

nutritional value of products, and for all these benefits, consumers pay by their health. To increase production and reduce its cost, often use various hormonal growth stimulants: progesterone, testosterone, estradiol, zeranol and others. Many publications and scientific studies indicate the harmfulness of artificial hormones, the accumulation of them in meat and products of animal origin. The consumption of such products by a person affects metabolic processes of the organism, hormonal background, endocrine system, breaking the work of the organism as a whole. Violation of metabolic processes leads to a disturbance in cardiac activity, besides, it is believed that hormonal anabolic supplements have carcinogenic effects.

The purpose of the work was to investigate the presence of zeranol, a growth stimulator for ruminants in beef, which arrives at the slaughter shops of the Ternopil and Lviv regions and to determine the effect of refrigeration of meat on its contents. The determination of zeranol in meat was carried out using a test system for the immune enzyme analysis of RIDASCRIN® Zeranol (manufactured by Ar-Biopharm / R-Biopharm, Darmstadt, Germany). The sensitivity of the test system is about 31,25 ng / kg (ppt). It was found that on average 36% of samples of beef carcasses coming to be processed, contained a stimulant for increasing the weight of the ruminant synthetic stimulant-anabolic zeranol, that is below the detection limit of zeranol 0,062 µg / kg. Samples were detected, in which the content of zeranol was lower than the limit of this method, indicates that, according to the sensitivity of this method, these tests were attributed to negative ones, that is, zeranol is absent. Two companies with the highest content of zeranol were also found: it is a beef of the SE "Plai", and PE "Fedoriv".

It was established that the quantitative content of zeranol in beef after 16 days of storage at a temperature of +2 ... + 4 ° C in the refrigerator does not reduce it. Therefore, the cooling method to reduce the amount of zeranol was ineffective.

A search was carried out to determine the influence of freezing at a temperature of - 20 ° C and a shelf life of beef for 4 months, on the content of zeranol. It is established that it is not possible to completely reduce the amount of zeranol in the meat. However, its amount decreases significantly in the process of freezing. So, if characterize the changes in beef and group I meat, then after one month of freezing from the beginning of the research, the content of zeranol in meat decreased by 16,3%. In 1,5 months, the amount of zeranol was decreased by 22,8%, before the start of the experiment. In 2 months, on - 24% and in 3 months on - 26,4%.

Beef meat of group II was also characterized by a decrease in the amount of zeranol: so in 1 month from the beginning of the search its amount was decreased by 18,4%, in 1,5 months - by 25,1% before the start of the experiment. In two months of the search, the amount of zeranol was decreased by 28,5% compared with the beginning of the experiment, and in three months the content of zeranol in this sample was decreased by - 29%.

Consequently, the research results showed that meat freezing has a positive effect on changes in the content of zeranol, that is, in the process of freezing and storage, its amount is significantly reduced. So the most pronounced changes were noted at the beginning of the freezing process, namely, after one month of storage in both samples. At the same time, the amount of zeranol was decreased in beef samples of I and II group by 16,3 and 18,4%, respectively. The process of reducing the number was observed and during subsequent periods, in one and a half months two and three months of storage, with a lower intensity. It is proposed to reduce the amount of zeranol in the beef alternative method - it is freezing up to - 20 ° C and storage, not less than two months.

Consequently, monitoring, sampling and selection of beef meat is recommended at meat processing plants for the establishment of safety indicators, namely the content of zeranol. Conduct of planned monitoring will allow you to track and analyze the situation with zeranol in Ukraine. The problem of food safety and the assessment of potential meat risks is extremely complicated and requires the introduction of requirements for control of this synthetic drug in the normative legal acts of Ukraine. It is also proposed to conduct research on the development of methods for reducing the quantitative content of zeranol in beefmeat during its refrigeration.

Key words: beef, growth stimulator, test system, zeranol, safety, freezing, storage.

Надійшла 16.05.2018.

