученные при проведении научно-производственных исследований, показывают перспективность применения композиционных отечественных препаратов, с использованием альдегидов, гидроокиси и четвертичных аммониевых соединений для санации объектов ветеринарного надзора.

Разработано и предложено новое дезинфицирующее средство Рекодез. Показана его эффективность при проведении дезинфекции объектов животноводства, в том числе неблагополучных по туберкулезу хозяйствах.

Утверждены: «Инструкция по применению дезинфицирующего средства Рекодез для дезинфекции объектов ветеринарного надзора и профилактики инфекционных болезней животных и птиц» (2015), «Методика проведения производственных испытаний по оценке эффективности дезинфекции препаратом Рекодез, (2018), ТУ 9392-022-48680808-2015 на дезинфицирующее средство Рекодез прошло согласование в ФБУ «ЦСМ Татарстан» и переданы в ФГУП «Стандартинформ» в банк данных «Продукция России», системой Сертификации ГОСТ Р Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии выдан сертификат соответствия № РОСС RU.УР03.С00227.

Препарат внедрен на животноводческих, птицеводческих и звероводческих предприятиях Республик Татарстан и Марий Эл, Кировской области и других субъектах Российской Федерации. Общая площадь объектов, подвергнутых влажной дезинфекции дезинфицирующим средством Рекодез в животноводческих хозяйствах Республики Татарстан составила 28 950 м².

Методология и методы исследований. Методологией исследований являлось изучение физико-химических и токсикологических свойств, бактерицидной активности, коррозионности и пенообразующей активности препарата Рекодез. При этом использовали следующие методы: микробиологические (культивирование и идентификация на питательных средах, световую и электронную микроскопию), физико-химические (гравиметрические и электрохимические, определение пенообразующих свойств препарата), клинико-лабораторные исследования (клинический осмотр, гематологические исследования), токсикологические (оценка острой токсичности, местно раздражающего и кожно-резорбтивного действия препарата), ветеринарно-санитарную экспертизу продуктов животноводства (мяса, молока), биохимические исследования крови, статистическую обработку результатов исследования.

Результаты лабораторных исследований подтверждены производственными опытами. Проведен экономический анализ эффективности применения нового препарата.

Основные положения диссертации:

1. Эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Татарстан в период с 2000 по 2017 гг. имела тенденцию к ухудшению.

2. Новое антимикробное дезинфицирующее средство Рекодез обладает широким спектром бактерицидного, включая микобактерии, и фунгицидного действия.

3. Препарат по степени опасности относится к III классу – умеренно опасные.

4. Рекодез эффективен в качестве биоцидной добавки к побелочному материалу, обладает высокими антикоррозийными и пенообразующими свойствами.

5. Препарата Рекодез показал высокую дезинфицирующую эффективность, в благополучных и неблагополучных по туберкулезу хозяйствах, в том числе и для санации воздушной среды.

6. Дезинфицирующее средство Рекодез не оказывает отрицательного влияния на органолептические, биохимические или бактериологические показатели производимой сельхозпродукции.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов экспериментально обоснована, что подтверждается фактическими данными. Они логически вытекают из содержания работы, согласуются с поставленными целями и задачами. Основные результаты диссертации представлены и обсуждены на международных и научно-практических конференциях:

1. Международная научно-практическая конференция “Актуальные проблемы ветеринарной науки и практики”, 2016, г. Краснодар.

2. Всероссийская научно-практическая конференция "Современные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации в АПК", 2018, г. Казань.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 7 научных работ, в том числе 6 в изданиях, рекомендованных ВАК.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 130 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения, выводов, практических предложений, списка сокращений, списка использованной литературы и приложений. Работа иллюстрирована 17 таблицами и 9 рисунками. Библиографический указатель включает 311 источников, из них 94 иностранных авторов.

2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1 Материалы и методы исследования

Работа выполнена в ЗАО «Научно-производственный центр «Химтехно» и ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана».

Отдельные исследования проведены в ГБУ «Республиканская ветеринарная лаборатория», а также на базе бактериологической лаборатории ГАУЗ «Республиканский клинический противотуберкулезный диспансер». Производственные испытания проведены на базе животноводческих хозяйств.

Для изучения широты спектра антимикробного действия препарата Рекодез использовали микроорганизмы: E.coli, Staphylococcus aureus, Bac.cereus,

Aspergillus niger, *Penicilium*, *Mucor*, *M.bovis*, *M.tuberculosis*, обладающих характерными культурными и морфологическими свойствами. Микроорганизмы, используемые для определения бактерицидности препарата Рекодез, культивировались на соответствующих питательных средах.

Концентрацию водородных ионов (величина pH) определяли потенциометрическим методом по ГОСТ 50550, определение плотности дезинфицирующих растворов проводили с использованием ареометров (денсиметр) по ГОСТ 18995.1-73. Показатель оптического преломления определяли на спектрофотометре ПЭ-5300 ВИ.

Бактерицидную активность Рекодеза определяли общепринятыми методами серийного разведения и батистовых тестов. Фунгицидные свойства Рекодеза определяли общепринятыми методами.

Мониторинг эпизоотологической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в республике, проводился с учетом изучения ветеринарной отчетности Главного управления ветеринарии Кабмина Республики Татарстан. Анализ собранной информации осуществлялся согласно методическим указаниям и учебным пособиям по порядку проведения эпизоотологического исследования сельскохозяйственных предприятий (Джупина С.И., 1991; Кисленко В.Н., 2000; Бакулов И.А. и др., 2008).

