

ДЕЙСТВИЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

В эпизоотологии туберкулеза одним из важнейших является вопрос устойчивости микобактерий к дезинфицирующим средствам. По устойчивости к дезинфицирующим средствам микобактерии превосходят все грамположительные и грамотрицательные бактерии, уступая в этом отношении только спорам. Традиционными дезинфицирующими средствами при туберкулезе являются хлорсодержащие препараты, обладающие широким спектром действия. Их применяют для дезинфекции животноводческих помещений с профилактической целью, а также для текущей и заключительной дезинфекции при туберкулезе.

В последние годы нашел широкое применение в качестве бактерицида глутаровый альдегид. Он оказывает стабилизирующее и фиксирующее действие на микробные клетки, не вызывая значительных изменений в структуре микробов, при этом угнетается синтез РНК и ДНК.

Изучение препарата ГЛАК-Ц показало, что бактерицидные концентрации по выживаемости составили 0,05%, при этом основная масса (75% клеток) погибла в первые минуты контакта с препаратом, при 60-минутной экспозиции гибель клеток составила 96%. В практике ветеринарной дезинфекции при туберкулезе используется препарат на основе альдегида, условно названный НБ. Рост культур микобактерий туберкулеза при обработке данным препаратом прекращался при 15-минутной экспозиции. Растворы перекиси водорода эффективны в 2%-ной концентрации при экспозиции 45 минут. Действующим началом перекиси водорода является атомарный кислород, но действие его более слабое, чем у надуксусной кислоты, в связи с чем целесообразно при дезинфекции перекись водорода подкислять уксусной или другой органической кислотой (Самойленко И.И. и др.,

1983). Исследования С.Т. Дермичева и К.М. Досанова (1993) свидетельствуют о туберкулицидной активности препарата «Дезоксана-1».

Г.Г. Нехорошевой и др. (1974) установлено, что поверхностно-активные вещества (ПАВ), особенно катионоактивные (катамин АВ), способны растворять липиды с поверхностей клеток, что свидетельствует о возможности использования этих химических агентов в композиционных препаратах для дезинфекции туберкулеза.

Дезинфицирующие средства, содержащиеся в качестве действующего вещества катионные ПАВ, имеют ряд преимуществ: они хорошо растворимы в воде, не имеют резкого запаха, не вызывают коррозию металлов и оказывают антиадгезивное действие на бактерии. Из всех поверхностно-активных соединений катионные являются самыми сильными бактерицидами, так как положительно заряженная гидрофильная группа сначала уменьшает, а затем нейтрализует заряд клеточной стенки (Isa-paa B., 1979).

В последние годы для регистрации в России из зарубежных стран все чаще стали поступать средства, содержащие в своих рецептурах ПАВы, предназначенные для дезинфекции туберкулеза. Спектр импортных препаратов из группы ПАВ-септоксилин, сепустин вызывают гибель микобактерий туберкулеза. В настоящее время ведутся разработки новых препаратов и композиций на основе йодафоров, ПАВ, щелочных растворов, содержащих альдегиды и диальдегиды и другие органические и неорганические соединения. Щелочь растворяет липиды, а препараты из группы альдегидов и диальдегидов, проникая в поврежденную клетку, инактивируют белки и ДНК. Гибель клетки происходит за счет синергического эффекта (Павлова И.Б. и др., 1985, 1986).

Высокую устойчивость к воздействию внешних факторов проявляют микобактерии, находящиеся в стадии L-трансформации. По данным С.Т. Абимулдина и А.А. Байгазанова (1992), они сохраняются живым при воздействии изониазида в воде (25 мкг/мл) и переносят концентрацию препарата в 50 раз выше, чем вегетативные формы.

По данным Т.М. Путиной (1989), *M. fortuitum* устойчив ко всем хлорактивным препаратам, альдегидам и ПАВ-содержащим композициям. *M. phlei* обладал невысокой устойчивостью, но был устойчив к метациду (100%) и хлорионизаду.

В настоящее время для целей дезинфекции применяется лак «Интерцид», который является новой перспективной формой антимикробного покрытия поверхностей на основе соли полигексаметиленгуанидина (ПГМГ) - высокомолекулярного производного специфического азотистого основания изанидина, применяемого в дезинфекции. Используют его в качестве антимикробного покрытия стен и помещений с целью профилактики туберкулеза. По исследованиям А.С. Федорова с соавт. (2000), дезинфекционная активность этого препарата с использованием в качестве тест-микроба *M. B5* через 24 часа составляла 100%.