УДК 619:636.09:578.831.1:614.48

КОВАЛЕНКО В. Л., д-р вет. наук, ст. наук, співробітник
kovalenkodoktor@gmail.com

НАПНЕНКО О. О., канд. вет. наук, ст. наук, співробітник
*Державний науково-контрольний інститут біотехнології
і штамів мікроорганізмів*

ГАРКАВЕНКО В. М., гол. фах.-лікар вет. медицини[©]
e-mail: gvm77@i.ua

*Державний науково-дослідний інститут з лабораторної
діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи*

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ ПІДБІР БЕЗПЕЧНИХ ТА ЕФЕКТИВНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ДЕЗІНФІКУЮЧОГО ЗАСОБУ ЩОДО ВІРУСУ МІКСОМАТОЗУ КРОЛІВ

Стаття присвячена вивченню токсичності та віруліцидної активності дезінфікуючого препарату на основі наночастинок срібла, бензалконіум хлориду та ефірних олій, який можна застосовувати у присутності кролів у разі спалаху або профілактики міксоматозу кролів. Комбінації ефірних олій та їх поєднань з іншими хімічними речовинами

знижують ризик розвитку бактеріальної стійкості до препаратів. Мікроорганізми за тривалого контакту з ефірними оліями практично не виробляють до них стійкості, що доведено на прикладі ефірних олій чебрецю, піхти, евкалипту. Повільний розвиток резистентності до ефірних олій є суттєвою перевагою рослинних ароматичних речовин над антибіотиками. Встановлено, що засіб малотоксичний, його доза ЕЛД₅₀ становить 4550 - 5500 мг/кг. У концентрації 0,2 та 0,5 % засіб має виражену віруліцидну активність і за експозиції 30 хв повністю інактивує вірус міксоматозу кролів. На підставі результатів вивчення токсичності та віруліцидної активності, його можна рекомендувати для дезінфекції кролівничих ферм у присутності кролів.

Ключові слова: віруліцидна активність, дезінфікуючий засіб, дезінфекція, кролі, міксоматоз, токсичність

Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій. Міксоматоз кролів високо контагіозна вірусна хвороба кролів, збудником якої є ДНК-вмісний вірус родини *Poxviridae* роду *Leporipoxvirus*. Хвороба досить поширена в багатьох країнах світу та наносить значних збитків кролівництву. Складовою частиною комплексу протиепізоотичних заходів є дезінфекція та дезінсекція приміщення, інвентарю по догляду за тваринами, транспортних засобів, спрямованих на знищення вірусу та його переносників – членистоногих комах [1, 2].

Особливу увагу звертають на вибір препарату, мету та метод дезінфекції, особливості збудника хвороби, епізоотичний стан господарства та місце його знаходження. Істотне значення при цьому має склад дезінфікуючого засобу: поєднання активної діючої та комбінації допоміжних речовин. У разі правильного вибору підвищується активність дезінфікуючого препарату за рахунок синергійного ефекту; зменшується кількість використовуваної активної діючої речовини та зменшуються чи усуваються негативні властивості, такі як запах, токсичність, недостатнє біологічне руйнування [3–6, 12, 17, 19].

Ароматичні олії також володіють лікувально-профілактичними властивостями за хвороб органів дихальної системи. Позитивний вплив цих олій пояснюється антисептичними, бактерицидними і бронхолітичними властивостями [7–10, 11, 13, 14].

Вірус міксоматозу кролів чутливий до впливу ефірів, 3 % розчину їдкого натру, формаліну зі вмістом формальдегіду 3 %, освітленого розчину хлорного вапна зі вмістом 2 % активного хлору та інших. Проте, застосування цих засобів обмежується тим, що їх можна використовувати тільки за відсутності тварин у приміщенні. Особливістю проведення дезінфекції на кролівничих фермах є те, що часто доводиться виконувати її у присутності тварин. Звичайно ж, при цьому дезінфектант має бути нетоксичним для тварин і не мати або мати мінімальний негативний вплив на хутро тварин [1, 15, 16, 20–23].

