

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

УДК 619:616.084-636.9

ВИПРОБУВАННЯ ВЛАСНЕ РОЗРОБЛЕНОГО ДЕЗІНФЕКТАНТУ «ЕПІДЕЗ» ПРОТИ ЗБУДНИКІВ ЗАРАЗНИХ ХВОРОБ ХУТРОВИХ ТВАРИН

Степаняк І. В., к. вет. н, ст. наук. співроб., засл. прац. вет.мед. України
Дослідна станція епізоотології ІВМ НААН

Мандигра М. С., д. вет. н., проф., засл. діяч науки і техн. України
Відділення вет. медицини НААН

Бойко П. К., д. вет. н, ст. наук. співробітник
ІВМ НААН

Винайдено новий дезінфікуючий препарат “Епідез” з діючою речовиною ПГМГ (полігексаметиленгуанідин), який є ефективним бактерицидним засобом для проведення заходів загальної та спеціальної ветеринарно-санітарної профілактики і боротьби зі збудниками інфекцій у звіро- та кролегосподарствах, інших об’єктах ветеринарно-санітарного нагляду. Лабораторні і польові випробування бактерицидної дії дезінфікуючого препарату “Епідез” на різних об’єктах середовища дали позитивні результати санації за мінімальних концентрацій діючої речовини від 0,05-0,1% до 4,0%.

Ключові слова: “Епідез”, дезінфектант, бактерицидна дія, фунгіцидна дія, збудники заразних хвороб, хутрові тварини.

Поширення заразних хвороб (алеутська хвороба, парвовірусний ентерит, ентероінфекції і токсикози, вірусна геморагічна хвороба, міксоматоз, еймеріоз та ін.) серед різних видів хутрових звірів та кролів завдає значних економічних збитків даним галузям тваринництва та гальмує їх розвиток.

Актуальність. Предметом актуальності стала необхідність покращення епізоотологічного стану кролівничих і звірогосподарств, зокрема, у забезпеченні їх новітнім науково-теоретичним і практичним ветеринарним супроводом, розробкою і впровадженням сучасних засобів та способів профілактики і боротьби з інфекціями тварин.

Мета досліджень – розробка новітнього дезінфектанту, якнайкра-

ще придатного для використання на об’єктах кліткового утримання тварин, його випробування з визначенням концентрацій бактерицидної активності до різних видів мікроорганізмів.

Матеріали і методи. У роботі використовували: чотири серії розчину дезінфектанту «Епідез»; тест-культури мікроорганізмів; стерильний 0,85%-ий розчин натрію хлориду, стерильні ватні тампони на металевих прутиках; металеву рамку розміром 10x10 см; живильні середовища (МПБ, МПА, Кітт-Тароцці, Сабуро); термостати на 37 °С і на 27° С; центрифугу; оприскувач «Росинка»; оптичний стандарт каламутності.

24-х і 48-годинні тест-культури знімали з МПА, переносили у стерильні пробірки із МПБ або Кітт-Тароцці і

центрифугували при 4000 б/хв. упродовж 20 хв. Надосадову рідину зливали, а осад розбавляли стерильним 0,85%-вим розчином натрію хлориду і доводили концентрацію мікробних тіл до 2 млрд/мл по оптичному стандарту каламутності. На 100 мл стерильного 0,85%-го розчину натрію хлориду вносили по 2 мл суспензії мікробних тіл.

Підготовку стін та підлоги ізолятора перед нанесенням на плитку робочої суспензії тест-культур проводили наступним чином. Ізолятор звільнили від усіх сторонніх предметів, вимили миючим розчином всі стіни та підлогу, просушили. На кожну тест-культуру брали окрему ізольовану плитку розміром 20x30 см (0,06 м²) та розміром 30x30 см (0,09 м²) і позначали їх номером відповідно до номеру тест-культури з допомогою маркера. Нанесення робочої суспензії тест-культури проводили з допомогою ватно-марлевого тампону з розрахунку 1 мл робочої суспензії тест-культури на 1 см поверхні плитки.

Після 20-хвилинного підсихання проводили контрольні посіви із оброблених тест-культурами плиток на відповідне до кожного виду мікроорганізму живильне середовище. Посіви інкубували при 37°C протягом 24 і 48 годин, а для *Candidia albicans* при 27°C протягом 3 діб. У випадку відсутності росту на контрольних посівах результати наступних досліджень не враховувалися.