Для сравнительной оценки интенсивности эпизоотического процесса (уровня заболеваемости), (I_3) – отношение числа заболевших животных к общему числу восприимчивых животных (в %) – по формуле:

$$I_3 = \frac{3 \times 100}{C_n} (\%),$$

где: 3 – количество заболевших животных за год,

C_n – среднегодовое поголовье животных.

Для выделения микобактерий проводили смывы и соскобы из объектов внешней среды. Соскобы и смывы после обработки по Алмкаевой А.П. высевали на питательную среду Левенштейна-Йенсена.

Производственные испытания проводились в животноводческих комплексах, включая неблагополучные по туберкулезу, согласно методам, изложенным в инструкциях «Проведение ветеринарной дезинфекции объектов животноводства», методическим указаниям «О порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики», «Правилам проведения дезинфекции и дезинвазии объектов ветеринарного надзора», также с учетом нормативно-правовых документов и методических указаний по осуществлению деятельности государственной ветеринарной службы Российской Федерации.

Токсикологические исследования Рекодеза проводили с учетом методических указаний «Оценка токсичности и опасности дезинфицирующих средств» (2002), Р 4.2.2643-10 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности».

Величину LD_{50} вычисляли по методу Кербера. Оценку местно-раздражающего действия проводили согласно методическим указаниям «Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование

предельно-допустимых уровней загрязнения кожи» (1980) в однократных и повторных опытах.

Ветеринарно-санитарную оценку мяса и молока после проведения влажной дезинфекции проводили общепринятыми методами, согласно ГОСТам: ГОСТ Р 5547-9-2013, 23392-78, Р 51978-99, Р 50457-92, Р 51487-99, 31449-2013. При органолептическом исследовании учитывали внешний вид, цвет, запах, консистенцию мышечной ткани и жира, состояние мышц на разрезе; прозрачность и аромат бульона. Биохимические исследования проводили в вытяжке при соотношении мяса и воды 1:3. Вытяжки из красных и белых мышц готовили отдельно. Качественную реакцию на аммиак и соли аммония проводили с помощью реактивов Несслера. Определение продуктов первичного распада белков в бульоне проводили с серноокислой медью.

Коррозионную активность Рекодеза определяли по глубинному показателю коррозионной активности и скорости коррозии металла, а также электрохимическим методом при помощи индикатора скорости коррозии для мониторинга коррозионной агрессивности сред с накопителем информации и компенсатором омического сопротивления МОНИКОР-2. Цифровые показатели измеряли мм/год, результирующие данные – в процентах. В качестве «холостой» коррозионной среды использовалась водопроводная вода сульфатного магниевого-кальциевого типа для хозяйственно-бытовых целей.

Пенообразование, пенообразующую способность исследуемого дезинфектанта и устойчивость полученных пен проводили методом продувания определенного объема воздуха через заданный объем испытуемого раствора с постоянной скоростью с использованием пористого стеклянного фильтра Шотта.

Для электронной микроскопии использовали взвесь микроорганизма *M.bovis* плотностью 2 млрд. микробных тел в 1 мл физиологического раствора, которую подвергали воздействию препарата Рекодез. Изучение ультраструктуры *M.bovis* проводили согласно методическому пособию «Электронная микроскопия в цитологических исследованиях» (Морозова К.И., 2013).

Экономическую эффективность рассчитывали по Никитину.

Статистическую обработку данных проводили по методу Ойвина с использованием таблиц Стьюдента. Цифровой материал статистически обрабатывали на персональном компьютере по общепринятым методам вариационной статистики с использованием программы Microsoft Excel.

2.2 Эпизоотологическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Татарстан

Анализ эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Татарстан с 2000-2017 г. показывает, что, в сравнении с предыдущими годами (до 2000 года), она значительно улучшилась, но оставалась напряженной.

Из 43 районов республики туберкулез регистрировался в 16, максимальное количество неблагополучных пунктов было зарегистрировано в 2001 и 2003 годы, в которые выявлено 11 и 12 пунктов, соответственно. За исследуемый период новые неблагополучные пункты по туберкулезу крупного рогатого скота в

республике не регистрировались, это 2000, 2003, 2006, 2011 и 2012 годы. Результаты эпизоотологического мониторинга туберкулеза крупного рогатого скота в РТ за 2000-2017 годы представлены на рис.1.



Рисунок 1 - Динамика регистрации первичных неблагополучных пунктов по туберкулезу КРС в Республике Татарстан (2000-2017 гг.)

Индекс заболеваемости крупного рогатого скота за период 2008-2017 годы показал, что до 2011 года уровень заболеваемости был на достаточно низком уровне, в 2011-2013 гг. произошло резкое повышение этого показателя, причем пик заболеваемости пришелся на 2012 год и составил 0,151%. Начиная с 2014 года относительное число заболевших туберкулезом животных резко снижается и в 2017г. достигает показателя 0,008%. При этом необходимо отметить, что уровень заболеваемости туберкулезом в Российской Федерации в 2017 году составил 0,027%.

