

УДК:619:616.98:578.842.1:614.48

Изучение обеззараживающего действия некоторых физических и химических факторов на вирус АЧС



¹Ю.О. СЕЛЯНИНОВ, доктор биол. наук, профессор, ¹В.М. БАЛЫШЕВ, доктор вет. наук, профессор, ¹Е.Ю. ПРУДНИКОВА, аспирант, ²В.С. ПОЛЯКОВ, исполнительный директор, ²Д.С. ПОЛЯКОВ, генеральный директор, ¹А.Т. КУШНИР, доктор вет. наук, профессор, ¹ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии, г. Покров Владимирской обл., ²ОАО «Агрокомплекс Развильное», Целинский р-н, Ростовской обл.

В статье приведены данные по обеззараживающему действию некоторых физических и химических факторов в отношении вируса АЧС. Установлено, что из четырех испытанных методов только проточный пар (метод термообработки) полностью инактивирует вирус АЧС, в т.ч. и в контаминированном вирусом фуражном зерне. **Ключевые слова:** вирус африканской чумы свиней, перевиваемая клеточная линия, свиньи, дезинфекция.

Analysis of a disinfecting effect of some physical and chemical factors upon ASF virus

SELYANINOV Yu.O., BALYSHEV V.M., PRUDNIKOVA E.Yu., POLYAKOV V.S., POLYAKOV D.S., KUCHNIR A.T.

The report represents some data on a disinfecting effect of some physical and chemical factors with respect to ASF virus. We determined that among the four method tested, only steaming (that is the heat-treatment method used) completely inactivates ASF virus, including that one present in forage grain.

Key words: african swine fever virus, continuous cell line, pigs, disinfection.

■ Введение

Одним из факторов быстрого распространения африканской чумы свиней (АЧС) в РФ является высокая устойчивость вируса к физико-химическим воздействиям, вследствие чего возбудитель в течение длительного времени сохраняется в окружающей среде. Учитывая отсутствие средств специфической профилактики при АЧС, ведущую роль в ликвидации болезни играют ветеринарно-санитарные мероприятия, направленные на обеззараживание объектов ветеринарно-санитарного надзора [3]. В связи с этим очевиден интерес исследователей к изучению чувствительности вируса АЧС к новым, экологически безопасным дезинфицирующим средствам, а также к некоторым физическим и химическим факторам, которые могут быть использованы для предотвращения заноса патогена в свиноводческие хозяйства и обеззараживания контаминированных объектов ветеринарно-санитарного надзора.

Помимо широко применяемых химических соединений, в практике

дезинфекции при различных инфекционных болезнях используют высокие температуры (сухой жар, проточный пар), ультрафиолетовое и ионизирующее излучение, низкочастотное излучение, холодную плазму и др. [1, 2, 4, 6]. Однако сведения об использовании указанных методов для обеззараживания контаминированных вирусом АЧС объектов ветеринарного надзора весьма ограничены или противоречивы.

В связи с этим целью данной работы являлось изучение обеззараживающего действия ряда физических (термообработка, ультрафиолетовое излучение, электромагнитное поле низкой частоты) и химических (озонирование) методов в отношении вируса АЧС.

■ Материалы и методы

В работе использовали:
– вирулентный вирус АЧС штамм «Ставрополь», выделенный в 2008 г. в Ставропольском крае, в виде вирусодержащей крови с активностью 7,0 lg ГАЕ₅₀/см³;
– подсвинков крупной белой породы живой массой 20–25 кг;

– перевиваемую сублинию гибридных клеток СПЭВ ТК- с лимфоцитоподобными клетками свиньи – А₄С₂/9к, чувствительную к вирусу АЧС, выращенную на чашках Карреля и микропланшетах.

Инактивирующее действие физических и химических факторов определяли с использованием контаминированных вирусом АЧС тест-объектов, имитирующих одежду персонала (батистовые тесты), упаковочный материал (фильтровальная бумага), конструкции помещений (металл, доски, глазурированная и бетонная плитка), а также фуражное зерно. На стерильные тест-объекты наносили по 0,15–2,0 см² вирусодержащей крови, которую равномерно распределяли по поверхности, после чего их подсушивали в течение 0,5–1,0 часа. Затем тест-объекты подвергали обработке одним из испытываемых способов обеззараживания. Контрольные тест-объекты обработке физическими и химическими факторами не подвергали.

По окончании обработки стерильными тупферами (тампонами)

с контрольных и подвергнутых обеззараживанию тест-объектов производили смывы. Использованные тупферы, а также батистовые тесты и полоски фильтровальной бумаги помещали на 30 мин в пробирки с 4,5 см³ среды Игла-МЕМ для экстрагирования вируса. Полученные экстракты использовали для заражения культуры клеток А₄С₂ и подсвинков. Наблюдение за культурой клеток вели в течение 14 дней с проведением двух субпассажей. Наличие вируса в инфицированной культуре клеток определяли по феномену гемадсорбции.

Наблюдение за инфицированными подсвинками вели в течение 21 суток. Обеззараживание считали эффективным, если свиньи опытной группы оставались клинически здоровыми на протяжении всего периода наблюдения при гибели контрольных животных. Специфичность гибели подсвинков от АЧС подтверждали методом аутогемадсорбции [5].

