

ИНФОРМАЦИЯ

Ефективност на дезинфектантите срещу вируса на африканската чума по свинете



Служител почиства и дезинфекцира родилните боксове - Снимка: Роналд Хисинк

Накратко

Африканската чума по свинете (АЧС) причинява огромни икономически загуби и е една от най-опасните вирусни болести по свинете. Болестта е известна от почти 100 години, но все още няма ефективна ваксина или лечение, като се прилагат само подходящи мерки за биосигурност, включително дезинфекция, за да се предотвратят огнищата на болестта.

Полски изследователи са тествали ефективността на редица химически съединения от наличните в търговската мрежа дезинфектанти срещу вируса на африканската чума по свинете (ASFV).

Екипът е проучил по-задълбочено съединенията, тъй като мерките за почистване и биосигурност са единствените инструменти в ръцете на производителите, които могат да използват срещу вируса, при липса на ваксина. Изследването е проведено от учени, към полския Национален институт за ветеринарни изследвания в Пулави¹. Публикувано е в списание Pathogens.²

¹http://www.piwet.pulawy.pl/piwet7/index_a_eng.php/

²<https://www.mdpi.com/2076-0817/9/11/878>

Тествани са **осем активни вещества**, за да се потвърди тяхната ефективност срещу ASFV. Изследваните вещества са:

- формалдеhid;
- натриев хипохлорит;
- сода каустик;
- глутаралдеhid;
- фенол;
- химични съединения на основата на липидни разтворители, например бензалкониев хлорид;
- многокомпонентни съединения, например калиев пероксимоносулфат; и
- органични киселини, например оцетна киселина

Този специфичен подбор е направен въз основа на препоръката на Световната организация за здраве на животните (OIE) и предишни проучвания на дезинфектанти за повърхности.

Резултатът от проучването показва, че повечето от изследваните съединения инактивират вируса в препоръчителните концентрации. За да се намали цитотоксичността на четирите вещества (формалдеhid, глутаралдеhid, бензалкониев хлорид и оцетна киселина), както и на някои от високите концентрации на веществата, са приложени колони Microspin S-400 HR, поради което е било възможно да се демонстрира намаляване на титъра на вируса на $4 \log_{10}$.

Натриевият хипохлорит, глутаралдеhidът, содата каустик и калиевият пероксимоносулфат показват най-добрите проценти на инактивиране на ASFV, постигайки намаляване на титъра над $5 \log_{10}$. Въпреки микрофилтрацията, вирусоцидната активност на формалдеhида не е оценена поради високата му цитотоксичност.

Резултати от проучването изрично подчертават значимостта на **предварителното почистване, тъй като премахването на замърсяванията** осигурява подобрена ефективност на тестваните химични съединения.

По-подробно за изследването

Днес, в лицето на пандемията Covid-19, причинена от тежък остър респираторен синдром коронавирус 2 (SARS CoV-2), почти всеки знае колко важни са биосигурността и дезинфекцията. Освен това, въпреки огромните изследователски усилия, все още не е разработена и не се предлага на пазара ваксина срещу АЧС.

Африканска чума по свинете е едно от най-опасните (до 100% смъртност) инфекциозни вирусни заболявания на свинете, главно поради огромните социално-икономически последици. Болестта засяга животни от семейство *Suidae*, главно домашни свине, диви свине и брадавичести свине.

Настоящата епизоотия започна през 2007 г. в Грузия и оттогава се разпространява широко в Европа. През 2018 г., АЧС се появи и в Югоизточна Азия, най-големият производител на свинско месо в света. От август 2018 г. до май 2020 г., китайското министерство на земеделието и селските въпроси (MARA) потвърди 170 огнища на АЧС, което доведе до загуби на 1,2 милиона прасета, намалявайки производството на китайско свинско с повече от 40%.

Полша, като един от водещите производители на свинско месо в Европа, се бори с АЧС от 2014 г. и към днешна дата са регистрирани общо над 9000 случая и 361 огнища на АЧС (данни до 11.10.2020 г.).

До края на 2019 г., 48 държави са докладвали АЧС при домашни свине, с над 10 000 отделни огнища, причиняващи смърт или евтаназия на повече от 2,5 милиона животни. С продължаването на АЧС в Китай, експертите очакват по-нататъшно намаляване на популацията свине и свързано с това намаляване на производството на свинско месо от 15-25% през 2020 г.

