

УДК 619.614.48

Фотіна Т.І., д.вет.н., професор, tif_ua@meta.ua¹©**Березовський А.В.**, д.вет.н., професор, bav13@meta.ua¹**Улько Л.Г.**, д.вет.н., доцент, larisau@ukr.net¹**Бабарук А.В.**, начальник служби Південної РСД ВК на державному кордоні та транспорті, babaruk@mail.ru²¹Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна²Південна регіональна служба державного ветеринарно-санітарного контролю та нагляду на державному кордоні та транспорті, м. Харків, Україна

СУЧАСНІ СТАН І МОЖЛИВОСТІ РІШЕННЯ ПРОБЛЕМИ ДЕЗИНФЕКЦІЇ ТРАНСПОРТНИХ ЗАСОБІВ

У статті представлені дані по вивченню властивостей нового дезінфектанту «Бі-дез». Встановлено, що препарат Бі-дез чинить виражену антимікробну дію по відношенню до тест-культур *E. coli* та *S. aureus* за прямого контакту. Оптимальна концентрація Бі-дезу за результатами дослідів 0,1 %. За експозиції 30 хвилин препарат в концентрації 0,1 % діє бактерицидно на референс-штами. Дезінфектант Бі-дез має високу віруліцидну активність по відношенню до РНК-вмісних вірусів.

Після дезінфекції 0,1% розчином Бі-дезу росту культур не спостерігалось, що вказує на високу якість дезінфекції. За застосування препарату «Бі-дез» дезінфекційна активність зберігається тривалий час та можлива дозаправка дезбар'єрів впродовж 96 годин, що значно полегшує проведення ветеринарно-санітарних заходів за загрози занесення високопатогенних збудників інфекції на територію України.

Ключові слова: препарат «Бі-дез», дезінфекція, тест-об'єкти, референт-штами, дезбар'єри, культури мікроорганізмів.

УДК 619.614.48

Фотіна Т.І., д.вет.н., професор, tif_ua@meta.ua¹**Березовський А.В.**, д.вет.н., професор, bav13@meta.ua¹**Улько Л.Г.**, д.вет.н., доцент, larisau@ukr.net¹**Бабарук А.В.**, начальник служби Южної РСД ВК на государственной границе и транспорте, babaruk@mail.ru²¹Сумський національний аграрний університет, г. Суми, Україна²Южная региональная служба государственного ветеринарно-санитарного контроля и надзора на государственной границе и транспорте, г. Харьков, Украина

СОВРЕМЕННЫЕ СОСТОЯНИЕ И ВОЗМОЖНОСТИ РЕШЕНИЯ ПРОБЛЕМЫ ДЕЗИНФЕКЦИИ ТРАНСПОРТНЫХ СРЕДСТВ

В статье представлены данные по изучению свойств нового дезинфектанта «Би-дез». Установлено, что препарат Би-дез оказывает выраженное антимикробное действие по отношению к тест-культуре *E. coli* и

S. aureus за прямого контакта. Оптимальная концентрация Би-дезу по результатам опыта 0,1%. По экспозиции 30 минут препарат в концентрации 0,1% действует бактерицидно на референс-штаммы. Дезинфектант Би-дез имеет высокую вирулицидную активность по отношению к РНК-содержащих вирусов.

После дезинфекции 0,1% раствором Би-дезу роста культур не наблюдалось, что указывает на высокое качество дезинфекции. За применение препарата «Би-дез» дезинфекционная активность сохраняется длительное время и возможна дозаправка дезбарьеров течение 96 часов, что значительно облегчает проведение ветеринарно-санитарных мероприятий при угрозе занесения высокопатогенных возбудителей инфекции на территорию Украины.

Ключевые слова: препарат «Би-дез», дезинфекция, тест-объекты, референс-штаммы, дезбарьеры, культуры микроорганизмов.

