

Для установления роли бактериальной микрофлоры в заболеваниях человека нами были проанализированы данные санэпидемстанций в Сумской области по выявлению этиологического фактора токсикоинфекций и токсикозов у человека после употребления продукции птицеводства за последние два года (2012-2013 гг.). Чаще всего токсикоинфекции у человека вызывались возбудителями клебсиеллезов (19,56 % 20,53 %), эшерихиоза (5,71 % 9,71 %) - и стафилококкоза (8,31 % 11,86 %). Значительно реже были зарегистрированы инфекции, были обусловлены кампилобактер (5,61 % 8,57 %), протеем (5,06 % 6,62 %), цитробактеры (3,69 % 4,36 %), иерсинией (4,38 % 5,01 %), синегнойной палочкой (2,23 % 4,12 %). Кроме того было отмечено , что значительный удельный вес занимали инфекции, вызванные ассоциацией возбудителей *Klebsiella pneumoniae* + *Staphylococcus aureus*; *E.coli* + *Staphylococcus aureus*; *Citrobacter* + *Staphylococcus aureus*; *Proteus mirabilis* + *Staphylococcus aureus*; *Klebsiella pneumoniae* + *E.coli*O157; *Klebsiella pneumoniae* + *E.coli*O157 + *Staphylococcus aureus*; *Campylobacter jejuni* + *E.coli*O157 + *Staphylococcus aureus* (0,96 % -5,38 %). При выявлении причин пищевых отравлений у людей, специалистами санэпидемстанции г. Сумы и специалистами областной государственной лаборатории ветеринарной медицины, было установлено, что источником была продукция птицеводства. Опасность представляют тушки переболевшей и больной птицы без клинических признаков или переболевших в атипичной форме. Это подтверждает тот факт, что контаминированная бактериями продукция птицеводства опасна для человека.

Заключение. Исследованиями установлена циркуляция аналогичных возбудителей бактериальных инфекций птиц в птицеводческих хозяйствах различного технологического профиля - по производству яиц, выращиванию бройлеров, разведению уток и индек, а также наличие идентичных микроорганизмов в организме синантропных птиц. Доведено, что птицепродукция, контаминированная бактериальными возбудителями, может быть причиной токсикоинфекций и токсикозов у человека, это подтверждает тот факт, что возбудители бактериальных инфекций имеют не только эпизоотологическое значение, но и эпидемиологическое.

Литература: 1. Березовський А.В., Герман В.В., Фотина Т.И., Фотина Г.А. Хвороби птиці. Навч. посібник – К: ТОВ «ДІА», 2012. – 328 с. 2. Борисенкова А.Н. Спектр микрофлоры, выделяемой от птиц, в хозяйствах различного технологического направления / А.Н. Борисенкова, Р.Н. Коровин, Т.Н. Рождественская и др. // РацВетИнформ. – 2003. - №10. – С. 3-6. 3. Борисенкова А.Н. Бактериальные болезни птиц, вызываемые зоопатогенными и эпидемиологически опасными микроорганизмами / А.Н. Борисенкова, Т.Н. Рождественская, О.Б. Новикова // Матер. Всерос. ветеринарно конгресса.– Москва, 2004. – С. 34-37. 4. Федотов С. Новые подходы к диагностике ассоциированных инфекций у кур / С. Федотов, М. Черных, Е. Капитонов // Птицеводство. – 2010. – № 5. – С. 37-395. 5. Бовкун В.Г. Роль микрофлоры при заболеваниях органов пищеварения у цыплят / В.Г. Бовкун // Ветеринария, 2006. - №4 – С. 14-16.

Статья передана в печать 10.07.2014 г.

УДК 619:614.94-632.2782.4

ВИРУЛИЦИДНОЕ И БАКТЕРИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА «БИ-ДЕЗ™» НА ВИРУС БОЛЕЗНИ ТЕШЕНА

Шкромада О.И.

Сумский национальный аграрный университет, г.Сумы, Республика Украина

В статье приведены результаты исследования вирулицидной активности дезинфектанта «Би-дез™» относительно вируса болезни Тешена (*Teschovirus*) производственный штамм «БУЧАЧ». В результате проведенных испытаний была установлена рабочая концентрация препарата «Би-дез™» для уничтожения вируса на поверхности объектов и в суспензиях. Также, была установлена минимальная бактерицидная доза препарата «Би-дез™» в отношении *E. coli* и *S. Aureus*.

