

Корисна модель належить до ветеринарії і може бути використана для превенції вірусних та бактеріальних інфекцій бройлерів за допомогою санації приміщень для утримання птиці.

З цією метою в Україні офіційно зареєстровано та використовується:

ЙОДОКЛІН - дезінфікуючий засіб з бактерицидною та абсорбуючою дією для санітарної обробки тваринницьких приміщень, клітин, вольєрів, вигрібних ям. Склад: йодоформ, кальцію сульфат, міді сульфат, цинку сульфат, заліза сульфат, цеоліт та ароматизатор.

Приклад 1

Недоліком є відсутність таких діючих сполук у складі як Хлорамін і Тимол. А отже можемо стверджувати про недостатньо високу противірусну діючу концентрацію засобу для дезінфекції. Також дані сполуки володіють потужною протигрибковою дією [Hashmi, A., Singh, A. K., Jain, B., & Carabineiro, S. (2020). Chloramine-T/N-Bromosuccinimide/FeCl₃/KIO₃ Decorated Graphene Oxide Nanosheets and Their Antibacterial Activity. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland), 10(1), 105. <https://doi.org/10.3390/nano10010105>]

Приклад 2

УНІВАЙТ - дезінфікуючий засіб містить колоїдний розчин Аргентуму, колоїдний розчин Купруму та дистильовану воду. Додатково містить молочну кислоту, щавлеву кислоту, мурашину кислоту, ізопропіловий спирт [Патент України на корисну модель № 104956 Дезінфікуючий засіб "УНІВАЙТ" А61L 2/16; Бюл. № 4 від 25.02.2016].

Недоліком даного засобу є вузький спектр бактерицидної дії. Крім того, необхідна тривала експозиція для початку дії препарату та висока вартість внаслідок використання як розчинника деіонізованої води. [Deshmukh, S. P., Patil, S. M., Mullani, S. B., & Delekar, S. D. (2019). Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 97, 954-965. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.102>; Gurianov, Y., Nakonechny, F., Albo, Y., & Nisnevitch, M. (2020). LLDPE Composites with Nanosized Copper and Copper Oxides for Water Disinfection. *Polymers*, 12(8), 1713. <https://doi.org/10.3390/polym120817131>.

Приклад 3

АЛЬДЕКОЛ ДЕЗ розчин для дезінфекції. Засіб містить три АДР (активно діючі речовини): глютаровий альдегід - 12,5 %; бензалконію хлорид - 5,0 % і формальдегід - 9,0 %.

До недоліків цього засобу належить достатньо висока противірусна діюча концентрація засобу для дезінфекції 0,5 % при експозиції 120 хвилин. Також дезінфектант в своєму складі містить формальдегід, який несе потенційну і реальну загрозу здоров'ю людей та санітарно-екологічному стану тваринницьких об'єктів і навколишнього середовища, та є екологічно небезпечним і токсичним засобом, що діє на нервову систему, паренхіматозні органи та є канцерогеном [Fischer M. H. (1905). The toxic effects of formaldehyde and formalin. *The Journal of experimental medicine*, 6(4-6), 487-518. <https://doi.org/10.1084/jem.6.4-6.487>. Chin-Hsiao Tseng. (2014) A Review on Thiazolidinediones and Bladder Cancer in Human Studies. *Journal of Environmental Science and Health, Part C* 32:1, 1-45.]

Приклад 4.

Відомим засобом є БЛАНІДАС-А ФОРТЕ - дезінфікуючий засіб, що містить: надоцтову (пероцтову) кислоту - 15,0-20,0; пероксид водню -15,0-25,0; оцтову кислоту - 15,0-25,0; воду - до 100.

Недоліком цього способу є те, що засіб застосовують для дезінфекції на підприємствах харчової промисловості згідно з інструкцією із застосування [<https://clean-ua.com/content/files/sertifikat-mv-blandas-a-forte-62967689.PDF>] та може викликати подразнення слизових оболонок очей і верхніх дихальних шляхів. Наразі немає опублікованих наукових статей, присвячених безпосередньо використанню засобу БЛАНІДАС-А ФОРТЕ для дезінфекції птичників [Коваленко В.Л., Недосекова В.В. (2011.). Методичні підходи щодо контролю дезінфікуючих засобів для ветеринарної медицини: монографія, Київ: ДНДІЛДВСЕ, 224 с.]

