



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **147274** (13) **U**

(51) МПК (2021.01)

A61K 31/00**A61L 2/00****A61L 9/00****A61P 31/00**

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2020 06232	(72) Винахідник(и): Березовський Андрій Володимирович (UA), Фотіна Тетяна Іванівна (UA), Фотіна Ганна Анатоліївна (UA), Шкромада Оксана Іванівна (UA), Петров Роман Вікторович (UA), Нечипоренко Олександр Леонідович (UA), Фотін Анатолій Іванович (UA)
(22) Дата подання заявки: 28.09.2020	(73) Володілець (володільці): СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Г. Кондратьєва, 160, м. Суми, 40021 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 29.04.2021	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 28.04.2021, Бюл.№ 17	

(54) СПОСІБ ДЕЗІНФЕКЦІЇ ТВАРИННИЦЬКИХ ПРИМІЩЕНЬ ПРИ ВІРУСНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ**(57) Реферат:**

Спосіб дезінфекції тваринницьких приміщень, поверхонь, транспортних засобів та інших об'єктів і обладнання, які підлягають ветеринарному нагляду при вірусних захворюваннях, у якому розпилюють 0,8 % розчин засобу ДезСан у вигляді аерозолю, з розрахунку 5 мл розчину на 1 м³ приміщення. Засіб містить глютаровий альдегід, додецилдиметиламонію хлорид, алкілдиметилбензиламонію хлорид, октилдецилдиметиламонію хлорид, діоктилдиметиламонію хлорид, допоміжні компоненти (етанол, глютамінова кислота, вода високо очищена).

UA 147274 U

UA 147274 U

Корисна модель належить до ветеринарії і може бути використана для знищення РНК- та ДНК-містких вірусів у тваринницьких та птахівничих приміщеннях, на поверхнях, у транспортних засобах та інших об'єктах і обладнанні, які підлягають ветеринарному нагляду.

3 цією метою в Україні офіційно зареєстровано та використовується Альдекол ДЕЗ, розчин
5 для дезінфекції - виробник Евабо Хемікаліен ГмбХ, Німеччина. Засіб містить три АДР (активно діючі речовини): глютаровий альдегід - 12,5 %; бензалконію хлорид - 5,0 % і формальдегід - 9,0 %.

Недоліком цього засобу є достатньо висока противірусна діюча концентрація засобу для
10 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. The toxic effects of formaldehyde and formalin. The Journal of experimental medicine. - 1905. - 6 (4-6). - 487-518. <https://doi.org/10.1084/jem.6.4-6.487>. Chin-Hsiao Tseng. A Review on Thiazolidinediones and Bladder Cancer in Human Studies. Journal of Environmental Science and Health, Part C. - 2014. - 32. - 1. - 1-45.]

Відомий засіб Віросан - розчин для дезінфекції - виробник ТОВ НВП "Біо-Тест-Лабораторія", Україна. Засіб містить дві АДР (%): глютаровий альдегід - 11,0 і бензалконію хлорид - 25,0.

Недоліком даного засобу є наявність у складі лише однієї катіонної поверхнево-активної
20 речовини - бензалконію хлориду. Він проявляє низьку протимікробну дію, яка знижується за наявності метилцелюлози, полівінілу та жирів, що обмежує спектр використання даного дезінфікуючого засобу. [Thomas L., Russel A.D., Mailard J.-Y. Antimicrobial activity of chlorhexikate diacetate and 30 benzalkonium chloride against Psammomas aeruginosa and its response to biocide resistances // J. Appl. Microbiol. - 2005. - № 98. - Р. 533-543; Шкарин В.В., Саперкин Н.В., Ковалишева О.В. и др. Региональный мониторинг устойчивости микроорганизмов к
25 дезинфектантам: итоги и перспективы // Медицинский альманах. - Н. Новгород, 2012. - № 3 (22). - С. 122-125; Палий А.П., Завгородний А.И. Бактерицидные свойства дезинфектантов из группы четвертичных 35 аммониевых соединений относительно микобактерий // Вестник Алтайского гос. ун-та. - 2013. - № 6. - С. 79-81.]

