

Российская академия сельскохозяйственных наук

Государственное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский институт
ветеринарной вирусологии и микробиологии
(ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии)

УТВЕРЖДАЮ
Директор института

Д.В.КОЛБАСОВ
2010 г.



ОТЧЕТ

ИСПЫТАНИЙ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА
ТРИОСЕПТ-ВЕТ ПРОИЗВОДСТВА ООО «НПО СПЕЦСИНТЕЗ»
В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ.

Покров, 2010

1. ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЙ

Дезинфицирующий препарат «Триосепт-Вет» производства ООО «НПО СпецСинтез».

2. ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЙ

Определить дезинфицирующую активность препарата «Триосепт-Вет» в отношении вирулентного штамма вируса африканской чумы свиней (АЧС).

3. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Испытания проводили в период с 05 апреля по 23 июля 2010 года в соответствии с «Методами испытаний дезинфекционных средств для оценки их безопасности и эффективности», утвержденными Главным государственным санитарным врачом РФ, М., 1998 г, «Методическими указаниями о порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики», утвержденными ГУВ Госагропрома СССР в 1987 г, с использованием биопробы и «Методическими указаниями по отбору, оценке и испытаниям антивирусного и антибактериального действия химических соединений» М., 2004 г.

4. ОЦЕНИВАЕМЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Токсичность (МПД) препарата «Триосепт-Вет» для первичной культуры клеток костного мозга свиней (ККМС).

Инфекционная активность вируса АЧС изолят Ставрополь в первичной культуре клеток костного мозга свиней.

Дезинфицирующее действие препарата «Триосепт-Вет» производства ООО «НПО СпецСинтез» на вирус АЧС в культуре ККМС с использованием тест-объектов из впитывающего (пористого) и не впитывающего материалов (бетон и полимерное покрытие соответственно).

Дезинфицирующее действие препарата «Триосепт-Вет» на вирус АЧС с использованием тест-объектов и постановкой биопробы на подсвинках массой 18-25 кг.

5. МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ

5.1. Оценка токсичности препарата «Триосепт-Вет» для культуры

клеток.

Для определения максимально-переносимой дозы препарата «Триосепт-Вет» готовили его двукратные разведения, которые вносили в культуральные матрасы с культурой ККМС. Продолжительность инкубации 7 дней. В контрольные культуральные матрасы с ККМС средство не вносили.

За МПД принимали высшую концентрацию препарата, которая не вызывала изменений культуры клеток.

5.2. Определение инфекционной активности вируса АЧС в культуре клеток.

Для определения инфекционной активности вируса АЧС готовили его десятикратные разведения, которые вносили в культуральные матрасы с ККМС. Продолжительность инкубации 7 дней. В контрольные культуральные матрасы с ККМС вируссодержащая жидкость не вносилась.

5.3. Оценка дезинфицирующего действия препарата «Триосепт-Вет» *in vitro* и *in vivo*.

При исследованиях с вирусом, использовали виорулентный вирус АЧС. На стерильные тест-объекты, имитирующие объекты животноводческих помещений, из бетона и полипропилена наносят по 1,0-1,5 мл вируссодержащей жидкости на 100 см². В качестве механической защиты вируса использовали стерильный свиной навоз в количестве 0,3 г. сухого вещества на 100 см² поверхности. Перед нанесением на поверхность вируссодержащую суспензию тщательно перемешивали с соответствующим количеством навоза. Смесь равномерно распределяли на поверхности тестов, после чего их подсушивали 1-2 часа. Испытуемые 3,0; 4,0 и 5,0 %-ные растворы препарата «Триосепт-Вет» равномерно наносили методом орошения на тест-объекты из расчета 0,3 л/м² площади.

На контрольные тест-объекты, вместо раствора препарата «Триосепт-Вет» наносили такое же количество воды, которая использовалась для приготовления раствора препарата.

С тест-объектов, обработанных 3,0 %-ми растворами испытуемый материал отбирали через 6 и 12 часов; с тест-объектов, обработанных 4,0 и

5,0 %-ми растворами испытуемый материал отбирали через 6 и 3 часа соответственно. Вирусный материал соскабливали, добавляли по 4,5 мл среды Хенкса, экстрагировали при комнатной температуре в течение 30 минут, затем центрифугировали 15 минут при 3000 оборотов в минуту. Надосадочную жидкость использовали для заражения культуры ККМС с последующими двумя пассажами, а также для постановки биопробы на подсвинках.

Для биопробы использовали биоматериал с тест-объекта из бетона (исследовались 3,0, 4,0 и 5,0 %-ные растворы препарата «Триосепт-Вет» при экспозициях 12 часов; 6 и 3 часа соответственно). Биопробу проводили на 11 животных: 9 – опытных и 2 – контрольных.

