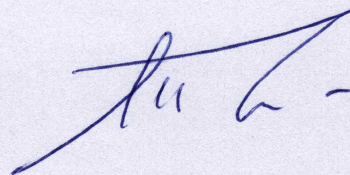


На правах рукописи



ПУГАЧ ОЛЕГ ПАВЛОВИЧ

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ТОКСИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА
ПРЕПАРАТА АКВАДЕЗ-НУК 5**

**4.2.1. Патология животных, морфология, физиология,
фармакология и токсикология**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург – 2023 г.

Работа выполнена на кафедре фармакологии и токсикологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

Научный руководитель – Лунегов Александр Михайлович,
кандидат ветеринарных наук, доцент.

Официальные оппоненты: Дельцов Александр Александрович, доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина», заведующий кафедрой физиологии, фармакологии и токсикологии им. А. Н. Голикова и И. Е. Мозгова;

Попов Пётр Александрович, доктор ветеринарных наук, Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, Руководитель ВНИИВСГЭ.

Ведущая организация – ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н. Э. Баумана».

Защита состоится ²⁵ сентября 2023 года в 11.00 часов на заседании диссертационного совета 35.2.034.02 на базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д.5; тел/факс (812) 388-36-31, e-mail: secretary@spbguvm.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5 и на официальном сайте: <https://spbguvm.ru>

Автореферат разослан: « _____ **» 2023 г.**

Ученый секретарь
диссертационного совета

Хватов Виктор Александрович

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Основной задачей ветеринарной службы является осуществление контроля над санитарным состоянием объектов ветеринарного надзора в целях предотвращения попадания патогенной и условно-патогенной микрофлоры в продукты потребления человека и получения качественного сырья и безопасной продукции (Дорожкин, В. И. 2017; Садыков, Н. И., Мингалиев, Д. Н., Равилов Р. Х., 2021; Кисиль, А. С., 2017; Крупальник, В. Л., 2005).

В соответствии с законом РФ «О ветеринарии» ветеринарно-санитарные мероприятия на объектах ветеринарного надзора являются основными. Данные мероприятия значительно повышают продуктивность животных и снижают ущерб, причиняемый возбудителями различных заболеваний (Дорожкин, В. И., 2016; Прокопенко, А. А., 2017).

Высокая концентрация животных и птиц на ограниченной территории предприятий по их содержанию и выращиванию таит в себе высокую опасность, связанную с возникновением и распространением инфекционных заболеваний (Любов, А. С., 2018; Дельцов А. А., Содбоев Ц. Ц., Шукин М. В., Введенская Е. М., 2022).

Появление большого количества штаммов микроорганизмов, резистентных к антибиотикам, представляет собой проблему международного уровня. Чтобы сохранить темпы роста сельхоз продукции, ветеринарно-санитарные мероприятия, дезинфекция, приобретают первостепенное значение, так как чувствительность микроорганизмов к антисептикам и дезинфектантам развивается медленно (Барышев, В.А., 2017, 2018; Кобзев, Е. Н., 2014; Bertels, G., 1987; Glass, V., 1997).

В системе ветеринарно-санитарных мероприятий дезинфекция занимает одно из важных мест, способствуя обеспечению благополучия животноводства по заразным болезням, повышению продуктивности животных, птицы и санитарного качества продуктов, сырья и кормов животного происхождения. Основное назначение дезинфекции – разорвать эпизоотическую цепь путем воздействия на ее важнейшее звено – фактор передачи возбудителя болезни от источника инфекции к восприимчивому организму. Дезинфекцию объектов ветеринарного надзора включают в план противоэпизоотических мероприятий по каждой ферме, хозяйству, району, области, краю, республике (Лукина, Е. А., 2018; Палий, А. П., 2015; Broda, D. M., 1999; Degnan, A. J., 1992).

В плане предусматривают сроки проведения, методы и режимы дезинфекции производственных и вспомогательных помещений, спецодежды, обуви, транспортных средств, территорий и других объектов обработки (Коротких, Г. И., 1980; Киселев, А. Л., 2010).

Большое значение имеет технология дезинфекционных мероприятий, которая для практических ветеринарных врачей должна быть эффективной как с биологической, экологической, так и с экономической точки зрения (Маклаков, А. С., 2007, 2009; Бутко М. П., Попов П. А., Онищенко Д. А., 2018).

В современных геополитических условиях, также важен переход российских производителей сельскохозяйственной продукции на использование отечественных средств для дезинфекции. Вместе с тем, данная процедура не должна быть принесена в жертву качеству. Поэтому необходимо не только изыскивать новые качественные дезинфицирующие средства, способные заместить импортные аналоги, но внедрять в практику только самые экономичные из них (Угрюмов, О. В., 2016; Угрюмова В. С., 2016).

Степень разработанности проблемы. В настоящее время разработаны и широко применяются в ветеринарии эффективные методы дезинфекции. Однако каждый из них, наряду с высокой эффективностью, не лишен определенных недостатков. Разработка новых методов и средств дезинфекции объектов ветеринарного надзора, устраняющих недостатки существующих методов и экономически выгодных в сравнении с ними, является актуальной задачей, имеющей важное государственное значение.

Анализ источников литературы показывает, что в последнее время в нашей стране активизируется процесс создания новых эффективных дезинфицирующих средств и технологий их применения (Андреева, Н. Л., 2017; Барышев, В. А., 2017; Боченин, Ю. И., 1969; Гаврилов, В. А., 1992; Иванова, Е. Б., 2006).

Наиболее перспективны разработки по созданию новых дезинфицирующих средств на основе перекисных соединений, перекисных соединений в комплексе с различными стабилизаторами и поверхностно-активными веществами, фумигационных аэрозолей, бактерицидных пен (Боченин, Ю. И., 1982; Морозов, В. Ю., 2017; Мухамедшина, А. Р., 2018; Никитин, Г. С., 2015; Подшибякина, А. С., 2020). Использование композиционных средств повышает эффективность уже имеющихся antimicrobных препаратов за счет их сочетаний. При этом одновременно решаются две задачи: уменьшение расхода препарата и снижение выработки устойчивости у патогенной микрофлоры к данному препарату (Андреева, Н. Л., 2016, 2019).