The results of the study disinfectant virucidal activity "Bi-dez™" about Teschen disease virus (*Teschovirus*) production strain "Buhcchc." As a result of the tests was set working concentration of the drug "Bi-dez™" for the destruction of the virus on the surface of objects and in suspensions. Also installed was minimal bactericidal dose "B des tm" with respect to *E. coli* and *S. Aureus*.

Ключевые слова: вирус, вирулицидное действие, дезинфектант, культура клеток, тест-объекты, экспозиция.

Keywords: virus, virucidal effect, disinfectant, cell culture, test objects, the exhibition.

Введение. Энзоотический энцефаломиелит (*Teschovirus*) – болезнь Тешена, полиомиелит свиней, инфекционный паралич свиней, богемская чума, болезнь Тальфана, болезнь Клобуока – контагиозная болезнь свиней, характеризующаяся развитием негнойного энцефаломиелита и появлением параличей.

Возбудитель болезни – РНК-содержащий энтеровирус, относящийся к 1, 2, 3 и 5-ой серогруппам, семейства *Picornaviridae*. Вирус репродуцируется только в культурах клеток свиней с хорошо выраженным цитопатическим эффектом. Он устойчив к эфиру, хлороформу, трипсину, кислотам и щелочам. В 2%-ном растворе поваренной соли остается патогенным в течение 18 недель. Выдерживает нагревание до температуры 56 °С в течение 1 часа, а при минусовых температурах сохраняет активность несколько лет.

Восприимчивы к болезни свиньи всех возрастов и пород, но болеют преимущественно в возрасте 2 – 6 месяцев.

Распространение болезни. К 1964 г. болезнь обнаружили в большинстве стран Западной и Восточной Европы. В 1937-1957 гг. ее регистрировали в США, Бразилии, Канаде, с 1947 г. – в Африке (о-в Мадагаскар). С 1993-1995 гг. случаи заболевания стали выявлять в Азии (Лаос, КНДР), а также вновь в странах Восточной Европы. Болезнь Тешена регистрируется на Украине, в Беларуси и в России.

Источником инфекции являются клинически и латентно больные, а также переболевшие свиньи, в организме которых вирус сохраняется до года. Такие животные выделяют его с экскретами и секретами из носа, рта и фекалиями. Чаще заражение происходит при потреблении корма, воды, мясных отходов или боенских отбросов, загрязненных выделениями больных животных. Возможно и контактное заражение. Болезнь протекает энзоотически, а иногда спорадически. Её возникновению и распространению способствуют резкие перемены погоды, охлаждение и высокая влажность.

Энзоотический энцефаломиелит проявляется в течение года, но чаще всего регистрируется весной и осенью в виде отдельных вспышек.

Инкубационный период длится 7-15, реже до 30 дней. Первые случаи заболевания протекают преимущественно остро и подостро, а в последующем могут протекать более длительно и даже хронически. В острой форме заболевание начинается повышением температуры тела (40,5-41,0 °С), вялостью, отсутствием аппетита. Через 1-2 дня температура тела снижается до нормы, и появляются симптомы поражения центральной нервной системы. Поросята возбуждены и совершают произвольные различные движения. У многих отмечается рвота, острый ринит, пенистое кровянистое истечение из носа и резко выраженная гиперестезия кожи.

Макроскопически обнаруживают гиперемии и отек головного мозга. Кровеносные сосуды мозговых оболочек и самого мозга расширены и переполнены кровью. В спинном мозге можно обнаружить кровоизлияния. Часто наблюдается бронхит, отек легких, пневмония и переполнение мочевого пузыря мочой. В ряде случаев встречаются точечные и пятнистые кровоизлияния под эпи- и эндокардом, на плевре и слизистой мочевого пузыря.

Диагноз ставится на основании эпизоотологических, клинических данных и результатов лабораторных исследований, включающих выделение вируса в культуре клеток, определение его типовой принадлежности в РДП, ИФ, ИФА и выявление специфических антител в сыворотке крови больных и переболевших животных путем постановки РН и ELISA. В сомнительных случаях ставится биопроба на поросятах.

В лабораторию направляют спинной мозг, кору головного мозга или мозжечок, отобранные от свиней с нервными явлениями на ранней стадии их проявления, и кусочки эпителия слизистой ободочной кишки, так как на 5 – 7-е сутки энтеровирусный антиген обнаруживается лишь в эпителии слизистой кишечника.

Материалы и методы исследований. С целью определения эффективной вирулицидной концентрации «Би-дез™» относительно вируса болезни Тешена (Teschovirus) производственный штамм «БУЧАЧ» на уровне 15-75 пассажей в культуре чувствительной клеточной линии СПЕВ, патогенной для восприимчивых сельскохозяйственных животных и непатогенной для человека.