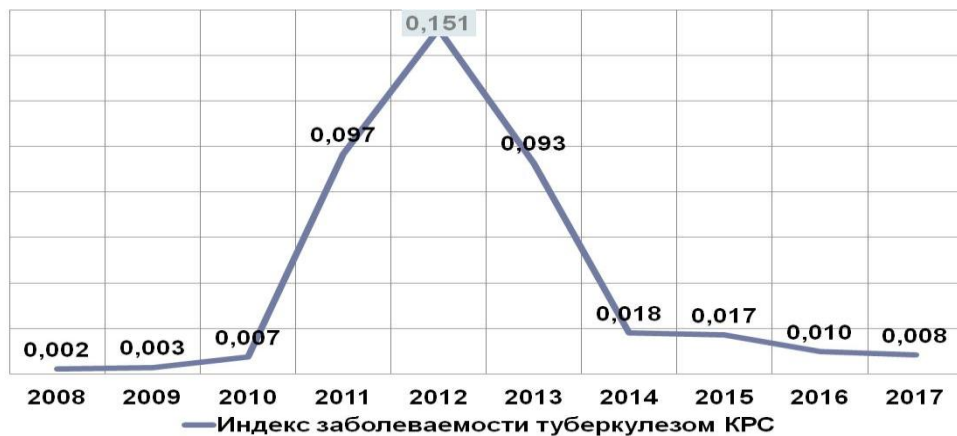


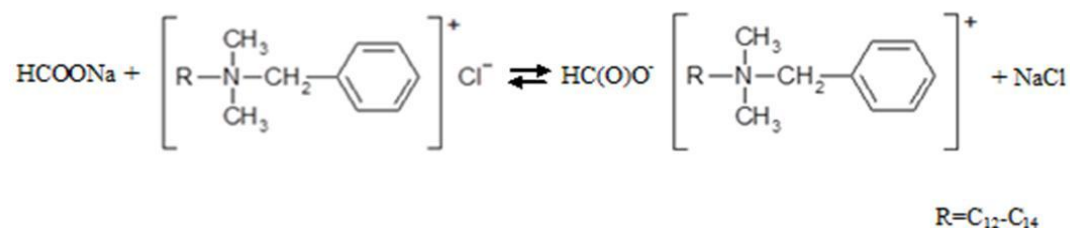
Рисунок 2 – Уровень заболеваемости туберкулезом КРС в Республике Татарстан (2008-2017 гг.).

2.3 Физико-химические характеристики препарата Рекоdez

Дезинфицирующее средство Рекоdez представляет собой композиционный препарат, содержащий в своем составе альдегид – формалин с неорганическим основанием – гидроокись натрия и четвертичное аммониевое соединение – алкилдиметилбензиламмоний хлорид, который предназначен для использова-

ния в качестве активной основы в производстве дезинфицирующего средства широкого назначения.

В результате реакции щелочи и формалина получается метиловый спирт и муравьиная кислота. Идет алдольная конденсация формальдегида и присоединение к бензольному кольцу алкилированием, две соли смешиваются, получается соль формиата и хлорид натрия:



Дезинфицирующее средство Рекоdez – однородная жидкость от бесцветного до желтого цвета (допустима опалесценция). Плотность при 20⁰С, г/см³ не менее 1,104. Показатель оптического преломления при температуре 20⁰С составляет 0,143.

Препарат Рекоdez обладает выраженной щелочной реакцией – показатель концентрации водородных ионов 1% водного раствора средства при 20⁰С 12,45

2.4 Широта спектра антимикробного действия препарата Рекоdez

Изучение широты спектра антимикробного действия при разработке новых дезинфицирующих средств является решающим этапом его дальнейшего применения в качестве дезинфектанта. Результаты изучения широты спектра бактерицидного действия препарата Рекоdez представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Бактерицидные свойства препарата Рекоdez

Препарат	Концентрация, %	Сроки экспозиции, мин								
		E.coli			St.aureus			Bac.cereus		
		5	0	0	5	0	0	5	0	0
Рекоdez	0,060	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,125	+	-	-	+	-	-	+	+	-
	0,250	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,500	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Контроль		+	+	+	+	+	+	+	+	+

При изучении антимикробного действия препарата Рекоdez установлен его широкий спектр антимикробного действия в отношении грамположительных, грамотрицательных и спорообразующих микроорганизмов.

Из представленных в таблице данных видно, что минимальная бактерицидная концентрация препарата Рекоdez в отношении E.coli и St.aureus составляет 0,125% при экспозиции 30 мин. Спороцидность препарата Рекоdez -

0,125% при экспозиции 60 мин. При концентрации 0,25% бактерицидность проявляется при экспозиции 15 мин.

Учитывая применение разработанного дезинфицирующего средства в качестве биоцидной добавки проведены исследования по изучению его фунгицидной активности (таблице 2).