Відомий засіб ДЕЗОЛАИН-Ф, розчин для дезінфекції - виробник АО Ветбіохім, Російська
30 Федерація. Засіб містить три АДР (%): глютаровий альдегід -7,5; бензалконію хлорид - 5,0; формальдегід - 7,5.

Засіб містить в своєму складі токсичну та канцерогенну речовину формальдегід, а в
35 інструкції по використанню дезінфектанту рекомендовано його застосування в присутності птиці в пташнику - 0,4 % розчин розприскувати раз на тиждень по стелі. Це створює небезпеку для птахів та обслуговуючого персоналу [F.-A. Pitten, A. Kramer, K. Herrmann, J. Bremer, S. Koch. Formaldehyde Neurotoxicity in Animal Experiments Pathology-Research and Practice. - 2000. - 196. - 3. - 193-198.].

Найближчим аналогом до запропонованої корисної моделі є засіб Джіпсі 8 (GPC 8), розчин
40 для дезінфекції, виробник Еванс Ванолاین Інтернешил, Велика Британія. Він являє собою рідину, що містить дві АДР в сумарній кількості 16 %, а саме: глютаровий альдегід - 12,0 та дидецилдиметиламонію хлорид - 4,0 %. Названий засіб традиційно використовують для дезінфекції тваринницьких та птахівничих приміщень, забійних та м'ясопереробних цехів, транспортних засобів та інших об'єктів і обладнання, які підлягають ветеринарному нагляду
45 [Свідоцтво про державну реєстрацію дезінфекційного засобу № АВ-01550-03-10 від 28.10.2010 р.]. Але аналіз настанови по застосуванню Джіпсі та практичні спостереження свідчать, що цей засіб має в своєму складі одну четвертинну амонієву сполуку (дидецилдиметиламонію хлорид). Він має обмежений спектр дії: не діє на спори та оболонкові віруси. Для одержання ефекту потрібні високі концентрації і тривалий період дії.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити спосіб дезінфекції тваринницьких
50 приміщень при вірусних захворюваннях шляхом застосування засобу, у якому додатково введено три різні ЧАС та збільшено сумарну кількість АДР до 22 % (що більше на 37,5 %), що створює високоефективний засіб щодо РНК- та ДНК-містких вірусів для профілактичної, поточної, заключної та вимушеної дезінфекції тваринницьких і птахівничих приміщень.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі дезінфекції тваринницьких приміщень,
55 поверхонь, транспортних засобів та інших об'єктів і обладнання, які підлягають ветеринарному нагляду при вірусних захворюваннях, згідно з корисною моделлю, розпилюють 0,8 % розчин засобу ДезСан у вигляді аерозолі, з розрахунку 5 мл розчину на 1 м³ приміщення, який містить глютаровий альдегід 9,5-11,0; додецилдиметиламонію хлорид 2,0-2,5;
60 алкілдиметилбензиламонію хлорид 4,5-5,0; октилдецилдиметиламонію хлорид 3,0-4,0;

діоктилдиметиламонію хлорид 1,0-2,0; допоміжні компоненти (етанол, глютамінова кислота, вода високо очищена) решта.

Віруцидна дія засобу ДезСан на вірус хвороби Ауескі (Вивчення фізико-хімічних властивостей комбінованих дезінфектантів / В.Л. Коваленко, М.Ф. Яценко, А.І. Чехун, Є.В. Резуненко // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. - Харківська державна зооветеринарна академія. - 2009. - № 19, Ч. 2. - Т. 3. - С. 195-199).

Дезінфікуюча дія на вірус досліджуваного засобу (дезінфектанту) виражається у відсутності цитопатичної дії в моношарі культури клітин в певних розведеннях дезінфікуючого засобу. Для визначення ступеня противірусної дії дезінфікуючого засобу ДезСан використовували виробничий штам "УНДІЕВ 18 В" - вірусу хвороби Ауескі (ВХА), за застосування дезінфікуючого засобу різних концентрацій. Як тест-об'єкт використовували перещеплювальну культуру клітин з відомими характеристиками і стабільну протягом не менш як трьох послідовних пасажів СНЕВ. Контроль за культурами вірусу проводили шляхом щоденного дворазового спостереження із мікроскопією суспензії із відповідних контрольних та дослідних лунок (табл. 1).