Поради инфекциозността, липсата на ваксинации и отговорността за сериозни икономически и производствени загуби, болестта е включена в списъка като задължителна за обявяване от Световната организация за здраве на животните (ОИЕ).

Вирусът на африканската чума по свинете е член на семейството *Asfarviridae* и рода *Asfivirus*. Това е голям, с обвивка, ДНК вирус. Неговите вириони имат специфична икозаедрична структура на протеиновия капсид, който обгражда вътрешна мембрана и нуклеопротеинова капсула.

Непрекъснатото разпространение на АЧС се обуславя от директен контакт със заразени прасета (т.е. аерозол, течности и екскреции), от ухапвания от меки кърлежи, принадлежащи към рода *Ornithodoros* и непряк контакт чрез замърсени фуражи, свинско месо, хора, превозни средства или дрехи, прибори, предмети, оборудване.

При неотдавнашната епизоотична болест в Евразия **дивата свиня** играе ключова роля в предаването на патогена, тъй като е основен резервоар в околната среда. В **предаването на вируса** може да участва и безотговорна човешка дейност, особено когато става въпрос за разпространение на болестта на големи разстояния. Въпреки, че се знае доста малко за възможните носители на вируси, рискът от потенциални огнища идва предимно от лошо приложени мерки за биологична сигурност, включително, наред с другото: несменени замърсени обувки и връхни дрехи, хранене на свинете с кухненски отпадъци или по сметища, или купуване на прасета от неизвестни източници и контакт на домашните свине с диви.

Както вече беше доказано, ASFV е много устойчив при голямо разнообразие от условия. Толерантността на вируса към изменения на рН варира от <3,9 до> 13; в кръвта, съхранявана в хладилни условия, тя ще продължи до 18 месеца; в замразено месо, до 1000 дни; а в сушен бекон – 300 дни. Това доказва значението на процеса на сушене върху способността за преживяване на вируса.

Биосигурността се определя като прилагане на набор от мерки, които намаляват риска от инфекция, като наред с другите мерки, от голяма важност са почистването и дезинфекцията.

Пълният процес на почистване и дезинфекция включва пет основни стъпки:

1. Сухо почистване,
2. мокро почистване/измиване,
3. сушене,
4. дезинфекция и
5. окончателно сушене.

Поради липсата на разработена, достъпна, безопасна и ефективна ваксина срещу АЧС е много важно да се предотврати въвеждането и разпространението на болестта. Независимо от това, в случай на появата ѝ, също е важно засегнатите съоръжения да се върнат в производство, възможно най-безопасно и възможно най-скоро. Вирусът на африканската чума по свинете може да остане инфекциозен за дълго време в изпражненията и кръвта, освен това в присъствието на органично вещество,

вирусът може да бъде още по-стабилен и да оцелее по-дълго. Следователно изборът на подходящ дезинфектант и прилагането му ефективно, като се вземат предвид условията на околната среда, времето за контакт, рН и температурните диапазони, играе решаваща роля за биосигурността. **За да се подобри ефективността на мярката, е от изключителна важност като първа стъпка да се извърши почистване, за да се отстранят първо органичните вещества и чак тогава да се пристъпи към правилна дезинфекция.**



