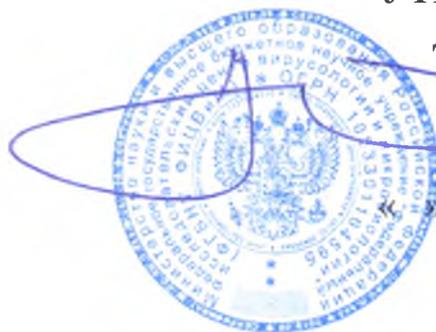


Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии»
(ФГБНУ ФИЦВиМ)

УТВЕРЖДАЮ
Директор



Д.В.КОЛБАСОВ

« » мая 2019 г.

ОТЧЕТ

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ СРЕДСТВ СЕРИИ
"КЕМИЦИД" ПРОИЗВОДСТВА ООО «КЕМИКЛКРАФТ»

"К-ДЕЗ"

п. Вольгинский, 2019 г.

РЕФЕРАТ

Отчет на 16стр., 6табл.

Ключевые слова: "К-ДЕЗ", E. COLI, ST. AUREUS, ВИРУС АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ, БАКТЕРИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ, ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ, ЛАБОРАТОРНЫЕ ИСПЫТАНИЯ, БИОПРОБА, ТЕСТ-МИКРООРГАНИЗМЫ и II-ОЙ ГРУПП УСТОЙЧИВОСТИ, МОДЕЛИ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО БАРЬЕРА, ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ ВАНН/КОВРИКОВ; ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУР, КРИОПРОТЕКТОРЫ

Объект исследований: представленный образец дезинфицирующего средства "К-ДЕЗ" производства ООО "КЕМИКЛКРАФТ".

Цель работы: изучение дезинфицирующего действия средства "К-ДЕЗ".

В лабораторных условиях исследованы бактериостатическая и минимальная бактерицидная концентрации средства "К-ДЕЗ", с использованием тест-микроорганизмов 1, 2 групп устойчивости, снижение активности дезинфицирующего средства в присутствии высокомолекулярного белка и испытана эффективность его дезинфицирующего действия при обеззараживании контаминированных вирусом АЧС поверхностей, имитирующих объекты животноводческих помещений, с подтверждением полноты инаktivации вируса постановкой биопробы на восприимчивых животных. Определена экспозиция обработки и время эффективного использования растворов препарата без дополнительной дозправки на модели дезбарьера, дезванны/дезковрика. Определена эффективность препарата "К-ДЕЗ" в разные временные интервалы, определено влияние колебания температур, применение криопротекторов.

ВВЕДЕНИЕ

В системе санитарных, противоэпидемических и противоэпизоотических мероприятий, обеспечивающих благополучие страны по инфекционным болезням, повышение продуктивности животных и санитарное качество продуктов, сырья и кормов животного происхождения, дезинфекция занимает одно из важных мест. Под дезинфекцией понимают уничтожение на объектах внешней среды или удаление из них патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Основное назначение дезинфекции – разорвать эпизоотическую цепь путем воздействия на ее важнейшее звено - фактор передачи возбудителя болезни от источника инфекции к восприимчивому организму.

В последние годы на рынке дезинфицирующих средств представлен весьма большой ассортимент препаратов как отечественного, так и зарубежного производства, но при всем их многообразии количество входящих в их состав компонентов, весьма ограничено, причем целый ряд соединений обладает высокой бактерио- и вирусстатической активностями и низким бактерицидным и вирулицидным действием. Это не позволяет таким препаратам эффективно обеззараживать контаминированные поверхности, особенно загрязненные органическими веществами. Проблема внедрения новых высокоэффективных дезинфектантов приобрела особую актуальность в последние годы, в связи с продолжающимся распространением по территории РФ занесенной в 2007 году из Грузии африканской чумы свиней (АЧС), представляющей реальную угрозу свиноводству страны. С этого времени АЧС уже более 10 лет регистрируется на территории России, что свидетельствует о её стационарном характере. В течение этого времени (данные на конец 2017 г.) зарегистрировано 1252 вспышки АЧС в 40 субъектах РФ - 765 среди домашних свиней и 487 среди кабанов, причём в 2017 году болезнь диагностировали в 6 новых, восточных регионах страны – Омской, Иркутской, Тюменской, Челябинской областях, в Красноярском крае и Ямало-Ненецком автономном округе. На сегодняшний день прямой и косвенный ущерб от АЧС в РФ оценивается в 70 млрд. рублей.