Согласно международным правилам, новые, высокоэффективные, экологически безопасные ветеринарные средства и рациональные технологии дезинфекции должны оказывать бактерицидное и вирулицидное действие на широкий спектр микроорганизмов, быть безопасными для персонала, а качество препаратов должно соответствовать общепринятым нормам. В последнее время к новым дезинфектантам предъявляются особые требования с целью предотвращения загрязнения окружающей среды и обеспечения безопасности человека и животных (Кабардиев, С. Ш., 2016; Ayliffe, G., 1990; Babb, J., 1991; Hobbs, B., 2008, Rotter, M., 1994; Russel, A., 1991).

Цель и задачи исследования. Цель – изучить бактерицидные, фунгицидные, токсикологические свойства нового отечественного дезинфицирующего средства «АКВАдез-НУК 5» и определить его экономическую эффективность применения в животноводческих помещениях.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

– определить бактерицидные и фунгицидные свойства дезинфектанта «АКВАдез-НУК 5» и сравнить их с импортным аналогом «IncimaxxDES» и средством отечественного производства «Дезинфексан»;

– изучить токсикологические свойства дезинфектанта «АКВАдез-НУК 5» и сравнить их с импортным аналогом «IncimaxxDES» и средством отечественного производства «Дезинфексан»;

– сопоставить антимикробную активность дезинфектанта «АКВАдез-НУК 5» в условиях животноводческих помещений с дезинфектантами «IncimaxxDES» и «Дезинфексан»;

– вычислить экономическую эффективность дезинфицирующего средства «АКВАдез-НУК 5» и сравнить с эффективностью применения дезинфектантов «IncimaxxDES» и «Дезинфексан».

Научная новизна работы. Впервые были установлены бактерицидные, фунгицидные и токсикологические свойства нового дезинфицирующего средства «АКВАдез-НУК 5». На основании полученных в экспериментах данных была составлена инструкция к применению «АКВАдез НУК 5», выпускаемому в форме пены для дезинфекции в животноводческих помещениях (одобрена и рекомендована к применению Координационным Советом по проблемам животноводства, ветеринарии и АПК Европейского Севера Северо-Западного Центра междисциплинарных исследований проблем продовольственного обеспечения ФГБУН «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр РАН»).

Теоретическая и практическая значимость. На основании экспериментальных данных разработана и утверждена инструкция по применению средства «АКВАдез НУК 5» в форме пены для дезинфекции в животноводческих помещениях.

Установлено, что новый отечественный дезинфектант «АКВАдез-НУК 5», выпускаемый в форме пены для обработки животноводческих помещений, обладающий бактерицидным и фунгицидным действием, имеет преимущества перед импортным аналогом «IncimaxxDES».

Результаты исследований внедрены в производственную деятельность ЗАО «Березовское» Ленинградской области, АО «Красносельское» Ломоносовского района Ленинградской области, ОАО «Совхоз Толвуйский» Республика Карелия и АО «Племенной завод Красная Балтика» Ленинградской области. Результаты исследований внедрены в учебный процесс: ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный агротехнический университет», ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина».

Методология и методы исследований. При исследовании нового отечественного дезинфектанта «АКВАдез-НУК 5» для дезинфекции руководствовались «Правилами проведения дезинфекции и дезинвазии объектов государственного ветеринарного надзора» (2002), а также «Методическими указаниями о порядке испытания новых дезинфицирующих средств для

ветеринарной практики» (утв. ГУВ МСХ СССР от 07.01.1987). В ходе работы использовали бактериологические, токсикологические, патологоанатомические методы, а также метод математической статистики – пробит-анализ по Финни с использованием лицензионного программного обеспечения Statistica+® 2005 версия 3.5.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- дезинфектант «АКВАдез-НУК 5» обладает выраженным бактерицидным действием в отношении *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*;
- дезинфектант «АКВАдез-НУК 5» обладает выраженным фунгицидным действием в отношении *Candida albicans*;
- токсикологическими исследованиями определен III класс опасности дезинфектанта «АКВАдез-НУК5»;
- в животноводческих помещениях препарат «АКВАдез-НУК 5», в сравнении с импортным аналогом «IncimaxxDES», проявляет идентичную бактерицидную активность в отношении *E. coli* и *S. aureus*;
- применение «АКВАдез-НУК 5» экономически эффективно для дезинфекции объектов ветеринарного надзора.

Апробация работы. Основные положения выносимые на защиту и результаты исследований доложены и одобрены на международных конгрессах и конференциях: Международная научная конференция профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ, г. Санкт-Петербург, 27–31 января 2014 г., V Международный конгресс ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии», г. Санкт-Петербург, 22–24 мая 2019 г., XVI Международной научно-практической конференции «Инновационные исследования как локомотив развития современной науки: от теоретических парадигм к практике», г. Москва, 15 декабря 2019 г.

Личный вклад соискателя. Непосредственно автором осуществлен анализ отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационной работы; проведена статистическая обработка, описание, анализ и интерпретация полученных результатов; сформулированы выводы и научно-практические рекомендации. Автором лично и в соавторстве выполнены эксперименты в лабораторных и производственных условиях, касающиеся изучения свойств исследуемых дезинфектантов, теоретическое и экспериментальное обоснование возможного использования препаратов «АКВАдез-НУК 5» для дезинфекции объектов ветеринарного надзора, изучены токсикологические свойства дезинфектантов, изучена бактерицидная активность «АКВАдез-НУК 5», «Дезинфексан» и «IncimaxxDES» в лабораторных и производственных испытаниях, а также разработана инструкция по применению средства «АКВАдез-НУК 5».

В статьях, опубликованных совместно с Лунеговым А. М., Андреевой Н. Л., Барышевым В. А., Кузьминым В. А., Пугач В. А. основная часть работы выполнена диссертантом. Соавторы не возражают в использовании данных

результатов. Личный вклад соискателя в проведенные исследования и их анализ составляет 85%.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертация соответствует паспорту научной специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология: п. 18. Скрининг, фармацевтическая разработка и исследование механизмов действия лекарственных веществ, кормовых добавок и дезинфектантов на животных, органах и тканях, культурах клеток.