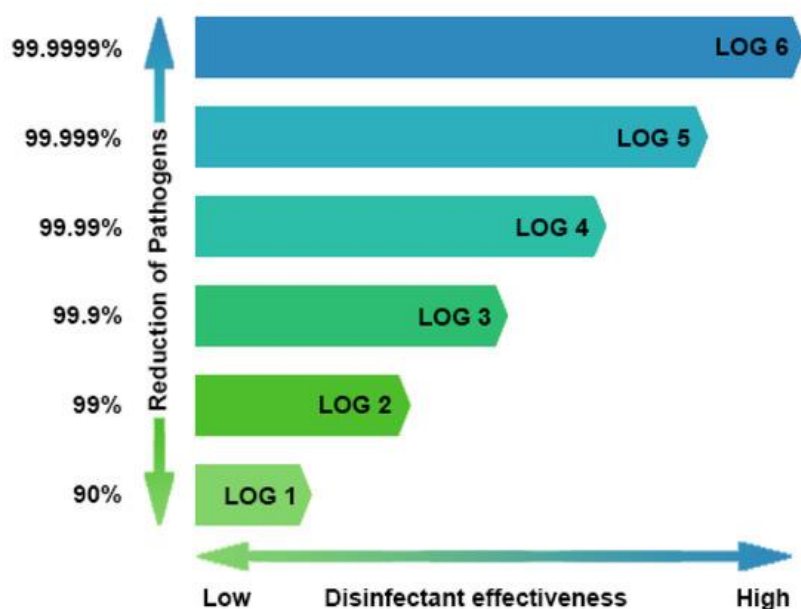
Щателно сухо почистване и измиване

Горезброените съединения, тествани в това проучване, са отдавна и широко използвани в производството на търговски дезинфектанти, и се препоръчват като ефективни срещу ASFV.

Вирусите могат да бъдат класифицирани в две групи: обвити (по-чувствителни към повечето дезинфектанти) и вируси без обвивка (много по-устойчиви). Тъй като ASFV принадлежи към групата вируси с обвивка, препоръката на OIE се основава на резултатите от проучванията за дезинфекция на други обвити вируси, напр. ORF вируса (OV) на заразната ектима, вируса на конския вирусен артериит (EVAV), вируса

на псевдобяса (PRV), вируса на репродуктивен и респираторен синдром при свинете (PRRSV) и класическа чума по свинете (CSF).

Освен това са публикувани няколко проучвания относно активността на избрани активни вещества срещу ASFV върху различни видове повърхности^{3,4}. Споменатите статии се отнасят до тестове върху повърхности, където вирусът е бил подложен на процес на сушене, който винаги намалява контролния титър на вируса. Това многократно направи невъзможно получаването на необходимата разлика 4 log, която е необходима, за да се квалифицира дезинфектантът като ефективен. Въпросът е дали намаляването на вирусния титър се дължи на дезинфектанта или може би на ефекта от процеса на сушене. Освен това, методът за изпитване на повърхности все още не е приет като процедура, определяща дезинфектантите като ефективни във ветеринарния сектор. Всеки вирус трябва да се счита за уникален по отношение на неговата устойчивост на физическо и химично третиране. Чувствителността към дезинфекция на ASFV си заслужава индивидуално тестване, на базата на европейския стандарт PN-EN 14675: 2015, където вирусът ЕСВО е заменен с ASFV и са извършени няколко малки модификации, за да се осигурят подходящи клетъчни култури и условия за разпространение на вируса. **Активното съединение се счита за ефективно, когато показва поне 4-log₁₀ намаляване на първоначалния вирусен титър, което е еквивалентно на загуба на заразност от 99,99%** (Фигура 1).



Фигура 1: Логаритмично намаляване изразено в проценти

Повечето съединения инактивират ASFV

Първоначално тестване на **натриев хипохлорит** (15% активен хлор) е извършено при концентрации от 0,03%, 0,01% до 0,0075%, което съответства на 0,0045%, 0,0015% и 0,001125% от активния хлор, но нито една от тези концентрации не е ефективна. Поради тази причина, тестът на натриевия хипохлорит е повторен, като се използват

³Shirai, J.; Kanno, T.; Tsuchiya, Y.; Mitsubayashi, S.; Seki, R. Effects of Chlorine, Iodine, and Quaternary Ammonium Compound Disinfectants on Several Exotic Disease Viruses. *J. Vet. Med. Sci.* **2000**, *62*, 85–92. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

⁴Krug, P.W.; Lee, L.J.; Eslami, A.C.; Larson, C.R.; Rodriguez, L. Chemical disinfection of high-consequence transboundary animal disease viruses on nonporous surfaces. *Biologicals* **2011**, *39*, 231–235. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