Заявнику аналоги не є відомі.

В основу корисної моделі поставлена задача виконати спосіб дезінфекції приміщень від заразних хвороб бройлерів у птичниках для попередження виникнення бактеріальних та вірусних інфекцій бройлерів, шляхом дослідів в лабораторних і виробничих умовах з високою ефективністю щодо бактеріального забруднення, вірусних і грибкових інфекцій бройлерів.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб дезінфекції приміщень від заразних хвороб бройлерів включає дезінфекцію приміщення птичників засобом, який містить, %: перекис водню - 23, надоцтова кислота - 5,0, оцтова кислота - 5, допоміжні речовини - сурфактант, вода, у концентрації 0,5 %, з експозицією одна година.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Спосіб дезінфекції проводять шляхом дослідів в лабораторних і виробничих умовах з високою ефективністю щодо бактеріального забруднення, вірусних і грибкових інфекцій бройлерів. Визначають ефективність віруцидної концентрації "ОЛЛДІЗ НРРА" відносно вірусу віспи - ДНК-вмісний, культивують на хоріон-алантоїсній оболонці в 10-12-денних курячих ембріонах, та до вірусу гепатиту каченят - РНК-вмісний, при цьому використовують суспензію вірусвмісного матеріалу, який отримують після розмноження вірусу на первинних культурах клітин качиних ембріонів. Для дослідів використовують по 10 матраців. Вірусвмісну рідину змішують з рівним об'ємом розчину дезінфектанту

"ОЛЛДІЗ НРРА", витримували по 15, 30 та 60 хв. При цьому, використовують 0,1 %, 0,25 %, 0,5 % і 1 % розчинів дезінфектанту "ОЛЛДІЗ НРРА". Ефективність знезараження поверхонь тест-об'єктів від вірусу віспи птиці та вірусу гепатиту каченят дезінфектантом перевіряли у наступному порядку: на простерилізовану поверхню тест-об'єктів наносили стерильною піпеткою 1-2 см³ суспензії вірусу. Контаміновані тест-об'єкти залишали в кюветах горизонтально і вертикально, підсушували 1-2 години та за допомогою оприскувача зволожували поверхню дослідним дезінфікуючим розчином з урахуванням концентрації, експозиції і кількості використаного дезінфектанту. Як контроль для обробки тест-об'єктів використано стерильну воду. Через певний час з поверхні тест-об'єктів роблять змиви стерильною марлевою серветкою з контрольних та дослідних проб. До проби рідини (10-50 см) додавали 0,05 М трис-буфер (рН 9,0), в об'ємі 1-2 см³ і отримували протягом 5 хв. Суміш центрифугували при 1500 об./хв 15-20 хв, насадкову рідину використано для визначення залишкової інерційності. Над осадову рідину та поживне середовище (на основі інактивованої сироватки крові великої рогатої худоби) вносять для визначення цитопатичної дії в моношар культури клітин. Прояв цитопатичної дії (ЦПД) в моношар культури клітин має проявлятися у вигляді округлення клітин, утворення симпластів та багатоядерних клітин та появи в них зернистості. Ступінь дегенерації клітин оцінюють за 4-бальною системою у хрестах: ++++ - деструкція всіх клітин (клітини від'єдналися від скла і плавають у середовищі); +++ - поряд з повною дегенерацією зустрічають окремі живі неушкоджені клітини; ++ - деструкція половини клітин; + - дегенерація менше половини клітин. Відсутність дегенерації - клітини культури не відрізняються від контрольної (не зараженої вірусом) культури. Для підтвердження цитопатичного ефекту використовували РН (реакцію нейтралізації).

Визначення ефективності віруцидних властивостей "ОЛЛДІЗ НРРА" на вірус гепатиту каченят на рівні 15-75 пасажів проводили на первинних культурах клітин качиних ембріонів (табл. 1).