При АЧС отсутствуют средства специфической профилактики и, как показал анализ эпизоотических вспышек болезни, ведущую роль в их возникновении играет «человеческий фактор». Это связано с высокой устойчивостью вируса во внешней среде, его длительной сохраняемостью в продукции свиноводства и контаминированных объектах, включая транспорт, которые могут являться причинами вспышек болезни на больших расстояниях от первичных очагов АЧС. Этот факт подтверждается заносом вируса АЧС в 2017 году в Сибирский и Уральский Федеральные

округа, которые расположены на расстоянии более 4000 км от неблагополучных территорий европейской части России, где ранее регистрировалась АЧС. В ЕС вспышки АЧС зарегистрированы в странах Балтии (2014), Польше (2014), Чешской Республике (2017), Бельгии и Венгрии (2018). В августе 2018 года была зарегистрирована первая вспышка АЧС в провинции Ляонин на северо-востоке Китая.

Для предотвращения заноса вируса с контаминированными объектами в т.ч. с различными видами транспорта из одного региона в другой, одним из важнейших мероприятий является проведение эффективной экспресс дезинфекции.

Качественная и надежная дезинфекция транспорта безопасными для него препаратами позволяет избежать возможных негативных последствий влияния на обрабатываемые объекты и окружающую среду; а также снижает беспокойство владельца транспорта за его возможную порчу от дезинфекции, т.к. при использовании агрессивных дезинфицирующих средств, не исключено повреждение металлических элементов кузова, лакокрасочного покрытия автомобиля, резины колес и электрического оборудования.

Современные требования в свиноводстве диктуют необходимость внесения изменений в ветеринарную технологию и в систему биологической защиты. Безусловно, любое свиноводческое хозяйство стремится к благополучию в эпизоотическом аспекте, чтобы успешно решать свои экономические и хозяйственные задачи. Для обеспечения надежной биологической защиты требуется ряд условий, гарантированно препятствующих проникновению в хозяйство возбудителей особо опасных (африканская чума свиней) и опасных (классическая чума свиней, репродуктивно-респираторный синдром, актинобациллезная плевропневмония свиней, микоплазмозы, цирковирусные инфекции дизентерия, анаэробные инфекции, сальмонеллез и др.) болезней. При организации дезинфекционных барьеров, также имеет смысл отдать предпочтение препаратам с пролонгированным дезинфицирующим действием и более длительным сроком годности рабочих растворов. Последнее будет иметь смысл даже при интенсивном движении транспорта. Очевидно, что дезинфицирующее средство в самом дезинфекционном барьере необходимо обновлять, либо доукреплять по мере снижения уровня и концентрации рабочего раствора, однако сам рабочий раствор можно сразу заготовить в емкости с запасом необходимой концентрации, который может сохранять активность в течение длительного времени и

проводить своевременную корректировку концентрации раствора.

Учитывая то, что для большинства дезинфектантов не изучена их вирулицидная активность в отношении вируса АЧС, в т.ч. в контаминированной этим возбудителем почве, целесообразно проведение дальнейших работ по обеспечению ветеринарной дезинфекционной практики протестированными высокоэффективными дезсредствами.

1 ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЙ

Представленный образец дезинфицирующего средства "К-ДЕЗ" производства ООО "КЕМИКЛКРАФТ".

Средство представляет собой однородную жидкость от бесцветного до светло-желтого цвета, в качестве действующего вещества содержит водно-спиртовый раствор смеси ЧАС, глутарового альдегида.

Срок годности 3 года.

2 ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЙ

Определить спектр антимикробного действия средства "К-ДЕЗ" в отношении тест-микроорганизмов 1, 2 групп устойчивости к химическим дезинфектантам.

Определить дезинфицирующую активность средства "К-ДЕЗ" в отношении вирулентного штамма вируса африканской чумы свиней (АЧС) на контаминированных вирусом поверхностях, имитирующих объекты животноводческих помещений и транспорта.