Публикации результатов исследования. Результаты исследований, включенные в диссертационную работу, опубликованы в 8 печатных работах, 4 из которых изданы в научных изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 172 страницах компьютерного текста, состоит из общей характеристики работы, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, обсуждения результатов исследований, заключения, практических предложений, перспективы дальнейшей разработки темы исследований, списка литературы и 18 приложений. Работа иллюстрирована 32 таблицами и 16 рисунками. Список литературы включает 228 источников, в том числе 52 иностранных авторов.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы и методы

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургской государственной ветеринарной медицинской академии», на кафедре фармакологии и токсикологии, исследования проводились в колхозе им. Куйбышева Калачеевского района Воронежской области в помещениях стойлового содержания крупного рогатого скота в период отсутствия животных в данных помещениях.

В качестве препаратов для дезинфекции были использованы «АКВАдез-НУК 5», «Дезинфексан» и «IncimaxxDES». Сравнительные исследования проводились в соответствии с «Методическими указаниями о порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики» (утв. ГУВ МСХ СССР от 07.01.1987). Исследования представлены в печатных работах и обсуждены на научно-практических конференциях.

В лабораторных условиях использовались музейные штаммы микроорганизмов *E. coli* (штамм 1257), *P. aeruginosa* (штамм ATCC 27853), *S. aureus* (штамм 906), *S. typhimurium*, *C. albicans* (штамм 15)

Алгоритм определения бактериостатической и бактерицидной активности препаратов для дезинфекции. Определение бактериостатической и бактерицидной активности ДС проводили в соответствии с Руководством Р

4.2.2643-10 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности.»

Культивирование микроорганизмов. Тест-микроорганизмы *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* и *S. aureus* культивировали на МПА при температуре 37°C в течение 18-24 часов. Рабочие культуры хранили на скошенном МПА.

Культуру грибов *C. albicans* культивировали на агаре Сабуро при температуре плюс 27°C в течение 48 часов. В качестве среды для метода серийных разведений использовали бульон Сабуро.

Бактерицидную активность и МПК дезинфицирующих средств для *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* и *S. aureus* определяли методом серийных разведений.

Алгоритм изучения бактерицидных свойств дезинфицирующих средств на тест-объектах с имитацией белковой загрязненности. Изучение свойств дезинфицирующих средств было выполнено в соответствии с «Методическими указаниями о порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики».

Лабораторные испытания проведены на тест-объектах из нержавеющей стали, оцинкованного железа, кафельной и метлахской плитки, дерева, бетона.

В качестве тест-микроорганизмов использовали культуры кишечной палочки и золотистого стафилококка. Для имитации естественной загрязненности поверхностей использовали инактивированную сыворотку крови лошади, которую наносили на тест-поверхности из расчета 0,5 г/100 см².

Исследования на лабораторных животных. Экспериментальная работа выполнена на 240 взрослых крысах самцах породы Wistar, весом 210–250г.

Формирование групп животных проведено по принципу аналогов, были отобраны особи одного возраста, отличающиеся друг от друга живой массой не более чем на 10%.

С целью исследования показателей острой токсичности дезинфектантов было создано 15 групп крыс по 10 особей в каждой.

Для исследования местнораздражающих свойств дезинфицирующих средств было сформировано 18 групп крыс по 5 особей в каждой.

Животные получены из благополучного по инфекционным и инвазионным заболеваниям питомника (ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово»», Ленинградская обл.).

Лабораторных животных содержали в условиях вивария с соблюдением основных зооигиенических требований: температурный режим 18–22°C, 12-часовой световой день.

Устройство и оборудование вивария для содержания лабораторных крыс соответствовало Приказу Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики» и Санитарно-эпидемиологическим правилам СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)», утверждённые

постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 29 августа 2014 г. № 51).

Исследование показателей острой токсичности дезинфицирующих средств. В ходе серии экспериментов по изучению острой токсичности было использовано 150 лабораторных крыс.

Препараты вводили крысам интрагастрально с использованием специализированного внутрижелудочного зонда.

Период наблюдения за животными составлял 14 дней. В течение всего периода эксперимента у животных оценивали общее состояние путем клинического исследования. Ежедневно в протоколах фиксировали особенности поведения, интенсивность и характер двигательной активности, реакцию на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители, состояние волосяного и кожного покрова.

Для проведения исследования каждого дезинфицирующего средства формировали группы по 10 животных в каждой: группе 1 вводили дозу дезсредства в 2000 мг/кг; группе 2 вводили дозу дезинфектанта 3000 мг/кг; группе 3 вводили в средство в дозе 4000 мг/кг; группе 4 вводили дозу в 5500 мг/кг; группу 5 считали контрольной, так как животным в ней вводили по 1 мл 0,9% физиологического раствора на животное. Оценку результатов проводили в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76.

Статистическую обработку данных летальности проводили методом пробит-анализа по Финни. Методологической основой применявшейся методики служили труды Н. Л. Беленького, посвященные статистической обработке данных альтернативных реакций. В качестве критерия мы учитывали гибель лабораторных животных. Вследствие потенциальной сильной изменчивости лабораторных животных нами была поставлена цель выявить среднюю летальную дозу, а также дозы, которые вызывают эффект на 16%, 84%, а также 100% животных. Вместе с тем, из-за принципиальной невозможности статистическими методами доказать дозу вызывающую гибель у всех животных нами было принято решение заменить данный показатель на дозу, вызывающую гибель у 99% лабораторных животных. Решение задачи вычислений LD_{16} , LD_{50} , LD_{84} и LD_{99} сводилось к определению коэффициентов линейного уравнения регрессии $n = b_0 + b_1x$, где n – нормальное эквивалентное отклонение связанное с пробитами, а коэффициенты b_0 и b_1 находили по следующим формулам:

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^N x_i y_i z_i \times \sum_{i=1}^N z_i - \sum_{i=1}^N x_i z_i \times \sum_{i=1}^N y_i z_i}{\sum_{i=1}^N z_i \sum_{i=1}^N x_i^2 z_i - (\sum_{i=1}^N x_i z_i)^2}$$
$$b_0 = \frac{\sum_{i=1}^N y_i z_i \times b_1 (\sum_{i=1}^N x_i z_i)}{\sum_{i=1}^N z_i}$$

Где x_i – i -е значение дозы исследуемого ДС, y_i – i -е значение пробита для наблюдаемого эффекта, относящегося к определенной дозе x_i , z_i – i -е значение весового коэффициента пробита, соответствующего y_i , N – количество экспериментов.

$$X = \frac{Y - b_0}{b_1}$$

Где X – соответствующее значение летальной дозы, Y – значение пробита соответствующего этой зоне.

