

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

о научно-исследовательской работе

ПРОВЕСТИ НАУЧНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ
ЭФФЕКТИВНОСТИ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ПОВЕРХНОСТЕЙ
ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИМ СРЕДСТВОМ «РУСДЕЗ-УНИВЕРСАЛ 50»
ПРОИЗВОДСТВА ООО «РУСДЕЗ»

Покров, 2011

РЕФЕРАТ

Отчет на 10 стр., 3 табл.

РУСДЕЗ-УНИВЕРСАЛ 50, E. COLI, ST. AUREUS, B. ANTHRACIS,
ТЕСТ-ПОВЕРХНОСТИ, ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ

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

Цель работы: изучение эффективности обеззараживания тест-поверхностей дезинфицирующим средством «РусДез-универсал 50».

В лабораторных условиях испытана эффективность обеззараживания тест-поверхностей, контаминированных микроорганизмами различных групп устойчивости, дезинфицирующим средством «РусДез-универсал 50».

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. 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 тетраметилендиэтилететрамин, а также в литературе представлены сведения о высокой бактерицидной активности четвертично-аммониевых соединений по отношению к возбудителям бактериальных (неспоробразующие 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).

Учитывая необходимость расширения рынка эффективных и безопасных дезинфектантов целесообразна разработка комплексных препаратов, компоненты которых воздействуют на различные клеточные структуры, в результате чего возможно повышение их исходной бактерицидной активности. К числу таких дезинфекционных средств относится и «РусДез-универсал 50» представленный для изучения его дезинфицирующих свойств.

1. ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЙ

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

2. ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЙ

Оценить эффективность обеззараживания тест-поверхностей растворами дезинфицирующего средства «РусДез-универсал 50» с использованием тест-микроорганизмов, принятых в медицинской и ветеринарной практике.

3. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Испытания проводили в период с 12 по 27 апреля 2011 года в соответствии с «Методами испытаний дезинфекционных средств для оценки их безопасности и эффективности», утвержденными Главным государственным санитарным врачом РФ, М., 1998 г. и «Методическими указаниями о порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики», утвержденными ГУВ Госагропрома СССР в 1987 г.

4. ОЦЕНИВАЕМЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Дезинфицирующее действие средства «РусДез-универсал 50» производства ООО «РусДез» на микроорганизмы различных групп устойчивости с использованием тест-объектов из впитывающих и не впитывающих материалов.

5. МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ

5.4.1. Приготовление инокулюмов штаммов микроорганизмов

В пробирки со скошенным мясо-пептонным агаром засевают предварительно проверенные на отсутствие посторонней контаминации бактериальной и грибной микрофлорой культуры тест-микроорганизмов (*Escherichia coli* O157:H7 и *Staphylococcus aureus* 209-P) в посевной дозе 10^3 - 10^6 /мл. Посевы инкубируют при температуре $(36\pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 18-20 ч. Суточные культуры контролируют на отсутствие контаминантов. Для этой цели из полученных культур готовят мазки, окрашивают по Граму и подвергают световой микроскопии. Затем агаровые культуры смывают физиологическим раствором. Концентрацию микробных клеток с использованием оптического стандарта мутности производства ГИСК им. Тарасевича доводят до 2×10^9 м.т./см³.

Суточную бульонную культуру *B. anthracis* штамм 55-ВНИИВВиМ в объёме 0,3-0,5 мл засевают на чашки с картофельным агаром. Посевы на картофельном агаре инкубируют в течение 6-7-ми суток. % спорообразования определяют путём выборочной микроскопии мазков из чашек в препарате «раздавленная капля». По достижении %-та спорообразования 80-100 споры смывают стерильной дистиллированной водой. Лизис остаточных вегетативных форм бактериальной культуры производят прогреванием споровой суспензии при 80°C . Споры отмывают

от остатков питательной среды и ресуспендируют в дистиллированной воде. Полученную спорую культуру контролируют на отсутствие посторонней бактериальной контаминации высевами на МПБ и МПА. Концентрацию спор определяют методом серийных разведений.

Имитацию органическим загрязнением тест-объектов проводят рабочими концентрациями микроорганизмов (2×10^9 м.т./см³), приготовленными на физиологическом растворе с добавлением 40% сыворотки лошади.