Вирус болезни Тешена должен вызывать заболевание и смерть поросят при интрацеребральном заражении, с характерными клиническими признаками болезни Тешена через 3-7 суток после заражения.

Для определения эффективности вирулицидной концентрации «Би-дез™» по отношению к вирусу болезни Тешена (Teschovirus) производственный штамм «БУЧАЧ» использовали суспензию вирусодержащего материала, который получали после размножения вируса на культурах клеток СПЕВ. Для опыта использовали по 6 матрасцев.

Вирусодержащую жидкость смешивали с равным объемом раствора дезинфектанта «Би-дез™», выдерживали 15, 30, 60 мин. При этом использовали 0,1%, 0,25%, 0,5% и 1% растворы дезпрепарата.

Эффективность обеззараживания поверхностей тест-объектов от вируса болезни Тешена и бактерий *E. coli* и *S. Aureus* дезинфектантом проверяли в следующем порядке: на простерилизованную поверхность тест-объектов наносили стерильной пипеткой 1 - 2 см³ суспензии вируса Тешена производственный штамм «БУЧАЧ». Контаминированные тест-объекты оставляли в кюветах горизонтально и вертикально, подсушивали 1-2 часа и с помощью опрыскивателя увлажняли поверхность исследуемым дезинфицирующим раствором с учетом концентрации, экспозиции и количества использованного дезинфектанта. При этом использовали такие концентрации дезинфектанта «Би-дез™» 0,1 % 0,25 %, 0,5 % и 1,0 %.

Результаты исследований. В качестве контроля для обработки тест-объектов использовали стерильную воду. Через определенное время с поверхности тест-объектов делали смывы стерильной марлевой салфеткой с контрольных и опытных проб.

К пробе жидкости (10 - 50 см³) добавляли 0,05 М трис-буфер (рН 9,0), который добавляли в объеме 1 - 2 см³ и встряхивали на протяжении 5 мин. Смесь центрифугировали при 1500 об/мин. 15 - 20 мин., надосадочную жидкость использовали для определения остаточной инфекционности. Надосадочную жидкость и питательную среду (на основе инактивированной сыворотки крови крупного рогатого скота) вносили для определения цитопатического действия в монослой культуры клеток СПЕВ. Проявление цитопатического действия (ЦПД) в монослое культуры клеток СПЕВ будет проявляться в виде округления клеток, образования симпластов, многоядерных клеток и появления зернистости. Степень дегенерации клеток оценивали по 4-балльной шкалой в крестах: ++++ - деструкция всех клеток (клетки отделяются от стекла и плавают в среде); +++ - рядом с полной дегенерацией встречаются отдельные неповрежденные клетки; ++ - деструкция половины клеток; + - дегенерация меньше половины клеток. Отсутствие дегенерации - клетки культуры не отличаются от контрольной (не зараженной вирусом) культуры. Для подтверждения цитопатического эффекта использовали РН (реакцию нейтрализации) (таблица 1).

Таблица 1 - Эффективность инактивации вируса болезни Тешена (*Teschovirus*) производственный штамм «БУЧАЧ» с помощью дезинфектанта «Би-дез™» на поверхности тест-объектов, $M \pm m$, $n = 6$

Экспозиция (мин.)	Концентрация дезпрепарата, %			
	0,1	0,25	0,5	1,0
15	46,28 % \pm 0,12	99,50 % \pm 0,26**	100 %	100 %
30	91,03 % \pm 1,06	100 %	100 %	100 %
60	94,06 % \pm 0,42*	100 %	100 %	100 %

Примечание: вероятность разницы: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$.

Определение эффективности уничтожения вируса болезни Тешена дезинфектантом проводили методом обеззараживания тест-объектов и суспензионным методом согласно рекомендациям [3, 4].

Необходимо указать, что в результате проведенных исследований изменений в культуре клеток СПЕВ не выявлено. Это свидетельствует об эффективности дезинфекционного средства на вирус, который находился на поверхности тест-объекта.