Для уменьшения влияния факторов биологической изменчивости мы также определяли величину стандартной ошибки средней летальной дозы.

Расчеты проводились двумя методиками для с целью взаимной проверки получаемых результатов с использованием лицензионного программного обеспечения MS Excel и Statistica+® 2005 версия 3.5. Уравнение и график уровня регрессии формировали в лицензионной программе Statistica+® 2005 версия 3.5.

Исследование местнораздражающего действия дезинфицирующих средств на кожу, роговицу и конъюнктиву глаза у крыс. При исследовании раздражающего действия на кожу и глаза лабораторных животных руководствовались рекомендациями, описанными в «Оценка токсичности и опасности дезинфицирующих средств. Методические указания. МУ 1.2.1105-02» утвержденному главным государственным санитарным врачом РФ Г. Г. Онищенко 10.02.2002 г.

Производственные испытания. Во время проведения дезинфекции мы руководствовались рекомендациями «Правил проведения дезинфекции и дезинвазии объектов государственного ветеринарного надзора утверждены Министерством сельского хозяйства Российской Федерации 15 июля 2002 г. № 13-5-2/0525».

Для проведения работ использовали пеногенератор TORNADOSCO/52. В процессе производственных испытаний исследовались следующие концентрации рабочих растворов: 0,10%; 0,25%; 0,50%. Норма расхода определялась как 0,35 л/м² с экспозицией 30 мин. Температура окружающего воздуха во время проведения дезинфекции составляла 19-20°C, а относительная влажность 80–85%.

Влажное состояние поверхностей оставалось в течение двух часов. Смывы для бактериологических исследований отбирались через 30 мин с обработанных поверхностей. Полученные результаты сравнивали с результатами бактериологического исследования до обработки, которое считалось контролем и делали вывод об эффективности дезинфектанта.

2.2 Результаты исследований

2.2.1 Определение бактериостатической и бактерицидной активности «АКВАдез-НУК 5» в сравнении с «IncimaxxDES» и «Дезинфексан»

Активность дезинфицирующих средств «АКВАдез-НУК 5», «Дезинфексан» и «IncimaxxDES» изучалось по методу серийный разведений, в которых использовались суточные культуры *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* и 48-часовые культуры *C. albicans*. В процессе исследований были установлены минимальные концентрации, при которых проявлялась бактерицидное и бактериостатическое действие.

Показано, что новое дезинфицирующее средство «АКВАдез-НУК 5» проявляет аналогичные свойства с импортным аналогом «IncimaxxDES» в отношении культур *E. coli* и *S. aureus*. В концентрации 0,0160% обладают способностью останавливать рост бактерии *E. coli*, а при концентрации в 0,0630% наблюдается бактерицидный эффект. Для культуры *S. aureus* бактериостатическая концентрация равна 0,0040%, в то время как бактерицидная 0,0310%.

В отношении культуры *P. aeruginosa*, бактериостатическая концентрация «АКВАдез-НУК 5» равна 0,0080%; «IncimaxxDES» - 0,0040%, а бактерицидная обоих средств равна 0,0160%. «АКВАдез-НУК 5» предотвращает рост *S. typhimurium* в концентрации 0,0040%; «IncimaxxDES» при 0,0020%, однако бактерицидный эффект обнаруживается при 0,0080%. Для дрожжеподобной *C. albicans* наступление эффекта, при котором рост колоний останавливается мы наблюдали в концентрации 0,0040%, «IncimaxxDES» при 0,0080%, а полную гибель при использовании 0,0080% разведений у обоих дезинфицирующих средств.

Выявлено, что дезинфицирующее средство «Дезинфексан» в концентрации 0,0020% обладает способностью останавливать рост бактерии *E. coli*, а при концентрации в 0,004% наблюдается бактерицидный эффект. Для культуры *S. aureus* минимальная эффективная бактериостатическая концентрация равна 0,0005%, в то время как минимальная бактерицидная 0,0040%. В отношении культуры *P. aeruginosa*, минимальная бактериостатическая концентрация равна 0,0003%, а бактерицидная концентрация 0,0020%. В отношении *S. typhimurium* «Дезинфексан» в концентрации 0,0005% оказывает бактериостатическое действие, однако выраженный бактерицидный эффект наступает только при концентрации в 0,0020%. Для дрожжеподобной *C. albicans* наступление эффекта, при котором рост колоний останавливается, мы наблюдали в концентрации 0,0003%, а полную гибель в концентрации 0,0010%.

Полученные результаты доказывают, что новый дезинфицирующий препарат «АКВАдез-НУК 5» проявляет выраженную бактерицидную активность как в отношении тест-микроорганизмов *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, так и в отношении дрожжеподобного гриба *C. albicans*. Этот факт свидетельствует о том, что данный препарат оказывает бактерицидные свойства, как против грамположительных, так и против грамотрицательных микроорганизмов, а также имеет фунгицидную активность.

2.2.2 Изучение бактерицидных свойств средства «АКВАдез-НУК 5», «IncimaxxDES» и «Дезинфексан» на тест-объектах с имитацией белковой загрязненности

Изучение дезинфицирующих свойств средства «АКВАдез-НУК 5», «IncimaxxDES», «Дезинфексан» на тест-поверхностях с имитацией белковой загрязненности на тест-культурах *E. coli* и *S. aureus*. проводили с использованием пеногенератора TORNADOSCO/52.

В лабораторных условиях исследована бактерицидная активность 0,10%, 0,25%; 0,50% разведения средств «АКВАдез-НУК 5», «IncimaxxDES» (данные растворы наносились в виде пены), а также средства «Дезинфексан».

Разрабатывая режимы дезинфекции тест-поверхностей рабочими растворами, обсемененные микроорганизмами тест-объекты располагали горизонтально и вертикально. За показатель эффективности средства при дезинфекции поверхностей служила 100% гибель тест-культур.

Контроль проведенной дезинфекции тест-поверхностей осуществляли, исследуя смывы с опытных и контрольных тест-объектов на обнаружение ранее занесенного микроорганизма. С целью определения *E. coli* использовалась питательная среда Эндо, для *S. aureus*— 6,5% солевой МПБ и 8,5% солевой МПА. Финальный учет результатов опыта проводили через 7–14 суток. За эффективную концентрацию дезинфицирующих растворов принимали ту, которая обеспечивала по результатам не менее трех экспериментов обеззараживание всех использованных в работе тест-объектов при условии наличия роста в посевах с контрольных тест-объектов.

