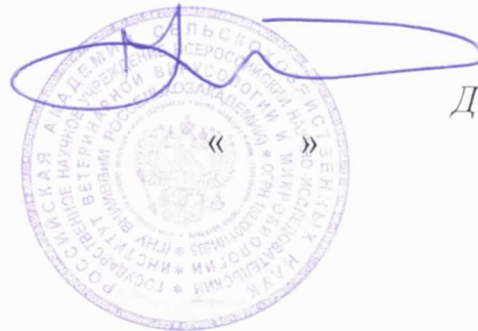


Российская академия сельскохозяйственных наук

Государственное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский институт
ветеринарной вирусологии и микробиологии
(ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии)

УТВЕРЖДАЮ
Директор института



Д.В.КОЛБАСОВ
2011 г.

ОТЧЕТ

ИСПЫТАНИЙ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА
«РУСДЕЗ-УНИВЕРСАЛ 50» ПРОИЗВОДСТВА ООО «РУСДЕЗ»
В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ.

Покров, 2011

РЕФЕРАТ

Отчет на 9 стр., 3 табл.

РУСДЕЗ-УНИВЕРСАЛ 50, ВИРУС АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ, ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ, ЛАБОРАТОРНЫЕ ИСПЫТАНИЯ, БИОПРОБА

Объект исследований: дезинфицирующее средство отечественного производства «РусДез-универсал 50»

Цель работы: изучение дезинфицирующего действия средства «РусДез-универсал 50» в отношении вируса АЧС.

В лабораторных условиях испытана эффективность дезинфицирующего действия средства «РусДез-универсал 50» при обеззараживании контаминированных вирусом АЧС поверхностей, имитирующих объекты животноводческих помещений, с подтверждением полноты инаktivации вируса постановкой биопробы на восприимчивых животных.

ВВЕДЕНИЕ

В комплексе мероприятий, направленных на предупреждение и ликвидацию инфекционных болезней сельскохозяйственных животных, немаловажное значение играет своевременное и эффективное проведение дезинфекции. В последние годы на рынке дезинфицирующих средств представлен весьма большой ассортимент препаратов как отечественного, так и зарубежного производства, содержащих в качестве действующего начала соединения различных химических классов. Однако многие из них обладают высокой бактерио- и вирусстатической активностями и низким бактерицидным и вирулицидным действием, что не позволяет им эффективно обеззараживать контаминированные поверхности, особенно загрязненные органическими веществами.

Ранее проведенными во ВНИИВСГЭ и ВНИИВВиМ исследованиями была установлена высокая дезинфицирующая активность растворов, содержащих тетраметилэтилентетрамин, а также в литературе представлены сведения о высокой бактерицидной активности четвертично-аммониевых соединений по отношению к возбудителям бактериальных (неспорообразующие микроорганизмы) и вирусных болезней с/х животных и птицы, контроль качества дезинфекции при которых проводится по кишечной палочке (1-я группа устойчивости) и стафилококку (2-я группа устойчивости).

В связи с продолжающимся распространением по территории РФ занесенной в 2007 году африканской чумы свиней, представляющей реальную угрозу свиноводству страны, в настоящее время особую актуальность приобретает проблема разработки новых высокоэффективных в отношении данного вируса дезинфектантов. Проблема усугубляется еще и тем, что при АЧС отсутствуют средства специфической профилактики, а, как показал анализ эпизоотических вспышек болезни, ведущую роль в их возникновении играет человек – зараженное мясо перевозится различными видами транспорта из одного региона в другой. В данном случае предсказать место возникновения нового очага болезни практически не представляется возможным. Таким образом, очевидно, что в предотвращении дальнейшего распространения болезни одним из важнейших мероприятий является проведение дезинфекции. Учитывая биологические особенности вируса и то, что для большинства дезинфектантов не изучена их вирулицидная активность в отношении вируса АЧС, целесообразно проведение работ по

обеспечению ветеринарной дезинфекционной практики новыми высокоэффективными дезсредствами.

1. ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЙ

Образец дезинфицирующего средства «РусДез-универсал 50» производства ООО «РусДез».

2. ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЙ

Определить дезинфицирующую активность средства «РусДез-универсал 50» в отношении вирулентного штамма вируса африканской чумы свиней (АЧС) на контаминированных вирусом поверхностях, имитирующих объекты животноводческих помещений.

3. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Испытания проводили в период с 27 апреля ноября 2011 г по 27 мая 2011 года в соответствии с «Методами испытаний дезинфекционных средств для оценки их безопасности и эффективности», утвержденными Главным государственным санитарным врачом РФ, М., 1998 г, «Методическими указаниями о порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики», утвержденными ГУВ Госагропрома СССР в 1987 г, с использованием биопробы и «Методическими указаниями по отбору, оценке и испытаниям антивирусного и антибактериального действия химических соединений» М., 2004 г.

4. ОЦЕНИВАЕМЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Токсичность (МПД) препарата «РусДез-универсал 50» для первичной культуры клеток костного мозга свиней (ККМС).

Инфекционная активность вируса АЧС изолят Ставрополь в первичной культуре клеток костного мозга свиней.

Дезинфицирующее действие препарата «РусДез-универсал 50» производства ООО «РусДез» на вирус АЧС с использованием тест-объектов из впитывающих (пористого) и не впитывающих материалов (бетон, резина) с контролем полноты инаktivации вируса в культуре ККМС.

Дезинфицирующее действие препарата «РусДез-универсал 50» производства ООО «РусДез» на вирус АЧС с использованием тест-объектов (бетон) и постановкой биопробы на подсвинках массой 18-25 кг.

5. МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ

5.1. Оценка токсичности средства «РусДез-универсал 50» для культуры клеток.

Для определения максимально-переносимой дозы дезинфицирующего средства производства ООО «РусДез» на среде Хенкса готовили его двукратные разведения, которые вносили в культуральные матрасы с культурой ККМС. Продолжительность инкубации 7 дней. В контрольные культуральные матрасы с ККМС средство не вносили.

За МПД принимали высшую концентрацию препарата, которая не вызывала изменений культуры клеток.

5.2. Определение инфекционной активности вируса АЧС в культуре клеток.

Для определения инфекционной активности вируса АЧС готовили его десятикратные разведения, которые вносили в культуральные матрасы с ККМС. Продолжительность инкубации 7 дней. В контрольные культуральные матрасы с ККМС вирусосодержащая жидкость не вносилась.

5.3. Оценка дезинфицирующего действия средства «РусДез-универсал 50» *in vitro* и *in vivo*.

При исследованиях с вирусом, использовали вирулентный вирус АЧС. На стерильные тест-объекты, имитирующие объекты животноводческих помещений из бетона и резины наносили по 1,0-1,5 мл вирусосодержащей жидкости на 100 см². В качестве механической защиты вируса использовали стерильный свиной навоз в количестве 0,3 г. сухого вещества на 100 см² поверхности. Перед нанесением на поверхность вирусосодержащую суспензию тщательно перемешивали с соответствующим количеством навоза. Смесь равномерно распределяли на поверхности тестов, после чего их подсушивали 1-2 часа. Испытуемые 0,5; 1,0 и 2,0 %-ные растворы средства «РусДез-универсал 50» равномерно наносили методом орошения на тест-объекты, расположенные в горизонтальном и вертикальном положении, из расчета 0,3 л/м² площади.

На контрольные тест-объекты, вместо раствора средства «РусДез-универсал 50» наносили такое же количество воды, которая использовалась для приготовления раствора средства.

С обработанных растворами дезинфектанта тест-объектов, испытуемый материал отбирали через, 60 минут. Вирусный материал соскабливали, добавляли по 4,5 мл среды Хенкса, экстрагировали при комнатной температуре в течение 30 минут, затем центрифугировали 15 минут при 3000 оборотов в минуту. Надосадочную жидкость использовали для заражения культуры ККМС с последующими двумя пассажами, а также для постановки биопробы на подсвинках.

Для биопробы использовали биоматериал с тест-объектов из бетона (исследовались 0,5 и 1,0 %-ные растворы средства «РусДез-универсал 50» при экспозиции 60 минут. Биопробу проводили на 10 животных: 9 – опытных и 1 – контрольное.

Наблюдение за культурой клеток вели в течение 14 дней с учетом двух последовательных пассажей, а за заражёнными подсвинками — в течение 21 суток.

Опыты сопровождалась следующими контролями:

- определение инфекционного титра в вируссодержащем материале;
- снижение титра инфекционности вируса в результате обработки инфицированных поверхностей водой.

Все эксперименты *in vitro* проводили в трёх повторностях.

6. РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЙ

Данные по оценке токсичности средства «РусДез-универсал 50» для культуры клеток костного мозга свиней представлены в таблице 1.

Таблица 1 Оценка токсичности средства «РусДез-универсал 50» для культуры клеток костного мозга свиней

Наименование препарата	Концентрация, %	Культура клеток	Срок наблюдения (сут)						
			1	2	3	4	5	6	7
«РусДез-универсал 50»	1,0	ККМС	-	+	+	+	+	+	+
	0,5		-	-	-	+	+	+	+
	0,25		-	-	-	-	-	-	+
	0,125		-	-	-	-	-	-	-
	0,0625		-	-	-	-	-	-	-

Примечание: «-» - отсутствие дегенерации монослоя клеток; «+» - наличие дегенерации.