Таблиця 1

Ефективність інактивації вірусу гепатиту каченят за допомогою дезінфектанту "ОЛЛДІЗ НРРА" на поверхні тест-об'єктів, %, (M±m, n=10)

Експозиція (хв.)	Концентрація засобу "ОЛЛДІЗ НРРА", %			
	0,1	0,25	0,5	1,0
15	46,3±0,2	99,5±0,3**	100	100
30	91,1±1,6	100	100	100
60	94,1±0,4*	100	100	100

Примітка. *- p<0,05

Ефективність знешкодження вірусу гепатиту каченят розчинами "ОЛЛДІЗ НРРА" проводили суспензійним методом знезараження тест-об'єктів. Під час проведення досліджень була доведена ефективність дезінфектанту на вірус, що був на поверхні тест-об'єктів, змін в культурі клітин не виявлено. Виходячи з результатів табл. 1 можна стверджувати, що "ОЛЛДІЗ НРРА" в 0,1 % концентрації через 15 хв інактивував вірус гепатиту каченят на 46,3 %; через 30 хв - на 91,1 %, а через 1 год - на 94,1 %. При 0,25 % концентрації розчину через 15 хв загибель вірусу спостерігали на 99,5 %. Через 30 хв і 1 год - вірус гепатиту каченят був знешкоджений на 100 %. Повна інактивація вірусу через 15 хвилин здійснювалась при обробці тестових поверхонь 0,5 % і 1 % розчином "ОЛЛДІЗ НРРА". Змиви, які були взяті через 30 та 60 хв з поверхонь, оброблених 0,5 % і 1,0 % розчином дезінфектанту, змін у тест-системах не виявляли. Віруцидну концентрацію "ОЛЛДІЗ НРРА" для інактивації вірусу гепатиту каченят визначали суспензійним методом, згідно існуючої методики. Виходячи з даних табл. 2 видно, що 0,1 % розчин дезінфектанту "ОЛЛДІЗ НРРА" через 15 хв інактивував вірусні частинки лише на 45,7 %. Через 30 хв знешкодження вірусу відбувалося уже на 93,0 %, а через 1 год - на 96,0 %.

Таблиця 2

Інактивація вірусу гепатиту каченят розчинами дезінфектанту (суспензійний метод) "ОЛЛДІЗ НРРА" (M±m, n=10)

Експозиція, хв.	Концентрація "Дезсану", %			
	0,1	0,25	0,5	1
15	10 ^{9,30±0,18}	10 ^{6,8±0,53}	0	0
	45,7±0,4*	99,6±0,4**	100	100
30	10 ^{8,6±0,62}	0	0	0

	93,0±0,4**	100	100	100
60	107,2±0,42	0	0	0
	96,0±0,7**	100	100	100

Примітка. * - p<0,05

Вихідний титр вірусу гепатиту каченят $10^{9,3} \text{ ЕіД}_{50}/\text{см}^3$; В чисельнику вказана залишкова інфекційність вірусу в $\text{Іг ЕіД}_{50}/\text{см}^3$; В знаменнику ефективність інактивації вірусу, %.

Розчин "ОЛЛДІЗ НРРА" у концентрації 0,25 % через 15 хв знищував 99,6 % вірусних частинок. Через 30 хв та 1 год повністю інактивував вірус.

Таким чином, експериментальний засіб "ОЛЛДІЗ НРРА" в концентрації 0,5 % і 1,0 % виявив виражену віруцидну активність і здатний протягом 30 і 60 хв повністю знищити вірус гепатиту каченят.

Для визначення ефективної віруцидної концентрації "ОЛЛДІЗ НРРА" відносно ДНК-вмісного вірусу віспи птиці культивували його на хоріон-алантоїсній оболонці в 10-12-денних курячих ембріонах. Визначення ефективності знищення вірусу віспи птиці дезінфектантом проводили методом знезараження тест-об'єктів і суспензійним методом згідно рекомендацій. В результаті проведених досліджень змін в культурі клітин не виявлено. Це свідчить про ефективність дезінфекційного засобу на вірус, який знаходився на поверхні тест-об'єкту. З даних табл. 2 видно, що "ОЛЛДІЗ НРРА" в 0,1 % концентрації через 15 хв інактивував вірус лише на 45,4 %. Проте, через 30 хв ефективність дезінфектанту зросла до 90,7 %, а через 1 год - до 95,1 %.