Після проведення контрольних посівів на плитку з нанесеними на них робочих суспензій тест-культур, з допомогою оприскувача „Росинка» нанесли досліджувану концентрацію «Епідезу» з розрахунку 0,1 см³ на 1см².

Контроль бактеріцидності “Епі-

дезу” проводили щогодинно упродовж часу експозиції: 1-24 години. На середину обробленої дезінфектантом плитки накладали металеву трафаретну рамку і з допомогою стерильного ватного тампону, зволоженого стерильним 0,85%-им розчином натрію хлориду, робили змиви з поверхні плитки в межах трафаретної рамки, тобто 100 см². Змиви поміщали у пробірки зі стерильним 0,85%-им розчином натрію хлориду з об’ємом 5 см³. Ватні тампони відтискали до стінок пробірки від розчину натрію хлориду. Отриману рідину вносили у центрифужні пробірки і центрифугували при 4000 об/хв протягом 20 хв., надосадову рідину зливали. А осад у кількості 1 см³ ще раз розчиняли у 5 см³ стерильного ізотонічного розчину і знову центрифугували у такому ж режимі. Отриманий осад у кількості 0,5 см³ висівали на відповідні тест-культурам живильні середовища. Посіви інкубували при 37°C і при 27°C (для *Candidia albicans*) протягом 24-48 годин та 3 діб (для *Candidia albicans*).

Фунгіцидну дію препарату «Епідез», а саме мінімальну фунгіцидну концентрацію водного розчину засобу, яка забезпечує загибель 95 – 98% спор мікроскопічних грибів, встановлювали в лабораторних дослідах, які ґрунтуються на суспензійному методі. Цей метод передбачає використання суспензій музейних штамів тест-культур мікроміцетів, стандартизованих за кількістю спор грибів у одному мілілітрі, які практично не містять залишків живильного середовища.

Роботу з визначення фунгіцидної дії різних концентрацій «Епідезу» та параметрів застосування було сплановано і проведено керуючись „Методическими указаниями о порядке

испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики».

Дані про оптимальні режими використання (концентрації, температурні показники, час обробок), при яких виявляються фунгіцидні властивості «Епідезу», відносно *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* в літературі відсутні, а відомі лише рекомендовані концентрації за умов його попередніх досліджень (0,1% – 1,0%).

Вивчення бактерицидної активності дезінфектанту «Епідез» проти мікобактерій проводили з використанням наступних матеріалів та методів:

Випробувано 20-ти, 10-ти, 5-ти та 1%-ві водні розчини досліджуваних дезінфікуючих засобів за експозиції *in vitro* протягом 30 хвилин, 1 та 24 годин із зависями тест-культур мікобактерій видів *Mycobacterium bovis*, штам Vallee, *Mycobacterium avium*, штам 14141 та *Mycobacterium fortuitum*, штам ДГМ-2.

Для контролю було використано завясі тест-культур мікобактерій зі стерильною дистильованою водою, взятою замість дезінфікуючих препаратів, за експозиції як і в дослідних варіантах.

Після завершення кожної експозиції седиментовані та двічі відмиті стерильним ізотонічним розчином хлориду натрію мікобактерій у дослідних і контрольних варіантах висівали на живильне середовище Левенштейна-Йенсена. Облік результатів проводили упродовж 30 діб: бактерицидну дію досліджуваних засобів оцінювали за відсутністю росту колоній мікобактерій у дослідних варіантах за їх наявності у контрольних варіантах.

Вивчення гострої токсичності препарату проведено на щурах і при цьому використано наступні матеріали та методи. Для токсикологічного дослідження дезінфікуючого препарату «Епідез» використовували здорових білих щурів (самок і самців) віком 6-6,5 місяців і масою тіла 180-200 г. Утримання піддослідних тварин проходило згідно діючих «санітарних вимог та норм щодо утримання піддослідних тварин у віваріях». Годівлю дослідних тварин проводили стандартною дієтою і в фіксований час.

Для вивчення та аналізу даних гострої токсичності «Епідезу» відмічали наступні параметри стану піддослідних тварин: особливості загального стану, поведінки та тонуусу скелетних м'язів, реакції на тактильні, больові та звукові подразники, частоту та глибину дихання, ритм серцевих скорочень, стан шкіри та волосяного покриву, колір слизових оболонок, розмір зиниць, положення хвоста, консистенцію та кількість фекальних мас, колір сечі та частоту сечовиділення, споживання корму та води, виміри маси тіла.

