

**А.В. Лисиця, Ю.М. Мандигра, О.П. Бойко,
О.О. Романішина, М.С. Мандигра**

*Дослідна станція епізоотології Інституту ветеринарної медицини НААН,
вул. Князя Володимира 16/18, м. Рівне, 33028, Україна*

ДИФЕРЕНЦІЙНА ЧУТЛИВІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ ДО ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИНУ

*Визначено чинники від яких залежить чутливість мікроорганізмів до полігексаметиленгуанідину (ПГМГ). Випробувано солі ПГМГ хлорид, валерат, малеат, сукцинат. Об'єктами досліджень були штами *Esherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Leptospira interrogans*, *Paenibacillus larvae*, *Mycobacterium bovis*, *M. avium*, *M. fortuitum*, *Aspergillus niger* і деякі оболонкові віруси. Виявлено, що головною «мішенню» для молекул полікатіону ПГМГ є фосфоліпід цитоплазматичної мембрани. Диференційна чутливість мікроорганізмів до препарату в першу чергу визначається загальною часткою ліпідів у мембрані та доступністю їх фосфатних груп. Спостерігаються наступні тенденції: збільшення відносної частки кислих ліпідів і більший негативний поверхневий електричний потенціал мембрани, а також зменшення розмірів жирнокислотних ланцюгів ліпідів призводять до зростання чутливості мікроорганізмів. Має важливе значення тип аніону в солях ПГМГ, зокрема, біоцидна активність ПГМГ хлориду в цілому більша ніж у солей ПГМГ з органічними кислотами. Досліджено і проаналізовано доцільність комбінування ПГМГ в полікомпонентних засобах для дезінфекції з іншими біоцидами. Визначено, що зазвичай таке поєднання не призводить до суттєвого зростання чутливості протестованих нами мікроорганізмів. Переважна більшість видів патогенних мікроорганізмів може бути швидко знешкоджена водними розчинами ПГМГ в концентраціях менших за 1 %.*

Ключові слова: бактерії, грибки, віруси, чутливість, полігексаметиленгуанідин, дезінфектант, фосфоліпід.

В складі сучасних засобів для дезінфекції все частіше використовують полімерні похідні гуанідину, або поліалкіленгуанідини (ПАГи). Полігексаметиленгуанідин (ПГМГ) є їх типовим представником. Він володіє широким спектром бактерицидної, віруліцидної, фунгіцидної і альгіцидної активності [1, 13]. ПАГи вважаються низько токсичними, хімічно не агресивними та екологічно безпечними сполуками. Разом із тим, порівняно з низкою традиційних антимікробних засобів, вони мають аналогічну, а в деяких випадках і вищу активність [1, 3].

Чутливість мікроорганізмів до солей ПГМГ не однакова. Це пов'язано як з особливостями будови оболонок клітин, так і з механізмами біоцидної дії препарату, які на сьогодні до кінця не з'ясовані. З цього приводу існує декілька теорій. На нашу думку, найбільш важливою складовою комплексної дії полімерних похідних гуанідину на клітину є їх взаємодія з цитоплазматичною мембраною (ЦПМ), зокрема з фосфоліпідами. А основою біоцидної дії препарату насамперед є деструкція ЦПМ клітини [12, 15, 16].

Один із напрямів розвитку сучасної дезінфектології – використання дезінфектантів, багатокомпонентних за складом і поліфункціональних за властивостями. Якщо вдасться досягнути синергізму дії інгредієнтів, то можна суттєво знизити

їх концентрації і мінімізувати негативні наслідки застосування деззасобів. Актуальним питанням також є мінімізація небезпеки провокування розвитку резистентних штамів.

Метою даної роботи було з'ясувати від чого залежить чутливість мікроорганізмів до ПГМГ та проаналізувати доцільність його комбінування з іншими біоцидами.

Матеріали і методи. Визначення бактерицидних, фунгіцидних та вірусцидних властивостей препаратів проводили за загальноприйнятими методиками [2]. При визначенні фунгіцидних властивостей препаратів із ПГМГ використано тест-культуру *Aspergillus niger* (музейний штам ННЦ ІЕКВМ, м. Харків). При приготуванні бактеріальної та спорової суспензії батистових тест-об'єктів використовували грам-негативні тестові штами *Esherichia coli* ATCC 055 K 59 № 3912/41, грам-позитивні *Staphylococcus aureus* ATCC № 25923 F 49 (штами Волинської регіональної лабораторії ветмедицини, м. Луцьк), грам-позитивні *Bacillus cereus* (штам ДНКІБШМ, м. Київ), *Leptospira interrogans* (штам Миколаївської обл. вет. лабораторії).