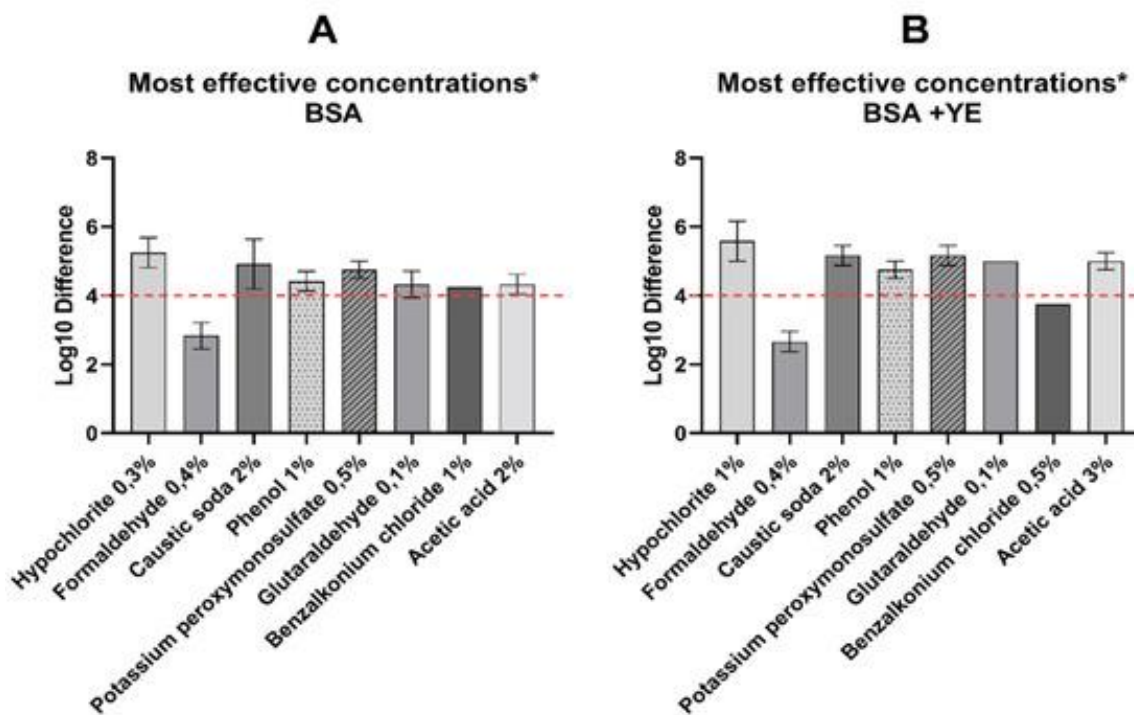
Krug, P.W.; Larson, C.R.; Eslami, A.C.; Rodriguez, L.L. Disinfection of foot-and-mouth disease and African swine fever viruses with citric acid and sodium hypochlorite on birch wood carriers. *Vet. Microbiol.* **2012**, *156*, 96–101. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Krug, P.W.; Davis, T.; O'Brien, C.; Larocco, M.; Rodriguez, L.L. Disinfection of transboundary animal disease viruses on surfaces used in pork packing plants. *Vet. Microbiol.* **2018**, *219*, 219–225. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Turner, C.; Williams, S.M. Laboratory-scale inactivation of African swine fever virus and swine vesicular disease virus in pig slurry. *J. Appl. Microbiol.* **1999**, *87*, 148–157. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Gabbert, L.R.; Neilan, J.G.; Rasmussen, M. Recovery and chemical disinfection of foot-and-mouth disease and African swine fever viruses from porous concrete surfaces. *J. Appl. Microbiol.* **2020**, 1–10. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

по-високи концентрации, например 0,3%, 1% и 1,5% (0,045%, 0,15% и 0,225% активен хлор). Този път всички концентрации, с изключение на 0,3% (при условия на силно замърсяване) водят до вирусциден ефект, дори достигайки 5,58 ($\pm 0,47$) средно намаляване на \log_{10} (Фигура 2). Натриевият хипохлорит се оказва чувствителен към присъствието на органичен материал, поради което трябва да се използва по-високата концентрация, за да се осигури същата ефикасност на дезинфектанта. **Сода каустик** при концентрации от 1%, 2% и 3% причинява инактивация на ASFV, с изключение на най-ниската концентрация при силно замърсено състояние, която е неефективна. Въпреки филтрацията, 3% концентрация при ниско замърсяване на повърхностите се оказва цитотоксична и прави невъзможна оценката на ефективността. **Фенол, калиев пероксимоносулфат и бензалкониев хлорид** са изследвани в същите концентрации (0,5%, 1% и 2%). Три от веществата са ефективни при 1% и при слабо и при силно замърсяване, с изключение на бензалкониевия хлорид, който действа вирусцидно, само при ниско замърсяване. Най-високата концентрация на **фенол** предизвиква цитотоксичен ефект, докато концентрация от 0,5% е напълно неефективна. **Глутаралдехидът** показва ефективност при всякакви условия и концентрации, но неочаквано, при 0,5% и ниско замърсяване, той е цитотоксичен. Дори в случай на неотстранима цитотоксичност, повечето от дезинфектантите намаляват титъра на ASFV с $3 \log_{10}$, което съответства на 99,9% процентно намаляване на патогена (Фигура 1). **Най-голямото намаляване на \log се наблюдава при натриев хипохлорит.**