Таблица 2 - Фунгицидная активность препарата Рекоdez

Микроорганизм	Концентрация, %	Экспозиция, мин		Контроль
		30	60	
Aspergillus niger	0,125	+	+	+
	0,25	+	+	+
	0,5	-	-	+
	1,0	-	-	+
	2,0	-	-	+
Penicillium	0,125	+	-	+
	0,25	+	-	+
	0,5	-	-	+
	1,0	-	-	+
	2,0	-	-	+
Mucor	0,125	-	-	+
	0,25	-	-	+
	0,5	-	-	+
	1,0	-	-	+
	2,0	-	-	+

Из представленных данных видно, что наиболее устойчивым является *Aspergillus niger*. Минимальная дезинфицирующая концентрация препарата Рекоdez составляет 0,5% при экспозиции 30 минут. Для грибов рода *Penicillium* и *Mucor* он активен в концентрации 0,125% при экспозиции 60 и 30 минут соответственно. При этом необходимо отметить, что при применении препарата Рекоdez в качестве биоцидной добавки, наблюдается единичный рост микроорганизмов в концентрации 0,25%, а при применении в концентрации 0,5% не наблюдается роста микроорганизмов.

Исходя из полученных данных, при побелочных работах в животноводческих комплексах рекомендуется готовить растворы гашеной извести для побелки на 0,5%-ном растворе препарата Рекоdez.

На основании полученных данных по изучению широты спектра антимикробного действия разработанного дезинфицирующего средства Рекоdez проведены сравнительные исследования по изучению активности компонентов, входящих в его состав, в отношении *M.tuberculosis*. Результаты исследования представлены в таблице 3.

Из представленных в таблице данных видно, что бактерицидная активность препарата Рекоdez проявляется в концентрациях 0,5% при экспозиции 180 минут. При повышении концентрации до 1% бактерицидность проявляется

при экспозиции 120 минут и в 2%-ной концентрации препарат – при экспозиции 60 минут. При этом формалин обладает туберкулоцидным действием в 2%-ной концентрации при экспозиции 180 минут, в 3%-ной концентрации – 120 минут; гидроокись натрия проявляет аналогичный бактерицидный эффект; алкилдиметилбензиламмоний хлорид проявляет бактерицидность в отношении *M.tuberculosis* в концентрации 3% при экспозиции 180 минут и в 4%-ной концентрации при экспозиции 120 минут.

Таблица 3 – Результаты сравнительного изучения бактерицидности в отношении *M.tuberculosis*

Препарат	Концентрация, %	Экспозиция, мин		
		0	20	80
Рекодез	0,5	+	+	-
	1,0	+	-	-
	2,0	-	-	-
	3,0	-	-	-
	4,0	-	-	-
Формалин	0,5	+	+	+
	1,0	+	+	+
	2,0	+	+	-
	3,0	+	-	-
	4,0	+	-	-
Гидроокись натрия	0,5	+	+	+
	1,0	+	+	+
	2,0	+	+	-
	3,0	-	-	-
	4,0	-	-	-
Алкилдиметилбензиламмоний хлорид	0,5	+	+	+
	1,0	+	+	+
	2,0	+	+	+
	3,0	+	+	-
	4,0	+	-	-
Контроль	-	+	+	+

Усиление бактерицидной активности препарата Рекодез в отношении *M.tuberculosis* в сравнении с компонентами, входящими в его состав, объясняется эффектом синергизма, связанного с содержанием в препарате поверхностно-активных веществ, что приводит к резкому снижению поверхностного натяжения раствора, что способствует более быстрому проникновению препарата сквозь оболочку клетки микроорганизма.

2.5 Дезинфицирующие свойства препарата Рекодез в отношении микобактерий

При испытании дезинфицирующего действия препарата Рекодез на тест-объектах видно, что он оказывает эффективное обеззараживающее действие на все тест-поверхности. Все смывы, взятые с этих тест-объектов, оказались стерильными, однако режим дезинфекции несколько отличается (таблица 4).

Таблица 4– Результаты изучения дезинфицирующего действия препарата Рекодез в отношении *M.tuberculosis* на тест-объектах

Тест-поверхности	Режим дезинфекции		Результаты исследований	
	Концентрация	Срок экспозиции, час	Опытные	Контрольные
Кафель	0,5	2	+	+
	1,0	2	-	+
	2,0	2	-	+
Метлахская плитка	0,5	2	+	+
	1,0	2	-	+
	2,0	2	-	+
Резина	0,5	2	+	+
	1,0	2	-	+
	2,0	2	-	+
Кирпич силикатный	0,5	2	-	+
	1,0	2	-	+
	2,0	2	-	+
Бетон	0,5	2	-	+
	1,0	2	-	+
	2,0	2	-	+
Дерево	0,5	2	-	+
	1,0	2	-	+
	2,0	2	-	+

Так, если для обеззараживания тест-поверхностей из кафеля, метлахской плитки и резины, инфицированных *M.tuberculosis* необходимы были 1-2%-ные растворы при экспозиции 2 часа, то для дезинфекции тест-поверхностей из кирпича, бетона и дерева требуется более низкая концентрация препарата Рекодез, а именно 0,5-1%-ные при том же сроке экспозиции. Это объясняется более пористой и рыхлой текстурой материала данных тест-объектов.

2.6 Изучение токсикологических свойств препарата Рекодез

При изучении острой оральной токсичности было установлено, что Рекодез относится согласно ГОСТ 12.1.007-76 к III классу опасности - умеренно опасные вещества, LD₅₀ для белых мышей – 4140 мг/кг. Препарат обладает умеренно раздражающим действием на конъюнктиву глаза, слабым местно-

раздражающим и кожно-резорбтивным действиями, не обладает сенсibiliзирующим действием.

При исследовании клинического статуса, гематологических и биохимических показателей крови крупного рогатого скота, содержащихся в помещениях после проведения влажной дезинфекции, не выявлено закономерных изменений (таблица 5).