Готували 0,05-10 % розчини досліджуваних дезінфікуючих препаратів на дистильованій воді з розрахунку 0,56 мл розчину на кожний тест-об'єкт. В робочі розчини занурювали батистові тест-об'єкти, контаміновані культурами *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*. З моменту занурення тест-об'єктів у дезінфікуючий розчин, через 15, 30 та 60 хв. петлею виймали по 2 тест-об'єкти і після дворазового промивання у воді проводили їх посів у м'ясо-пептонний бульйон та агар (МПБ, МПА). Посіви інкубували при 37 °С.

Також були використані бактерії *Paenibacillus larvae subsp. larvae* (штам ННЦ ІЕКВМ, м. Харків), *Mycobacterium bovis* референтний штам Vallee (Інститут с.-г. мікробіології, м. Чернігів), *M. avium* 14141, *M. fortuitum* ДГМ-2 (штами ННЦ ІЕКВМ, м. Харків) та віруси *Equine herpesvirus type 1* СВ-69, *Rhinotracheitis infectiosa bovine* ТК-А, *Equine infectious anemia virus* польовий штам (штами ДС епізоотології ІВМ НААН, м. Рівне).

Порівнювали активність таких солей: ПГМГ хлорид (ПГМГхл), валерат (ПГМГв), малеат (ПГМГм), сукцинат одно- (ПГМГсо) та двозаміщений (ПГМГсд) кваліфікації «ч» (ПФ «Терміт», Україна).

При визначенні бактерицидної та фунгіцидної дії ПГМГ в сумішах з іншими біологічно активними сполуками використовували фармакопейні стрептоміцин і тилозину тартрат (антибіотики), клотримазол і флуконазол (протигрибкові), хлоргексидину біглюконат (похідний гуанідину з групи бісбігуанідинів), бензалконію хлорид і декаметоксин (група четвертинних амонієвих сполук, або ЧАС), диметилсульфоксид (ДМСО), карбамід, додецилсульфат натрію (ДСН) («Макрохім», Україна), наноаквахелати срібла і міді (Ag і Cu по 125 мг/л), наночастинки оксиду цинку ZnO діаметром близько 30 нм (1 % водний розчин), лецитин (ЗАТ «Біолек», Україна). Попередньо визначали фармацевтичну сумісність інгредієнтів у полікомпонентних сумішах за допомогою методу плазмово-десорбційної мас-спектрометрії [6].

Результати та їх обговорення. Випробування показали, що чутливість тест-культур *E. coli* та *S. aureus* до ПГМГ залежить від аніонного складу його солей. Зокрема, з усіх випробуваних препаратів найкращі біоцидні властивості показав ПГМГхл, він діє бактерицидно у концентрації 0,1 % на *S. aureus* (експозиція 15 хв.) та *E. coli* (експ. 30 хв.), і починаючи з концентрації 9 % – спороцидно на *B. cereus* (експ. 30 хв.). Узагальнені результати визначення бактерицидної дії

різних солей ПГМГ залежно від часу експозиції представлено в табл. 1 і 2, спороцидної дії – в табл. 3.

Таблиця 1

Мінімальні бактерицидні концентрації солей ПГМГ для *E. coli*

Час експозиції, хв.	Препарати та їх концентрації					
	ПГМГ _{хл} 0,1 %	ПГМГ _в 0,5 %	ПГМГ _м 0,5 %	ПГМГ _{сд} 0,5 %	ПГМГ _{со} 4 %	0,1 % суміш ПГМГ _{хл} з карбамідом (1:38)
15	+	+	+	+	+	-
30	-	+	+	+	-	-
60	-	-	-	-	-	-

Примітка: „+” – виявлено ріст тестового мікроорганізму, „-” – відсутність росту.