5.4.2. Определение эффективности обеззараживания поверхностей

На стерильные тест-объекты площадью 100 см³, имитирующие материалы животноводческих помещений, из дерева, бетона, металла, стекла и резины наносят смесь 2-миллиардной взвеси тест-микроорганизма с инактивированной сывороткой крови лошадей из расчета 0,5 мл микробной взвеси на 1 тест-объект. Смесь равномерно распределяют на поверхности тест-объектов, после чего их подсушивают до полного высыхания. Испытуемые 0,3 - 2,0 %-ные растворы средства «РусДез-универсал 50» равномерно наносят методом орошения на тест-объекты из расчета 0,3 л/м² площади. Испытуемые экспозиции – 15 мин; 30 мин; 1 час; 3 часа, 4 часа и 6 часов. Эксперименты проводят при 18⁰С.

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

Посевы смывов проводят на чашки Петри с мясо-пептонным агаром (МПА). Посевы инкубируют при 37⁰С в течение 48 часов.

Учет результатов проводят по наличию (отсутствию) характерного роста микроорганизма на МПА.

Все эксперименты проводят в трёх повторностях.

6. РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЙ

В опытах с тест-микроорганизмами различных таксономических групп дезинфицирующее действие средства «РусДез-универсал 50» испытывали как на впитывающих (шероховатых), так и на не впитывающих (гладких) тест-поверхностях при однократном нанесении раствора методом орошения при норме расхода 0,3 л/м² с варьированием времени экспозиции и уровня разведения препарата.

Объединенные результаты оценки дезинфицирующих свойств средства «РусДез-универсал 50» представлены в таблицах 1, 2, 3.

Табл. 1 Результаты опытов по обеззараживанию тест-поверхностей, контаминированных *Escherichia coli* O157:H7, растворами средства «РусДез-универсал 50»

Концентрация средства (% от исходн.)	Экспозиция (мин)	Тест-поверхность				
		Дерево	Бетон	Металл	Резина	
2,0	60	-/-/	-/-/	н.и.	н.и.	
	30	-/-/	-/-/	-/-/	-/-/	
	15	-/+/+	-/-/+	-/-/	-/-/	
1,0	180	-/-/	-/-/	н.и.	-/-/	
	60	-/-/	-/-/	н.и.	-/-/	
	30	-/+/+	-/+/+	-/-/	-/-/+	
	15	+ / + / +	+ / + / +	- / - / -	- / - / +	
	0,5	360	-/-/	-/-/	н.и.	-/-/
		240	-/-/	-/-/	н.и.	-/-/
180		-/-/+	-/-/+	-/-/	-/-/	
0,2	180	+ / + / +	+ / + / +	н.и.	- / + / +	
	60	н.и.	н.и.	- / - / -	- / + / +	
	30	н.и.	н.и.	- / - / -	- / + / +	
Контроль		+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	

Примечание: + - наличие роста микроорганизма; - - отсутствие роста микроорганизма; н.и.- не исследовали

Табл. 2 Результаты опытов по обеззараживанию тест-поверхностей, контаминированных *Staphylococcus aureus* 209-Р, растворами средства «РусДез-универсал 50»

Концентрация средства (% от исходн.)	Экспозиция (мин)	Тест-поверхность					
		Дерево	Бетон	Металл	Стекло	Резина	
2,0	60	-/-/	-/-/	-/-/	-/-/	-/-/	
	30	-/-/+	-/-/+	-/-/	-/-/	-/-/	
	15	-/+/+	-/-/+	-/-/	-/-/	-/-/+	
1,0	180	-/-/	-/-/	н.и.	н.и.	-/-/	
	60	-/-/+	-/-/+	н.и.	н.и.	-/-/	
	30	-/+/+	-/+/+	-/-/	-/-/	-/-/+	
	15	+ / + / +	+ / + / +	- / - / -	- / - / -	- / + / +	
	0,5	360	-/-/	-/-/	-/-/	-/-/	-/-/
		240	-/-/+	-/+/+	-/-/	-/-/	-/-/
180		-/+/+	-/+/+	-/-/	-/-/	-/-/+	
0,2	180	+ / + / +	+ / + / +	- / - / -	- / - / -	- / + / +	
	60	н.и.	н.и.	- / - / -	- / - / -	- / + / +	
	30	н.и.	н.и.	- / - / +	- / - / +	+ / + / +	
	15	н.и.	н.и.	- / + / +	- / - / +	н.и.	