Таблица 5 - Влияние препарата Рекодез на клинический статус, гематологические и биохимические показатели крови КРС до и после проведения влажной дезинфекции

Показатели		До обработки (контроль)		После проведения дезинфекции					
				через 24 часа		72 часа		30 дней	
		M	m	M ₁	m ₁	M ₂	m ₂	M ₃	m ₃
Клинические	температура, °C	38,7	0,21	38,9	0,19	39,0	0,19	38,9	0,17
	пульс, уд./мин	73,0	0,8	73,1	0,68	72,5	0,57	80,0	0,7
	дыхание, дых. дв./мин	11,8	0,34	11,7	0,32	11,9	0,48	12,8	0,5
Гематологические	эритроциты, 10 ¹² /л	6,8	0,09	6,38	0,07	6,95	0,07	6,81	0,05
	лейкоциты, 10 ⁹ /л	7,69	0,04	6,89	0,09	7,65	0,03	7,74	0,039
	базофилы, %	0,29	0,21	0,2	0,09	0,32	0,05	0,34	0,08
	зоинофилы, %	5,8	0,12	5,9	0,07	6,2	0,08	6,9	0,15
	нейтрофилы, %:								
	палочкоядерные	5,5	0,14	6,2	0,17	5,93	0,12	5,0	0,22
	сегментоядерные	26,8	0,51	32,4	0,43	31,3	0,29	32,2	0,28
	лимфоциты, %	55,1	0,49	54,8	0,52	56,4	0,55	52,4	0,49
моноциты, %	6,98	0,31	6,75	0,58	6,23	0,49	4,01	0,11	
Биохимические	гемоглобин, г/л	105,4	2,18	106,2	2,8	104,5	3,01	102,0	2,9
	общ.белок, г/л	72,0	0,7	71,0	0,9	75,0	0,6	74,0	0,9
	альбумины, г/л	24,9	0,5	28,0	0,23	25,1	0,4	24,1	0,2
	глобулины, г/л:								
	α	10,9	0,07	10,5	0,3	10,8	0,2	10,9	0,08
	β	9,8	0,05	9,5	0,06	9,5	0,3	9,6	0,08
	γ	22,9	0,12	24,0	0,32	25,9	0,19	26,9	0,21

Примечание: p > 0,05

2.7 Ветеринарно-санитарная оценка продуктов животноводства, полученных в условиях дезинфекции помещений препаратом Рекодез

Неотъемлемой частью при разработке и внедрении новых химических веществ, в том числе лекарственных и дезинфицирующих средств, является контроль вредных и запрещенных веществ в продукции сельскохозяйственного производства. Особое место в этом вопросе принадлежит ветеринарно-санитарной оценке продукции животноводства. Исходя из этого, проведена

ветеринарно-санитарная оценка мяса и молока при использовании дезинфицирующего средства Рекоdez в животноводческих комплексах мясного и молочного направления.

Ветеринарно-санитарная оценка мяса убойных животных показала, что дезинфектант не оказывает отрицательного влияния на органолептические и биохимические и бактериологические показатели мяса, что соответствует ГОСТам.

При органолептическом исследовании молока, полученного от коров, содержащихся в помещении после проведения влажной дезинфекции Рекоdezом установлено: по внешнему виду однородная жидкость белого цвета со слегка желтоватым оттенком с приятным специфическим запахом, слегка сладковатым вкусом. Консистенция молока однородная. Учитывая, что показатель плотности молока характеризует, в известной мере, его натуральность, было проведено исследование по определению плотности цельного молока. Установлено, что средняя плотность исследуемых проб молока составляет $1,038 \text{ г/см}^3$, что соответствует ГОСТ 31449-2013.

2.8 Коррозионные и пенообразующие свойства препарата Рекоdez

Защита от коррозии имеет крайне важное значение для промышленности, в том числе отраслей сельскохозяйственного производства, включая объекты ветнадзора. Исходя из этого, разрабатываемые новые дезинфицирующие средства должны отвечать современным требованиям, направленным в первую очередь на предотвращение коррозии технологического оборудования.

При сравнительном изучении коррозионной активности электрохимическим методом установлено, что через 30 минут коррозионная активность дезинфектанта Рекоdez снизилась до 0,27 мм/год, формалина – 2,7 мм/год, едкого натра – 1,4 мм/год. При дальнейших замерах коррозионная активность дезинфектора Рекоdez остается неизменной и составляет 0,009 мм/год. Замеры проводились в течение 3 часов. Защитный эффект препарата Рекоdez – 99%. Результаты исследований представлены на рисунке 3.

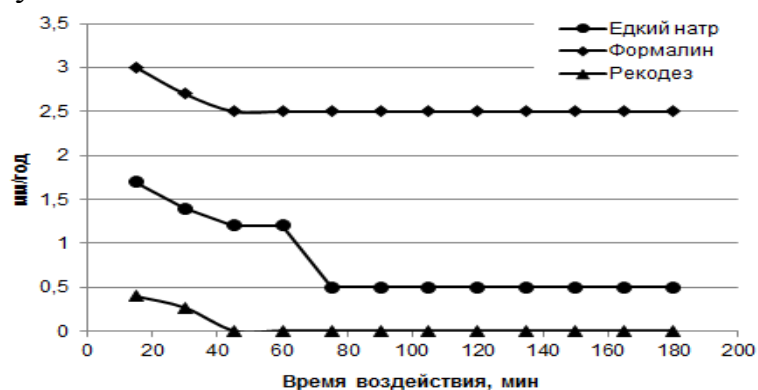


Рисунок 3 – Сравнительная оценка показателей коррозионной активности формалина, едкого натра и дезинфектора Рекоdez, полученные электрохимическим методом

Таким образом, наличие в Рекодезе ПАВ обеспечивает свойства ингибиторов коррозии по механизму экранирования и донорно-акцепторного взаимодействия.