Наиболее быстрым по скорости обеззараживания тест-поверхностей оказалось средство «Дезинфексан». Он смог уничтожить все тест-микроорганизмы на всех типах поверхностей за 30 мин в 0,25% концентрации. Препараты «IncimaxxDES» и «АКВАдез-НУК 5» смогли полностью обеззаразить тест-объекты через 60 минут в 0,25% концентрации после начала эксперимента, что так же является приемлемым результатом для включения их в цикл производственных испытаний.

2.2.3 Определение показателей острой токсичности

С целью изучения острой токсичности средств «АКВАдез-НУК 5», «IncimaxxDES», «Дезинфексан» при пероральном введении были поставлены эксперименты на белых крысах породы Wister самцах массой 220-230 г. в дозах 2000, 3000, 4000 и 5500 мг/кг.

Для проведения опытов крысы были разделены на группы по 10 голов. Одна группа в десять животных служила контролем, для которой внутрижелудочно вводилось по 1 мл 0,9% раствора натрия хлорида. Для изучения каждого дезинфицирующего средства использовалось по 50 лабораторных животных.

Дезинфектант вводили в чистом виде. После введения в течение двух недель за лабораторными животными велось наблюдение. В эксперименте учитывалась гибель животных и клиническая картина интоксикации. Патологические изменения различных органов у некоторых павших животных.

Для расчетов LD_{16} LD_{50} LD_{84} LD_{99} применялся метод пробит-анализа с использованием лицензионного программного обеспечения Statistica+® 2005 версия 3.5, для определения пробитов мы использовали таблицу для перевода процентов в пробиты по Блиссу, а для 0,0% и 100,0% рекомендованной М.Л. Беленьким, весовые коэффициенты определяли по таблице, разработанной Финни (Finney).

Графическая визуализация прямой регрессии, полученной с использованием специализированного программного обеспечения для статистической обработки данных, относительно полученных экспериментальных данных с использованием метода пробит-анализа по Финни представлены рисунками 1, 2, 3.

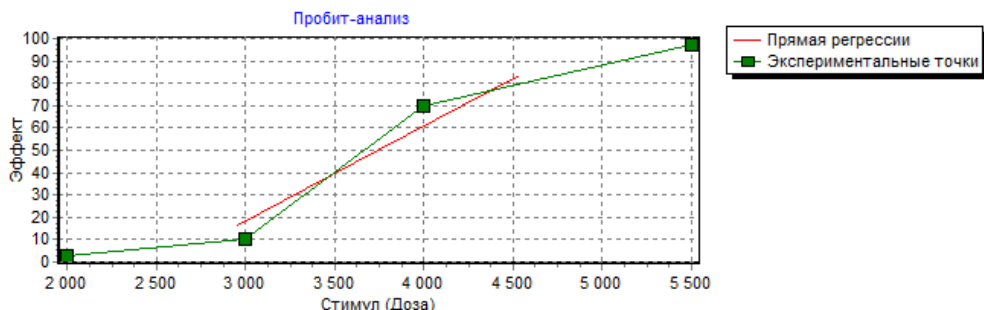


Рисунок 1 – Прямая регрессии летальных доз «АКВАdez-НУК 5» относительно полученных экспериментальных данных.

Проведенный анализ, и статистическая обработка позволила утверждать, что для дезинфицирующего средства «АКВАdez-НУК 5» (рисунок 1) LD_{16} составила 2864,91 мг/кг; LD_{50} - $3676,22 \pm 347,37$ мг/кг; S_{LD50} - 347,37 мг/кг; LD_{84} - 4585,86 мг/кг; LD_{99} - 5040,69 мг/кг.

Анализ данных летальных доз для дезинфицирующего средства «IncimaxxDES» (рисунок 2): LD_{16} - 2805,80 мг/кг; LD_{50} - $3778,33 \pm 402,71$ мг/кг; S_{LD50} - 402,71 мг/кг; LD_{84} - 4767,00 мг/кг; LD_{99} - 5261,33 мг/кг.

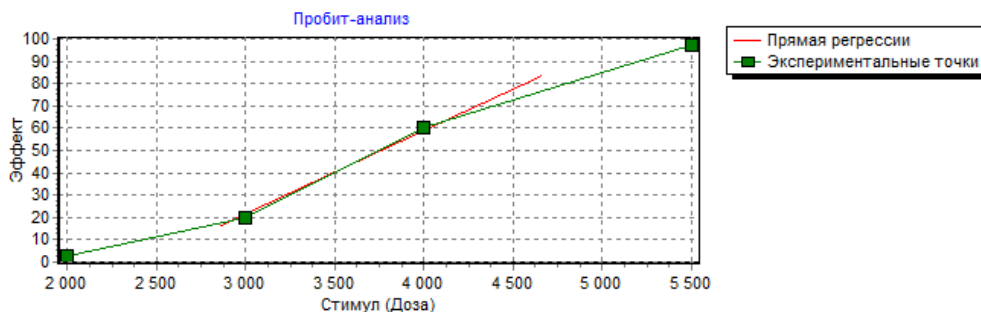


Рисунок 2 – Прямая регрессии летальных доз «IncimaxxDES» относительно полученных экспериментальных данных.

Анализ данных летальных доз для дезинфицирующего средства «Дезинфексан» (рисунок 3): LD_{16} - 2925,95 мг/кг; LD_{50} - $3875,70 \pm 402,42$ мг/кг; S_{LD50} - 402,42 мг/кг; LD_{84} - 4810,85 мг/кг, LD_{99} - 5278,43 мг/кг.

Проведенная статистическая обработка полученных данных показала значительную зависимость летальности от величины вводимой дозы препарата.

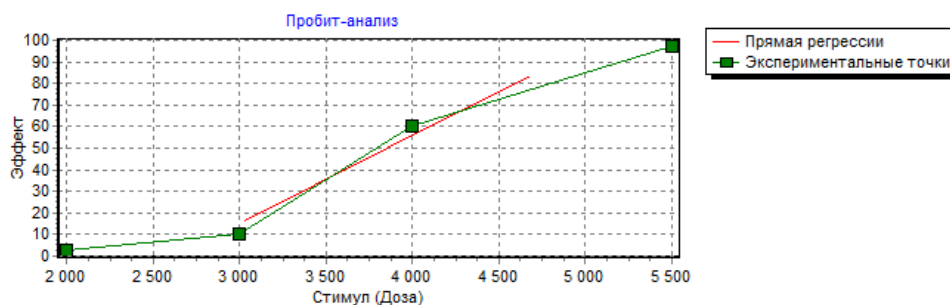


Рисунок 3 – Прямая регрессии летальных доз «Дезинфексан» относительно полученных экспериментальных данных.