UDK 619.614.48

Fotina T.I., Doctor of Veterinary Science, Professor, tif_ua@meta.ua¹

Berezovskiy A.V., Doctor of Veterinary Science, Professor, bav13@meta.ua¹

Ulko L.G., Doctor of Veterinary Medicine, Associate Professor, larisau@ukr.net¹

Babaruk A.V., Head of South RSD VC at the state border and transport, babaruk@mail.ru²

¹Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

²South regional office of the state veterinary and sanitary control and supervision of the state border and transport, Kharkov, Ukraine

MODERN STATE AND POSSIBLE SOLUTIONS DISINFECTING VEHICLES

The article presents information on the properties of the new disinfectant "Bi-des". It is found that the drug Bi-des has a strong antimicrobial action with respect to the test-cultures of E. coli and S. aureus for direct contact. The optimum concentration of "Bi-des" as a result of the experience of 0.1%. Upon exposure of 30 minutes preparation in a concentration of 0.1% bactericidal effect on the reference strains. Disinfectant Bi-des has high virucidal activity against RNA viruses.

After disinfecting solution 0.1% "Bi-des" crop growth was observed, which indicates high quality disinfection. For the use of the drug "B-des" disinfection activity persists for a long time and can be refueled disinfection barriers within 96 hours, greatly facilitates the animal health activities under the threat of adding the highly infectious agents on the territory of Ukraine.

Key words: "Bi-des", disinfection, test-objects, reference strains, disinfection barriers, cultures of microorganisms.

Вступ. Сучасний період характеризується погіршенням епідеміологічної ситуації з особливо небезпечних інфекцій. Багато в чому це обумовлено політичною і економічною нестабільністю в країні, масовою міграцією населення всередині країни та між країнами, передислокацією військ, військовими діями в "гарячих точках", новими умовами господарювання при яких захворювання тварин зоонозами часто залишаються нерозпізнаними і

невідомими. Розвиток міжнародних зв'язків, що супроводжуються інтенсивним пересуванням людей з використанням сучасних швидкохідних транспортних засобів, може сприяти заносу карантинних хвороб в будь-яку країну незважаючи на те, що охорону території країни здійснюють прикордонні інспекційні пункти ветеринарної медицини, лабораторії ветеринарної медицини [1, 2].

Поява і поширення інфекційних хвороб тварин на раніше благополучних територіях завжди загрожує негативними наслідками для тваринництва і дикої фауни країни. Захворюваність і загибель неімунних до цих хвороб тварин у первинних осередках може бути значною. Занесення збудника хвороби зооантропоного характеру створює загрозу захворювання людей. Виникнення будь-який з цих хвороб може привести до порушення економіки країни, її господарських і культурних зв'язків [3].

Ветеринарній службі не завжди вдається швидко розпізнавати такі хвороби, так як вона часто вже не обізнана про можливість їх виникнення і не завжди має необхідні діагностичні засоби специфічної профілактики. Ряд хвороб відноситься до групи А (за номенклатурою і класифікацією МЕБ), при виникненні яких обов'язкове негайне оповіщення Міжнародного епізоотичного бюро. Звідси випливають і подальші економічні та інші санкції. Недопущення виникнення і поширення цієї групи хвороб - предмет особливої уваги ветеринарної служби [4].

Матеріали і методи. Матеріалом для досліджень був вітчизняний препарат Бі-дез. Визначення бактерицидних властивостей та дезінфекційної активності нового дезінфектанту «Бі-дез» проводили відповідно до «Методичних вказівок про порядок випробування нових дезінфекційних засобів для ветеринарної практики» та наявних рекомендацій. В якості тест-культур використовували музейні штами кишкової палички (штам 1257) та золотистого стафілококу (штам 209-Р).

Дослідження проводили в два етапи: перший – визначення «*in vitro*» мінімальних розведень препарату здатних забезпечити 100 % ефективність відносно досліджуваних культур мікроорганізмів та з'ясування ефективності встановленої мінімальної дози для дезінфекції у виробничих умовах.

Бактерицидну активність розчину препарату «Бі-дез» за прямого контакту вивчали методом серійних розведень на культурах *E. coli* та *S. aureus*.

За стійкістю до хімічних дезінфікуючих речовин кишкова паличка не поступається багатьом патогенним неспороутворюючим і некоковим мікроорганізмам та навіть має перевагу перед ними. Встановлено, що, якщо буде знищена кишкова паличка, то будуть знищені і збудники таких хвороб, як бруцельоз, сальмонельоз, бешиха, колібактеріоз та ін. Виключенням у цьому відношенні можуть бути лише збудники туберкульозу та спороутворююча мікрофлора, стійкість якої вища ніж у кишкової палички. Тому, для контролю якості дезінфекції при туберкульозі і деяких інших інфекцій показниковим мікроорганізмом признаний стафілокок [49].