Отмечая выраженную антикоррозионную активность препарата Рекоdez необходимо отметить его пенообразующие свойства. При изучении пенообразующей активности препарата Рекоdez установлено, что пенообразование отмечается уже при концентрациях от 0,2%. При концентрации Рекодеза 4,48 мг/л устойчивость пены достигает 50%. Результаты исследования представлены на рисунке 4.

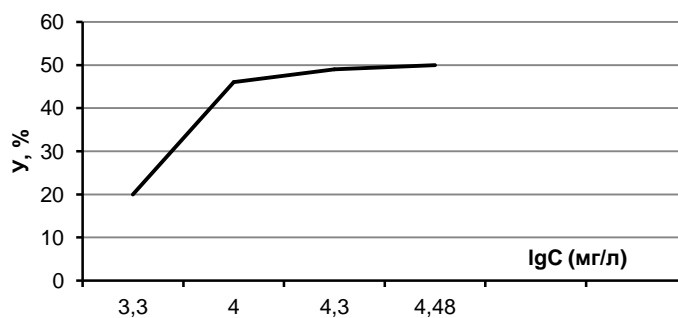


Рисунок 4 – Зависимость устойчивости пены от концентрации дезинфицирующего средства Рекоdez

2.9 Электронно-микроскопическое исследование ультраструктуры микобактерий под воздействием дезинфицирующего средства Рекоdez

Для подтверждения результатов бактерицидного действия препарата в лабораторных опытах, было проведено электронно-микроскопическое исследование интактной и после воздействия дезсредством клетки возбудителя туберкулеза.

Изучение ультраструктуры микобактерий *M.bovis* показало, что интактная клетка – контроль (рисунок 5) имеет типичную для микобактерии ультраструктуру: микрокапсула, наружный слой клеточной стенки, клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана и скопление рибосом.

Изучение ультраструктуры клетки *M.bovis* под воздействием различных концентраций раствора препарата Рекоdez показало, что при использовании препарата в концентрации 0,5% при экспозиции 2 часа (рисунок 6) наблюдается частичное изменение микрокапсулы, контур которой не четко выражен и местами приобретает пониженную электронную плотность. Так же регистрируется локальное размытие цитоплазматической мембраны в виде диффузной массы. Цитоплазма клетки имеет участки различной электронной плотности, рибосомы не дифференцируются.

Повышение концентрации препарата до 1% при том же сроке экспозиции (рисунок 7) приводит к более резким изменениям клеточной структуры микобактерии. При этом видны повреждения микрокапсулы и клеточной стенки, локализованные преимущественно на апикальных концах клетки, они теряют четкие очертания и приобретают вид волокнистой массы. Электронная плотность цитоплазмы неоднородна отмечаются места с повышенной плотностью.

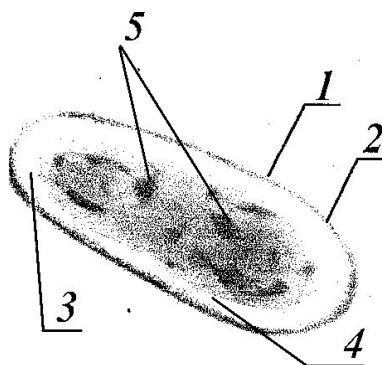


Рисунок 5 – Ультраструктура *M. bovis*, негативное контрастирование, x10000 (контроль).

1. Микрокапсула
2. Наружный слой клеточной стенки
3. Клеточная стенка
4. Цитоплазматическая мембрана
5. Скопление рибосом

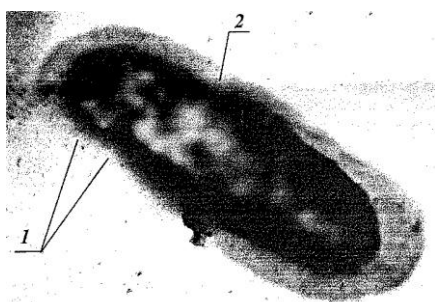


Рисунок 6 – *M. bovis* после воздействия 0,5% раствора препарата Рекодез, негативное контрастирование, x10000

1. Частичное изменение микрокапсулы
2. Локальное размытие цитоплазматической мембраны

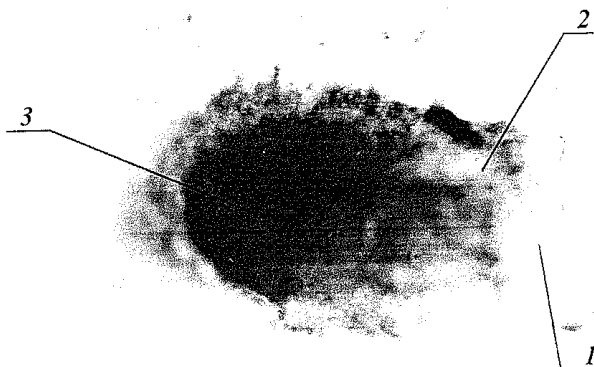


Рисунок 7 – *M. bovis* после воздействия 1% раствора препарата Рекодез, негативное контрастирование, x10000.