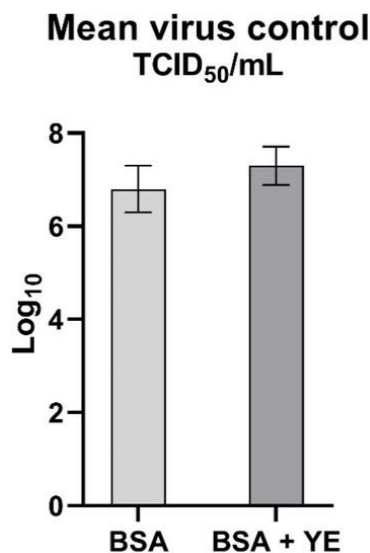
Фигура 2: Най-ефективните концентрации на тестваните дезинфектанти при наличие на (A) ниско ниво на замърсяване (BSA) и (B) високо ниво на замърсяване (BSA + YE). Представени са максимални откриваеми разлики в \log_{10} . Червената пунктирна линия - праг на вирусциден ефект. * Ако разликата в логаритъма е една и съща в една или повече концентрации, по-ниската концентрация е представена на графиката.

Заклучения:

Според изследователският екип, на база на известните данни, това е първият тест за суспензия *in vitro*, съобщаващ за вирусцидна активност на химични съединения срещу ASFV, базиран на модифициран европейски стандарт PN-EN 14675: 2015.

Седем от осемте тествани химикали (натриев хипохлорит, глутаралдехид, сода каустик, калиев пероксимоносулфат, фенол, оцетна киселина и бензалкониев хлорид) причиняват ефективно инактивиране на ASFV. Всеки от тях е ефективен при специфични концентрации, обикновено препоръчани от OIE, и при различни условия на замърсяване.

Проучването показва, че титърът на контролния вирус при високи условия на замърсяване е по-висок при всички тествани съединения (Фигура 3).



Фигура 3. Среден титър на вируса при два варианта на ниво на замърсяване

Изследователите доказват, че вирусът може да се размножава по-ефективно в присъствието на органични вещества. Освен това органичните вещества могат да повлияят на ефективността на дезинфектанта. Това показва, че трябва да се подчертае **ключовата роля на почистването преди правилната дезинфекция**. По-високият контролентитър на вируса при условия на високо замърсяване води до по-висока крайна разлика, както може да се види на Фигура 2.

Вирусцидната ефикасност на **формалдехида** не може да бъде определена поради високата цитотоксичност, която не е намалена чрез микрофилтрация. Въпреки това намаляването на титъра на ASFV с $2,83 * (\pm 0,31)$ при 0,4% концентрация на формалдехид все още се наблюдава, което предполага неговата умерена ефективност. Независимо от това, използването на формалдехид като дезинфектант е ограничено, поради канцерогенността му, въз основа на заключението на Международната агенция за изследване на рака (IARC), че използването му повишава риска от рак на носоглътката и левкемия.

Глутаралдехидът показва много висока вирусцидна ефективност, дори при високи условия на замърсяване, въпреки че се изисква неутрализация на цитотоксичността чрез микрофилтрация. Подобно на предишни доклади, проучването потвърждава, че **глутаралдехидът, содата каустик и калиев пероксимоносулфат показват по-широк спектър на инактивация на ASFV**.

Натриевият хипохлорит е една от най-често използваните съставки на дезинфектантите, тъй като е известно, че е ефективен дори срещу трудно инактивиращи се, необвити вируси, бактерии и фаги. Това специфично съединение осигурява най-голямото средно намаляване на титъра на \log_{10} , т.е. с $5,58 (\pm 0,47)$, като по този начин е ефективен при почти всяка тествана и представена концентрация. Ефективността на натриевия хипохлорит вече е потвърдена от Krug et al., по време на тестове върху повърхности, където въпреки изсушаването 0,05% хипохлорит ефективно инактивира ASFV. Неговата ефективност зависи от концентрацията на

свободен активен хлор в търговския, първоначален разтвор на хипохлорит в тестваните търговски продукти.