При обробці тест-об'єктів 0,25 % розчином "ОЛЛДІЗ НРРА" через 15 хв спостерігали загибель вірусу на 98,3 %, а через 30 хв і 1 год - вірус віспи птиці знешкоджений на 100 %.

При обробці поверхонь 0,5 % і 1 % розчином "ОЛЛДІЗ НРРА" вже через 15 хв. відбувалась повна інактивація вірусу. У змивах, з оброблених 0,5 % та 1 % розчинами поверхонь, які були взяті через 30 хв і 1 год змін у тест-системах (хоріон-алантоїсні оболонки в 10-12-денних курячих ембріонах) не виявлено.

Таблиця 3

Показники ефективності інактивації вірусу віспи птиці за допомогою дезінфектанту "ОЛЛДІЗ НРРА" на поверхні тест-об'єктів, ($M \pm m$, n=10)

Експозиція(хв)	Концентрація дезінфектанту, %			
	0,1	0,25	0,5	1,0
15	45,4 %±0,2	98,3 %±0,2*	100 %	100 %
30	90,7 %±1,4	100 %	100 %	100 %
60	95,1 %±0,5*	100 %	100 %	100 %

Примітка. *p <0,05

При проведенні досліджень суспензійним методом ставили за мету визначити ефективну віруцидну концентрацію дезінфікуючого засобу "ОЛЛДІЗ НРРА" для інактивації вірусу віспи птиці. Дослідження проводили згідно загальноприйнятої методики. В дослідженнях визначення віруцидну активність наступних концентрацій дезінфектанту "ОЛЛДІЗ НРРА": 0,1 %, 0,25 %, 0,5 % і 1,0 %. Для підтвердження цитопатичного ефекту використовували РН (реакцію нейтралізації).

Виходячи з даних табл. 4, можна зробити висновок, що 0,1 % розчин дезінфектанту "ОЛЛДІЗ НРРА" через 15 хв. інактивував лише на 44,3 % вірусні часточки. В тій же концентрації через 30 хв "ОЛЛДІЗ НРРА" уже інактивував вірус на 90,1 %, а через 1 год - на 97,1 %.

Таблиця 4

Інактивація вірусу віспи птиці за дії дезінфектанту
(суспензійний метод) "ОЛЛДІЗ НРРА" ($M \pm m$, n=10)

Експозиція (хв.)	Концентрація "ОЛЛДІЗ НРРА", %			
	0,1	0,25	0,5	1
15	109,25±0,15	105,8±0,45	0	0
	44,3±0,4*	99,7±0,6*	100	100
	108,56±0,39	0	0	0
30	90,1±0,4*	100	100	100
	106,4±0,65	0	0	0

60	97,1±0,5*	100	100	100
----	-----------	-----	-----	-----

Примітка. *p<0,05

Вихідний титр вірусу віспи птиці $10^{9,3} \text{EiD}_{50}/\text{cm}^3$;

В чисельнику вказана залишкова інерційність вірусу в $\text{lg EiD}_{50}/\text{cm}^3$;

В знаменнику - ефективність інактивації вірусу, %.

При дії 0,25 % розчину "ОЛЛДІЗ НРРА" через 15 хв відбувалося знешкодження 99,7 % вірусних часточок віспи птиці. А через 30 хв та 1 год, засіб в тій же концентрації, повністю інактивував вірус. Слід вказати, що в концентрації 0,5 % та 1,0 % "ОЛЛДІЗ НРРА" мав виражену віруцидну активність і міг протягом всіх контрольованих термінів повністю інактивувати вірус віспи птиці.

Аналіз даних, отриманих за двома різними методиками, можна стверджувати, що 0,25 % розчин дезінфектанту "ОЛЛДІЗ НРРА" за експозиції 30 та більше хв, повністю вбиває вірус віспи птиці.