По данным литературы известно, что различные виды микобактерий обладают различной чувствительностью к одному и тому же дезинфектанту. Для изучения данного вопроса необходимо использовать тест-микробы из разных групп микобактерий.

Важным звеном комплекса борьбы с туберкулезом являются профилактические ветеринарно-санитарные мероприятия и, главным образом, изыскание эффективных дезинфицирующих препаратов для уничтожения возбудителя во внешней среде.

В настоящее время разработаны и опубликованы «Рекомендации по профилактике и ликвидации туберкулеза крупного рогатого скота в опытных хозяйствах Российской академии сельскохозяйственных наук» ВНИИВСГЭ (авторы: заслуженные деятели науки РФ д.в.н., проф. А.А. Закомырдин, М.П. Бутко, д.в.н. Л.С. Каврук, д.в.н., проф. В.Г. Тюрин и др.), в которых да-

ны основные эффективные дезинфицирующие средства, производимые в России. К таким средствам относятся: раствор хлорной извести, раствор нейтрального гипохлорита кальция с содержанием 5%-ного активного хлора, щелочной раствор формальдегида (смесь 3%-ных растворов формальдегида и едкого натра), 1%-ный (по ДВ) раствор глутарового альдегида, 2%-ный (по формальдегиду) раствор метафора, 8%-ная эмульсия феносмолина и др. Растворы наносят однократно из расчета 0,5-1 л/м² в зависимости от доступности обработки и структуры объекта, экспозиции действия дезинфектанта увеличивают до 6-10 ч.

Однако устойчивость микобактерий и их обитание в окружающей среде ставят задачу перед исследователями в разработке новых научно обоснованных препаратов, эффективно действующих при дезинфекции объектов ветеринарно-санитарного надзора.

Известно, что в природных условиях микроорганизмы находятся в ассоциациях, при этом взаимоотношения между ними осуществляются по типу симбиотического либо антагонистического сосуществования. Использование биологически активных веществ (БАВ), продуцируемых многими спорообразующими бактериями, является одним из перспективных экологически безопасных способов борьбы с патогенными и потенциально патогенными бактериями.

Для получения продуктов животноводства высокого санитарного качества, создания устойчивого ветеринарного благополучия, организации мер борьбы с инфекционными болезнями животных и охраны окружающей среды необходимо разработать эффективные методы и режимы санации животноводческих помещений и объектов окружающей среды.

Н.П. Тарабукина с соавт. (2000) выделили из мерзлотных почв и воздуха штаммы спорообразующих бактерий рода *Bacillus*, характеризующиеся высокой антагонистической активностью в отношении кишечной палочки, стафилококков, стрептококков, сальмонелл, бруцелл и микобактерий. В течение 5-летних сезонов было показано полное обеззараживание птичьего помета и

подстилочного навоза в условиях птицефабрики.

Актуальной задачей современной микробиологии является изыскание наиболее эффективных химических веществ для создания препаратов, обладающих бактерицидным эффектом в отношении патогенных микобактерий.

Целью настоящих исследований было изучение действия на популяции микобактерий препарата «Диметилсульфоксида» (ДМСО), широко применяемого в медицинской практике под названием «Димексид».

В качестве тест-культуры в опытах использовали сапрофитный штамм М.В-5. По устойчивости он аналогичен *Mycobacterium avium*. Изучение действия димексида на популяции клеток микобактерий М.В-5 проводили используя методы световой и сканирующей электронной микроскопии.

Штамм микобактерий М.В-5 культивировали на МПА. Рост колоний при 37°C наблюдается через 24-48 ч. Для изучения роста популяции микобактерий в монослойной культуре на тонкий слой МПА на стерильном предметном стекле наносили уколом культуру клеток микобактерий В-5. Стекла помещали в стерильную чашку Петри. Через 24 часа через прозрачный слой агара в световом микроскопе были видны ветвистые, палочковидной формы клетки, объединенные межклеточным матриксом. В центральной части микроколонии клетки с поверхности были закрыты покровами.

На монослойную культуру микобактерий В-5 наносили 1-2 капли 0,1-1%-ного раствора ДМСО и проводили микроскопирование и фотосъемку препаратов.