Определить эффективность препарата «К-Дез» в отношении тест-микроорганизмов 1, 2 групп устойчивости к действию химических веществ в динамике в разные интервалы времени, экспозиции и использования рабочих растворов препарата в модели дезинфицирующего барьера на объектах ветеринарного надзора.

Исследовать бактерицидную эффективность растворов препарата "К-ДЕЗ" в модели наливного закрытого обогреваемого и не обогреваемого (t раствора до 0°) дезбарьера при нахождении раствора в течение 1, 3, 6, 9, 12 и 15 суток, установить время эффективного использования растворов препарата без дополнительной дозправки модели дезбарьера.

Исследовать бактерицидную эффективность растворов препарата "К-ДЕЗ" при добавлении криопротекторов в температурном диапазоне $+4^{\circ}$ - -10° .

3 ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Испытания проводили в рамках договора № 09/19 от 05.03.19 г. в период с 05.03.2019 по 15.05.2019 года согласно руководству «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности», Р 4.2.2643-10 утвержденному Главным государственным санитарным врачом РФ Г.Г. Онищенко 01.06.2010 г., «Методическим указаниям о порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики», утвержденным ГУВ Госагропрома СССР в 1987 г, с использованием биопробы и методическим указаниям «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам», МУК 4.2.1890-04, утвержденным Главным государственным санитарным врачом РФ Г.Г.Онищенко 04.03.2004 г.

4 ОЦЕНИВАЕМЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Инфекционная активность вируса АЧС штамм «Ставрополь 01/08» в перевиваемой гибридной линии клеток спленоцитов и почки свиньи А₄С₂.

Минимальные бактериостатическая и бактерицидная концентрации средства "К-ДЕЗ".

Дезинфицирующее действие средства "К-ДЕЗ" на вирус АЧС с использованием тест-объектов (шероховатые поверхности из бетона и шероховатые не впитывающие поверхности из резины) и постановкой биопробы на подсвинках массой 18-25 кг.

Бактерицидная эффективность растворов препарата "К-ДЕЗ" в модели наливного закрытого обогреваемого и не обогреваемого (t раствора до 0⁰) дезбарьера при нахождении раствора в течение 1, 3, 6, 9, 12 и 15 суток, время эффективного использования растворов препарата без дополнительной дозаправки модели дезбарьера.

Бактерицидная эффективность растворов препарата "К-ДЕЗ" при добавлении криопротекторов в температурном диапазоне +4С⁰ -10С⁰.

Бактерицидная эффективность растворов препарата "К-ДЕЗ" в модели дезинфекционного коврика/ванны, концентрация растворов препарата при коротких режимах воздействия на обрабатываемую поверхность.

5 МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ

5.1 Получение культур тест-микроорганизмов

В пробирки со скошенным дрожжевым триптон-соевым агаром

(ДТСА) засеивали предварительно проверенные на отсутствие посторонней контаминации бактериальной и грибной микрофлорой культуры тест-микроорганизмов (*Escherichiacoli* и *Staphylococcus aureus*) в посевной дозе 10^3 - 10^6 /мл. Посевы инкубировали при температуре $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 18-20 ч. Суточные культуры контролировали на отсутствие контаминантов. Для этой цели из полученных культур готовили мазки, окрашивали по Грамму и подвергали световой микроскопии. Затем агаровые культуры смывали физиологическим раствором.

5.2 Определение бактериостатической, бактерицидной активности дезинфекционного средства "К-ДЕЗ" и влияния на их уровень высокомолекулярного белка

Предварительную оценку бактерицидного и бактериостатического действия средства "К-ДЕЗ" проводили методом серийных разведений согласно методическим указаниям «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам», МУК 4.2.1890-04 в нашей модификации. Для определения минимальной бактерицидной концентрации средства "К-ДЕЗ" готовили его серийные двукратные разведения на дрожжевом триптон-соевом бульоне (ДТСБ) от 0,5 % до 0,0009% в объеме 2,0 мл.