Контроль		+/+/+	+/+/+	+/+/+	+/+/+	+/+/+
----------	--	-------	-------	-------	-------	-------

Примечание: + - наличие роста микроорганизма; - - отсутствие роста микроорганизма; н.и.- не исследовали

Табл. 3 Результаты опытов по обеззараживанию тест-поверхностей, контаминированных спорами *Bacillus anthracis* 55-ВНИИВВиМ, растворами средства «РусДез-универсал 50»

Концентрация средства (% от исходн.)	Экспозиция (час)	Тест-поверхность				
		Дерево	Бетон	Металл	Стекло	Резина
4,0	18,0	-/-/-	-/-/-	-/-/-	-/-/-	-/-/-
	6,0	-+/+/	-+/+/	-/-/-	-/-/-	-/-/-
	3,0	+/+/+	+/+/+	-/-/-	-/-/-	-+/+/
	1,0	+/+/+	+/+/+	+/+/+	+/+/+	+/+/+
2,0	6,0	+/+/+	+/+/+	-+/+/	-+/+/	+/+/+
	3,0	+/+/+	+/+/+	+/+/+	+/+/+	+/+/+
	1,0	+/+/+	+/+/+	+/+/+	+/+/+	+/+/+
Контроль		+/+/+	+/+/+	+/+/+	+/+/+	+/+/+

Примечание: + - наличие роста микроорганизма; - - отсутствие роста микроорганизма.

Данные, представленные в таблицах, свидетельствуют о том, что средство «РусДез-универсал 50» обладает выраженным обеззараживающим действием в отношении тест-микроорганизмов 1-4 групп устойчивости.

В концентрации 0,2 % и выше при норме расхода 0,3 л/м² и экспозиции 30 минут средство полностью обеззараживает тест-поверхности из непитывающих материалов (металл и стекло), контаминированные *Escherichia coli* O157:H7 с белковой защитой (инактивированная сыворотка лошадей). В той же концентрации, но с экспозицией 60 минут средство обеззараживает тест-поверхности из непитывающих материалов (металл и стекло), контаминированные *Staphylococcus aureus* 209-P.

Для обеззараживания аналогичным образом контаминированных впитывающих тест-поверхностей (дерево, бетон) потребовался 0,5 % раствор при той же норме расхода и экспозициях 240 и 360 минут соответственно, а изделий из резины – 180 минут.

1 %-ный раствор испытуемого средства обеззараживает поверхности из впитывающих материалов, контаминированные *Escherichia coli* O157:H7 и *Staphylococcus aureus* 209-P, при экспозициях 60 и 180 минут соответственно.

При использовании в качестве контаминанта спор возбудителя сибирской язвы установлено, что при однократном орошении испытуемых гладких тест-поверхностей их обеззараживание достигается при использовании 4,0 %-ного раствора с экспозицией 3 часа и нормой расхода 0,3 л/м².

В концентрации 4% при норме расхода 0,3 л/м² и экспозиции 18 часов препарат полностью обеззараживает тест-поверхности из впитывающих материалов (дерево, бетон), контаминированные спорами *B. anthracis* с белковой защитой (инактивированная сыворотка лошадей).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

На основании проведенных исследований с использованием испытаний на тест-объектах можно сделать следующее заключение:

1. Полное обеззараживание гладких тест-поверхностей, имитирующих объекты животноводческих помещений (металл, стекло) и контаминированных *Escherichia coli* O157:H7 и *Staphylococcus aureus* 209-P с белковой защитой в виде инактивированной сыворотки лошади, было достигнуто при однократном орошении 0,2 %-ным раствором средства «РусДез-универсал 50» при норме расходе 0,3 л/м² и экспозициях 30 и 60 минут, соответственно;

2. Полное обеззараживание шероховатых тест-поверхностей, имитирующих объекты животноводческих помещений и контаминированных *Escherichia coli* O157:H7 и *Staphylococcus aureus* 209-P с белковой защитой в виде инактивированной сыворотки лошади, было достигнуто при однократном орошении 0,5 %-ным раствором средства «РусДез-универсал 50» при норме расходе 0,3 л/м² и экспозициях 240 и 360 минут;

3. Полное обеззараживание шероховатых тест-поверхностей из резины, контаминированных *Escherichia coli* O157:H7 и *Staphylococcus aureus* 209-P с белковой защитой в виде инактивированной сыворотки

лошади, было достигнуто при однократном орошении при норме расходе 0,3 л/м² 1,0 %-ным раствором за 60 минут, 0,5 %-ным раствором за 240 минут.

4. Эффективное обеззараживание испытуемых тест-поверхностей, загрязненных взвесью спор *B. anthracis*, было достигнуто 4,0 % раствором дезинфицирующего средства «РусДез–универсал 50» при однократном орошении с нормой расхода 0,3 л/м² и экспозицией 18 часов.

Руководитель испытаний:

Зав. лаб. «Экспериментальной микробиологии»

доктор биологических наук, профессор



Сеязиниов Ю.О.