Мета роботи – провести експериментальні дослідження з визначення віруліцидної активності дезінфікуючого засобу Барез на основі ефірних олій рослин: чебрецю, піхти, евкалипту, наночастинок металів та бензалконія хлориду, який можна було б застосовувати у присутності кролів, визначити його віруліцидну концентрацію для інактивації вірусу міксоматозу кролів.

Матеріал і методи досліджень. Дослід було проведено у три етапи. Спершу на основі попередніх бактеріологічних (тест-культурах мікроорганізмів) та токсикологічних досліджень (лабораторних тваринах) було визначено LD₅₀ дезінфектанту Барез, який за результатами експериментів теоретично міг би інактивувати вірус міксоматозу і при цьому не завдати шкоди кролям [4–8].

На другому етапі обраний засіб був досліджено *in vitro* на токсичність та віруліцидну активність. Токсичність засобів досліджували на курячих ембріонах згідно з методичними рекомендаціями [9].

Дослідження віруліцидної активності проводили суспензійним методом з використанням 9-денних курячих ембріонів для визначення залишкової інфекційності вірусів міксоматозу кролів (штам Слобідський – 14).

У дослідях з визначення віруліцидної активності використовували такі концентрації дезінфектанту: 0,1; 0,2; 0,5 та 1,0 %.

Вірусомісну рідину змішували з рівним об'ємом відповідного розчину дезінфектанту, витримували 15, 30, і 60 хв.

Після вказаної експозиції проби розводили десятковим кроком у фізіологічному розчині та інфікували 9-денні курячі ембріони об'ємом по 0,2 мл в хоріоалантоїсну порожнину, використовуючи по 4 ембріони на кожне розведення. Також як контроль використовували 9-денні курячі ембріони, які інфікували вірусом міксоматозу кролів.

На третьому етапі пробами, у яких вірус було повністю інактивовано, інфікували кролів за допомогою двоголового ін'єктора внутрішньошкірно шляхом проколу шкіри на вушній ракові-

ні. Для дослідження кожного засобу було взято по 3 кролі, як контроль 3- кролів інфікували вірулентним штамом вірусу міксоматозу кролів штам Слобідський – 14 в дозі 1000 ІКД₅₀.

Основні результати дослідження. Встановлено, що дезінфікуючий засіб Барез малотоксичний для курячих ембріонів, ЕЛД₅₀ 4550 – 5500 мг/кг.

При застосуванні засобу Барез у концентрації 0,2 % суспензійним методом з вірусом міксоматозу кролів за експозиції 15 хв інактивували до 98,5 % від загальної кількості вірусних часток, а за 30 хв експозиції відбувається повне знезараження суміші від вказаних вірусів.

Концентрації Барез 0,5 – 1,0 % забезпечували повну інактивацію вірусу міксоматозу кролів навіть за експозиції 15 хв.

Наявність білкових компонентів у суспензії суттєво не впливало на знезаражуючу активність засобу.

Подальші досліди проведені з визначення ефективності засобу Барез щодо знезаражування поверхонь від вірусу міксоматозу кролів, і отримано позитивні дані віруліцидного ефекту даного дезінфектанту. Результати проведених досліджень наведені в таблиці.

Таблиця 1 – Інактивація вірусу міксоматозу кролів за допомогою засобу Барез

Експозиція (хв)	Концентрація засобу, %			
	0,1	0,2	0,5	1,0
15	$\frac{10^{3,8*}}{41,5%**}$	$\frac{10^{1,1}}{98,5\%}$	$\frac{0}{100\%}$	$\frac{0}{100\%}$
30	$\frac{10^{1,6}}{88\%}$	$\frac{0}{100\%}$	$\frac{0}{100\%}$	$\frac{0}{100\%}$
60	$\frac{10^{0,9}}{99,0\%}$	$\frac{0}{100\%}$	$\frac{0}{100\%}$	$\frac{0}{100\%}$

Примітка: Вихідний титр вірусу міксоматозу кролів $10^{6,8}$ ТКІД₅₀/см³; * - чисельник – залишкова інфекційність вірусу в Іг ТКІД₅₀/см³; ** - знаменник – ефективність інактивації вірусу, %.