С использованием денситометра DEN-1 концентрацию микробных клеток в суспензиях тест-микроорганизмов (*E. coli* штамм К-12 и *S. aureus* штамм 209-Р) доводили до 0,5 ЕД MF (10^6 м.т./мл).

В приготовленные разведения средства вносили инокулом одной из культур в объеме 0,2 мл и инкубировали при температуре 37°C .

Результаты учитывали визуально через 18-20 часов инкубации при 37°C по появлению роста культуры в пробирках (бактериостатическое действие). Минимальную подавляющую концентрацию (МПК) определяли по наименьшей концентрации средства, которая подавляла видимый рост тест-микроорганизма.

Контролем служили бульонные культуры микроорганизмов, в которые препарат не вносился.

Бактерицидное действие средств изучали по окончании исследований по определению бактериостатического действия. Для этого из пробирок, в которых видимый рост отсутствовал, по 0,2 мл высевали на ДТСА. Посевы инкубировали при 37°C . Учет результатов проводили через 18-24 часа инкубирования, и затем через 5 суток.

Минимальную бактерицидную дозу определяли по наименьшей концентрации средства, при которой отсутствовал рост микроорганизма

на ДТСА.

Для изучения влияния высокомолекулярного белка на антимикробную активность проводили аналогичные испытания с добавлением в ДТСБ нормальной сыворотки крови лошади в конечной концентрации 40 %.

5.3 Определение инфекционной активности вируса АЧС в культуре клеток

Для определения инфекционной активности вируса АЧС готовили десятикратные последовательные разведения вирусосодержащей крови на среде Игла-МЕМ (с 10^{-1} до 10^{-8}), которые вносили в 4 пластиковых культуральных флакона объемом 25 см^3 с 1-2-х суточной культурой клеток A_4C_2 . Инфицированную культуру A_4C_2 инкубировали в CO_2 инкубаторе при $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течение 6-7 суток. Наличие вируса в инфицированной культуре клеток определяли по феномену гемадсорбции (адсорбция эритроцитов свиней на инфицированных вирусом АЧС клетках). Титр вируса рассчитывали по методу Кербера в модификации И.П.Ашмарина и выражали в $\lg \text{ГАЕ}_{50}/\text{см}^3$.

5.4 Оценка дезинфицирующего действия средства "К-ДЕЗ" in vivo

При исследованиях с вирусом использовали вирулентный эпизоотически значимый вирус АЧС. На стерильные тест-объекты имитирующие объекты животноводческих помещений (шероховатые поверхности из бетона, шероховатые не впитывающие поверхности из резины), наносили по 1,5 мл вирусосодержащей жидкости на 100 см^2 . В качестве механической защиты вируса использовали стерильный свиной навоз в количестве 0,3 г сухого вещества на 100 см^2 поверхности, что составило 20% органических веществ в вирусосодержащей жидкости. Перед нанесением на поверхность вирусосодержащую суспензию тщательно перемешивали с соответствующим количеством навоза. Смесь равномерно распределяли на поверхности тестов, после чего их подсушивали 1-2 часа. Испытуемые 0,2; 0,3; 0,5%-ные растворы средства "К-ДЕЗ" равномерно наносили методом орошения на тест-объекты из расчета $0,3 \text{ л}/\text{м}^2$ площади.

На контрольные тест-объекты вместо раствора средства "К-ДЕЗ" наносили такое же количество водопроводной воды, которая использовалась для приготовления раствора средства.

С обработанных растворами дезинфектанта тест-объектов испытуемые материалы отбирали в интервале 5 - 20 минут. Вирусный

материал соскабливали, добавляли по 4,5 мл среды Игла-МЕМ, экстрагировали при комнатной температуре в течение 30 минут, затем центрифугировали 15 минут при 3000 оборотов в минуту. Надосадочную жидкость сразу использовали для постановки биопробы на подсвинках. Биопробу проводили на животных – 3 головы на испытуемый режим и 1 контрольное животное.