По итогам данного исследования нами был сделан следующий вывод, что исследуемые дезинфектанты, «АКВАдез-НУК 5», «IncimaxxDES» и «Дезинфексан», относятся к III классу опасности по ГОСТ 12.1.007-76 (умеренно-опасные соединения).

2.2.4 Изучение местнораздражающего действия на кожу, роговицу и конъюнктиву глаза препаратов «АКВАдез-НУК 5», «IncimaxxDES» и «Дезинфексан» на крысах

С целью изучения реакции кожи по интенсивности эритемы и отека при однократной обработке дезинфицирующими препаратами было использовано 15 лабораторных крыс самцов породы Wister массой 210-250 г. Дополнительно было использовано 5 крыс для постановки контроля с применением 0,9% раствора натрия хлорида.

В результате проведенных испытаний установлено, что средства «АКВАдез-НУК 5» и «IncimaxxDES» относятся к 3-му классу, а «Дезинфексан» к 4-му классу опасности по выраженности раздражающего действия дезинфицирующих средств на глаза.

2.2.5 Производственные испытания

Производственные испытания проводились в колхозе им. Куйбышева Калачеевского района Воронежской области в помещениях стойлового содержания крупного рогатого скота животноводческих в период отсутствия животных в данных помещениях.

При разработке режимов и технологии дезинфекции животноводческих помещений мы руководствовались «Правилами проведения дезинфекции и дезинвазии объектов государственного ветеринарного надзора» (2002).

2.2.5.1 Производственные испытания «АКВАдез-НУК 5» и «IncimaxxDES»

Для проведения работ использовали пеногенератор TORNADOSCO/52. Данное устройство позволяло наносить изучаемое средство путем орошения с образованием обильной пены как поверхности стен, так и перекрытия до полного их смачивания.

В процессе производственных испытаний исследовались следующие концентрации рабочих растворов: 0,10%; 0,25%; 0,50%. Норма расхода определялась как 0,35 л/м² с экспозицией 30 мин. Температура окружающего

воздуха во время проведения дезинфекции составляла 19-20°C, а относительная влажность 80–85%.

Влажное состояние поверхностей оставалось в течение двух часов. Смывы для бактериологических исследований отбирались через 30 мин с обработанных поверхностей. Полученные результаты сравнивали с полученными до обработки и делали вывод об эффективности дезинфектанта.

Площадь выбранного нами помещения для стойлового содержания крупного рогатого скота составила 1500 м². Материалы, которые подвергали дезинфекции: бетон, кирпич, дерево, металл.

Итоги микробиологических исследований по контролю качества проведенной дезинфекции средством «АКВАдез-НУК 5» представлены в таблице 1.

При использовании «АКВАдез-НУК 5» и «IncimaxxDES» в 0,10% и 0,25% концентрации рабочего раствора при исследовании на рост *E. coli* и *S. aureus* рост был зафиксирован, что свидетельствует о недостаточном качестве дезинфекции в данных режимах.

При обработке животноводческих помещений 0,50% раствором «АКВАдез-НУК 5» после 30 минутной экспозиции при посевах со смывов с бетонных и деревянных поверхностей в 100,00% исследуемых проб как на *E. coli*, так и на *S. aureus* отсутствовал рост микроорганизмов.

Таблица 1 – Бактерицидная активность препарата «АКВАдез-НУК 5» при проведении производственных испытаний

Содержание препарата в %	Расход препарата, л/м ²	Микроорганизм	Поверхности	Экспозиция, мин	Исследовано проб			
					всего	В том числе		Процент обеззараживания
						обеззаражено	Не обеззаражено	
0,50	0,35	<i>E. coli</i>	Бетон	30	10	10	0	100
			Металл	30	10	10	0	
0,25	0,35	<i>E. coli</i>	Бетон	30	10	6	4	80
			Металл	30	10	10	0	
0,10	0,35	<i>E. coli</i>	Бетон	30	10	4	6	20
			Металл	30	10	0	10	
0,50	0,35	<i>S. aureus</i>	Бетон	30	10	10	0	100
			Металл	30	10	10	0	
0,25	0,35	<i>S. aureus</i>	Бетон	30	10	4	6	70
			Металл	30	10	10	0	
0,10	0,35	<i>S. aureus</i>	Бетон	30	10	0	10	0
			Металл	30	10	0	10	
Контроль - водопроводная вода								
0	0,35	<i>E. coli</i>	Бетон	30	10	0	10	0
			Металл	30	10	0	10	
0	0,35	<i>S. aureus</i>	Бетон	30	10	0	10	0
			Металл	30	10	0	10	

На основании данных производственных испытаний мы можем рекомендовать использовать препарат «АКВАдез-НУК 5» для дезинфекции животноводческих помещений в форме пены при разведении концентрата до 0,50% рабочего раствора с 30 минутной экспозицией.

В контрольных смывах рост наблюдался во всех образцах.

По итогам бактериологических исследований, приведенных в таблице 1, мы заключаем, что обеззараживание поверхностей животноводческих помещений в отношении *E. coli* и *S. aureus* обеспечивает 0,50% раствор средства «АКВАдез-НУК 5» при расходе 0,35 л/м² и экспозиции 30 минут, что подтверждает данные лабораторных испытаний с имитацией белковой загрязненности на тест-поверхностях.

Средство «АКВАдез-НУК 5» может быть рекомендовано для проведения профилактической дезинфекции помещений животноводческих хозяйств во всех случаях, когда действующей инструкцией предусмотрен контроль качества дезинфекции по выделению бактерий группы кишечной палочки и стафилококков.