Кролі інфіковані сумішшю засіб 0,5 %+вірус міксоматозу за 30 хвилинної інкубації протягом 7 діб спостереження залишилися живими і клінічно здоровими. При цьому кролі інфіковані необробленим вірусом захворіли з проявом клінічної картини, характерної для міксоматозу кролів.

Висновки. Дезінфікуючий препарат Барез у концентрації 0,2 та 0,5 % є виражену віруліцидну активність і за експозиції 30-60 хв повністю інактивує вірус міксоматозу кролів.

Досліджений засіб малотоксичний, що підтверджено дослідями *in vitro*, ЕЛД₅₀ становить 4550 - 5500 мг/кг.

На підставі результатів вивчення токсичності та віруліцидної активності засобу Барез, його можна рекомендувати для дезінфекції кролівничих ферм у присутності тварин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Евтушенко А.Ф. Миксоматоз. Болезни кроликов. – К.: Урожай, 1992, с. 31-40
2. Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьев Б.В., Фомина Н.В. Миксоматоз коликов // Вирусные болезни кроликов. М.: ВНИТИБП, 1998, с. 742-746
3. Селиверстов В.В., Дудницкий И.А., Попов Н.И. Дезинфекция в системе вет.- санитарных мероприятий. Ж. Ветеринария. 1999. №2. С. 3–8.
4. Методи контролю дезінфікуючих засобів: довідник / за ред. В.Л. Коваленко. К., 2014. 160 с.
5. Коваленко В.Л., Бойко І.І., Яценко М.Ф. Експериментальне випробування дезінфікуючого засобу "Дезавет" щодо його віруліцидної активності: науковий збірник УААН. Харків. 2006. Т1. с. 174-177.
6. Аэрозольная дезинфекция для профилактики инфекционных болезней животных / М.П. Бутко, и др. Ветеринария 2006. №2. С. 10–12.
7. Зоз О.С. Клестова З.С. Методичні рекомендації з визначення та контролю антивірусних властивостей в системі *in vitro*. Київ: Біг енд смол, 2009. 33 с.
8. Коваленко В.Л., Недосеков В.В. Методичні підходи контролю дезінфікуючих засобів для ветеринарної медицини: монографія. К., 2011. 219 с.
9. Клестова З.С., Головка А.М., Чумаченко В.В. Альтернативний метод тестування речовин, препаратів, дезінфектантів *in vitro* на курячих ембріонах (HET-CAM ASSAY), замінюючий метод визначення місцево-подразнюючої дії на кон'юнктиві очей кролів: методичні рекомендації. Київ. 2016. 15 с.
10. Ibtisam Mohammed Ababutain Antimicrobial Activity of Ethanolic Extracts From Some Medicinal Plant. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 2011. № 5(11). P. 678 – 683.