За инфицированными подсвинками наблюдали в течение 21 суток или, в случае отрицательного результата, до момента гибели. Специфичность заболевания и гибели животных подтверждали методом обнаружения вируса АЧС в их крови в реакции аутогемадсорбции (адсорбция эритроцитов свиней на инфицированных вирусом АЧС клетках). Реакцию аутогемадсорбции ставили согласно ГОСТ 28573-90. Дезинфекцию признавали эффективной, если свиньи опытной группы оставались клинически здоровыми на протяжении всего периода наблюдения при гибели животных контрольной группы.

5.5 Оценка дезинфицирующего действия средства "К-ДЕЗ" на модели дезбарьера.

В лабораторных условиях была создана модель наливного закрытого обогреваемого дезбарьера. Дезбарьер заполняли 0,2%, 0,5% и 1,0% растворами препарата "К-ДЕЗ". Растворы заданных концентраций готовили согласно «Инструкции по применению средства "К-ДЕЗ" для дезинфекции объектов ветнадзора». Дезинфицирующую эффективность растворов контролировали в динамике путем отбора проб дезраствора через 1, 3, 6, 9, 12 и 15 суток. Предварительно контаминированные культурами *E. coli* и *S. aureus* тест-поверхности из резины (шероховатые не впитывающие поверхности, что соответствует обработке автотранспорта дезинфицирующим раствором) обрабатывали методом погружения на 1 мин в пробы дезраствора и оставляли на 3,0, 10,0, 15,0 и 20,0 минут инкубации в вертикальном положении. По истечении указанного времени с тест-поверхностей производили смывы в 5 мл нейтрализующего бульона ДиИнгли. Через сутки из пробирок с бульоном производили пересев на чашки Петри с дрожжевым триптон соевым агаром. Пересевы инкубировали в течение 5 суток. По истечении времени инкубации учет результатов производили по наличию/отсутствию роста культуры тест-микроорганизма. Аналогичные испытания проводились с добавлением 15% соли технической, 30% пропиленгликоля в температурном диапазоне +4С°-

10С°. Результаты приведены в таблицах №3, 4 и 5.

5.6 Оценка дезинфицирующего действия средства "К-ДЕЗ" на модели дезинфекционного коврика/ванны.

Готовили инокулюм тест-культуры 2×10^9 ; на стерильный тест-объект из резины размером 10x10 см наносили 1 мл инокулюма; высушивали до полного высыхания (1-2 ч); контаминированный тест-объект однократно погружали в 0,25, 0,5, 1,0 или 2,0 %-ный раствор дезсредства, сразу вытаскивали и ставили вертикально; смывы отбирали через 5, 10, 20 и 40 сек. Результаты приведены в таблице 6.

6 РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЙ

Антимикробную активность средства "К-ДЕЗ" изучали в жидких и на твердых питательных средах с возбудителями колибактериоза и стафилококкоза с использованием белковой нагрузки и без нее.

Минимальную бактерицидную концентрацию (МБК) определяли методом серийных разведений в ДТСБ с последующим высевом на ДТСА на чашках Петри.

В таблице 1 представлены результаты изучения бактериостатического и бактерицидного действия средства "К-ДЕЗ".

Таблица 1– Антимикробная активность средства "К-ДЕЗ" в отношении *E. coli* и *S. aureus* (принимая концентрацию исходного образца за 100 %).

Тест-микроорганизм	Вид активности	Антимикробная активность, %	
		В отсутствии белка	В присутствии белка
1	2	3	4
<i>E. coli</i> K12	б/с	0,0039	0,0312
	б/ц	0,0039	0,0625
<i>S. aureus</i> 209-P	б/с	0,0009	0,0039
	б/ц	0,0039	0,0312

Примечание: б/с – бактериостатическая активность; б/ц – бактерицидная активность

В результате проведенных испытаний установлено, что средство "К-ДЕЗ" обладает антимикробной активностью в отношении тест-культур грамотрицательных (*E. coli*) и грамположительных (*S. aureus*) микроорганизмов в следующих концентрациях, принимая средство за 100 % вещество:

- МПК *E. coli* – 0,0039 %;

- МБК *E. coli* – 0,0039 %;
- МПК *S. aureus* – 0,0009 %;
- МБК *S. aureus* – 0,0039 %.

При добавлении высокомолекулярного белка происходит снижение бактерицидной активности средства.