Таким чином, про якість дезінфекції судять за наявністю або відсутністю на поверхні об'єктів *E. coli* та *S. aureus*.

Для дослідження на стерильній воді готували гомогенні суспензії культур з концентрацією 0,3-0,5 млрд/см³, до неї додавали рівні об'єми дезінфектантів із розрахунку того, що їх концентрація в суспензії становила 0,1%, 0,25%, 0,5%, 1%, 1,5% та 2%. Суспензії інкубували при температурі 20 °С впродовж 12 год., після чого по 0,2 мл висівали на МПА. Пробірки витримували вертикально для вільного стікання рідини на дно. Контролем були суспензії, розведені еквівалентною кількістю води. Висіви інкубували в термостаті при температурі 37 °С протягом двох діб. Про бактерицидну дію препаратів судили за кількістю колоній (колонійутворюючих одиниць - КУО) на поверхні поживного середовища для кожної концентрації препарату.

Вивчення дії Бі-дезу у різних умовах визначали на тест-об'єктах. Для дослідів тест-культури *E. coli* та *S. aureus* вирощували на МПА. Із добової культури готували навжку на фізіологічному розчині з вмістом 1 млрд бактеріальних тіл за оптичним стандартом. Як тест-об'єкти використовували гуму, дерево та залізо у вигляді квадратних форм розміром 10 x 10 см - 100 см². Тест-об'єкти очищали стерилізували в автоклаві при температурі 120 °С впродовж однієї години.

Тест-об'єкти контамінували із розрахунку 10 млн на 1 см² поверхні об'єкту брали 0,1 мл суспензії культури, змішували з цільною сироваткою крові коня (білковий захист) і потім рівномірно розподіляли по поверхні. Контаміновані тест-об'єкти залишали в горизонтальному положенні до повного висихання. Потім їх розміщували у кюветах горизонтально та вертикально і розприскуванням наносили розчини досліджуваних деззасобів, зазначаючи при цьому їх експозицію, концентрацію та витрачену кількість. Контролем були тест-об'єкти, оброблені такою ж самою кількістю стерильної водопровідної води. Через визначений проміжок часу брали стерильним тампоном змиви з дослідних і контрольних тест-об'єктів. Потім по 1 см³ вихідної суспензії з кожної з цих пробірок вносили у відповідне середовище.

Для дезінфекції використовували 0,1%, 0,25%, 0,5%, 1%, 1,5% та 2% розчини Бі-дезу. Експозиція становила 30 хв, 1, 2, 3 і 4 години. По закінченні експозиції з тест-об'єктів, стерильними ватними тампонами відбирали хімічну речовину (двократно центрифугували з дистильованою водою по 30 хвилин при 2500 об/хв). Осад після другого центрифугування розбавляли 1 мл стерильного фізіологічного розчину і висівали по 0,5 мл на середовище КОДА (об'єкти контаміновані *E. coli*) Якість дезінфекції визначали за зміною кольору середовища з бузково-червоного у зелений чи салатний.

По закінченні обеззаражування тест-об'єктів, контамінованих *S. aureus*, робили змиви, містили їх у фізіологічний розчин і центрифугували. Осад після другого центрифугування розводили 1 мл стерильного фізіологічного розчину і висівали по 0,5 см³ в 5 см³ МПБ з 6,5% хлористого натрію. Через 48 годин інкубації при температурі 37-38 °С робили посів на 8,5% сольовий МПА. Посіви витримували в термостаті 48 годин при температурі 37-38 °С. Для підтвердження росту стафілококів готували мазки, фарбували їх за Грамом і проводили мікроскопію. Один із заражених тест-об'єктів не обробляли і

витримували протягом часу знезаражування (контроль), після чого робили посіви аналогічно дослідним зразкам.