Наблюдение за культурой клеток вели в течение 14 дней с учетом двух последовательных пассажей, а за заражёнными подсвинками — в течение 21 суток.

Опыты сопровождались следующими контролями:

- определение инфекционного титра в вируссодержащем материале;
- снижение титра инфекционности вируса в результате обработки инфицированных поверхностей водой.

Все эксперименты *in vitro* проводили в трёх повторностях.

6. РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЙ

Данные по оценке токсичности препарата «Триосепт-Вет» для культуры клеток костного мозга свиней представлены в таблице 1.

Таблица 1. Оценка токсичности препарата «Триосепт-Вет» для культуры клеток костного мозга свиней.

Наименование препарата	Конц- я, %	Культура клеток	Срок наблюдения (сут)						
			1	2	3	4	5	6	7
«Триосепт-Вет»	2,0	ККМС	+	+	+	+	+	+	+
	1,0		+	+	+	+	+	+	+
	0,5		-	-	-	+	+	+	+
	0,25		-	-	-	-	-	-	-
	0,125		-	-	-	-	-	-	-

Примечание: «-» - отсутствие дегенерации монослоя клеток; «+» - наличие дегенерации.

Как видно из представленных в таблице 1 данных препарат «Триосепт-Вет» в концентрациях 0,25% и ниже не токсичен для культуры клеток костного мозга свиней.

При определении инфекционной активности вируса АЧС изолят Ставрополь в виде вирус-крови установлено, что титр вируса в культуре ККМС составляет 7,00 lg ГАЕ_{50/МЛ} (гемадсорбирующих единиц).

Результаты испытаний дезинфицирующего действия препарата «Триосепт-Вет» в культуре ККМС представлены в таблице 2.

Таблица 2 Определение в культуре ККМС дезинфицирующего действия препарата «Триосепт-Вет» при обеззараживании тест-объектов, контаминированных вирусом АЧС.

Концентрация по препарату, %	Экспозиция, час	Полипропилен	Бетон
3,0	6,0	-/-/+	-/+/-
	12,0	-/-/-	-/-/-
4,0	6,0	-/-/-	-/-/-
5,0	3,0	-/-/-	-/-/-
Контроль	0,5	+	+
	1,0	+	+
	3,0	+	+
	6,0	+	+
	12,0	+	+

Примечание: + - означает наличие вируса АЧС;

- - означает отсутствие вируса.

Из данных, представленных в таблице 2 видно, что препарат «Триосепт-Вет» в концентрациях 3,0 % и экспозиции 6 часов препарат частично инактивирует вирус АЧС. В концентрациях 3,0; 4,0 и 5,0 % с экспозициями 12,0; 6,0 и 3,0 часа соответственно препарат на тест-объектах из не впитывающих и впитывающих материалов с защитой (свиной навоз) полностью инактивирует вирус АЧС при испытаниях в культуре ККМС.

Результаты испытаний дезинфицирующего действия препарата «Триосепт-Вет» в отношении вируса АЧС с использованием биопробы представлены в таблице 3.

Таблица 3 Определение в биопробе дезинфицирующего действия препарата «Триосепт-Вет» при обеззараживании тест-объектов из бетона, контаминированных вирусом АЧС.

Концентрация по препарату, %	Экспозиция (час)	Результаты опыта пало/всего голов	Сроки падежа (сутки)
3,0	12	0/3	—
4,0	6	0/3	—
5,0	3	0/3	—
Контроль		2/2	9-10

Из данных таблицы 3 видно, что препарат «Триосепт-Вет» в 3,0%-ной концентрации при экспозиции 12 часов, 4,0%-ной концентрации при экспозиции 6 часов и 5,0% концентрации при экспозиции 3 часа и более обладает дезинфицирующим действием на вирус АЧС на тест-объекте из бетона с защитой (свиной навоз).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Результаты определения дезинфицирующих свойств препарата «Триосепт-Вет» в отношении вируса АЧС с использованием лабораторных испытаний на тест-объектах и испытаний на сельскохозяйственных животных (биопроба), показали, что препарат «Триосепт-Вет» в концентрации 3,0 % с экспозицией 12 часов, 4,0%-ной концентрации при экспозиции 6 часов и 5,0% концентрации при экспозиции 3 часа и более обладает дезинфицирующей активностью в отношении вируса АЧС на впитывающих и не впитывающих поверхностях и может применяться в очагах заражения АЧС для обработки объектов ветеринарно-санитарного надзора в соответствии с «Правилами проведения дезинфекции и дезинвазии объектов государственного ветеринарного надзора», утверждёнными Департаментом ветеринарии МСХ РФ 16.07.2002 г с целью полной инактивации вируса и предотвращения его распространения.

Руководитель испытаний:

Зав. лаб. «Экспериментальной микробиологии»

доктор биологических наук

Селянинов Ю.О.