Визначали не тільки життєздатність культури клітин, а й ступінь проліферації клітин після дії на них досліджуваного деззасобу. Спостерігали за культурою клітин за допомогою мікроскопування з 1 по 6 добу до завершення експерименту, а підрахунок кількості клітин в лунках мікропланшету проводили з 4 по 6 добу включно. ДезСан з 1,0 % концентрацією на культурі клітин СПЕВ викликав незначну цитопатичну дію, тому дані концентрації не оцінювали відносно впливу дезінфектантів на вірус хвороби Ауескі. Необхідно зазначити, що в результаті проведених досліджень токсичного впливу та проліферативних змін у культурі клітин СНЕВ не виявлено. Це свідчить про ефективність та безпечність дезінфікуючого засобу на вірус до 0,5 % концентрації.

Таблиця 1

Інактивація вірусу хвороби Ауескі за дії дезінфектанту (суспензійний метод) ДезСан, %, (M±m, n=6)

Експозиція (хв)	Концентрація ДезСан			
	0,1	0,25	0,5	1
15	10 ^{9,25±0,15}	10 ^{5,8±0,45*}	0	0
	44,28±0,37	99,79±0,65**	100	-
30	10 ^{8,56±0,39}	0	0	0
	90,00±0,42	100	100	-
60	10 ^{6,4±0,65}	0	0	0
	97,00±0,53	100	100	-

Примітка: вихідний титр вірусу хвороби Ауескі 10^{9,5} ЕіД₅₀/см³;

*У чисельнику вказана залишкова інфекційність вірусу в Іг ЕіД₅₀/см³;

**У знаменнику - ефективність інактивації вірусу, %.

Для підтвердження цитопатичного ефекту використовували РН (реакцію нейтралізації). На основі даних табл. 1 можна зробити висновок, що 0,1 % розчин дезінфектанту ДезСан через 15 хв інактивує вірус не повністю, а тільки на 44,28 %; через 30 хв у тій же концентрації ДезСан інактивує вірус на 90 %, а через 1 год. - на 97 %. При дії 0,25 % розчину ДезСан через 15 хв знищується 99,79 % вірусу хвороби Ауескі, а через 30 хв в 1 год. засіб у тій же концентрації повністю відбувається інактивація вірусу. Слід зазначити, що з 0,5 % концентрації ДезСан має виражену віруцидну активність і може протягом 15, 30 і 60 хв повністю інактивувати вірус хвороби Ауескі. Проаналізувавши дані, можна стверджувати, 0,25 % розчин дезінфектанту ДезСан повністю вбиває вірус хвороби Ауескі через 30 хв, а починаючи з 0,5 % концентрації - уже через 15 хвилин.

Віруцидна дія засобу ДезСан на вірус хвороби Тешена. Для визначення ефективності віруцидної концентрації "Бі-дез[™]" відносно вірусу хвороби Тешена (Teschovirus), виробничий штам "БУЧАЧ", використовували суспензію вірусмісткого матеріалу, який отримували після розмноження вірусу на культурах клітин СНЕВ на рівні трьох пасажів. Контроль за культурами вірусу проводили шляхом щоденного дворазового спостереження із мікроскопією суспензії із відповідних контрольних та дослідних лунок. Засіб ДезСан з 0,1 % концентрацією на культурі клітин СНЕВ викликав незначну цитопатичну дію. Також, в результаті проведених досліджень

можна відмітити, що дезінфектант не призводив до проліферативних змін на культурі клітин СНЕВ до 0,5 % (табл. 2).

