

ВИРУЛИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА «БИ-ДЕЗ™» НА ВИРУС БОЛЕЗНИ АУЕСКИ

О.И. Шкромада

Аннотация. В статье приведены результаты исследования вирулицидной активности дезинфектанта «Би-дез™» относительно вируса болезни Ауески (псевдобешенства - Pseudorabies or Aujeszky' Disease virus) производственный штамм «УНДИЕВ 18В». В результате проведенных испытаний была установлена рабочая концентрация препарата «Би-дез™» для уничтожения вируса на поверхности объектов и в суспензиях.

Ключевые слова: вирус, вирулицидное действие, дезинфектант, культура клеток, тест-объекты, экспозиция.

С целью определения эффективной вирулицидной концентрации «Би-дез™» относительно вируса болезни Ауески (псевдобешенства - Pseudorabies or Aujeszky' Disease virus) производственный штамм «УНДИЕВ 18В» на уровне 10-25 пассажей в культуре чувствительной клеточной линии СПЕВ, патогенной для восприимчивых сельскохозяйственных животных и непатоогенной для человека.

Вирус болезни Ауески должен вызывать заболевание и смерть кроликов при подкожном заражении, с характерными клиническими признаками болезни Ауески и расчесыванием в месте введения вируса.

Для определения эффективности вирулицидной концентрации «Би-дез™» по отношению к вирусу болезни Ауески (производственный штамм «УНДИЕВ 18В») использовали суспензию вируссодержащего материала, который получали после размножения вируса на культурах клеток СПЕВ. Для опыта использовали по 6 матрасов.

Вируссодержащую жидкость смешивали с равным объемом раствора дезинфектанта «Би-дез™», выдерживали 15, 30, 60 мин. При этом использовали 0,1%, 0,25%, 0,5% и 1% растворы дезпрепарата.

Эффективность обеззараживания поверхностей тест-объектов от вируса болезни Ауески дезинфектантом проверяли в следующем порядке: на простерилизованную поверхность тест-объектов наносили стерильной пипеткой 1 - 2 см³ суспензии вируса Ауески производственный штамм «УНДИЕВ 18В». Контаминированные тест-объекты оставляли в кюветах горизонтально и вертикально, подсушивали 1-2 часа та с помощью опрыскивателя увлажняли поверхность исследуемым дезинфицирующим раствором с учетом концентрации, экспозиции и количества использованного дезинфектанта. При этом использовали такие концентрации дезинфектанта «Би-дез™» 0,1 % 0,25 %, 0,5 % и 1,0 %.

В качестве контроля для обработки тест-объектов использовали стерильную воду. Через определенное время с поверхности тест-объектов делали смывы стерильной марлевой салфеткой с контрольных и опытных проб.

К пробе жидкости (10 - 50 см³) добавляли 0,05 М трис-буфер (рН 9,0), который добавляли в объеме 1 - 2 см³ и встряхивали на протяжении 5 мин. Смесь центрифугировали при 1500 об/мин. 15 - 20 мин., надосадочную жидкость использовали для определения остаточной инфекционности. Надосадочную жидкость и питательную среду (на основе инаktivированной сыворотки крови крупного рогатого скота) вносили для определения цитопатического действия в монослой культуры клеток СПЕВ. Проявление цитопатического действия (ЦПД) в монослое культуры клеток СПЕВ будет проявляться в виде округления клеток, образования симпластов, многоядерных клеток и появления зернистости. Степень дегенерации клеток оценивали по 4-бальной шкалой в крестах: ++++ - деструкция всех клеток (клетки отделяются от стекла и плавают в среде); +++ - рядом с полной дегенерацией встречаются отдельные неповрежденные клетки; ++ - деструкция половины клеток; + - дегенерация меньше половины клеток. Отсутствие дегенерации - клетки культуры не отличаются от контрольной (не зараженной вирусом) культуры. Для подтверждения цитопатического эффекта использовали РН (реакцию нейтрализации) (табл. 1).

Таблица 1 - Эффективность инаktivации вируса болезни Ауески (псевдобешенства - Pseudorabies or Aujeszky' Disease virus) производственный штамм «УНДИЕВ 18В» с помощью дезинфектанта «Би-дез™» на поверхности тест-объектов, М±m, n = 6

Экспозиция (мин.)	Концентрация дезпрепарата, %			
	0,1	0,25	0,5	1,0
15	45,36 % ± 0,16	98,30 % ± 0,2**	100 %	100 %
30	90,07 % ± 1,04	100 %	100 %	100 %
60	95,00 % ± 0,54*	100 %	100 %	100 %

Примечание. Вероятность разницы: *P≤0,05; **P≤0,01.

Определение эффективности уничтожения вируса болезни Ауески дезинфектантом проводили методом обеззараживания тест-объектов и суспензионным методом согласно рекомендаций [2, 3].

Необходимо указать, что в результате проведенных исследований изменений в культуре клеток СПЕВ не выявлено. Это свидетельствует об эффективности дезинфекционного средства на вирус, который находился на поверхности тест-объекта.

Результаты проведенных исследований приведены в таблице 1. Из этой таблицы видно, что «Би-дез™» в 0,1% концентрации через 15 мин. не полностью инаktivует вирус, а только на 45,36 %; через 30 мин. дезинфектант уничтожает вирус на 90,07 %, а через 1 час – на 95 %.