При определении инфекционной активности вируса АЧС штамм «Ставрополь 01/08» в виде вирусосодержащей крови установлено, что титр вируса в культуре клеток А₄С₂ составляет 7,00 lg ГАЕ_{50/мл} (гемадсорбирующих единиц).

Дезинфицирующее действие растворов средства "К-ДЕЗ" в отношении вируса АЧС, которым были контаминированы впитывающие шероховатые (бетон) и не впитывающие шероховатые (резина) тест-поверхности, определяли в экспериментах на свиньях. При этом норма расхода дезсредства при обработке тест-объектов составляла 0,3 л/м².

Результаты испытаний дезинфицирующего действия средства "К-ДЕЗ" в отношении вируса АЧС с использованием биопробы представлены в таблице 2.

Таблица 2—Определение в биопробе дезинфицирующего действия средства "К-ДЕЗ" при обеззараживании тест-объектов из бетона и резины, контаминированных вирусом АЧС.

№ п/п	Тест-поверхность	Конц-я раствора, %	Норма расхода, л/м ²	Экспозиция, минут	Результат
					пало/всего
1	Бетон	0,2	0,3	20	0/3
2		0,3	0,3	15	0/3
3		0,5	0,3	5	0/3
4	Резина	0,2	0,3	10	0/3
5		0,2 + NaCl 15%	0,3	10	0/3
6		0,2 + Пропиленгликоль 30%	0,3	10	0/3
7		Контроль			1/1

Из данных таблицы 2 видно, что при орошении средством "К-ДЕЗ" тест-объектов, контаминированных вирусом АЧС с белковой защитой в виде свиного навоза, поверхности из бетона были полностью обеззаражены 0,2%; 0,3% и 0,5%-ными растворами средства при экспозиции 20,0; 15,0 и 5,0 минут соответственно с нормой расхода 0,3 л/м². Поверхности из резины были полностью обеззаражены 0,2 %-ным

раствором средства при экспозиции 10 минут. Добавление в раствор препарата NaCl 15% и пропиленгликоля 30% не влияет на дезинфицирующую эффективность раствора "К-ДЕЗ". Подсвинки опытных групп не заболели в течение всего срока наблюдения (21 сут).

Контрольное животное пало на 7 сутки после заражения с характерной клинической картиной АЧС.

Таблица 3 - Оценка дезинфицирующего действия средства "К-ДЕЗ" на модели дезбарьера.

Время, сутки	Концентр., %	Экспозиция, E. coli, мин				St. aur, мин				Контроль
		3	10	15	20	3	10	15	20	
1	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+
3	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+
6	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+
9	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+
12	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+
15	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+

-- роста нет; + - рост тест культуры

Из данных таблицы 3 видно, что эффективность препарата "К-ДЕЗ" сохраняется на протяжении 15 суток (срок наблюдения).

Таблица 4 - Оценка дезинфицирующего действия средства "К-ДЕЗ" при внесении в рабочий раствор 15% соли технической.

Время, сутки	Концентр., %	Экспозиция, E. coli, мин				St. aur, мин				Контр оль
		3	10	15	20	3	10	15	20	
1	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+
3	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+
6	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+
9	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+
12	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+
15	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+

-- роста нет; + - рост тест культуры

Из данных таблицы 4 видно, что внесение криопротектора (соли технической до 15%) не влияет на эффективность рабочих растворов препарат "К-ДЕЗ".

Таблица 5 - Оценка дезинфицирующего действия средства "К-ДЕЗ" при внесении в рабочий раствор 30% пропиленгликоля.

Время, сутки	Концентр., %	Экспозиция, E. coli, мин				St. aur, мин				Контроль
		3	10	15	20	3	10	15	20	
1	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+
3	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+
6	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+
9	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+
12	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+
15	0,2	+	-	-	-	+	-	-	-	+
	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+

-- роста нет; + - рост тест культуры

Из данных таблицы 5 видно, что внесение криопротектора (пропиленгликоль до 30%) не влияет на эффективность рабочих растворов препарата "К-ДЕЗ".

Таблица 6 - Оценка дезинфицирующего действия средства "К-ДЕЗ" на модели дезинфекционного коврика/ванны.