Для детального исследования морфологии клеток микобактерий В-5 в контроле и после воздействия ДМСО применяли метод серийных разведений. С этой целью применяли мембранные фильтры «Владипор» № 2 диаметром пор 0,15-0,25 мкм, помещенные на поверхность МПА в чашки Петри. Концентрация клеток микобактерий в экспериментах составила 10^8 кл/мл. Дозаторной пипеткой каплю бактериальной взвеси в количестве 500 мкл наносили на поверхность мембранных фильтров. Чашки термостатировали при 37°C в течение 2-3 суток. После инкубации в

пределах диаметра фильтра наблюдали рост колоний, количество которых зависело от разведения бактериальной взвеси. При концентрации клеток 10^3 , 10^4 получали рост изолированных колоний микобактерий. Фильтры с выросшими изолированными колониями снимали с поверхности питательной среды и помещали в стерильные чашки Петри. На поверхность колоний наносили 50 мкл 0,1-1%-ного раствора ДМСО. Экспозиция составляла 20-30 мин. при температуре +20°C. По истечении указанного времени колонии микобактерий в контроле и обработанные ДМСО фиксировали парами 25%-ного глутарового альдегида, обезжизняли парами пропиленоксида. Тест-объекты контрольных и опытных образцов напыляли платиной и просматривали в сканирующем электронном микроскопе «Hitachi-800».

Для предварительного исследования действия ДМСО на популяцию клеток микобактерий использовали метод световой микроскопии. В контрольных препаратах монослойной культуры *Mycobacterium В-5* на поверхности палочковидных ветвящихся клеток выявлен массивный покров, через который едва заметны очертания клеток. После воздействия ДМСО отчетливо видно растворение покрова, в результате чего хорошо дифференцировались длинные ветвящиеся клетки и очаги разрушения целостности покрова.

Исследование образцов препаратов в сканирующем электронном микроскопе позволило более детально изучить действие ДМСО на поверхностные структуры клеток микобактерий. Установлено, что в контрольных препаратах клетки микобактерий с поверхности закрыты покровом, в глубине которого иногда видны очертания клеток.

После обработки колоний ДМСО выявлено растворение покровов и изменение морфологии клеток. При детальном анализе видна деформация клеток, лишенных покровов. Выявлены очаги L-трансформации в виде округлых клеток протопластного типа и мелких клеток (0,5-0,7 мкм) - L-форм.

Высокая устойчивость микобактерий к различным абиотическим и биотическим факторам связана со структурными и биохимическими особенностями бактериальных клеток. Данные литературы

свидетельствуют о том, что экзопродукты и клеточные стенки микобактерий отличаются высоким содержанием липидов, которые образуют сложные полимеры с пептидами и полисахаридами.

Данные, полученные в наших экспериментах, свидетельствуют о том, что диметилсульфоксид (ДМСО) растворяет липиды, составляющие основу покровов и клеточной стенки микобактерий, что вызывает нарушение ее целостности и последующую L-трансформацию клеток с образованием L-форм. Популяции гетероморфных клеток микобактерий, включая L-формы, не способны к процессам адгезии и, следовательно, колонизации как одному из факторов накопления количества бактерий.

Полученные данные позволяют предположить, что ДМСО можно использовать в композиционных препаратах для лечения, а также для дезинфекции ветеринарно-санитарных объектов, неблагополучных по туберкулезной инфекции.

Библиографический список

1. Абимильдина Е.Т. Устойчивость L-форм микобактерий к некоторым лекарственным веществам / Е.Т. Абимильдина, А.А. Байгазанов // Семипалатинск: Зоотех.-вет. институт, 1992. С. 75-77.
2. Дермичев С.Г. Включение меченых предшественников макромолекулярных соединений в клетки патологических и сапрофитных микобактерий в присутствии «Дезоксана-1» / С.Г. Дермичев, К.М. Досанов, Т.В. Лоринелли // ЖМЭИ. 1993. № 6. С. 19-20.
3. Павлова И.Б. Исследование механизмов инактивации бактерии при воздействии катионного ПАВа / И.Б. Павлова, И.И. Самойленко // Антибиотики и мед. Биотехнология. 1985. № 3. С. 182-183.
4. Поляков А.А. Ветеринарно-санитарные мероприятия при туберкулезе / А.А. Поляков, А.Ф. Меньш // Ветеринария. 1983. № 9. С. 19-21.
5. Самойленко И.И. Исследование механизмов бактерицидного действия перекиси водорода / И.И. Самойленко, Е.И. Васильнова, И.Б. Павлова, М.Н. Тумянин // ЖМЭИ. 1983. № 12. С. 30-33.

