

**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр
вирусологии и микробиологии»
(ФГБНУ ФИЦВиМ)**

УТВЕРЖДАЮ»



Директор ФГБНУ ФИЦВиМ

Д.В.Колбасов

«24» декабря 2018 г.

Отчет

**«Исследование дезинфицирующей активности средства «Чисто+Дез» в
отношении возбудителя гриппа птиц»**

Вольгинский, 2018

РЕФЕРАТ

Отчет на 8 страницах, содержит 2 таблицы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Чисто+Дез, вирус гриппа птиц, дезинфицирующее действие, лабораторные испытания.

ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЙ: представленный образец дезинфицирующего средства Чисто+Дез производства ООО «Белфармаком» по заказу ООО «ХДМ».

Средство представляет собой прозрачную жидкость. В качестве действующих веществ содержит глутаровый альдегид – 7%, алкилдиметилбензиламмоний хлорид – 2,5 %, полигексаметиленбигуанидин – 2,5 %, дидецилдиметиламмоний хлорид – 2,5 %, вспомогательные вещества. Срок годности 3 года.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ: изучение дезинфицирующего действия средства Чисто+Дез в отношении вирулентного вируса гриппа птиц на контаминированных поверхностях, имитирующих объекты птицеводческих помещений и транспорта.

В лабораторных условиях испытана эффективность дезинфицирующего действия средства при обеззараживании контаминированных вирусом гриппа птиц поверхностей, имитирующих объекты животноводческих помещений и транспорта с подтверждением полноты инаktivации вируса на куриных эмбрионах.

ВВЕДЕНИЕ

В системе санитарных, противоэпидемических и противоэпизоотических мероприятий, обеспечивающих благополучие страны по инфекционным болезням, повышение продуктивности животных и санитарное качество продуктов, сырья и кормов животного происхождения, дезинфекция занимает одно из важных мест. Под дезинфекцией понимают уничтожение на объектах или удаление из них патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Основное назначение дезинфекции – разорвать эпизоотическую цепь путем воздействия на ее важное звено – фактор передачи возбудителя болезни от источника инфекции к восприимчивому организму.

В последние годы на рынке дезинфицирующих средств представлен большой ассортимент препаратов отечественного и импортного производства. Но при всем многообразии дезинфицирующих средств, количество компонентов, входящих в их состав, весьма ограничено, при чем целый ряд соединений обладает высокой бактерио- и вирусстатической активностью и низким бактерицидным и вирулицидным действием, что не позволяет им эффективно обеззараживать контаминированные поверхности, особенно загрязненные органическими веществами. Проблема внедрения новых высокоэффективных дезинфектантов приобрела особую актуальность в связи с распространением по территории РФ высокопатогенного гриппа птиц, представляющего угрозу птицеводству страны.

Учитывая то, что для большого количества дезинфектантов не изучена их вирулицидная активность в отношении вируса гриппа птиц, целесообразно проведение работ по обеспечению ветеринарной дезинфекционной практики протестированными высокоэффективными дезсредствами.

ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Испытания выполнены в рамках договора № 29/18 от 10 августа 2018 г. согласно руководству Р 4.2.2643-10 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности», «Методическим указаниям о порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики», утвержденным ГУВ Госагропрома СССР в 1987 г. и методическим указаниям МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам».

ОЦЕНИВАЕМЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Инфекционная активность вируса гриппа птиц штамм А/кураца/Сергиев-Посад/1/17 (H5N8) в куриных эмбрионах.

Дезинфицирующее действие средства Чисто+Дез на вирус гриппа птиц с использованием тест-объектов (впитывающие – бетон и невпитывающие – металл) и выделение вируса гриппа птиц в куриных эмбрионах 9-11 суточного возраста.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1. Материалы:

- Вирус гриппа птиц штамм А/кураца/Сергиев-Посад/1/17 (H5N8), инфекционная активность 9,75 lg ЭИД₅₀/см³.
- Средство Чисто+Дез. Серия 030718. Годен до 08.2021.
- Куриные эмбрионы 9 – 11 суточного возраста.

2. Методы

Определение инфекционной активности вируса гриппа птиц (ВГП) в куриных эмбрионах (КЭ)

Для определения инфекционной активности ВГП готовили десятикратные последовательные разведения вирусосодержащей экстраэмбриональной жидкости (ЭЭЖ) на физиологическом растворе с 10^{-1} по 10^{-9} . Затем каждым разведением проводили заражение КЭ. Зараженные КЭ инкубировали при температуре $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в течение 72 часов. Через 72 часа от всех КЭ отбирали ЭЭЖ и ставили реакцию гемагглютинации (РГА). Титр вируса рассчитывали по методу Кербера в модификации И.П. Ашмарина и выражали в $\lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$.