Результати та обговорення. Оцінку результатів лабораторних досліджень бактерицидності «Епідез» проводили візуально (наявність каламуті, газоутворення, осаду на рідких живильних середовищах, появи колоній) та мікроскопічно (таб. 1).

З таблиці видно, що досліджуваний дезінфікуючий препарат «Епідез» проявляє бактерицидну дію на різні види та групи збудників бактеріальних інфекцій у робочих концентраціях (за діючою речовиною) від 0,05% до 0,1%.

Таблиця 1

**Результати визначення граничної бактерицидної концентрації
дезінфектанту «Епідез» серій № 379, 381, 382, 384**

№ п/п	Вид мікроорганізму	№ серії «Епідезу» та його гранична бактерицидна концентрація, у %			
		379	381	382	384
1.	<i>Cl. chauvoei</i>	0,1	0,1	0,1	0,1
2.	<i>Cl. septicum</i>	0,1	0,1	0,1	0,1
3.	<i>Cl. perfringens</i>	0,1	0,1	0,1	0,1
4.	<i>Cl. tetani</i>	0,1	0,1	0,1	0,1
5.	<i>Fusobacterimnecrophorum</i>	0,1	0,1	0,1	0,1
6.	<i>Bac. anthracis</i> (вакцинний штам 55)	0,1	0,1	0,1	0,1
7.	<i>Bac. cereus</i>	0,1	0,1	0,1	0,1
8.	<i>Bac. mycoides</i>	0,1	0,1	0,1	0,1
9.	<i>Bac. subtilis</i>	0,1	0,1	0,1	0,1
10.	<i>E. coli</i> (В-гемолітичний штам)	0,05	0,05	0,05	0,05
11.	<i>Sal. gallinarum</i>	0,05	0,05	0,05	0,05
12.	<i>Ps. aeruginosa</i>	0,05	0,05	0,05	0,05
13.	<i>Pasteurellamultocida</i>	0,05	0,05	0,05	0,05
14.	<i>Staph. citreus</i>	0,05	0,05	0,05	0,05
15.	<i>Staph. albus</i>	0,05	0,1	0,1	0,05
16.	<i>Candidiaalbicans</i>	0,05	0,1	0,1	0,05

В умовах лабораторних досліджень «Епідез» проявив себе як ефективний дезінфікуючий засіб проти різних видів збудників бактеріальних інфекцій тварин, в тому числі спороутворюючих бактерій та кандидозів. Результати дії дезінфектанту на збудників туберкульозу сільськогосподарських тварин, птиці та хутрових звірів представлені у таблиці 2, а фунгіцидної дії

препарату - у таблиці 3.

«Епідез» не проявляв будь-якої агресивної дії до оброблюваних поверхонь (виникнення корозій металу, трухлявіння дерева, висихання і ламкість гуми, інше), а навпаки, після нанесення утворював захисну полімерну (ПГМГ) плівку, дезінфікуюча здатність якої зберігалася ще упродовж 10-15 днів.

Таблиця 2.

Результати визначення бактеріцидної дії деззасобів “Епідез” та “Епідез –1” на мікобактерії

Дез-засіб	Концен-трація, %	Екс-позиція, год.	Варіанти					
			дослідні			контрольні		
			M.bovis	M. avium	M.fortuitum	M. bovis	M. avium	M.fortuitum
“Епідез”	20	0,5	+	+	-	++	+++	++++
		1	+	+	-	++	+++	++++
		24	-	+	-	++	+++	++++
	10	0,5	+	+	+	++	+++	++++
		1	+	+	-	++	+++	++++
		24	-	+	-	++	+++	++++
	5	0,5	+	+	+	++	+++	++++
		1	+	+	-	++	+++	++++
		24	-	+	-	++	+++	++++
	1	0,5	+	+	+	++	+++	++++
		1	+	+	-	++	+++	++++
		24	+	+	-	++	+++	++++
“Епідез –1”	20	0,5	-	-	-	++	+++	++++
		1	-	-	-	++	+++	++++
		24	-	-	-	++	+++	++++
	10	0,5	+	-	+	++	+++	++++
		1	-	-	+	++	+++	++++
		24	-	-	-	++	+++	++++
	5	0,5	+	+	+	++	+++	++++
		1	+	+	+	++	+++	++++
		24	-	-	-	++	+++	++++
	1	0,5	+	+	+	++	+++	++++
		1	+	+	+	++	+++	++++
		24	+	-	-	++	+++	++++

Примітка: «-» - ріст мікобактерій відсутній; «+» - ріст до 5 колоній; «++» - ріст від 5 до 10 колоній; «+++» - ріст більше 10 колоній; «++++» - суцільний ріст мікобактерій.