11. Pathmanathan M. K, Uthayarasa K, Jeyadevan J. P Jeyaseelan E. C. In Vitro Antibacterial Activity and Phytochemical Analysis of Some Selected Medicinal Plants. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*. 2010. 1(3). P. 291 – 299.
12. Гомзи́ков О.М. Аэрозольний метод профілактики гострих респіраторних захворювань свиней з використанням активних біологічних препаратів. *Вісник Сумського націон. аграр. ун-ту*. 2004. Вип. 7. С. 32–35.
13. Schnaubelt K. *Advanced Aromatherapy: The Science of essential oil therapy*. 1998. Healing art press Vermont. p.31–36.
14. Николаевский В.В. Ароматерапия. М.: Медицина, 2000. 331с.
15. Bergonzelli G. E., Donnicola D., Porta Essential N. Oils as Components of a Diet-Based Approach to Management of Helicobacter Infection. *Antimicrobial agent and chemotherapy*. 2003. Vol. 47, № 10. P. 3240–3246.
16. Adilson Sartoratto, Ana Lúcia M. Machado, Camila Delarmelina, Glyn Mara Figueira, Vera Lúcia G. Rehder. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2004. Vol. 35, № 3 P. 275–280.
17. Obrazhei A.F., Kvachov V.G., Ayshpur O.E., Sapeiko V.P. Essential oils an alternative to antibiotics in respiratory infections treatment and prophylaxis in pigs. *Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень №12. К, 2008. С. 147-150.*
18. Lopes, L.Q., Santos, C.G., de Almeida Vaucher, R., Gende, L., Raffin, R.P., Santos, R.C. Microb Pathog. Evaluation of antimicrobial activity of glycerol monolaurate nanocapsules against American foulbrood disease agent and toxicity on bees. 97, P. 183 . doi: 10.1016/j.micpath.2016.05.014. Epub 2016 May 20.
19. Ivask, A., Kurvet, I., Kasemets, K., Blinova, I., Aruoja, V., Suppi, S., Vija, H., Käkinen, A., Titma, T., Heinlaan, M., Visnapuu, M., Koller, D., Kisand, V., Kahru, A. Size-dependent toxicity of silver nanoparticles to bacteria, yeast, algae, crustaceans and mammalian cells in vitro. *PLoS One.*, 2014. p. 9(7), e102108. doi: 10.1371/journal.pone.0102108. eCollection 2014.
20. De Gussemе, B., Sintubin, L., Baert, L., Thibo, E., Hennebel, T., Vermeulen, G., Uyttendaele, M., Verstraete, W., Boon, N. Biogenic silver for disinfection of water contaminated with viruses. *Appl Environ Microbiol.*, 2010. 76(4), 1082-7. doi: 10.1128/AEM.02433-09. Epub 2009 Dec 28.
21. Armstrong, N., Ramamoorthy, M., Lyon, D., Jones, K., Duttaroy, A. Mechanism of silver nanoparticles action on insect pigmentation reveals intervention of copper homeostasis. *PLoS One.*, 2013. 8(1), e53186. doi: 10.1371/journal.pone.0053186. Epub 2013 Jan 7.
22. Likus, W., Bajor, G., Siemianowicz, K. Nanosilver - does it have only one face? *Acta Biochim Pol.*, 2013. 60(4), 495-501. Epub 2013 Dec 16.
23. Levard, C., Hotze, E.M., Colman, B.P., Dale, A.L., Truong, L., Yang, X.Y., Bone, A.J., Brown, G.E. Jr., Tanguay, R.L., Di Giulio, R.T., Bernhardt, E.S., Meyer, J.N., Wiesner, M.R., Lowry, G.V. Sulfidation of silver nanoparticles: natural antidote to their toxicity. *Environ Sci Technol.*, 2013. 47(23), 13440-8. doi: 10.1021/es403527n. Epub 2013 Nov 15.