■ Результаты исследований

Действие высоких температур на вирус АЧС определяли с использованием проточного водяного пара. С этой целью были смоделированы условия для обработки зерна, приближенные к реальным, и изучена динамика инактивации вируса АЧС при различных температурах.

Поскольку корма для животных (фуражное зерно, комбикорм) являются очень сложными объектами для обнаружения в них контаминантов бактериальной и вирусной этиологии, исследования по изучению инактивирующего действия температуры проводили с использованием контаминированных вирусом АЧС батистовых тестов, которые помещали в навески зерна и комбикорма с последующим выделением из них внесенного патогена. Результаты испытаний инактивирующего действия проточного водяного пара на вирус АЧС приведены в **таблице**.

Как видно из представленных в таблице результатов, находящиеся в фуражном зерне контаминированные вирусом АЧС батистовые тесты полностью обеззараживаются проточным паром при 80–95°С. При этом с увеличением температуры пара уменьшается время полной инактивации патогена. Так, при максимально испытанной температуре (95°С) гибель вируса наступает в течение 5 секунд.

Таблица. Инактивирующее действие проточного водяного пара в отношении вируса АЧС при обеззараживании фуражного зерна

Температура проточного пара, °С	Экспозиция, при которой наблюдается полная инактивация вируса АЧС
80	3 мин*
85	1 мин*
90	30 сек*
95	5 сек*

Примечание: * – подтверждено результатами биопробы на свиньях

В инфицированной элюатами с батистовых тестов культуре клеток А₄С₂/9к гемадсорбция не проявлялась. Эффективность подобранных режимов инактивации вируса АЧС подтверждена биопробой на целевых животных. Подсвинки, которым внутримышечно вводили элюаты, полученные с обработанных проточным паром батистовых тестов, оставались клинически здоровыми в течение всего срока наблюдения (21 день). В то же время контрольный подсвиннок заболел АЧС с характерной клинической картиной и пал на 7-е сутки.

Указанные температурные режимы инактивировали также вирус АЧС и на других тест-объектах.

На следующем этапе исследований проводили изучение инактивирующего действия ультрафиолетового излучения на вирус АЧС с использованием тест-объектов, имитирующих объекты ветеринарно-санитарного надзора: гладкие поверхности, не впитывающие – металл, керамическая глазурованная плитка; шероховатые впитывающие – фильтровальная бумага, батистовые тесты, дерево и бетон. Обработку указанных тест-объектов проводили при энергетической освещенности в области спектра УФ-С (200...280 нм) – 2300 мВт/м². С этой целью контаминированные вирусом АЧС тест-объекты помещали в ламинарный шкаф на расстоянии 80 см от лампы и обрабатывали ультрафиолетовым облучением (УФО) в течение 15, 30, 45 и 60 минут. На каждую экспозицию брали по 2 контаминированных тест-объекта.

Установлено, что УФО обладает низкой обеззараживающей активностью в отношении вируса АЧС на контаминированных тест-поверхностях. Даже двукратная обработка УФЛ с экспозицией 60 мин контаминированной вирусом АЧС глазурованной плитки и фильтровальной бумаги не приводила к полной инактивации патогена. В инфицированной культуре

клеток А₄С₂/9к элюатами, полученными с этих тест-объектов, наблюдали специфическую гемадсорбцию. Эти результаты подтверждены биопробой на подсвинках.

Поскольку в литературе имеются данные об инактивирующей активности электромагнитного поля низкой частоты в отношении различных патогенов [5], нами были проведены эксперименты по определению пригодности этого метода для обеззараживания вируса АЧС.

С этой целью 3 герметически запаянные ампулы с 1,0 см³ вируса АЧС помещали в поле низкой частоты с рекомендуемыми разработчиком режимами частот – 4, 6 и 9 кГц и подвергали следующему воздействию электромагнитных полей:

- ампула № 1 – 2 часа при частоте 4 кГц;
- ампула № 2 – 2 часа при частоте 4 кГц и 2 часа при частоте 6 кГц;
- ампула № 3 – 2 часа при частоте 4 кГц, 2 часа при частоте 6 кГц и 2 часа при частоте 9 кГц.

Суммарное время облучения электромагнитным полем низкой частоты вируса АЧС составило 6 часов. Контрольную ампулу с вирусом АЧС оставляли вне доступности от поля низкой частоты. Эффективность инактивации вируса АЧС определяли по его жизнеспособности в опытных и контрольном образцах.

Установлено, что облучение вируса АЧС электромагнитными полями различной частоты (4, 6 и 9 кГц) в рекомендуемых разработчиками режимах (по два часа при каждой из частот с суммарным временем облучения шесть часов) не приводило к инактивации вируса.

Из химических средств дезинфекции для обеззараживания вируса АЧС использовали озон. Обеззараживанию подвергали батистовые тесты, фильтровальную бумагу, металл, дерево и бетон.