Как видно из представленных в таблице 1 данных средства «РусДез-универсал 50» в концентрациях 0,125% и ниже не токсичен для культуры клеток костного мозга свиней.

При определении инфекционной активности вируса АЧС изолят Ставрополь в виде вирус-крови установлено, что титр вируса в культуре ККМС составляет 7,00 lg ГАЕ_{50/мл} (гемадсорбирующих единиц).

В опытах с вирусом АЧС было испытано дезинфицирующее действие средства «РусДез-универсал 50» с использованием впитывающих и не впитывающих тест-поверхностей при однократном нанесении раствора методом орошения из расчета 0,3 л/м² и экспозицией 60 минут. Были испытаны 0,5 – 2,0 %-ные по препарату растворы средства «РусДез-универсал 50» с контролем полноты обеззараживания в культуре ККМС. Результаты испытаний дезинфицирующего действия средства «РусДез-универсал 50» представлены в таблице 2.

Таблица 2 Определение в культуре ККМС дезинфицирующего действия средства «РусДез-универсал 50» при обеззараживании методом орошения тест-объектов, контаминированных вирусом АЧС.

№ п/п	Конц-я раствора (%) по препарату	Норма расхода (л/м ²)	Экспозиция (мин)	Тест-поверхности	
				Бетон	Резина
1	2,0	0,3	60	- / - / -	- / - / -
2	1,0	0,3	60	- / - / -	- / - / -
3	0,5	0,3	60	+ / + / -	- / - / -
14	Контроль	0,3	60	+ / + / +	+ / + / +

Примечание: + - не обеззаражено;

- - обеззаражено;

* - двукратная обработка

Из данных, представленных в таблице 2 видно, что обеззараживание опытных тест-поверхностей, контаминированных вирусом АЧС с белковой защитой (свиной навоз), было достигнуто при однократном орошении 1,0 %-ным раствором средства «РусДез-универсал 50» при норме расхода 0,3 л/м² и экспозицией 60 минут при оценке полноты инактивации вируса в испытаниях в культуре ККМС.

Во второй серии лабораторных опытов с вирусом АЧС было испытано дезинфицирующее действие средства «РусДез-универсал 50» с использованием горизонтально и вертикально расположенных шероховатых поверхностей (бетон) при однократном нанесении раствора методом орошения из расчета 0,3 л/м² и экспозицией 60 минут. Были

испытаны 0,5 – 1,0 %-ные по препарату растворы средства «РусДез-универсал 50» с контролем полноты обеззараживания на восприимчивых животных. Результаты испытаний дезинфицирующего действия средства «РусДез-универсал 50» в отношении вируса АЧС с использованием биопробы представлены в таблице 3.

Таблица 3 Определение в биопробе дезинфицирующего действия средства «РусДез-универсал 50» при обеззараживании тест-объектов из бетона, контаминированных вирусом АЧС.

№ п/п	Конц-я раствора (%) по препарату	Норма расхода (л/м ²)	Экспозиция (мин)	Расположение тест-объекта	Тест-поверхности
					Бетон
					пало/всего
1	1,0	0,3	60	Горизонтально	0/3
2				Вертикально	0/3
3	0,5	0,3	60	Горизонтально	3/3
4	Контроль				1/1

Примечание: н.и. – не исследовали

Из данных таблицы 3 видно, что при орошении тест-объектов, контаминированных вирусом АЧС с белковой защитой в виде свиного навоза, поверхности из бетона были обеззаражены 1,0 %-ным раствором средства «РусДез-универсал 50» при экспозиции 60 минут.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

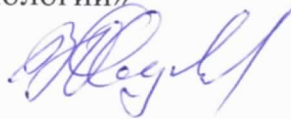
На основании проведенных исследований с использованием лабораторных испытаний на тест-объектах и испытаний на сельскохозяйственных животных (биопроба) можно сделать следующее заключение: полное обеззараживание тест-поверхностей, имитирующих объекты животноводческих помещений и контаминированных вирулентным эпизоотическим изолятом вируса АЧС с белковой защитой в виде свиного навоза, было достигнуто при однократном орошении 1,0 %-ным раствором средства «РусДез-универсал 50» при расходе 0,3 л/м² и экспозиции 60 минут. Дезинфицирующее средство «РусДез-универсал 50» обладает выраженным вирулицидным действием и рекомендуется для применения в очагах заражения АЧС для обработки объектов

ветеринарного надзора (в том числе для заправки дезбарьеров) в соответствии с «Правилами проведения дезинфекции и дезинвазии объектов государственного ветеринарного надзора», утвержденными Департаментом ветеринарии МСХ РФ 16.07.2002г. с целью полной инактивации вируса АЧС и предотвращения его распространения.

Руководитель испытаний:

Зав. лаб. «Экспериментальной микробиологии»

доктор биологических наук, профессор



Сеязнинов Ю.О.