REFERENCE

1. Evtushenko A.F. (1992). Miksomatoz. Bolezni krolikov. [Myxomatosis. Rabbit Disease]. K.: Urozhaj, pp. 31-40
2. Sjurin V.N., Samujlenko A.Ja., Solov'ev B.V., Fomina N.V. (1998). Miksomatoz kolikov. Virusnye bolezni krolikov. [Myxomatosis of colic. Rabbit virus diseases] M.: VNITIBP, pp. 742-746.
3. Seliverstov V.V., Dudnickij I.A., Popov N.I. (1999). Dezinfekcija v sisteme vet.- sanitarnyh meroprijatij [Disinfection in the system of vet.- sanitary measures]. *Zh. Veterinarija*. №2, pp. 3–8.
4. Kovalenko V.L. (2014). Metodi kontrolyu dezinfikuyuchix zasobiv [Control methods disinfectants] *Dovidnik – Directory.*, 160. (in Ukr.)
5. Kovalenko V.L., Bojko I.I. (2006). Jashhenko M.F. Eksperimental'ne viprobuvannja dezinfikujuchogo zasobu "Dezavet" shhodo jogo virulicidnoï aktivnosti mizh vid. Tem. Naukovij zbirnik UAAN [Experimental test of disinfectant "Dezavet" in relation to its virilidne activity: scientific collection of UAAS]. *Harkiv. Vol. 1*, pp. 174-177.
6. Butko M.P., Tiganov V.S., Frolov V.S. (2006). Ajerozol'naja dezinfekcija dlja profilaktiki infekcionnyh boleznej zhivotnyh [Aerosol disinfection for the prevention of infectious animal diseases]. *Veterinarija*. №2, pp. 10-12.
7. Klestova Z.S., Zoz O.S. (2009). Metodichni rekomendacii z viznachennja ta kontrolju antivirusnih vlastivostej v sistemi in vitro [Methodical recommendations for the determination and control of antiviral properties in the in vitro system]. *Kiiv: Big end smol*. 33 p.
8. Kovalenko V.L., Nedosekov V.V. (2011). Metodichni pidhodi shhodo kontrolyu dezinfikuyuchih zasobiv dlya veterinarnoyi meditsini [Metodichni pidhodi schodo control dezinfikuyuchih zasobiv for veterinarnoi medicine]. *Monografiya*. K. 224. (in Ukr.)
9. Klestova Z.S., Golovko A.M., Chumachenko V.V. (2016). Al'ternativnij metod testuvannja rehovin, preparativ, dezinfektantiv in vitro na kurjachih embrionah (HET-CAM ASSAY), zaminjujuchij metod viznachennja miscevo-podraznjujuchoï diï na konjunktivi ochej kroliiv: metodichni rekomendacii. *Kiiv*, 15 p.
10. Ibtisam Mohammed Ababutain (2011). Antimicrobial Activity of Ethanolic Extracts From Some Medicinal Plant. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. № 5(11), pp. 678 – 683.
11. Pathmanathan M. K, Uthayarasa K, Jeyadevan J. P Jeyaseelan E. C. (2010). In Vitro Antibacterial Activity and Phytochemical Analysis of Some Selected Medicinal Plants. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*. No.1(3), pp. 291 – 299.
12. Homzykov, O.M. (2004). Aerazolnyi metod profilaktyky hostrykh respiratornykh zakhvoriuvan svynei z vykorystanniam aktyvnykh biolohichnykh preparativ [Aerosol method for the prevention of acute respiratory diseases of pigs using active biological preparations]. *Visnyk Sumskoho natsion. ahrar. un-tu. – Visnyk Sumy national. agrar. un-th*, 7, 32–35 [in Ukraine].
13. Schnaubelt, K. (1998). *Advanced Aromatherapy: The Science of essential oil therapy*. Vermont: Healing arts press [in English].