В качестве источника озона использовали «Озонатор воздушный ОПВ-100.02, модернизированный»

производительностью по озону 8 г/час, а по воздуху 150 м³/час. Объем наносимого на тест-объекты вируса АЧС составлял: для металла, бетона, дерева – по 0,5 см³; батистовых тестов и фильтровальной бумаги – 0,15 см³.

Контаминированные вирусом АЧС тест-объекты помещали в рабочую камеру объемом 64 м³ на расстоянии около 1 м от озонатора и обрабатывали озоном в течение 2, 4, 6 и 18 часов. На каждую экспозицию брали по 2 контаминированных тест-объекта. Контрольные тест-объекты не обрабатывали озоном.

Установлено, что обработка озоном контаминированных вирусом АЧС тест-объектов в рекомендуемых разработчиками режимах (от 2 до 8 часов) не приводила к их обеззараживанию даже при максимальной испытанной экспозиции – 18 часов.

■ Заключение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что из 4 испытанных методов – воздействие высоких температур, обработка озоном, ультрафиолетовым облучением и электромагнитными полями низкой частоты только первый может использоваться при проведении дезинфекционных мероприятий, направленных на недопущение заноса вируса АЧС в свиноводческие хозяйства и обеззараживание контаминированных объектов ветеринарного надзора.

Обработку помещений ультрафиолетовыми лучами и озоном целесообразно использовать

только в качестве профилактических мер для снижения уровня контаминации воздуха другими микроорганизмами.

Литература

1. Бутко М.П. Экспериментальные исследования по обеззараживанию зерна и комбикорма с применением озона/М.П. Бутко [и др.]//Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2005. Т. 117. С. 197–206.

2. Замула С.В. Обеззараживание зернофуража электромагнитными полями низких частот (ЭМП НЧ)/ С.В. Замула, В.И. Дорожкин, В.Г. Иванов//Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2011. №1. С. 27–30.

3. Инструкция о мероприятиях по предупреждению и ликвидации африканской чумы свиней. М. 1980. 14 с.

4. Использование ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха и поверхностей в помещениях/Руководство Р 3.1.683–98. М. 1998.

5. Методы лабораторной диагностики африканской чумы свиней ГОСТ 28573–90. М. 1990. 12 с.

6. Черкасский Б.Л. Предложения по деконтаминации сибиреязвенных скотомогильников с применением мощных источников ионизирующего излучения/ Б.Л.Черкасский, В.И.Ладный, К.А.Александров, Д.А.Васильев// Современные средства и методы дезинфекции, применяемые при работе с патогенами: материалы международного семинара. Киров. 2006. С. 70–71.



ЦИКЛАР

Синтетический прогестоген



ФЛАКОН 500МЛ - 3100,00 РУБ.

СТОИМОСТЬ ДОЗЫ
НА ОДНУ СВИНКУ - 24,80 РУБ.

КУРС ЛЕЧЕНИЯ
НА ОДНО ЖИВОТНОЕ - ОТ 372,00 РУБ.



■ НОРМАЛИЗАЦИЯ И СИНХРОНИЗАЦИЯ
ТЕЧКИ У ПОЛОВОЗРЕЛЫХ
РЕМОНТНЫХ СВИНОК И СВИНОМАТОК
ПОСЛЕ ОТЪЕМА

■ СИНХРОНИЗАЦИЯ ТЕЧКИ, УПЛОТНЕНИЕ
ОПОРОСОВ И НОРМАЛИЗАЦИЯ
РАЗМЕРОВ ПОМЕТА У СВИНОМАТОК

■ НОРМАЛИЗАЦИЯ РАЗМЕРОВ ПОМЕТА
У РЕМОНТНЫХ СВИНОК

000 "БиоМедВетСервис"
+7 (495) 220 82 46
www.bmvs.ru
e-mail: bmvs.veyx@gmail.com

Правила оформления научных статей

Уважаемые читатели! Напоминаем Вам, как правильно оформлять научные статьи для нашего журнала.

В начале статьи – УДК. Название статьи должно быть кратким – не более 5–7 слов и отражать суть рассматриваемой проблемы (на русском и английском языках), полные Ф.И.О. (рус., англ.) с указанием ученых степеней/званий автора и соавторов. Аннотация на 3–5 предложений (рус., англ.). Ключевые слова 4–6 шт. (рус., англ.).

Статья может включать в себя небольшое количество схем, таблиц, рисунков, диаграмм и фотографий. Они должны быть приведены полностью в соответствующем месте статьи, озаглавлены и пронумерованы. По тексту статьи приводятся ссылки на соответствующие таблицы или рисунки. Графики, диаграммы, рисунки и фотографии надо присылать отдельно графическими файлами (JPG или TIF) с разрешением в 300 dpi. В конце – обязательно наличие списка литературы, расположенного в алфавитном порядке, в начале русскоязычной, а затем иностранной, но со сквозной нумерацией в соответствии с ГОСТ 7.1-2003.

Авторы несут ответственность за точность приводимых в рукописи цитат и статистических данных. Подписчики, оформившие годовую подписку на журнал, имеют приоритет в публикации материалов.

Статьи принимаются по электронной почте редакции: svinovodstvo2004@mail.ru и pig-breeding@mail.ru