Таблиця 2

Мінімальні бактерицидні концентрації солей ПГМГ для *S. aureus*

Час експозиції, хв.	Препарати та їх концентрації					
	ПГМГ _{хл} 0,1 %	ПГМГ _в 0,5 %	ПГМГ _м 1,5 %	ПГМГ _{сд} 0,2 %	ПГМГ _{со} 2 %	0,05 % суміш ПГМГ _{хл} з карбамідом (1:1)
15	-	+	+	+	-	-
30	-	+	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-	-

Таблиця 3

Вплив препаратів ПГМГ на спори *B. cereus*

Час експозиції, хв.	Препарати та їх концентрації					
	ПГМГ _{хл} 9 %	ПГМГ _в 10 %	ПГМГ _м 10 %	ПГМГ _{сд} 10 %	ПГМГ _{со} 10 %	10 % суміш ПГМГ _{хл} з карбамідом (1:1)
15	+	+	+	+	+	+
30	-	+	+	+	+	-
60	-	+	+	+	+	-

З результатів чисельних експериментів видно, що грам-позитивні бактерії стафілококу більш чутливі до дії солей ПГМГ, ніж грам-негативна кишкова паличка. Пояснюється це тим, що, по-перше, через відмінності в будові клітинних стінок фосфоліпіди ЦПМ у *S. aureus* доступніші для молекул ПГМГ, а по-друге, в клітинній стінці грам-позитивних бактерій вміст ліпідів, в т.ч. ліпополісахаридів і ліпопротеїдів, взагалі значно нижчий, ніж у грам-негативних, тому для їх пошкодження і вилучення з активних фізіологічних процесів потрібні менші концентрації препарату. В оболонці *S. aureus* міститься більше муреїну, але він, як і глікопротеїди, не є «мішенню» для ПГМГ.

Загалом простежується закономірність, що солі ПГМГ з органічними кислотами проявляють меншу бактерицидну і спороцидну активність, ніж ПГМГ_{хл}. Також виявилось, що композиції ПГМГ_{хл} з карбамідом в співвідношеннях 1:1 та 1:38 в окремих випадках володіють навіть кращими біоцидними властивостями, ніж сам ПГМГ_{хл}. Враховуючи те, що карбамід знижує температуру замерзання водних розчинів ПГМГ, суміш ПГМГ_{хл} + карбамід була використана при розробці нового морозостійкого деззасобу [5]. Він застосовується в зимовий пері-

од для знезараження обладнання, взуття персоналу, підготовки дезкилимків і дезбар'єрів тощо, або для обробки коліс транспортних засобів, які можуть бути джерелом чисельних мікробиотів [9]. Спроби використати в якості кріопротектора ДМСО призвели до послаблення бактерицидної активності препарату.

Визначення мінімальних бактерицидних концентрацій (МБК) для композицій солей ПГМГ з такими біологічно активними сполуками як ДСН, наноаквахелати Ag і Cu, наночастинки ZnO, стрептоміцин та тилозин, показало відсутність помітного адитивного ефекту чи, тим більше, синергізму дії.

Випробування на *B. cereus* підтвердили порівняно низьку спороцидну активність ПГМГхл. Разом із тим, збільшення часу експозиції дозволяє суттєво зменшити концентрацію препарату. Дослідження його дії на спори збудника американського гнильцю бджіл *P. larvae* виявили наступне: для гарантованого знешкодження спор гнильцю на скляній поверхні необхідна 3-годинна експозиція для 1 % розчину ПГМГхл і 9-годинна для розчину концентрації 0,5 %; на шпоні потрібно 3 години для 2 % і 9 год. для 0,5 %; на вошині – 3 год. для 2 % і 16 год. для 0,5 % [7].

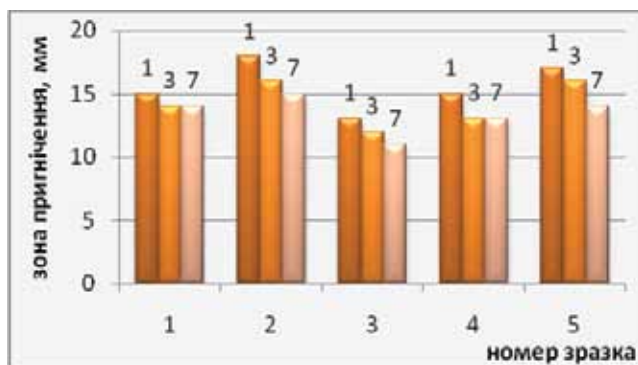
Випробування на *L. interrogans* показали, що ці бактерії є ще більш чутливими до солей ПГМГ, найкращі властивості тут також проявив ПГМГхл (МБК 0,05 - 0,1 % за тривалості експозиції 5 хв.) [8]. Чим пояснюється така висока їх чутливість до препарату? Зовнішня мембрана лептоспір відмінна від такої у інших бактерій, зокрема вона є досить рідкою. Виходячи з мембраноактивної теорії механізму дії ПГМГ, можна припустити, що адсорбція препарату на ЦПМ призводить до різкого зниження рухливості ліпідів, обмеження можливостей їх латеральної дифузії. Для лептоспір ці зміни є критичними, порушується основні властивості і функції клітинної мембрани.