14. Nikolaevskiy, V. V. (2000) Aromatherapy: a handbook [Aromaterapiya: spravochnik]. Moscow: Meditsina. ISBN: 5225045413. [in Russian].
15. Bergonzelli, G. E., Donnicola, D., Porta, N. and Corthésy-Theulaz, I. E. (2003) 'Essential oils as components of a diet-based approach to management of Helicobacter infection', *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, 47(10), pp. 3240–3246. doi: 10.1128/AAC.47.10.3240-3246.2003.
16. Sartoratto, A., Machado, A. L. M., Delarmelina, C., Figueira, G. M., Duarte, M. C. T. and Rehder, V. L. G. (2004) 'Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil', *Brazilian Journal of Microbiology*, 35(3), pp. 275–280. doi: 10.1590/S1517-83822004000300001.
17. Obrazheï, A. F., Kvachov, V. G., Ayshpur, O. E., Sapeïko, V. P. and Primatchenko, Y. N. (2008) 'Essential oils as an alternative to antibiotics in respiratory infections treatment and prophylaxis in pigs', *Veterinary Biotechnology [Veterynarna biotekhnolohiia]*, 12, pp. 147–150.
18. Lopes, L.Q., Santos, C.G., de Almeida Vaucher, R., Gende, L., Raffin, R.P., Santos, R.C. (2016). Evaluation of antimicrobial activity of glycerol monolaurate nanocapsules against American foulbrood disease agent and toxicity on bees. *Microb Pathog.*, 97, 183-8. doi: 10.1016/j.micpath.2016.05.014. Epub 2016 May 20.
19. Ivask, A., Kurvet, I., Kasemets, K., Blinova, I., Aruoja, V., Suppi, S., Vija, H., Käkinen, A., Titma, T., Heinlaan, M., Visnapuu, M., Koller, D., Kisand, V., Kahru, A. (2014). Size-dependent toxicity of silver nanoparticles to bacteria, yeast, algae, crustaceans and mammalian cells in vitro. *PLoS One.*, 9(7), e102108. doi: 10.1371/journal.pone.0102108. eCollection 2014.
20. De Gussemme, B., Sintubin, L., Baert, L., Thibo, E., Hennebel, T., Vermeulen, G., Uyttendaele, M., Verstraete, W., Boon, N. (2010). Biogenic silver for disinfection of water contaminated with viruses. *Appl Environ Microbiol.*, 76(4), 1082-7. doi: 10.1128/AEM.02433-09. Epub 2009 Dec 28.
21. Armstrong, N., Ramamoorthy, M., Lyon, D., Jones, K., Duttaroy, A. (2013). Mechanism of silver nanoparticles action on insect pigmentation reveals intervention of copper homeostasis. *PLoS One.*, 8(1), e53186. doi: 10.1371/journal.pone.0053186. Epub 2013 Jan 7.
22. Likus, W., Bajor, G., Siemianowicz, K. (2013). Nanosilver - does it have only one face? *Acta Biochim Pol.*, 60(4), 495-501. Epub 2013 Dec 16.
23. Levard, C., Hotze, E.M., Colman, B.P., Dale, A.L., Truong, L., Yang, X.Y., Bone, A.J., Brown, G.E. Jr., Tanguay, R.L., Di Giulio, R.T., Bernhardt, E.S., Meyer, J.N., Wiesner, M.R., Lowry, G.V. (2013). Sulfidation of silver nanoparticles: natural antidote to their toxicity. *Environ Sci Technol.*, 47(23), 13440-8. doi: 10.1021/es403527n. Epub 2013 Nov 15.

Експериментальний підбір безпасних и ефективних концентрацій дезинфіцирующего средства от-носительно вируса миксоматоза кроликів

Коваленко В.Л., Напненко О.О., Гаркавенко В.Н.

Статья посвящена изучению токсичности и вирулицидной активности дезинфицирующего препарата на основе наночастиц серебра, бензалконииум хлорид и эфирных масел, который можно применять в присутствии кроликов в случае вспышки или профилактики миксоматоза кроликов. Комбинации эфирных масел и их сочетаний с другими химическими веществами снижают риск развития бактериальной устойчивости к препаратам. Микроорганизмы при длительном контакте с эфирными маслами практически не вырабатывают к ним устойчивости, что доказано на примере эфирных масел чабреца, пихты, эвкалипта. Медленное развитие резистентности к эфирным маслам является существенным преимуществом растительных ароматических веществ перед антибиотиками. Установлено, что средство малотоксично, его доза ЕЛД50 составляет 4550 - 5500 мг/кг. В концентрации 0,2% и 0,5% средство обладает выраженной вирулицидную активностью и при экспозиции 30 мин полностью инактивирует вирус миксоматоза кроликов. На основании результатов изучения токсичности и вирулицидной активности, его можно рекомендовать для дезинфекции кролиководческих ферм в присутствии кроликов.