Таким чином, доведено, що дезінфекційний засіб "ОЛЛДІЗ НРРА" має виражені віруцидні властивості відносно РНК- та ДНК-вмісних вірусів у концентраціях 0,25 % та вище.

Визначення антимікробної активності дезінфікуючого засобу "ОЛЛДІЗ НРРА" проводили на культурах, ізолюваних із трупів птиці, повітряного середовища, а також різних господарчих об'єктів (підлога, стіни, годівниці, поїлки та ін.).

На наступному етапі досліджу визначали антимікробну знезаражувальну активність засобу "ОЛЛДІЗ НРРА" використовуючи різні поверхні (табл. 5). Дезінфектант в розведенні 0,025 % виявив свої антибактеріальні властивості на всіх тест-об'єктах відносно 61,0 % наявних культур.

Таблиця 5

Антимікробні властивості розчину 0,025 % концентрації засобу "ОЛЛДІЗ НРРА", (% знезараження)

Культури бактерій	Тест-об'єкти			
	залізо	дерево	штукатурка	цегла
<i>S. aureus</i>	88,4±0,3	38,5±0,6	67,2±0,4	67,2±0,7
<i>S. faecalis</i>	68,7±0,7	66,9±0,9	87,4±0,6	63,5±0,6
<i>C. jejuni</i>	47,7±0,4	57,3±0,4	62,3±0,5	81,3±0,4
<i>C. perfringens</i>	65,6±0,4	76,4±0,2	46,8±0,9	64,7±0,8
<i>E. coli</i> O78	49,3±0,3	46,3±0,9	64,3±0,6	64,7±0,6
<i>K. pneumoniae</i>	53,2±0,3	85,7±0,5	48,3±0,4	79,5±0,8
<i>P. aeruginosa</i>	57,1±0,9	61,9±0,7	82,3±0,5	81,9±0,2
<i>P. mirabilis</i>	79,3±0,5	82,3±0,3	83,9±0,9	73,7±0,9
<i>P. vulgaris</i>	91,4±0,3	79,3±0,5	59,4±0,7	82,7±0,6
<i>S. enteritidis</i>	92,2±0,6	86,6±0,4	91,7±0,9	73,8±0,5
<i>S. pullorum-gallinarum</i>	71,2±0,2	82,7±0,8	78,3±0,7	83,4±0,7
<i>Y. enterocolitica</i>	38,2±0,9	61,3±0,4	82,3±0,9	74,3±0,9
<i>A. fumigatus</i>	58,3±0,5	36,2±0,4	56,4±0,5	63,6±0,3

Збільшення концентрації розчину дезінфектанту до 0,05 % значно підвищувало знезаражувальну здатність обробки тест-об'єктів, проте не забезпечувало її повну ефективність.

В цілому концентрація 0,05 % за виявленими властивостями свідчила про досить високу антимікробну активність вибраної композиції. Разом з тим, вона знезаражувала залізо лише на 96,3±0,6-98,6±0,2 %, дерево - на 94,2±0,8-97,8±0,6 %, поштукатурену поверхню - на 94,2±0,6-96,6±0,6 %, а цеглу - на 93,6±0,6-96,4±0,4 % (табл. 6).

Таблиця 6

Антимікробні властивості розчину 0,05 % концентрації "ОЛЛДІЗ НРРА" (% знезараження)

Культури бактерій	Тест-об'єкти			
	залізо	дерево	штукатурка	цегла
<i>S. aureus</i>	98,4±0,6	96,4±0,6	94,2±0,9	94,2±0,5
<i>S. faecalis</i>	98,7±0,8	96,9±0,6	94,8±0,7	93,8±0,3
<i>C. jejuni</i>	97,7±0,8	97,8±0,5	94,1±0,9	94,2±0,5
<i>C. perfringens</i>	98,6±0,5	96,4±0,6	96,6±0,6	93,8±0,7