1. Повреждение микрокапсулы
2. Повреждение клеточной стенки
3. Неоднородность цитоплазмы.

Таким образом, механизм воздействия препарата Рекодез на микроорганизмы заключается в том, что молекулы поверхностно-активного вещества способны не только повышать проницаемость клеточных поверхностных структур – микрокапсулы и клеточной стенки – для различных веществ или полностью разрушать их, но и могут денатурировать белки, включая ферменты, вырабатываемые микроорганизмом.

Полученные данные подтверждают высокую бактерицидную активность препарата Рекодез в отношении микобактерий туберкулеза.

Заключительным этапом исследований по эффективности дезинфицирующей активности препарата Рекодез было проведение производственных испытаний его в животноводческих хозяйствах, включая неблагополучные по туберкулезу.

В результате проведенных производственных испытаний в благополучном хозяйстве установлено, что при исследовании проб взятых после проведения дезинфекции препаратом Рекодез не выявлено роста *E.coli*, *St.aureus*, бактерий *Bacillus*, а также грибковой микрофлоры, при обильном росте в контрольных пробах, взятых до проведения дезинфекции. Полученные данные констатируют, что качество проведенной дезинфекции удовлетворительное. Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Результаты производственных испытаний препарата Рекодез при влажной дезинфекции

Тест-объект	До дезинфекции				После дезинфекции			
	МПА	Среда Эндо	Солево й МПА	Среда Чапека	МПА	Среда Эндо	Солевой МПА	Среда Чапека
Стена	+	+	+	+	-	-	-	-
Пол	+	+	+	+	-	-	-	-
Кормушка	+	+	+	+	-	-	-	-
Поилка	+	+	+	+	-	-	-	-

При изучении влияния влажной дезинфекции препаратом Рекодез на бактериальную обсемененность воздушной среды установлено, что суммарная общая бактериальная обсемененность до дезинфекции составила 220 колоний, после проведения дезинфекции препаратом Рекодез 37 колоний. Снижение общей бактериальной обсемененности воздушной среды коровника после проведения влажной дезинфекции составляет 83,2% (таблица 7).

При проведении производственных испытаний дезинфицирующего средства Рекодез при заключительной дезинфекции в неблагополучном по туберкулезу хозяйстве установлено, что в пробах, взятых в коровнике с пола в качестве контроля до проведения дезинфекции, наблюдается обильный рост *St.aureus* и единичных колоний микобактерий.

Таблица 7 – Результаты изучения санации воздушной среды животноводческого помещения при влажной дезинфекции Рекодезом

№№ чашки	Время экспозиции (мин)		Результаты (количество колоний)	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
1	40	40	43	11
2	40	40	70	12
3	40	40	60	9
4	40	40	47	5
Итого			220	37
%			100	16,8
% снижения после проведения дезинфекции			83,2	

При применении 2%-ного раствора с экспозицией 2 часа не выявлено роста санитарно-показательных микроорганизмов – микобактерий и стафилококков при заключительной дезинфекции. Результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Производственные испытания дезинфицирующей активности препарата Рекоdez при заключительной дезинфекции в неблагополучном по туберкулезу хозяйстве

Тест-объекты	До дезинфекции		После дезинфекции	
	St.aureus	M.tuberculosis	St.aureus	M.tuberculosis
I этап заключительная дезинфекция до механической очистки				
Пол	+	Единичные колонии	-	-
II этап заключительная дезинфекция после механической очистки				
Пол			-	-
Стена			-	-
Кормушка			-	-
Поилка			-	-

Таким образом, на основании проведенных производственных исследований установлена высокая дезинфицирующая активность препарата Рекоdez при текущей дезинфекции животноводческих комплексов. Показана высокая эффективность санации воздушной среды при проведении влажной дезинфекции препаратом Рекоdez. Проведенными производственными испытаниями дезинфицирующей активности препарата Рекоdez в неблагополучном по туберкулезу животноводческом комплексе установлено, что препарат активен в отношении микобактерий. Не выявлено роста «тест-микробов» при заключительной дезинфекции до механической очистки помещений, а также после механической очистки. Контроль качества дезинфекции удовлетворительный.

При анализе экономической эффективности применения нового импортзамещающего средства Рекоdez установлено, что обработка рабочим раствором 1м² дезинфицирующим средством Рекоdez составляет 89 копеек, в то время как наиболее популярными дезинфицирующими средствами отечественного и импортного производства составляет в среднем от 1 рубля 65 копеек до 5 рублей 89 копеек.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изыскание новых дезинфектантов широкого спектра действия, включая возбудитель туберкулеза, является приоритетным направлением. Проведенные исследования являются научным обоснованием применения препарата Рекоdez в животноводстве. Полученные результаты позволили сделать следующие выводы.

1. Эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Татарстан за период 2000-2017 гг. имела тенденцию к ухудшению. Индекс заболеваемости по Республике за 2017г. составил 0,08%. На 1 января 2018 года в Республике Татарстан оставалось два неблагополучных пункта.