Відносно стійки до дії ПАГів мікобактерії туберкульозу. Серед випробуваних нами солей ПГМГ найкращі результати знову таки показав ПГМГхл [4]. В концентраціях 0,5 і 1 % він за 24-годинної експозиції діє бактерицидно на тест-культури *M. bovis*, *M. avium* і *M. fortuitum*, проте, для досягнення надійного бактерицидного ефекту необхідні концентрації 1-5 % і час експозиції 24 год. При зменшенні концентрацій до 0,2-0,5 % або часу експозиції до 2-5 год. препарат діє бактеріостатично. Отримані показники можна вважати задовільними тому, що значна кількість штамів мікобактерій порівняно стійкі до високих концентрацій інших деззасобів, наприклад 3 % лужного розчину формальдегіду, 5 % хлорвмісних препаратів, або 1 % розчину глутарового альдегіду.

На відміну від інших мікроорганізмів мікобактерії туберкульозу характеризуються підвищеним вмістом ліпідів, при цьому більша їх частина (до 2/3 у *M. bovis*) зосереджена в клітинній стінці. Поверхнева мікрокапсула складається з полісахаридів, а воскоподібні сполуки оболонки переважно містять гліколіпіди, пептидоліпіди і глікопептидоліпіди. Все це суттєво послаблює мембранодеструктивну дію ПГМГ. З усіх досліджених нами композицій ПГМГхл з іншими сполуками лише суміш з лецитином, який, на нашу думку, сприяє кращій адсорбції препарату на воскоподібній оболонці мікобактерій, показала задовільні туберкулоцидні властивості.

Що стосується чутливості вірусів, то препарат ефективно знешкоджує в першу чергу оболонкові віруси. Була перевірена дія ПГМГ на герпесвіруси ринопневмонії коней (*E. herpesvirus*) і ринотрахеїту великої рогатої худоби (*R. infectiosa bovine*), а також вірус інфекційної анемії коней (*E. infectious anemia*). Вірусцидні концентрації ПГМГхл за експозиції 30 – 60 хв. знаходяться в межах 10^{-5} - 10^{-4} %.

Фунгіцидна дія ПГМГ зазвичай проявляється при більш високих концентраціях, ніж бактерицидна [1]. Перевірка чутливості до препарату пліснявих грибів роду *Aspergillus* показала, що ПГМГхл діє фунгіцидно в концентраціях 0,5 – 2,0 %, фунгістатично – 0,02 - 0,5 % [10]. Для підвищення активності на культурі *A. niger* були протестовані композиції ПГМГхл з клотримазолом, флуконазолом, стрептоміцином, тилозином, хлоргексидином, бензалконієм, декаметоксином, ДМСО, карбамідом, ДСН, лецитином, наноаквахелатами Ag і Cu, наночастинками ZnO. Проте, в жодному випадку суттєвого зростання фунгіцидного ефекту нам досягнути не вдалося. Окремі композиції показували деяке збільшення активності (в межах 10-20 %) порівняно з самим ПГМГхл, наприклад суміш ПГМГхл (1,0 %) з бензалконію хлоридом (0,5 %). Результати визначення протигрибкової дії сумішей наведено на рисунку.