Таблиця 2

Інактивація вірусу хвороби Тешена за дії дезінфектанту ДезСан (суспензійний метод), %, $M \pm m$, $n=6$

Експозиція, хв	Концентрація ДезСан			
	0,1	0,25	0,5	1
15	$10^{9,30 \pm 0,18}$ $45,67 \pm 0,35^*$	$10^{6,8 \pm 0,53}$ $99,56 \pm 0,38^{**}$	0 100	0 -
30	$10^{8,6 \pm 0,62}$ $92,00 \pm 0,42^{**}$	0 100	0 100	0 -
60	$10^{7,2 \pm 0,42}$ $95,00 \pm 0,73^{**}$	0 100	0 100	0 -0

Вихідний титр вірусу хвороби Тешена $10^{9,3} \text{ ЕіД}_{50}/\text{см}^3$;

*В чисельнику вказана залишкова інфекційність вірусу в $\text{Іг ЕіД}_{50}/\text{см}^3$;

**В знаменнику - ефективність інактивації вірусу, %.

- 5 У ролі тест-системи використовували клітини СНЕВ, у яких відбувалося розмноження вірусу хвороби Тешена. На основі даних табл. 2, можна зробити висновок, що через 15 хв 0,1 % розчин дезінфектанту ДезСан інактивує на 45,76 % вірусні частинки; через 30 хв знешкодження вірусу відбувається на 92 %, а через 1 год. - на 95 %. Розчин ДезСан у концентрації 0,25 % через 15 хв знищує 99,56 % вірусу, а через 30 хв і 1 год. засіб повністю інактивує вірус. Таким
- 10 чином, засіб ДезСан у концентрації 0,5 % має виражену віруцидну активність і здатний протягом 15, 30, 60 хв повністю знищити вірус хвороби Тешена. В результаті проведених досліджень було встановлено, що засоби в концентраціях 0,25 та 0,5 % не впливають на зміну моношару культури, тому їх можна рекомендувати для проведення дезінфекції з метою профілактики вірусних захворювань.
- 15 Вивчення дезінфекційної активності засобу ДезСан проводили на двох модельних вірусах, а саме - моделі вакцинного штаму поліовірусу типу 1 (простий РНК-вмісткий вірус) та моделі штаму аденовірусу типу 5 (простий ДНК-вмісткий вірус). Обидва віруси є високорезистентними до дії фізико-хімічних факторів навколишнього середовища. Поліовірус 1 типу використовували в робочій концентрації 10^{-6} ТДЦ₅₀/мл та культивували на перещеплювальній культурі клітин НЕр-2. Аденовірус 5 типу використовували в робочій концентрації 10^{-5} ТДЦ₅₀/МЛ і також
- 20 культивували на перещеплювальній культурі клітин НЕр-2. Дослідження здійснювали згідно з Методичними рекомендаціями "Визначення віруліцидності дезінфікуючих засобів", затвердженими наказом МОЗ України № 231 від 08.04.2009 р. та EN 14476. Віруліцидна активність засобу ДезСан при незараженні вакцинного поліовірусу типу 1 на батистових тест-
- 25 об'єктах представлена у таблиці 3.

Таблиця 3

Повторність дослідів	Пасаж	Концентрація за засобом (%)	Експозиція		
			30 хвилин	60 хвилин	120 хвилин
1	1	0,1 %	####	####	-----
	2		####	####	-----
	3		####	####	-----
2	1		####	####	-----
	2		####	####	-----
	3		####	####	-----
3	1		####	####	-----
	2		####	####	-----
	3		####	####	-----
1	1	0,25 %	####		-----
	2		####		-----
	3		####		-----
2	1		####		-----
	2		####		-----
	3		####		-----
3	1		####		-----
	2		####		-----
	3		####		-----
1	1	0,8 %			-----
	2				-----
	3				-----
2	1		-----		-----
	2				-----
	3				-----
3	1				-----
	2				-----
	3				-----
КЖВ	1	-	####	####	####
	2		####	####	####
	3		####	####	####
КЗТО	1	-	####	####	####
	2		####	####	####
	3		####	####	####
ККТ	1		-----	-----	-----
	2		-----	-----	-----
	3		-----	-----	-----