Результаты, демонстрирующие качество проведенной дезинфекции с помощью растворов препарата «IncimaxxDES» в разной концентрации представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Бактерицидная активность препарата «IncimaxxDES» при проведении производственных испытаний

Содержание препарата в %	Расход препарата, л/м ²	Микроорганизм	Поверхности	Экспозиция, мин	Исследовано проб			Процент обеззараживания
					всего	В том числе		
						обеззаражено	Не обеззаражено	
0,50	0,35	<i>E. coli</i>	Бетон	30	10	10	0	100
			Металл	30	10	10	0	
0,25	0,35	<i>E. coli</i>	Бетон	30	10	6	4	80
			Металл	30	10	10	0	
0,10	0,35	<i>E. coli</i>	Бетон	30	10	4	6	20
			Металл	30	10	0	10	
0,50	0,35	<i>S. aureus</i>	Бетон	30	10	10	0	100
			Металл	30	10	10	0	
0,25	0,35	<i>S. aureus</i>	Бетон	30	10	4	6	70
			Металл	30	10	10	0	
0,10	0,35	<i>S. aureus</i>	Бетон	30	10	0	10	0
			Металл	30	10	0	10	
Контроль - водопроводная вода								
0	0,35	<i>E. coli</i>	Бетон	30	10	0	10	0
			Металл	30	10	0	10	
0	0,35	<i>S. aureus</i>	Бетон	30	10	0	10	0
			Металл	30	10	0	10	

По итогам бактериологических исследований мы делаем вывод, что «IncimaxxDES» обеспечивает 100% обеззараживание объектов животноводческих помещений в отношении *E. coli* и *S. aureus* в 0,50% концентрации при норме расхода средства 0,35 л/м². Экспозиция при этом должна сохраняться не менее 30 минут.

При исследовании смывов на рост *E. coli* и *S. aureus* после использования для дезинфекции 0,50% раствора как на объектах, изготовленных из бетона, так и на деревянных поверхностях с экспозицией 30 минут рост микроорганизмов отсутствовал в 100% случаев.

Данные результаты свидетельствуют о том, что средства для дезинфекции объектов ветеринарного надзора «IncimaxxDES» и «АКВАдез-НУК 5» обладают равными характеристиками по качеству и скорости обеззараживания поверхностей, находящихся в производственных помещениях.

2.2.5.2 Производственные испытания средства «Дезинфексан»

В производственных испытаниях средства «Дезинфексан» использовали дезустановку ДУК, с помощью которой испытуемый раствор путем орошения наносили на максимальную площадь поверхностей перекрытий и стен для равномерного и полного их смачивания.

Таблица 3 – Бактерицидная активность препарата «Дезинфексан» при проведении производственных испытаний

Содержание препарата в %	Расход препарата, л/м ²	Микроорганизм	Поверхности	Экспозиция, мин	Исследовано проб			Процент обеззараживания
					всего	В том числе		
						обеззаражено	Не обеззаражено	
0,50	0,35	<i>E. coli</i>	Бетон	30	10	10	0	100
			Металл	30	10	10	0	
0,25	0,35	<i>E. coli</i>	Бетон	30	10	10	0	100
			Металл	30	10	10	0	
0,10	0,35	<i>E. coli</i>	Бетон	30	10	0	10	40
			Металл	30	10	8	2	
0,50	0,35	<i>S. aureus</i>	Бетон	30	10	10	0	100
			Металл	30	10	10	0	
0,25	0,35	<i>S. aureus</i>	Бетон	30	10	10	0	100
			Металл	30	10	10	0	
0,10	0,35	<i>S. aureus</i>	Бетон	30	10	0	10	0
			Металл	30	10	0	10	
Контроль - водопроводная вода								
0	0,35	<i>E. coli</i>	Бетон	30	10	0	10	0
			Металл	30	10	0	10	
0	0,35	<i>S. aureus</i>	Бетон	30	10	0	10	0
			Металл	30	10	0	10	

Исследуемые концентрации рабочих растворов, время экспозиции и норма расхода оставалась неизменной с предыдущей серии испытаний (Концентрация 0,10%, 0,25%, 0,50%, Экспозиция – 30 мин, норма расхода 0,35л/м²).

Микроклимат в помещениях был аналогичен тем, что существовал во время предыдущих испытаний. Температура окружающего воздуха равнялась 19-20°С с относительной влажностью 80–85%.

Результаты производственных испытаний «Дезинфексан» приведены в таблице 3.

При проведении исследований с 0,25% и с 0,50% рабочими растворами «Дезинфексан» мы констатировали высокое качество проведенной дезинфекции так как ни в одном образце не зафиксирован рост *E. coli* и *S. aureus*.

При проведении дезинфекции с использованием 0,10% раствора в посевах с большинства смывов наблюдался рост микроорганизмов.

Средство «Дезинфексан» в процессе производственных испытаний подтвердило определенную в лабораторных исследованиях высокую степень бактерицидной активности в отношении бактерий группы кишечной палочки и золотистого стафилококка при 0,25% концентрации рабочего раствора.

2.2.6 Расчет экономической эффективности

Для «АКВАдез-НУК 5» себестоимость 1 литра концентрата равна 115,00 руб/л, соответственно с $Z_{в1000м^2} = 115,00 * (1000 / ((1/0,005) / 0,35 / 1000)) = 201,25$ руб/1000м².

У импортного аналога «IncimaxxDES» себестоимость оказывается выше и равняется 312,47руб/л, а $Z_{в1000м^2} = 312,47 * (1000 / ((1/0,005) / 0,35 / 1000)) = 546,82$ руб/1000м².

Отечественное средство «Дезинфексан» имеет самую высокую себестоимость за литр равную 591,50 рублей, однако имеет существенно более низкий расход. Итоговая себестоимость равна $Z_{в1000м^2} = 591,50 * (1000 / ((1/0,0025) / 0,35)) = 517,56$ руб/1000м².

Сравнительная стоимость препаратов и себестоимость обработки из расчета на 1000м² представлена в таблице 4.

Таблица 4 – Сравнительная стоимость препаратов и себестоимость обработки из расчета на 1000м²

Препарат	Стоимость препарата руб/литр	Расход препарата, л/1000м ² методом орошения	Стоимость обработки на 1000м ² , руб	Концентрация рабочего раствора, %
«АКВАдез-НУК 5»	115,00	1,750	201,25	0,50
«IncimaxxDES»	312,47	1,750	546,82	0,50
«Дезинфексан»	591,50	0,875	517,56	0,25

Наиболее экономически целесообразным считался тот препарат, стоимость обработки которым меньше.

Себестоимость дезинфекции средством «АКВАдез-НУК 5» из расчета на 1000м² составляет 201,25р, что на 345,57 рублей дешевле, чем аналогичные

мероприятия с использованием «IncimaxxDES», на 316,31 рубль выгоднее «Дезинфексан».