E. coli O78	96,3±0,7	94,2±0,8	94,2±0,6	93,2±0,8
K. pneumoniae	98,7±0,2	95,8±0,2	94,9±0,3	96,4±0,7
P. aeruginosa	97,7±0,2	95,8±0,2	94,9±0,3	94,8±0,7
P. mirabilis	98,7±0,6	96,4±0,6	93,2±0,7	93,6±0,4
P. vulgaris	98,6±0,2	95,5±0,5	94,3±0,3	95,6±0,4
S. enteritidis	97,2±0,6	96,6±0,6	93,8±0,7	93,8±0,3
S. pullorum-gallinarum	98,4±0,4	95,8±0,9	95,2±0,6	95,1±0,6
Y. enterocolitica	97,2±0,8	95,5±0,9	93,3±0,6	94,8±0,7
A. fumigatus	98,6±0,6	96,2±0,5	94,4±0,4	93,6±0,8

Дані, наведені в таблиці 6, свідчать про те, що розчин даного дезінфектанту в 0,05 % концентрації не забезпечував повного знезараження жодного із тест-об'єктів.

Тому в подальшому провели аналогічний дослід з 0,1 % розчином дезінфектанту.

У черговій серії проведення титрування (визначення) оптимальної ефективності дослідного зразку, було встановлено, що розчин "ОЛЛДІЗ НРРА" в 0,1 % концентрації у 100 % випадків знезаражував тест-об'єкт заліза та більшість видів мікроорганізмів на тест-об'єкті із деревини, але не викликав 100 % загибелі мікробів на поштукатуреній поверхні та цеглі.

При визначенні антимікробної дії розчину "ОЛЛДІЗ НРРА" у наступній, більш високій концентрації (0,25 %), було отримано позитивні результати його вливу на усі тест-культури, розміщені на залізі (табл. 7).

Крім того, ця концентрація розчину виявляла досить високу дієву антимікробну активність (понад 99,3 %) відносно всіх тест-культур мікроорганізмів, що були нанесені на дерево, штукатурку та цеглу.

Таблиця 7

Антимікробні властивості 0,25 % концентрації засобу "ОЛЛДІЗ НРРА" (% знезараження)

Культури бактерій	Тест-об'єкти			
	залізо	дерево	штукатурка	цегла
S. aureus	100	100	99,6±0,1	99,3±0,2
S. faecalis	100	99,8±0,1	99,9±0,02	100
C. jejuni	100	100	100	100
C. perfringens	100	100	100	100
E. coli O78	100	99,2±0,1	99,4±0,1	99,8±0,08
K. pneumoniae	100	100	99,9±0,1	100
P. aeruginosa	100	99,9±0,02	99,8±0,06	99,9±0,2
P. mirabilis	100	100	99,8±0,1	100
P. vulgaris	100	100	99,6±0,3	99,4±0,4
S. enteritidis	100	99,8±0,02	100	100
S. pullorum-gallinarum	100	99,9±0,02	99,9±0,01	99,8±0,1
Y. enterocolitica	100	99,4±0,2	99,4±0,08	100
A. fumigatus	100	99,2±0,1	99,7±0,2	99,7±0,2

У наступному досліді з більш високою концентрацією розчину (0,5 %) дослідного засобу було більшості всіх мікроорганізмів, які були нанесені на всі тест-об'єкти (залізо, дерево, поштукатурену поверхню та цеглу).

Отримані результати вказують на те, що дезінфектант у концентрації 0,25 % та 0,5 % є ефективним дезінфікуючим встановлено, що "ОЛЛДІЗ НРРА" має бактерицидну та бактеріостатичну дію по відношенню до засобом і може використовуватися в системі профілактичних заходів при проведенні ветеринарно-санітарних заходів у господарствах.

Таким чином, повний дезінфікуючий ефект відносно S. faecalis, C. fetus, C. jejuni, C. perfringens, P. aeruginosa, E. coli, P. vulgaris, S. enteritidis, A. fumigatus, Y. enterocolitica, S. pullorum-gallinarum, P. mirabilis досягається при застосуванні 0,25-0,5 % розчину "ОЛЛДІЗ НРРА".