- наявність цитопатогенної дії поліовірусу

----- відсутність цитопатогенної дії поліовірусу

- дослідження не проводили

КЗТО контроль зараженості тест-об'єктів поліовірусами

КЖВ контроль життєздатності поліовірусів

ККТ контроль культури клітин Нер-2

Таким чином, 0,8 % концентрація засобу ДезСан призводить до інактивації вірусу поліомієліту 1 типу через 30 хвилин; 0,25 % концентрація засобу призводить до інактивації вірусу поліомієліту 1 типу через 60 хвилин, а 0,1 % концентрація засобу призводить до інактивації вірусу

поліомієліту 1 типу через 120 хвилин на батистових тест-об'єктах. Відповідно, засіб ДезСан буде виявляти противірусну дію до менш стійких вірусів, зокрема - грипу, вірусного гепатиту, аденовірусів, ротавірусних гастроентеритів, коронавірусів, в тому числі - вірусу SARS-Cov-2, що викликає COVID-19 та інших. Віруліцидна активність засобу ДезСан при знезараженні аденовірусу 5 типу на батистових тест-об'єктах представлена у таб.4.

Таблиця 4

Повторність досліджу	Пасаж	Концентрація за засобом (%)	Експозиція		
			30 хвилин	60 хвилин	120 хвилин
1	1	0,1 %	####	####	-----
	2		####	####	-----
	3		####	####	-----
2	1		####	####	-----
	2		####	####	-----
	3		####	####	-----
3	1		####	####	-----
	2		####	####	-----
	3		####	####	-----
1	1	0,25 %	####	-----	-----
	2		####	-----	-----
	3		####	-----	-----
2	1		####	-----	-----
	2		####	-----	-----
	3		####	-----	-----
3	1		####	-----	-----
	2		####	-----	-----
	3		####	-----	-----
1	1	0,8 %	-----	-----	-----
	2		-----	-----	-----
	3		-----	-----	-----
2	1		-----	-----	-----
	2		-----	-----	-----
	3		-----	-----	-----
3	1		-----	-----	-----
	2		-----	-----	-----
	3		-----	-----	-----
КЖВ	1	-	####	####	####
	2		####	####	####
	3		####	####	####
КЗТО	1	-	####	####	####
	2		####	####	####
	3		####	####	####
ККТ	1	-	-----	-----	-----
	2		-----	-----	-----
	3		-----	-----	-----

- наявність цитопатогенної дії поліовірусу

----- відсутність цитопатогенної дії поліовірусу

- дослідження не проводили

КЗТО контроль зараженості тест-об'єктів поліовірусами

КЖВ контроль життєздатності поліовірусів

ККТ контроль культури клітин Нер-2

Таким чином, 0,8 % концентрація засобу у ДезСан призводить до інактивації аденовірусу 5 типу через 30 хвилин; 0,25 % концентрація засобу призводить до інактивації аденовірусу 5 типу через 60 хвилин, а 0,1 % концентрація засобу призводить до інактивації аденовірусу 5 типу через 120 хвилин на батистових тест-об'єктах.

Отже, вивчення віруліцидної активності засобу ДезСан показало наявність такої дії як проти РНК-вмістких, так і проти ДНК-вмістких вірусів, виявлення протівірусної дії до менш стійких вірусів, зокрема - грипу, вірусних гепатитів Аноро-, аденовірусів, ротавірусних гастроентеритів, коронавірусів, в тому числі - вірусу SARS-Cov-2, що викликає COVID-19 та інших.

5

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб дезінфекції тваринницьких приміщень, поверхонь, транспортних засобів та інших об'єктів і обладнання, які підлягають ветеринарному нагляду при вірусних захворюваннях, який відрізняється тим, що розпилюють 0,8 % розчин засобу ДезСан у вигляді аерозолю, з розрахунку 5 мл розчину на 1 м³ приміщення, який містить глютаровий альдегід 9,5-11,0; додецилдиметиламонію хлорид 2,0-2,5; алкілдиметилбензиламонію хлорид 4,5-5,0; октилдецилдиметиламонію хлорид 3,0-4,0; діоктилдиметиламонію хлорид 1,0-2,0; допоміжні компоненти (етанол, глютамінова кислота, вода високо очищена) решта.

10

15