Рисунк. Діаметр зони пригнічення (мм) росту грибка *A. niger* через 1, 3 і 7 діб для 1 % розчинів ПГМГ хлориду (зразок 1) та його сумішей з бензалконієм (2), флуконазолом (3), клотримазолом (4) і карбамідом (5)

Спроба створити шляхом комбінацій ПГМГ з іншими біоцидами універсальний деззасіб поки-що не принесла суттєвого результату. Хоча певне зростання активності препарату можливе при його комбінуванні з ЧАС (бензалконій) або альдегідами (глутаровим, діоксалеєвим). Оскільки за хімічною будовою ПГМГ є полімером, то його біоцидна активність забезпечується великою кількістю гуанідинових груп. Низькомолекулярні олігомери ($z \leq 5$ і М.м. < 800 Да) малоактивні. Вважається, що на відміну від низькомолекулярних сполук, типу хлоргексидину (бісбігуанідин) або інших традиційних деззасобів (хлорвмісні препарати, альдегіди, кислоти, луи, перекиси, четвертинні амонієві сполуки тощо), які втрачають свої біоцидні властивості при будь-якому хімічному перетворенні, антимікробний потенціал ПГМГ зберігається значно довше. Є припущення, що завдяки особливостям просторової будови полімерного ланцюга в хімічній реакції завжди бере участь лише частина гуанідинових груп, інші групи зберігають свої біоцидні властивості [1]. На нашу думку, це не зовсім так. Велика кількість активних іміногруп гуанідину забезпечує множинність зв'язування молекули полікатіону з негативно зарядженими групами фосфоліпідних голівок. Здатність ПГМГ утворювати міжмолекулярні комплекси одразу з кількома молекулами зовнішнього ліпідного шару ЦПМ забезпечує міцність адсорбції. А особливості просторової будови полімерного ланцюга і зміни його конформації викликають пертурбацію всього ліпідного бішару мембрани.

Бактерії, порівняно з евкаріотами, містять у складі ЦПМ, зокрема в зовнішньому її шарі, зазвичай більший відсоток аніонних (кислих) ліпідів типу фосфа-

тидолгліцеролу, фосфатидилсерину або кардіоліпіну [11]. Завдяки електростатичній взаємодії полегшується адсорбція ПГМГ на мембрані. Тому вважається, що мікроорганізми більш чутливі до дії катіонних біоцидів, в т.ч. ПГМГ [1]. Разом із тим, наші спостереження показують, що відсоткове співвідношення «кислих» і «нейтральних» фосфоліпідів в мембрані хоча і має певне значення, але не є принциповим. Полікатион ПГМГ добре адсорбується і на ЦПМ, де переважає порівняно «нейтральний» фосфатидилхолін. А серед фосфоліпідів оболонкових вірусів, щодо яких ПГМГ володіє особливо високою активністю, переважають порівняно «нейтральні» фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін і сфінгомієлін. Крім електростатичних взаємодій на процес адсорбції також впливає певна просторова «компліментарності» полікатиона з фосфоліпідними голівками в щільно упакованому ліпідному бішарі ЦМП. Ця компліментарність обумовлена розмірами мономеру ПГМГ, якщо змінювати довжину його алкільної ділянки в більший чи менший бік, то активність зазвичай падає [1, 12, 16]. Також вона залежить від жирнокислотного складу ліпідів і, відповідно, відстаней між сусідніми молекулами ліпідів. Наприклад, для фосфоліпідів ЦПМ мікроорганізмів, порівняно з евкаріотами, характерні тільки мононенасичені жирні кислоти, поліненасичені практично відсутні.

Суттєве значення для адсорбції ПГМГ на ЦПМ мають гідрофобні сили, прояв яких можливий лише у «водному» середовищі.

Чутливість мікроорганізмів до солей ПГМГ визначається не стільки наявністю в складі дезінфектанту інших антимікробних речовин, скільки присутністю сполук, які сприяють збільшенню доступності фосфоліпідів ЦПМ для дії полікатиону. Цю доступність можуть підсилити деякі поверхнево активні речовини (ПАР), в т.ч. й четвертинні амонієві сполуки (ЧАС). Тому ЧАС інколи включають до складу деззасобів, виготовлених на основі ПГМГ [1]. Проте застосування ЧАС обмежено в країнах ЄС через можливе провокування виникнення резистентних штамів. Комбінування з альдегідами також малоперспективне через значну алергенність останніх. А серед властивостей ПГМГ, що надають йому переваг, якраз і є практична відсутність алергенної дії. Стійкість мікроорганізмів до нього також практично не формується. Якщо в окремих випадках адаптація до суббактеріостатичних концентрацій ПГМГ і можлива, то не виникає перехресна резистентність [1, 14]. Зростання стійкості мікроорганізмів до ПГМГ супроводжується збільшенням чутливості до інших катіоноактивних препаратів.