Препарат	Концентр., %	St. aur, секунд			
		5	10	20	40
К-ДЕЗ	0,25	+	+	+	+
	0,5	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-
	2,0	-	-	-	-

Из данных таблицы 6 видно, что бактерицидный эффект достигается при однократной обработке методом погружения контаминированных тест-объектов из резины в рабочий раствор препарата "К-ДЕЗ" от 0,5%-ной концентрации с последующей экспозицией 5 секунд и более.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дезинфицирующее средство "К-ДЕЗ" по результатам лабораторных исследований обладает бактерицидной и бактериостатической активностями в отношении тест-культур грамотрицательных (*E. coli*) и грамположительных (*S. aureus*) микроорганизмов обеспечивая их инактивацию при концентрации 0,0039 и 0,0009% от исходной, соответственно, без добавления белковой нагрузки.

При испытаниях на сельскохозяйственных животных (биопроба) установлено, что полное обеззараживание тест-поверхностей, имитирующих объекты животноводческих помещений (шероховатые поверхности из бетона), контаминированных вирулентным референс штаммом «Ставрополь 01/08» с белковой защитой в виде свиного навоза (20% органических веществ в вируссодержащей жидкости), было достигнуто после однократного орошения 0,2; 0,3% и 0,5%-ными растворами дезинфицирующего средства "К-ДЕЗ" при экспозиции 20,0, 10,0 и 5,0 минут соответственно с нормой расхода 0,3л/м². Полное обеззараживание тест-поверхностей, имитирующих объекты животноводческих помещений и автотранспорта (шероховатые не впитывающие поверхности из резины) было достигнуто после однократного орошения 0,2 %-ным раствором дезинфицирующего средства "К-ДЕЗ" при экспозиции 10 минут с нормой расхода 0,3л/м². Дезинфицирующее средство "К-ДЕЗ" обладает вирулицидным действием в отношении

вируса АЧС в концентрации от 0,2 % и выше при экспозиции 20,0-5,0 минут (пропорционально увеличению концентрации раствора и в зависимости от типа обрабатываемой поверхности) с нормой расхода 0,3л/м² и может в данных режимах применяться в очагах заражения АЧС для дезинфекции объектов животноводства в соответствии с действующими инструктивными документами с целью полной инактивации вируса АЧС и предотвращения его распространения. Дезинфицирующая эффективность 0,2; 0,5 и 1,0 %-ных растворов препарата "К-ДЕЗ", находящихся в дезбарьере/дезковрике/дезванне, не снижалась в течение 15 суток наблюдения в отношении возбудителей 1 и 2-ой групп устойчивости, включая возбудителей африканской и классической чумы свиней, нодулярного дерматита, ящура, высокопатогенного гриппа птиц (H5N1, H5N8) и др. Тест-поверхности из резины были полностью обеззаражены при экспозициях от 5 секунд до 10 минут. Для дезинфекции автотранспорта и применения в дезбарьерах в соответствии с «Правилами проведения дезинфекции и дезинвазии объектов государственного ветеринарного надзора», утвержденными Департаментом ветеринарии МСХ РФ 16.07.2002г., при однократной обработке 0,2%-ным раствором при экспозиции от 10,0 минут, 0,5%-ным раствором при экспозиции от 3,0 минут и выше с целью полной инактивации возбудителей 1 и 2-ой групп устойчивости и предотвращения их распространения.

Рабочие 0,2; 0,5 и 1,0 %-ные растворы дезинфицирующего средства "К-ДЕЗ" сохраняют свою эффективность в дезбарьере в течение не менее 15 суток, добавляемые криопротекторы (соль техническая, пропиленгликоль) не влияют на эффективность препарата (исследования проводились при t +4С° и -10С°). При значительном выносе препарата из дезбарьера или его разбавлении, методы дозирования и корректировка концентрации осуществляется в соответствии с инструкцией по применению препарата "К-ДЕЗ".

Руководитель испытаний:

главн. научн. сотр.

доктор биологических наук, профессор  Селянинов Ю.О.

главн. научн. сотр.

доктор ветеринарных наук, профессор  Балышев В.М.