Оценка дезинфицирующего действия средства Чисто+Дез

При исследованиях с вирусом, использовали вирулентный эпизоотически значимый ВГП. На стерильные тест-объекты имитирующие объекты птицеводческих помещений (шероховатые впитывающие поверхности из бетона) наносили по $1,5 \text{ см}^3$ вирусосодержащей жидкости на 100 см^2 площади. В качестве механической защиты вируса использовали не содержащую вирус ЭЭЖ. Смесь равномерно распределяли по поверхности тестов, после чего их подсушивают 1 час. Испытуемые растворы дезинфицирующего средства (согласно таблице 1) равномерно наносили методом орошения на тест-объекты из расчёта $0,3 \text{ л}/\text{м}^2$ площади.

На контрольные тест-объекты вместо раствора средства наносят такое же количество воды, которую использовали для приготовления раствора препарата.

С тест-объектов, обработанных испытуемыми растворами препаратов, материал для исследования отбирают через соответствующий период времени (согласно таблице 1).

Вирусный материал соскабливали, добавляли по $4,5 \text{ см}^3$ физиологического раствора, экстрагируют при комнатной температуре в

течение 30 минут, затем центрифугируют 15 мин. при 3000 об/мин. Надосадочную жидкость используют для заражения куриных эмбрионов.

Надосадочную жидкость с одного тест-объекта вводили 6 куриным эмбрионам и 6 КЭ использовали в качестве контроля. Зараженные КЭ инкубировали при 37⁰С в течение 72-96 часов. Овоскопию зараженных КЭ проводили ежедневно. КЭ, павшие в течение 24 часов после заражения отбраковывали (неспецифическая гибель). Павшие КЭ в последующие сроки инкубации помещали в холодильник. По окончании инкубации оставшиеся живыми КЭ также помещали в холодильник не менее чем на 12 часов.

С ЭЭЖ охлаждённых КЭ ставили РГА для выявления вируса. С этой целью с каждого КЭ берут каплю ЭЭЖ и помещали на предметное стекло, затем к этой ЭЭЖ добавляют по капле 1-2%-ных куриных эритроцитов и компоненты смешивают покачиванием стекла. Смесь ЭЭЖ и эритроцитов оставляют на контакт при комнатной температуре в течение 10-15 минут и учитывают результаты реакции.

Дезинфекцию признавали эффективной, если при заражении КЭ материалом с исследуемых тест-объектов не отмечали гибели КЭ и результат исследования ЭЭЖ в реакции гемагглютинации был отрицательным.

2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование эффективности средства Чисто+Дез в отношении вируса гриппа птиц (ВГП) проводили в соответствии с техническим заданием по схеме, представленной в таблице 1.

Таблица 1

Схема проведения оценки эффективности препарата Чисто+Дез.

Впитывающие (бетон)		Невпитывающие (металл)	
Время (мин)	Концентрация (%)	Время (мин)	Концентрация (%)
60	0,5	10, 30	0,5
	1,0	10, 30	1,0

Результаты испытаний дезинфицирующего действия средства Чисто+Дез в отношении вируса гриппа птиц с использованием куриных эмбрионов и реакции гемагглютинации представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результат оценки дезинфицирующего действия
препарата Чисто+Дез в отношении ВГП

n=3

Впитывающие (бетон)			Невпитывающие (металл)		
Время (мин)	Концентрация (%)		Время (мин)	Концентрация (%)	
	0,5	1,0		0,5	1,0
60	<i>Не эффективен</i>	<i>Эффективен</i>	10	<i>Эффективен</i>	<i>Эффективен</i>
			30	<i>Эффективен</i>	<i>Эффективен</i>

Результаты, представленные в таблице 2 свидетельствуют о том, что средство Чисто+Дез при обработке впитывающей шероховатой поверхности с белковой нагрузкой эффективно в отношении ВГП в виде 1,0 % рабочего раствора при экспозиции 60 минут. При обработке тест-объектов в данном режиме падеж КЭ не отмечен, результат РГА отрицательный.

При обработке невпитывающей поверхности с белковой нагрузкой средство Чисто+Дез эффективно в отношении ВГП в виде 0,5 и 1,0 % рабочего раствора при экспозиции 10 и 30 минут. При обработке тест-объектов в данных режимах падеж КЭ не отмечен, результат РГА отрицательный.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Дезинфицирующее средство Чисто+Дез полностью обеззараживает тест-поверхности имитирующие объекты птицеводческих помещений (впитывающие шероховатые поверхности из бетона), контаминированные вирулентным вирусом гриппа птиц с белковой нагрузкой при однократном орошении 1,0 % и выше рабочим раствором при экспозиции 60 минут и более при норме расхода 0,3 л/м².

2. Дезинфицирующее средство Чисто+Дез полностью обеззараживает тест-поверхности имитирующие транспорт (невпитывающие поверхности из металла), контаминированные вирулентным вирусом гриппа птиц с белковой нагрузкой при однократном орошении 0,5 % и выше рабочим раствором при экспозиции 10 минут и более при норме расхода 0,3 л/м².

Руководитель испытаний:

Заведующий НЭО
кандидат ветеринарных наук



С.П.Живодеров

Исполнители:

Микробиолог



Е.Н.Глухарева

Микробиолог



Н.К.Бобровская