Противірусну активність та токсико-біологічні властивості експериментального препарату визначали за загально визначеними методами. При цьому використовували віруси грипу людини та птиці: А/PR -8/34Н1N1 та вірус гепатиту каченят. Противірусну дію препарату вивчали по відношенню до вірусу грипу птахів та вірусу гепатиту каченят з наступним визначенням їх вірулентності на сприйнятливих до збудників моделях, а саме – на 10-добових курячих ембріонах. При цьому використовували дози 1000 ІД₅₀ /см³ та 1 млн ІД₅₀ /см³ – шляхом контакту *in vitro* впродовж 1, 2, 3, 10 та 30 хвилин при температурі 22 і 37⁰С, а також з інокуляцією в алантоїсну порожнину курячих ембріонів. Через 48 годин інкубації при 37⁰С, із них відбирали алантоїсну рідину і досліджували її в реакції гемаглютинації та реакції непрямой аглютинації. Контролем були проби вірусів, які не обробляли дезінфектантом.

Наукова новизна полягає в експериментальному обґрунтуванні застосування препарату «Бі-дез» для дезінфекції транспортних засобів, предметів та обладнання в системі ветеринарно-санітарних заходів з недопущення заносу високопатогенних збудників інфекцій на територію України на прикордонних інспекційних пунктах ветеринарної медицини та дезопромивочних станціях.

Результати досліджень. Встановлено, що препарат Бі-дез чинить виражену антимікробну дію по відношенню до тест-культур *E. coli* та *S. aureus* за прямого контакту. 0,1% розчин Бі-дез діє бактерицидно по відношенню до культур *E. coli* та *S. aureus*, а при використанні 0,05% розчину на МПА відмічено ріст поодиноких колоній тест-культур (3 колонії - *E. coli* та 4 колонії - *S. aureus*). Оптимальна концентрація Бі-дезу за результатами дослідів 0,1%.

За вивчення дії Бі-дезу на тест-культури з використанням тест-об'єктів з різною експозицією встановлено, що за експозиції 30 хвилин препарат в концентрації 0,05 % не знищує культури кишкової палички та стафілококу з жодного тест-об'єкту, тоді як у вигляді 0,1 % розчину у висівах з гумової та металевий поверхні росту культур *E. coli* не спостерігалось. За експозиції препарату «Бі-дез» 60 хв. на аналогічних тест-об'єктах було отримано також результати, як і в попередньому дослідженні.

Встановлено, що препарат Бі-дез за експозиції 2 години у 0,25 % концентрації знищує кишкову паличку на дерев'яній поверхні, а 0,1 % концентрації на металевій та гумовій. Аналогічні результати отримано і за експозиції 3 та 4 години. Виходячи з цього встановлено, що немає потреби збільшувати час експозиції препарату більше ніж на 2 години. За експозиції 120 хвилин знищував кишкову паличку на дерев'яній поверхні в концентрації 0,5% розчину, а при дослідженні змивів з гумової та металевий поверхні встановлено, що даний препарат забезпечує девіталізацію кишкової палички у вигляді 0,25% розчину.

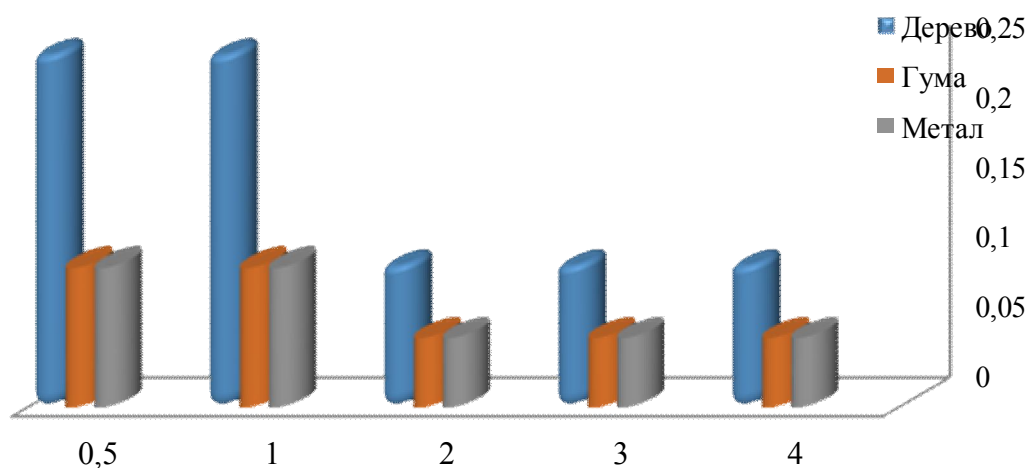


Рис. 1. Оптимальна концентрація та експозиція розчину Бі-дез для різних тест-об'єктів