2. Разработано новое широкого спектра антимикробное дезинфицирующее средство Рекоdez на основе четвертичного аммониевого соединения (алкилдиметилбензиламмоний хлорида), альдегидов и гидроокиси натрия.

3. Установлена высокая бактерицидная активность дезинфицирующего средства Рекоdez, в отношении грамположительных, грамотрицательных, спорообразующих микроорганизмов, микроскопических грибов и микобактерий, что подтверждено электронно-микроскопическими исследованиями.

4. Препарат Рекоdez по степени опасности согласно ГОСТ 12.1.007-76 относится к третьему классу опасности – умеренно опасные (LD₅₀ для белых мышей – 4140 мг/кг, обладает слабым местно-раздражающим и кожно-резорбтивным действием, не обладает сенсibiliзирующим действием).

5. Показана высокая дезинфицирующая активность препарата Рекоdez в отношении микобактерий в лабораторных и производственных условиях.

6. Препарат Рекоdez активен в качестве биоцидной добавки.

7. Препарат Рекоdez обладает высокой антикоррозийной и пенообразующей активностью.

8. Производственными испытаниями показана высокая дезинфицирующая активность препарата Рекоdez, включая неблагополучные по туберкулезу хозяйства, а также эффективность санации воздушной среды после влажной дезинфекции животноводческих помещений. Снижение общей бактериальной обсемененности воздушной среды составляет 83,2%.

9. Анализ полученных данных ветеринарно-санитарной оценки продукции животноводства показал, что применение дезинфицирующего средства Рекоdez не оказывает отрицательного влияния на органолептические, биохимические или бактериологические показатели мяса и молоко, полученного от коров, что соответствует ГОСТ и СанПиН.

10. Сравнительная экономическая эффективность показала, что применение в настоящее время наиболее популярных дезинфицирующих средств отечественного и импортного производства по стоимости обработки рабочим раствором 1 квадратного метра составляет в среднем от 1,65 рублей до 5,89 рублей, обработка дезинфицирующим средством Рекоdez – 0,89 рублей.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

1. Разработано и предложено производству новое эффективное дезинфицирующее средство Рекоdez широкого спектра антимикробного действия, включая возбудитель туберкулеза.

2. Разработаны и утверждены нормативно-технические документы: Инструкция по применению дезинфицирующего средства Рекоdez для дезинфекции объектов ветеринарного надзора и профилактики инфекционных болезней животных и птиц. Технические условия ТУ 9392-022-48680808-2015.

3. Получен сертификат соответствия № РОСС RU.УР03.С00227.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Угрюмов, О.В. Новые импортозамещающие дезинфицирующие препараты для животноводства и птицеводства / О.В. Угрюмов, Р.С. Яруллин, А.Г. Хисамутдинов, А.П. Алексеев, В.С. Угрюмова, А.З. Равилов, Н.В. Борисова // *Аграрная тема*. - 2015. - №8(73). - С.17-19.

2. Угрюмова, В.С. Токсикологическая оценка нового импортозамещающего дезинфицирующего средства Рекоdez / В.С. Угрюмова, А.Г. Хисамутдинов, О.В. Угрюмов, Р.Х. Равилов, Р.С. Яруллин, А.З. Равилов // *Ученые записки Казанской ГАВМ*. - 2016. – Т. 225 (I). - С.71-75. *

3. Угрюмов, О.В. Изучение коррозионной и пенообразующей активности нового импортозамещающего дезинфицирующего средства «Рекоdez» / О.В. Угрюмов, Р.С. Яруллин, А.Г. Хисамутдинов, В.С. Угрюмова, Р.Х. Равилов, А.З. Равилов, Р.М. Гайфуллин, И.Н. Давлетханов, А.С. Насыбуллина // *Вестник технологического университета* – 2018 – Т.21(3) - С.94-97. *

4. Угрюмова, В.С. Ультраструктура *Mycobacterium bovis* при воздействии дезинфицирующего средства «Рекоdez» / В.С. Угрюмова, А.Г. Хисамутдинов, О.В. Угрюмов, Р.Х. Равилов, А.З. Равилов, Р.С. Яруллин // *Ученые записки Казанской ГАВМ*. - 2018. – Т. 233 (I). - С.149-152. *

5. Угрюмова, В.С. Ветеринарно-санитарная оценка продуктов животноводства при использовании дезинфектанта Рекоdez / В.С. Угрюмова, А.Г. Хисамутдинов, О.В. Угрюмов, Р.Х. Равилов, А.З. Равилов, Р.С. Яруллин, М.М. Валиев // *Ученые записки Казанской ГАВМ*. - 2018. – Т. 234 (II). - С.200-202. *

6. Хисамутдинов, А.Г. Эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Татарстан / А.Г. Хисамутдинов, Д.Н. Мингалеев, Р.Х. Равилов, М.М. Валиев, В.С. Угрюмова, О.В. Угрюмов, А.З. Равилов // *Ученые записки Казанской ГАВМ*. - 2018. – Т. 234 (II). - С.209-215. *

7. Хисамутдинов, А.Г. Производственные испытания импортозамещающего дезинфицирующего средства Рекодез в животноводческих комплексах / А.Г. Хисамутдинов // Ветеринарный врач. - 2018. - №3. - С.60-64. *

Примечание: *- публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