Сода каустик и калиев пероксимоносулфат, които се използват широко в търговските дезинфектанти, показват същото най-високо средно намаление на вирусния титър с $5.17 (\pm 0.24) \log_{10}$. Калиевият пероксимоносулфат е основното активно вещество в често използваните дезинфектанти, одобрено от OIE и министерството на земеделието на САЩ (USDA). Содата каустик е една от най-силните основи; следователно стойността на рН на тестваните концентрации достига > 13 и е ефективна при почти всяка концентрация, вероятно поради факта, че АЧС е податлив на рН по-малко от 4 и над 13.

Що се отнася до **оцетната киселина**, тя е показала $\text{pH} > 3$; следователно е напълно ефективна при 3% и частично при 2% (само при ниски условия на замърсяване).

Освен това 1% **фенол** е вирусоциден и при двете условия на замърсяване, но по-високата концентрация е цитотоксична.

Бензалкониев хлорид, принадлежащ към четвъртичните амониумни съединения (QUATs), инактивира ASFV само при 1% концентрация, при ниски условия на замърсяване.

Настоящото проучване на търговски дезинфектанти показва висока цитотоксичност в дезинфектантите на базата на QUATs и глутаралдехид, което не е позволило правилна оценка на резултатите. Научният екип отбелязва, че с проучването е потвърдена ниската вирусоцидна активност на QUATs, за която наскоро се съобщи. Другите дезинфектанти показват сходни резултати с данните, получени в настоящите проучвания. Въпреки това, практиката за намаляване на цитотоксичността, въведена в настоящото изследване, е позволила да се потвърди ефективността на някои химични съединения срещу ASFV, което преди това не е било възможно.

В проучването се обобщава, че най-високата вирусоцидна активност срещу ASFV показват натриев хипохлорит, глутаралдехид, сода каустик и калиев пероксимоносулфат. Широката гама от ефективни дезинфектанти срещу ASFV не е изненадваща, тъй като вирусът принадлежи към вирусите с обвивка, уязвим към дезинфектанти, прекъсващи структурата на липидната обвивка.

Освен това, проучванията показват, че ASFV може да бъде инактивиран и чрез манипулиране на рН, в присъствието на силна основа (сода каустик) или киселина (оцетна киселина). Изследването доказва, че **наличието на органични вещества е ключово предизвикателство, което може да подпомогне процеса на репликация на вируса или да доведе до намаляване на ефективността на дезинфекцията.** Следователно почистването със сапун и вода не може да се пропусне и е от решаващо значение, за да се намали замърсяването и следователно да се подобри ефикасността на дезинфекцията. **В присъствието на органични вещества ASFV се размножава по-ефективно и е по-устойчив на инактивиране.** Въпреки използването на подходящи дезинфектанти и подходящо време за контакт, химичното съединение може да се окаже неефективно.

В бъдеще си струва да се съсредоточат научните изследвания в търсенето на **екологични дезинфектанти**, показващи намалена клетъчна цитотоксичност и по-малко вредно въздействие върху хората и околната среда.



Други научни становища и актуална информация от областта на здравето, хуманното отношение и благосъстоянието на животните, антимикробната резистентност, както и оценка на риска по цялата хранителна верига може да намерите на сайта на Центъра за оценка на риска по хранителната верига:

<http://corhv.government.bg/>

<http://corhv.government.bg/?cat=27>

<http://corhv.government.bg/?cat=71>

Използвана литература:

Juszkiewicz M, Walczak M, Mazur-Panasiuk N, Woźniakowski G. Effectiveness of Chemical Compounds Used against African Swine Fever Virus in Commercial Available Disinfectants. Pathogens. 2020 Oct 24;9(11):878. doi: 10.3390/pathogens9110878. PMID: 33114391; PMCID: PMC7693804.; <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33114391/#affiliation-1/{target: blank}>; <https://www.mdpi.com/2076-0817/9/11/878>

Effectiveness of chemical compounds against ASFv; Pig Progress, Health News Jan 2, 2021; <https://www.pigprogress.net/Health/Articles/2021/1/Effectiveness-of-chemical-compounds-against-ASFv-691804E/>

8.01.2021 г.

д-р Мадлен Василева

Център за оценка на риска по хранителната верига