Визначено, що дезінфектант Бі-дез має високу віруліцидну активність по відношенню до РНК-вмісних вірусів, а саме до вірусу грипу птиці та вірусу гепатиту каченят. Крім того препарат не виявився токсичним для білих мишей та 10-добових курячих ембріонів. Ці дані дають основу на проведення широких виробничих випробувань по визначенню практичної та економічної доцільності використання запропонованого дезінфектанту з метою профілактики інфекційних хвороб.

За результатами дослідів було визначено, що Бі-дез при експозиції 10 і 30 хвилин активний по відношенню кишкової палички в розведенні відповідно 1:160710 та 1:224995. Середнє бактерицидне розведення дорівнювало 1:192853.

Фенольний коефіцієнт дорівнював 1007, тобто по відношенню кишкової палички препарат в тисячу раз виявився активнішим за фенол.

Разом з тим слід відмітити, що в присутності сироватки крові бактерицидна активність дезінфектанту – знижувалась. При використанні в якості тест-культури штамів *E. coli* та *S. aureus* білковий індекс складав 3,84.

Отже Бі-дез «*in vitro*» виявив високу активність по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів.

В наступній серії дослідів було проведено виробниче випробування препарату «Бі-дез» для дезінфекції транспортних засобів та заправки дезбар'єрів. З цією метою було відібрано проби з транспортних засобів до проведення дезінфекції та через 30 хвилин, 1 та 2 години. Також проведено досліді щодо активності дезінфекційного розчину впродовж певного періоду часу в дезбар'єрах.

У посівах із відібраних проб з транспортних засобів було виявлено ріст культур *S. aureus*, *E. coli*, та сальмонел. Після дезінфекції (через 30 хвилин, 1 та 2 години) 0,1% розчином Бі-дезу росту культур виділених попередньо не спостерігалось, що вказує на високу якість дезінфекції. За використання 0,05 %

розчину препарату «Бі-дез» у посівах проб взятих через 30 хв. після дезінфекції було виявлено ріст колоній *S. aureus* (табл. 1).

Таблиця 1

Результати бактеріологічних досліджень змивів з поверхні транспортних засобів до та після дезінфекції розчином Бі-дезу

Період дослідження	Контроль / ріст (проб)	Дослід / ріст (проб)
Бі-дез 0,1%		
До дезінфекції	<i>S. aureus</i> – 3; <i>E. coli</i> – 4; сальмонели – 2;	<i>S. aureus</i> – 2; <i>E. coli</i> – 4; сальмонели – 1;
Після дезінфекції через: 30 хв 1 год 2 год	<i>S. aureus</i> – 1; <i>E. coli</i> – 2; <i>E. coli</i> – 6; <i>S. aureus</i> – 3; <i>E. coli</i> – 7; <i>S. aureus</i> – 3.	Не виділено Не виділено Не виділено
Бі-дез 0,05%		
До дезінфекції	<i>S. aureus</i> – 3; <i>E. coli</i> – 4; сальмонели – 2;	<i>S. aureus</i> – 2; <i>E. coli</i> – 4; сальмонели – 1;
Після дезінфекції через: 30 хв 1 год 2 год	<i>S. aureus</i> – 1; <i>E. coli</i> – 2; <i>E. coli</i> – 6; <i>S. aureus</i> – 3; <i>E. coli</i> – 7; <i>S. aureus</i> – 3.	<i>S. aureus</i> – 1; <i>E. coli</i> – 0; <i>E. coli</i> – 2; <i>S. aureus</i> – 1; <i>E. coli</i> – 4; <i>S. aureus</i> – 3.

Аналізуючи результату досліджу слід зазначити і наступний факт – розчин Бі-дез не має гострого запаху тому не чинить незручностей при обробці транспортних засобів, особливо це стосується господаря транспорту чи водія. Препарат є абсолютно нешкідливий для здоров'я людей.