Сравнительная характеристика стоимости обработки показывают, что наиболее выгодным из рассматриваемых дезинфицирующих средств для является новое отечественное средство «АКВАдез-НУК 5».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование и сравнительная оценка антибактериальных и фармакотоксикологических свойств, а также экономической эффективности использования нового дезинфицирующего средства «АКВАдез-НУК 5» позволило нам сделать следующие выводы:

1. Сравнительный анализ антимикробной активности «АКВАдез-НУК 5» и его импортного аналога «IncimaxxDES» в условиях животноводческих помещений показал идентичность вызываемого ими бактерицидного эффекта в отношении *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. typhimurium*;

2. Доказана аналогичная фунгицидная активность «АКВАдез-НУК 5» в отношении *C. albicans* в сравнении с импортным аналогом «IncimaxxDES»;

3. Токсикологические исследования, проведенные на лабораторных животных, позволяют отнести препараты «АКВАдез-НУК 5», «IncimaxxDES» и «Дезинфексан» к III классу опасности по ГОСТ 12.1.007-76. «АКВАдез-НУК 5» обладает $LD_{50} = 3676,22 \pm 347,37$ мг/кг, $LD_{99} = 5040,69$ мг/кг. Для «IncimaxxDES» характерны $LD_{50} = 3778,33 \pm 402,72$ мг/кг, $LD_{99} = 5261,34$ мг/кг. Для «Дезинфексан» LD_{50} составляет $3875,70 \pm 402,43$ мг/кг, $LD_{99} = 5278,43$ мг/кг;

4. «АКВАдез-НУК 5» оказывает умеренное местно-раздражающее действие на лабораторных животных и относится к 3 классу опасности согласно МУ 1.2.1105-02;

5. Новое дезинфицирующее средство «АКВАдез-НУК 5» в форме пены в процессе производственных испытаний в животноводческих помещениях показало выраженные антибактериальные свойства против *E. coli* и *S. aureus*. Установлен оптимальный режим дезинфекции при обработке животноводческих помещений: использование 0,50% раствора «АКВАдез-НУК 5» с 30 минутной экспозицией и нормой расхода 0,35 л/м². При данных параметрах при посевах со смывов с бетонных и деревянных поверхностей в 100% исследуемых проб отсутствовал рост микроорганизмов *E. coli* и *S. aureus*;

6. Анализ экономической эффективности доказал, что среди исследуемых дезинфицирующих средств минимальных финансовых затрат удастся достигнуть при использовании «АКВАдез-НУК 5». Экономический эффект от проведения дезинфекции средством «АКВАдез-НУК 5» из расчета на 1000м² составляет 201,25р, что на 345,57 рублей или на 171,71% выгоднее, чем проведение аналогичных мероприятий с использованием «IncimaxxDES», на 316,31 рубль или 157,17% выгоднее обработки с помощью «Дезинфексан»;

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Для животноводства предложен новый отечественный дезинфицирующий препарат «АКВАдез-НУК 5» в форме пены, рекомендуемый для дезинфекции объектов животноводства против *E. coli* и *S. aureus* и выгодно отличается от приведённых для сравнения импортных аналогов, что потенциально может помочь животноводческим хозяйствам снизить издержки на проведение дезинфекции, а также будет способствовать импортозамещению на российском рынке химической промышленности.

Разработана инструкция по применению, определяющая условия использования «АКВАдез-НУК 5», которая была рассмотрена, одобрена и рекомендована Координационным Советом по проблемам животноводства, ветеринарии и АПК Европейского Севера Северо-Западного Центра междисциплинарных исследований проблем продовольственного обеспечения ФГБУН «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр РАН» к применению (протокол №2 от 23 марта 2022 года).

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Перспективным является изучение антимикробных, противопаразитарных и овоцидных свойств средства «АКВАдез-НУК 5» против более широкого спектра возбудителей инфекционных и инвазионных заболеваний животных с целью расширения области его применения в ветеринарной практике.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

Статьи в журналах, внесенных в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ:

1. Андреева, Н. Л. Антимикробные свойства нового дезинфицирующего средства / Н. Л. Андреева, А. М. Лунегов, О. П. Пугач // Международный вестник ветеринарии. 2019. – № 1. – С. 61-64.
2. Пугач, О. П. Сравнительная характеристика бактерицидных свойств некоторых дезинфицирующих средств / О. П. Пугач, Н. Л. Андреева, А. М. Лунегов, В. А. Пугач // Иппология и ветеринария. 2019. – № 2 (32). – С. 98-101.
3. Пугач, О. П. Производственные испытания дезинфицирующего средства АКВАДЕЗ-НУК 5 / О. П. Пугач, А. М. Лунегов // Международный вестник ветеринарии. 2023. – № 1. – С. 123-127.
4. Пугач, О. П. Определение показателей острой токсичности АКВАдез-НУК 5 / О. П. Пугач // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2023. – № 1. – С. 97-100.

Статьи, опубликованные в сборниках научных трудов и материалах конференций:

5. Пугач, О. П. Изучение эффективности дезинфицирующих средств в производственных условиях / Н. Л. Андреева, А. М. Лунегов, В. А. Барышев // В сборнике: Инновационные исследования как локомотив развития современной науки: от теоретических парадигм к практике. Сборник научных статей по материалам XVI Международной научно-практической конференции. 2019. – С. 461-466.

6. Пугач, О. П. Изучение раздражающего и аллергизирующего действия дезинфицирующего средства на лабораторных животных / О. П. Пугач, Н. Л. Андреева, А. М. Лунегов, В. А. Барышев, В. А. Пугач // В сборнике: Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии. Материалы V-го Международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов. 2019. – С. 164-165.

7. Андреева, Н. Л. Новое дезинфицирующее средство АКВАДЕЗ-НУК 5 / Н. Л. Андреева, А. М. Лунегов, О. П. Пугач // Ветеринария сельскохозяйственных животных. 2020. – № 9. – С. 62-65.

8. Пугач, О. П. Сравнительная антимикробная активность средства АКВАДЕЗ-НУК 5 в отношении *S. typhimurium* / О. П. Пугач, Н. Л. Андреева, В. А. Кузьмин, А. М. Лунегов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2021. – № 4. – С. 63-67.