Таблиця 3.

Результати визначення фунгіцидної дії препарату «Елдез» на тест-культурах пліснявих грибів (експозиція 60 хвилин за умов кімнатної температури)

Концентрація „Елдезу», %	Тест-культури пліснявих грибів																	
	Aspergillus fumigatus							Aspergillus flavus							Aspergillus niger			
	3	5	7	10	14	21	3	5	7	10	14	21	3	5	7	10	14	21
	Терміни обліку росту колоній тест-культур (днів)																	
	Кількість колоній тест-культур (шт.)																	
3,0	-	24	51				-	14	38				-	39	61			
3,5	-	7	8				-	10	13				-	17	19			
4,0	-	-	-				-	-	-				-	-	-			
6,0	-	-	-				-	-	-				-	-	-			
8,0	-	-	-				-	-	-				-	-	-			
10,0	-	-	-				-	-	-				-	-	-			
Позитивний контроль	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Контроль з ністатином	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Примітки: “-” - відсутність росту; “+” - суцільний ріст;

Проведені дослідження свідчать про те, що «Епідез», за температури $18 \pm 0,5^\circ\text{C}$ та експозиції за часом 60 хвилин впливає на затримку росту тест-культур у 3,0-3,5% концентраціях (у порівнянні з позитивним контролем).

Фунгіцидні властивості препарату «Епідез» виявили за 4% концентрації.

Результати вивчення гострої токсичності препарату висвітлені у таблицях 4 і 5.

Таблиця 4

Показники гострої токсичності препарату “ЕПІДЕЗ” на щурах-самках

Показники	Доза препарату, мг/кг				
	1800	1900	2000	2100	2200
Всього тварин в експерименті, голів:	6	6	6	6	6
З них вижило, голів:	6	4	4	1	0
Загинуло, голів / %	0 / 0	2 / 33,3	2 / 33,3	5 / 83,3	6 / 100
Z	-	1,0	2,0	3,5	5,5
D	-	100	100	100	100
DZ	-	100	200	350	550

Таблиця 5

Показники гострої токсичності препарату “ЕПІДЕЗ” на щурах-самцях

Показники	Доза препарату, мг/кг				
	1800	1900	2000	2100	2200
Всього тварин в експерименті, голів	6	6	6	6	6
З них вижило, голів	6	5	4	2	0
Загинуло, голів / %	0 / 0	1 / 16,6	2 / 33,3	4 / 66,7	6 / 100
Z	-	0,5	1,5	3,0	5,0
D	-	100	100	100	100
DZ	-	50	150	300	500

Висновки:

1. «Епідез» проявляє бактерицидну дію на різні види та групи збудників бактеріальних інфекцій хутрових тварин у робочих концентраціях (за діючою речовиною) від 0,05% до 0,1%.

2. Препарат «Епідез» у концентраціях 3,0 та 3,5 % виявляє фунгістатичні властивості, а у концентрації 4,0% впливає на повну затримку росту мікроміцетів, проявляючи фунгіцидну дію.

3. Деззасіб «Епідез» проявляє бактерицидну дію в 5 %-ій концентрації при 24-годинній експозиції на збудник туберкульозу (*M. Bovis*), а у 1%-ій конц. при 1 і 24 годинній експозиціях на атипові мікобактерії IV групи за класифікацією Раньона.

4. ЛД₅₀ «Епідезу» для щурів-самок склала $2000,0 \pm 35,0$ мг/кг маси тіла, самців – $2033,0 \pm 34,3$ мг/кг. За класифікацією токсичності препарат можна віднести до IV класу малоток-

сичних сполук, а за ДОСТ 12.07.76 – до 3-го класу небезпечності речовин.

5. «Епідез» не проявляє будь-якої агресивної дії до оброблюваних поверхонь (виникнення корозій металу, трухлявіння дерева, висихання і ламкість гуми, інше), а навпаки, після нанесення утворює захисну полімерну (ПГМГ) плівку, дезінфікуюча здатність

якої зберігається ще упродовж 10-15 днів. «Епідез» не має стороннього запаху, є дешевшим на 20-30% за зарубіжні аналоги, він якнайкраще, порівняно з іншими дезінфектантами (похідними кислот, лугів, активним хлором), є придатним для проведення дезінфекції на об'єктах кліткового хутрового звірівництва та кролівництва.