Вивчаючи тривалість активності препарату «Бі-дез» нами було встановлено, що даний препарат зберігав свою активність по відношенню до тест-культур впродовж чотирьох діб навіть після дозаправки дезбар'єру у співвідношенні 1:1 тобто при зниженні концентрації препарату (табл. 2).

Таблиця 2

Активність Бі-дезу за використання для заправки дезбар'єрів.

Період відбору проб дезінфектанту	Бі-дез	
	0,1 %	0,05 %
24 годин	-	-
48 годин	-	-
72 години	-	+/6
96 годин	-	+/11
120 годин	-	+/13
144 години	+/5*	+/24

Примітка: «-» - відсутність росту колоній на поверхні живильного середовища;

«+» - наявність росту колоній на поверхні живильного середовища;

*5 – кількість колоній

Отже, за застосування препарату «Бі-дез» дезінфекційна активність зберігається тривалий час та можлива дозаправка дезбар'єрів впродовж 96 годин, що значно полегшує проведення ветеринарно-санітарних заходів за загрози занесення високопатогенних збудників інфекції на територію України.

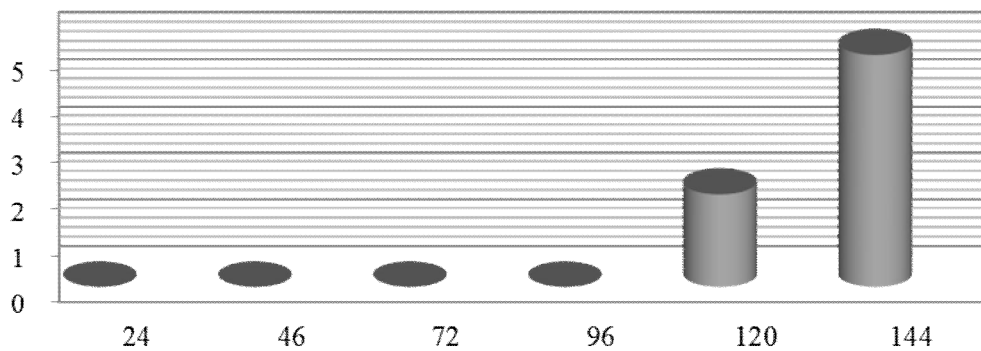


Рис. 2. Тривалість дезінфекційної активності препарату Бі-дез

Висновки. Дезінфекційний засіб «Бі-дез» в 0,1% концентрації повністю знезаражують *E. coli* та *S. aureus* на поверхнях тест-об'єктів через 10 хв. Ефективні концентрації дезінфектанту відносно референс-мікроорганізмів регламентовано в настанові щодо їх застосування.

За застосування препарату «Бі-дез» дезінфекційна активність зберігається тривалий час та можлива дозаправка дезбар'єрів впродовж 96 годин, що значно полегшує проведення ветеринарно-санітарних заходів за загрози занесення високопатогенних збудників інфекції на територію України.

Перспективи подальших досліджень. Визначення ефективності препарату «Бі-дез» для дезінфекції вагонів на спеціальних дезінфекційно-промивних станціях

Література

1. Сысоева М. М. Дезинфекция объектов ветеринарного надзора препаратом "Тримицин-вет" : автореф. дис. ... канд. вет. наук: спец. 06.02.05. - Ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-санитарная экспертиза / Марина Михайловна Сысоева. – М., 2011. – 18 с.
2. Журенко С.Г. Обработка воды ЭМП ИНЧ. Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии / С.Г. Журенко // Российский журнал, 2009. - № 2. - с.31- 34.
3. Иванов В.Г. Обеззараживание объектов ветеринарно-санитарного надзора. Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. / В.Г. Иванов, С.Г. Журенко // Российский журнал, 2009. - № 2. - с.27-30.
4. Профилактика и меры борьбы с карантинными и малоизвестными болезнями с/х животных / Зооресурс. [Электронный ресурс] Точка доступа : <http://zooresurs.ru/veterinariya/726-osobennosti-veterinarnogo-obslyzhivaniya-krupnykh-ferm-i-zhivotnovodcheskikh-kompleksov.html>.

Рецензент – д.с.-г.н., професор Козенко О.В.