Що стосується комбінування з ПАР, то його треба проводити обережно. З огляду на катіонну природу ПГМГ, навіть не всі аніоногенні або неіоногенні ПАР підходять для цього. А комбінації з миючими засобами (які зазвичай катіоногенні) взагалі суттєво знижують біоцидну активність препарату. Головне застереження – щоб при «комбінуванні» з іншими сполуками деззасоби на основі ПГМГ не втратили своїх основних переваг, серед яких низька токсичність, хімічна не агресивність та екобезпечність.

На нашу думку, ПГМГ можна і доцільно застосовувати самостійно, хіба що за винятком ситуацій, які потребують «тотальної дезінфекції» (в США в таких випадках найчастіше застосовують H_2O_2 , а в країнах ЄС – надоцтову кислоту), або коли патогенні об'єкти чітко не визначені. Однозначно можна стверджувати, що в порівняно низьких концентраціях (до 0,5-1,0 %) він має високу ефективність щодо більшості вірусів, бактерій та грибків [1, 13]. А при збільшенні часу експозиції до кількох годин концентрації ПГМГ можна знизити до 0,1-0,2 % [3].

Ще один шлях – модифікація базових препаратів, розробка таких їх форм,

які вибірково діють на той чи інший мікроорганізм або вузьку групу мікроорганізмів і, водночас, лишаються максимально безпечними для інших біологічних об'єктів. Як приклад може бути застосування в протигрибкових засобах солей ПГМГ з дегідрацетовою або лимонною кислотою, чи створений на основі ПА-Гів протитуберкульозний засіб «гембіцид», який в концентрації 0,5 % інактивує мікобактерії за 10-15 хв. [1].

Таким чином, фосфоліпіди ЦПМ бактерій та оболонки вірусів є головною «мішенню» для полікатиону ПГМГ. А руйнування ліпідного бішару лежить в основі біоцидної дії препарату. Диференційна чутливість мікроорганізмів до препаратів ПГМГ насамперед визначається не стільки складом, скільки загальною часткою фосфоліпідів в мембрані та їх доступністю, параметрами клітинної стінки. Так, білкові оболонки бактеріальних спор або воскоподібні оболонки мікобактерій суттєво зменшують біоцидну активність ПГМГ.

Чутливість бактерій до ПГМГ також може коливатися залежно від якісного складу фосфоліпідів їх ЦПМ. Теоретично, більший відсоток аніонних фосфоліпідів повинен полегшувати адсорбцію ПГМГ на мембрані та підвищувати біоцидний ефект. Але у даному випадку залежність не така однозначна. Наприклад, ЦМП грам-позитивних *B. subtilis* містить 70 % фосфатидилгліцеролу і 4 % кардіоліпіну, а *S. aureus* 57 % фосфатидилгліцеролу і 43 % кардіоліпіну [11]. Відповідно і МБК препарату для першої становлять 0,1 %, а для другої – 0,04 % [15]. Разом із тим, для грам-негативної *E. coli*, ЦМП якої містить до 50-80 % нейтрального фосфатидилетаноламіну (хоча він і зосереджений переважно на внутрішній поверхні ЦПМ), ці концентрації лежать в межах 0,005-0,05 % [15]. Мікроорганізми чутливі також до аніонного складу солей ПГМГ.

Комбінування ПГМГ з іншими біологічно активними сполуками показало, що зазвичай це не призводить до суттєвого зростання чутливості протестованих нами мікроорганізмів, МБК змінюються незначно. Композиція ПГМГхл з карбамідом показала задовільну біоцидну активність, що дозволило використати її в новому дезінфікуючому засобі, призначеному для застосування в холодну пору року. Отже, ПГМГ хлорид може застосовуватися самостійно як ефективний недорогий екологічно безпечний дезінфектант широкого спектру дії. Для знешкодження мікобактерій туберкульозу, грибків і деяких безоболонкових вірусів доцільно збільшувати час експозиції до кількох годин, а концентрацію препарату від 0,5 до 2 %.