При обработке тест-объектов 0,25 % раствором дезпрепарата через 15 мин. Наблюдалась гибель вируса на 98,30 %, а через 30 мин. и 1 час – вирус болезни Ауески уничтоженный на 100 %.

При обработке поверхностей 0,5 % и 1 % раствором «Би-дез™» уже через 15 мин. осуществлялась полная инаktivация вируса. После заражения смывами, которые были взяты через 30 мин. и 1 год. с обработанных 0,5 % и 1 % раствором поверхностей изменений в тест-системах (культурах клеток СПЕВ) не выявлено.

При проведении исследований суспензионным методом ставили цель определить эффективную вирулицидную концентрацию дезинфекционного средства «Би-дез™» для инаktivации вируса болезни Ауески. Исследования проводили согласно существующей методики [3].

В исследованиях определения вирулицидной активности дезинфектанта «Би-дез™» использовали такие концентрации: 0,1% 0,25 %, 0,5 % и 1,0 %.

Также в качестве тест-вируса использовали клетки СПЕВ, в которых происходило размножение вируса болезни Ауески. Вирусосодержащую жидкость смешивали с равным объемом раствора «Би-дез™», выдерживали 15, 30, 60 мин.

После указанной экспозиции пробы разводили 10-тикратно в физиологическом растворе и вносили для определения цитопатического действия в монослой культуры клеток СПЕВ. Проявление цитопатического действия (ЦПД) в монослой культуры клеток СПЕВ будет проявляться в виде округления клеток, образования симпластов, многоядерных клеток и появления зернистости. Для подтверждения цитопатического эффекта использовали РН (реакцию нейтрализации).

Результаты проведенных исследований наведены в таблице 2.

Таблица 2 - Инаktivация вируса болезни Ауески при воздействии дезинфектанта «Би-дез™», $M \pm m$, $n = 6$

Экспозиция (мин.)	Концентрация «Би-дез™», %			
	0,1	0,25	0,5	1
15	$10^{9,25 \pm 0,15}$ 44,28 ± 0,37*	$10^{5,8 \pm 0,45}$ 99,79 ± 0,65**	0 100	0 100
30	$10^{8,56 \pm 0,39}$ 90,00 ± 0,42**	0 100	0 100	0 100
60	$10^{6,4 \pm 0,65}$ 97,00 ± 0,53**	0 100	0 100	0 100

Примечание. Вероятность разницы: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$.

Выходной титр вируса болезни Ауески $10^{9,5} \text{ ЕД}_{50}/\text{см}^3$;

В числителе указанная остаточная инфекционность вируса в $\lg \text{ЕД}_{50}/\text{см}^3$;

В знаменателе – эффективность инаktivации вируса, %.

Исходя из данных таблицы 2 можно сделать вывод, что 0, 1 раствор дезинфектанта «Би-дез™» через 15 мин. инаktivирует не полностью, а только на 44,28 % вирусные частицы; через 30 мин. в этой же концентрации «Би-дез™» инаktivирует вирус на 90 %, а через 1 ас. – на 97 %. При действии 0,25 % раствора «Би-дез™» через 15 мин. уничтожается 99,79 % вирусных частиц болезни Ауески, а через 30 мин. и 1 час. препарат в той же концентрации полностью проходит инаktivация вируса.

Следует указать, что в концентрации 0,5 % и 1,0 % «Би-дез™» имеет выраженную вирулицидную активность и способен на протяжении 15, 30 и 60 мин полностью инаktivировать вирус болезни Ауески.

Таким образом, проанализировав данные, полученные по двум различным методикам, можно утверждать, что 0,1 % раствор дезинфектанта «Би-дез™» недостаточно эффективен для уничтожения вируса. Однако 0,25 % раствор дезинфектанта «Би-дез™» полностью убивает вирус болезни Ауески через 30 мин., а начиная с 0,5 % концентрации – уже через 15 мин. (таблицы 1, 2).

Список использованных источников

- Бірта Г.О. Ветеринарно-санітарні заходи у господарствах по виробництву продукції свинарства / Г.О. Бірта // Ефективне тваринництво – 2008. - № 2. – С. 34-36.
- Методические указания о порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики. Утв. ГУВ Госагропрома СССР. – 1987. – С. 158.
- Методичні рекомендації щодо визначення вірусцидної активності дезінфектантів відносно вірусів ньюкаслської хвороби птиці / І.І. Бойко, О.М. Якубчак, В.І. Хоменко та ін. – Київ, 2006. – 12 с.
- Фотіна Г. А. Визначення бактерицидних властивостей дезінфікуючого препарату «Бровадез-плюс» / Г. А. Фотіна, А. В. Березовський // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: Зб. наук. пр. Харківської ДЗВА. – Харків, 2007. – Вип.15 (40), Ч.2, Т.1. – С. 91-95.

Информация об авторах:

Шкромда Оксана Ивановна, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры терапии, фармакологии и клинической диагностики, факультет ветеринарной медицины, Сумского национального аграрного университета, Украина, г. Сумы. skromadaO@yandex.ru. т. 0999190657