Результаты проведенных исследований приведены в таблице 1. Из этой таблицы видно, что «Би-дез™» в 0,1% концентрации через 15 мин. не полностью инактивирует вирус, а только на 46,28 %; через 30 мин. дезинфектант уничтожает вирус на 91,03 %, а через 1 час – на 94,06 %. При обработке тест-объектов 0,25 % раствором дезпрепарата через 15 мин. Наблюдалась гибель вируса на 99,50 %, а через 30 мин. и 1 час – вирус болезни Тешена уничтожен на 100 %. При обработке поверхностей 0,5 % и 1 % раствором «Би-дез™» уже через 15 мин. осуществлялась полная инактивация вируса. После заражения смывами, которые были взяты через 30 мин. и 1 год. с обработанных 0,5 % и 1 % раствором поверхностей, изменений в тест-системах (культурах клеток СПЕВ) вируса не выявлено. При проведении исследований суспензионным методом ставили цель определить эффективную вирулицидную концентрацию дезинфекционного средства «Би-дез™» для инактивации вируса болезни Тешена. Исследования проводили согласно существующей методике [4]. В исследованиях определения вирулицидной активности дезинфектанта «Би-дез™» использовали такие концентрации: 0,1% 0,25 %, 0,5 % и 1,0 %. Также в качестве тест-вируса использовали клетки СПЕВ, в которых происходило размножение вируса болезни Тешена. Вирусосодержащую жидкость смешивали с равным объемом раствора «Би-дез™», выдерживали 15, 30, 60 мин. После указанной экспозиции пробы разводили 10-тикратно в физиологическом растворе и вносили для определения цитопатического действия в монослой культуры клеток СПЕВ. Проявление цитопатического действия (ЦПД) в монослое культуры клеток СПЕВ будет проявляться в виде округления клеток, образования симпластов, многоядерных клеток и появления зернистости. Для подтверждения цитопатического эффекта использовали РН (реакцию нейтрализации).

Результаты проведенных исследований приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Инактивация вируса болезни Тешена при воздействии дезинфектанта «Би-дез™», $M \pm m$, $n = 6$

Экспозиция (мин.)	Концентрация «Би-дез™», %			
	0,1	0,25	0,5	1
15	$10^{9,30 \pm 0,18}$	$10^{6,8 \pm 0,53}$	0	0
	45,67 \pm 0,35*	99,56 \pm 0,38**	100	100
30	$10^{8,6 \pm 0,62}$	0	0	0
	92,00 \pm 0,42**	100	100	100
60	$10^{7,2 \pm 0,42}$	0	0	0
	95,00 \pm 0,73**	100	100	100

Примечание: вероятность разницы: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$.

Выходной титр вируса болезни Тешена $10^{9,3} \text{EiD}_{50}/\text{см}^3$;

В числителе указана остаточная инфекционность вируса в $\text{lg EiD}_{50}/\text{см}^3$;

В знаменателе – эффективность инактивации вируса, %.

Исходя из данных таблицы 2 можно сделать вывод, что 0, 1 раствор дезинфектанта «Би-дез™» через 15 мин. инактивирует не полностью, а только на 45,76 % вирусные частицы; через 30 мин. в этой же концентрации «Би-дез™» инактивирует вирус на 92 %, а через 1 час. – на 95 %. При действии 0,25 % раствора «Би-дез™» через 15 мин. уничтожается 99,56 % вирусных частиц болезни Тешена, а через 30 мин. и 1 час препарат в той же концентрации полностью инактивирует вирус.

Следует указать, что в концентрации 0,5 % и 1,0 % «Би-дез™» имеет выраженную вирулицидную активность и способен на протяжении 15, 30 и 60 мин полностью инактивировать вирус болезни Тешена.

Определение эффективности действия дезинфектанта «Би-дез™» на *E. coli* и *S. aureus* проводили в первую очередь и при положительном результате испытания продолжали проводить с участием патогенных штаммов микроорганизмов. Результаты исследований приведены в таблицах 3 и 4. Исследования проводили с различными концентрациями дезинфектанта при разных температурных режимах, способах и кратности нанесения на тест-объекты до тех пор, пока не была установлена минимальная бактерицидная концентрация и экспозиция дезсредства для данных микроорганизмов. В качестве тест-объектов использовали нержавеющую сталь, кафельную плитку (7,07 × 7,07 см²), бетон, кирпич размером (7,07 × 7,07 × 7,07 см³). Оценку качества дезинфекции проводили через 24-48 часов

согласно методике. Исходя из данных таблицы 3, можно сделать вывод, что дезинфектант задерживает рост *E. coli* ATCC 25922 только на гладких поверхностях тест-объектов (нержавеющая сталь, кафельная плитка). На шершавых поверхностях (бетон и кирпич) *E. coli* продолжает расти. Начиная с 0,25 % концентрации, препарат «Би-дез™» через 10 минут после обработки полностью уничтожает *E. coli* ATCC 25922 на всех поверхностях тест-объектов. После взятия смывов с поверхности тест-объектов через 40 мин., 1 час и 10 суток после обработки *E. coli* не обнаружено. Следует заметить, что после обработки тест-объектов 0,1 % раствором «Би-дез™», инфицированных *S. aureus* ATC 25923, после взятия смывов с поверхности этих объектов наблюдали рост *S. aureus* на питательной среде (таблица 4).