Ключевые слова: вирулицидная активность, дезинфицирующее средство, дезинфекция, кролики, миксоматоз, токсичность

Experimental selection of safe and effective concentrations of disinfecting means relating to the rabbit myxomatosis virus

Kovalenko V., Napnenko O., Garkavenko V.

Myxomatosis is a highly contagious viral disease of rabbits, the causative agent of which is the DNA-containing virus of the Poxviridae family of the genus *Leporipoxvirus*.

Rabbit myxomatosis virus sensitive to esters, 3 % sodium hydroxide solution, formalin with formaldehyde content of 3 %, lightened chlorinated lime solution containing 2 % active chlorine, and others. However, the use of these agents is limited to the fact that they can be used only in the absence of animals in the room.

The purpose of the work is to conduct experimental studies to determine the virilidic activity of disinfectant that could be used in the presence of rabbits to determine its virilidic concentration to inactivate the rabies myxomatosis virus.

The experiment was conducted in three stages. First, on the basis of the literature data, a disinfectant was selected that could theoretically inactivate the myxomatosis virus and not damage the rabbits.

At the second stage, the selected agents were tested in vitro for toxicity and virilidic activity. Toxicity of the agents was investigated in chick embryos according to the methodological recommendations.

Studies of virilidic activity were carried out using a suspension method using 9-day chicken embryos to determine the residual infectivity of rabbit myxomatosis viruses (Slobidsky strain - 14).

In experiments with the determination of virilidic activity, the following concentrations of disinfectant were used: 0.1; 0.2; 0.5 and 1.0%.

The virus-containing liquid was mixed with an equal volume of the appropriate disinfectant solution, withstand 15, 30, and 60 minutes.

After this exposure, the samples were diluted in a decimal step in a physiological solution and infected 9-day chicken embryos in a volume of 0.2 ml in the chorioalantoic cavity using 4 embryos at each dilution. Also 9-day chicken embryos, which were infected by rabies myxomatosis virus, were used as control.

In the third stage, samples in which the virus was completely inactivated, was infected with rabbits by the use of a two-headed injector intradermally by puncture of the skin on the auricle.

Three rabbits were taken for the study of each agent, as control, they were infected with the virulent strain of myxomatosis in the Slobodian strain - 14 in a dose of 1000 IRD₅₀.

It was found that all three selected agents (or one) were low-toxic for chicken embryos, ELD₅₀ was set to 4550 - 5500 mg/kg for the product.

When using Barez in a concentration of 0.2% suspension, the rabbit myxomatosis virus was exposed to 15 minutes in exposure to 98.5% of the total amount of viral particles, and at 30 minutes of exposure the complete decontamination of the mixture from these viruses was complete.

Concentrations (name - active substance) from 0.5 % to 1.0 % ensure complete inactivation of the rabbit myxomatosis virus even after exposure for 15 minutes. The presence of protein components in the suspension did not significantly affect the decontaminant activity of the agent.

Rabbits infected with a mixture of 0.5 % + virus + myxomatosis virus after 30 minutes of incubation for 7 days of observation remained alive and clinically healthy.

A sample of 0.2 % and 0.5 % concentration has a pronounced virulithic activity and an exposure of 30-60 minutes. completely inactivates rabies myxomatosis virus.

The investigated drug is low-toxic, which is confirmed by experiments in vitro, ELD₅₀ is 4550 - 5500 mg/kg.

Based on the results of the study of toxicity and virilidic activity of the product, it can be recommended for disinfection of rabbit farms in the presence of animals.

Key words: virulocidal activity, disinfectant, disinfection, rabbits, myxomatosis, toxicity

Надійшла 16.05.2018.