Бібліографічний список:

1. Гембицкий П. А. Полимерный биоцидный препарат полигексаметиленгуанидин / П. А. Гембицкий, И. И. Воинцева. - Запорожье: Полиграф, 1998. - 44 с.
2. Нехорошева А. Г. Адаптация бактерий к катионактивным соединениям / А. Г. Нехорошева, Е. К. Скворцова // Проблемы дезинфекции и стерилизации. Сб. науч. трудов. – 1975. – Вып. 24. – С. 126-129.
3. Мандигра М. С. Використання полігексаметиленгуанідину для дезінфекції / М. С. Мандигра, І. В. Степаняк, А. В. Лисиця, Ю. М. Мандигра // Аграрний вісник Причорномор'я. Збірник наукових праць. Вип. 42. – 2008. – Ч.2. – С. 69–73.
4. Мандигра М. С. Біохімічні аспекти біоцидної дії полімерних похідних гуанідину / М. С. Мандигра, А. В. Лисиця, І. Л. Андрущук, Ю. М. Мандигра-Мельник // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету: Зб. наук праць. – 2009. – Вип. 60. – Ч. 1. – С. 81-85.
5. Довідник санітарно-мікробіологічних методів дослідження харчових продуктів та об'єктів довкілля / В. І. Івченко, В. В. Шарандак, Г. М. Денисенко, О. І. Горбатюк. – Біла Церква, 2004. -242с.
6. Визначення чутливості і стійкості мікроорганізмів до дезінфікуючих засобів: метод. Рек. / уклад.: Н.С. Морозова та ін. – К.: Знання України, 2008. – 12 с.
7. Степаняк І. В. Епізоотологічні дослідження хвороб хутрових звірів / І.В. Степаняк // Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького, том 3 (№ 2). – 2001. – С.160-163.
8. Степаняк І. В. Лікувально-профілактичні заходи при інфекційних хворобах хутрових звірів / І. В. Степаняк, М. С. Мандигра // Розвиток ветеринарної науки в Україні: здобутки та проблеми. Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції (Харків, 24-26 вересня 1997 р.) – С. 166-167.
9. Палій А. П. Розробка та вивчення дезінфікуючих препаратів при туберкульозі сільськогосподарських тварин: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец. 16.00.03 – „Ветеринарна мікробіологія та вірусологія” / А.П.Палій. – Харків, 2007. – 24 с.

ИСПЫТАНИЕ ДЕЗИНФЕКТАНТА «ЭПИДЕЗ» ПРОТИВ ВЗБУДИТЕЛЕЙ ЗАРАЗНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ПУШНЫХ ЗВЕРЕЙ**И. Степаник, Н. Мандыгра, П. Бойко**

Изобретен дезинфицирующий препарат нового поколения “Эпидез” на основе действующего вещества ПГМГ, являющийся высокоэффективным бактерицидным веществом для проведения общей и специальной ветеринарно-санитарной профилактики и борьбы с возбудителями инфекций в зверо- и кроле-хозяйствах, других объектах ветеринарно-санитарного надзора. Лабораторные и полевые испытания “Эпидеза” на разных объектах среды, в том числе при средних биологических нагрузках, дали положительный результат при минимальных концентрациях действующего вещества 0,05 - 4,0%.

Ключевые слова: «Эпидез», дезинфектант, бактерицидное действие, фунгицидное действие, возбудители заразных болезней, пушные животные.

TESTING OF DISINFECTANT“EPIDEZ” AGAINST AGENTS OF INFECTIONS DISEASES OF FUR ANIMALS**I.Stepaniak, M. Mandigra, P.Boyko**

Invented disinfecting preparation of the new generation «Epidex» based on the active ingredient PGMG, it is a highly bactericidal agent for the general and special animal health prevention and control of infectious agents in wild animal and rabbit farms, other objects of veterinary and sanitary control. Laboratory and field tests of «Epidex» on different objects of environment, including the biological medium loading gived positive resultat the minimum concentrations of active ingredient 0.05 - 4.0%.

Keywords: «Epidex» disinfectant, bactericidal action fungicidal action pathogens of infectious diseases, furry animals.