Таблица 3 – Эффективность использования препарата «Би-дез™» при обеззараживании поверхностей тест-объектов, инфицированных *E. coli* ATCC 25922

Название тест-объекта	Концентрация дезинфектанта, %	Экспозиция			
		через 10 мин.	через 40 мин.	через 60 мин.	через 10 сут.
Бетон	0,1	+	+	+	+
	0,25	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-
	1	-	-	-	-
Кирпич	0,1	+	+	+	+
	0,25	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-
	1	-	-	-	-
Кафельная плитка	0,1	-	+	+	+
	0,25	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-
	1	-	-	-	-
Нержавеющая сталь	0,1	-	+	+	+
	0,25	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-
	1	-	-	-	-

Примечание: "+" – наличие роста, "-" – отсутствие роста

Таблица 4 – Эффективность использования препарата «Би-дез™» при обеззараживании поверхностей тест-объектов, инфицированных *S. aureus* ATC 25923

Название тест-объекта	Концентрация дезинфектанта, %	Экспозиция			
		через 10 мин.	через 40 мин.	через 60 мин.	через 10 сут.
Бетон	0,1	+	+	+	+
	0,25	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-
	1	-	-	-	-
Кирпич	0,1	+	+	+	+
	0,25	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-
	1	-	-	-	-
Кафельная плитка	0,1	-	+	+	+
	0,25	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-
	1	-	-	-	-
Нержавеющая сталь	0,1	-	+	+	+
	0,25	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	-
	1	-	-	-	-

Примечание: "+" – наличие роста, "-" – отсутствие роста

Учитывая полученные данные (таблица 3), можно сделать вывод, что дезинфектант начиная с 0,25 % концентрации и выше, задерживает рост *S. aureus* ATC 25923 на протяжении всего периода исследования (10 мин., 40 мин., 1 час. и 10 сут).

Объяснить длительную дезинфекцию на поверхности бетона и кирпича можно тем, что при длительной экспозиции «Би-дез™» проникает вглубь, сквозь поры материалов, что является очень важным при обеззараживании животноводческих объектов.

Таким образом, дезинфектант «Би-дез™», начиная с 0,25 % концентрации, уже через 10 мин. полностью инактивирует микроорганизмы *E. coli* ATCC 25922 и *S. Aureus* ATC 25923 на поверхностях тест-объектов.

Заключение. Таким образом, проанализировав данные, полученные по двум различным методикам, можно утверждать, что 0,1 % раствор дезинфектанта «Би-дез™» недостаточно эффективен для уничтожения вируса. Однако 0,25 % раствор дезинфектанта «Би-дез™» полностью убивает вирус болезни Тешена через 30 мин., а начиная с 0,5 % концентрации, – уже через 15 мин. (таблицы 1, 2).

Дезинфектант «Би-дез™», начиная с 0,25 % концентрации, уже через 10 мин. полностью инактивирует микроорганизмы *E. coli* ATCC 25922 и *S. Aureus* ATC 25923 на поверхностях тест-объектов (таблицы 3, 4).

Литература. 1. Бірта Г.О. Ветеринарно-санітарні заходи у господарствах по виробництву продукції свинарства / Г.О. Бірта // Ефективне тваринництво – 2008. - № 2. – С. 34-36. 2. Коломыцев А. Болезнь Тешена: проблемы и меры борьбы / А. Коломыцев, А. Стржаков, О. Андреева // Животноводство России – 2003. - № 4. – С. 20-26. 3. Методические указания о порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики. Утв. ГУВ Госагропрома СССР. – 1987. – С. 158. 4. Методичні рекомендації щодо визначення вірусцидної активності дезінфектантів відносно вірусів ньюкаслської хвороби птиці / І.І. Бойко, О.М. Якубчак, В.І. Хоменко та ін. – Київ, 2006. – 12 с. 5. Фотіна Г. А. Визначення бактерицидних властивостей дезінфікуючого препарату «Бровадез-плюс» / Г. А. Фотіна, А. В. Березовський // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: Зб. наук. пр. Харківської ДЗВА. – Харків, 2007. – Вип.15 (40), Ч.2, Т.1. – С. 91-95.

Статья передана в печать 17.07.2014 г.