**Лисица А.В., Мандыгра Ю.Н., Бойко О.П.,
Романишина О.А., Мандыгра Н.С.**

*Исследовательская станция эпизоотологии Института ветеринарной медицины НААН
ул. Князя Владимира 16/18, г. Ровно, 33028, Украина*

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ К ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИНУ

Р е з ю м е

Определены факторы, от которых зависит чувствительность микроорганизмов к полигексаметиленгуанидину (ПГМГ). Испытаны соли ПГМГ хлорид, валерат, малеат, сукцинат. В качестве объектов исследований были взяты штаммы *Esherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Leptospira interrogans*, *Paenibacillus larvae*, *Mycobacterium bovis*, *M. avium*, *M. fortuitum*, *Aspergillus niger* и некоторые оболочечные вирусы. Выявлено, что главной «мишенью» для молекул поликатиона

ПГМГ являются фосфолипиды цитоплазматической мембраны. Дифференциальная чувствительность микроорганизмов к препарату в первую очередь определяется относительным количеством липидов в мембране и доступностью их фосфатных групп. Наблюдаются следующие тенденции: увеличение относительного содержания кислых липидов и больший отрицательный поверхностный электрический потенциал мембраны, а так же уменьшение размеров жирнокислотных остатков липидов приводят к увеличению чувствительности микроорганизмов. Имеет большое значение тип аниона в солях ПГМГ, биоцидная активность ПГМГ хлорида в целом больше, чем у солей ПГМГ с органическими кислотами. Исследована и проанализирована целесообразность комбинирования ПГМГ с другими биоцидами в составе поликомпонентных дезинфицирующих средств. В большинстве случаев такое объединение не приводит к существенному росту чувствительности протестированных нами микроорганизмов. Большинство видов патогенным микробов может быть быстро обезврежено водными растворами ПГМГ в концентрациях менее 1 %.

К л ю ч е в ы е с л о в а: бактерии, грибки, вирусы, чувствительность, полигексаметиленгуанидин, дезинфектант, фосфолипиды.

***Lysytsya A.V., Mandygra Y.M., Bojko O.P.,
Romanishyna O.O., Mandygra M.S.***

*Research station of epizootology Institute of veterinary medicine of the NAAS
Knyaza Volodymyra Street 16/18, Rivne, Ukraine, 33028*

DIFFERENTIAL SENSITIVITY OF MICROORGANISMS TO POLYHEXAMETHYLENEGUANIDINE

S u m m a r y

Factors identified that affect the sensitivity of microorganisms to polyhexamethyleneguanidine (PHMG). Salts of PHMG chloride, valerate, maleate, succinate was to use. Test strains of *Esherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Leptospira interrogans*, *Paenibacillus larvae*, *Mycobacterium bovis*, *M. avium*, *M. fortuitum*, *Aspergillus niger* and some strains of viruses are taken as objects of research. We have determined that the cytoplasm membrane phospholipids is main “target” for the polycation molecules of PHMG. A differential sensitivity of the microorganisms to this drug is primarily determined by relative amount of lipids in membrane and their accessibility. Such trends exist: increase the relative contents of anionic lipids and more negative surface electric potential of membrane, and reduction of the sizes fat acid remainder of lipids bring to increase of microorganism sensitivity. Types of anion salt PHMG just have a certain value. Biocide activity of PHMG chloride is more, than its salts with organic acid. Feasibility of combining PHMG with other biocides in the multicomponent disinfectants studied and analyzed. This combination does not lead to a significant increase in the sensitivity of microorganisms tested in most cases. Most species of pathogenic bacteria can be quickly neutralized by aqueous solutions of PHMG in less than 1 % concentrations.

К e y w o r d s: bacteria, fungi, viruses, sensitivity, polyhexamethyleneguanidine, disinfectant, phospholipids.

1. *Воинцева И.И., Гембицкий П.А.* Полигуанидины - дезинфекционные средства и полифункциональные добавки в композиционные материалы. – М.: ЛКМ-пресс, 2009. – 304 с.

2. Визначення чутливості/стійкості мікроорганізмів до дезінфікуючих засобів: метод. рек. / Уклад.: Н.С. Морозова та ін. – К.: Знання України, 2008. – 12 с.
3. Грегірчак Н.М., Гуцалюк О.А. Дія деяких біоцидних препаратів на бактеріальну і грибну мікрофлору // Наук. праці Нац. ун-ту харчових технологій. – 2007. – № 20. – С. 22-25.
4. Лисиця А.В., Дяченко Г.М. Біоцидна дія похідних гуанідину на мікобактерії туберкульозу // Наук. вісник Волинського нац. ун-ту Л. Українки. – 2011. – № 9. – С. 57-61.
5. Лисиця А.В., Бойко О.П., Мандигра Ю.М. Екологічно безпечний дезінфектант полімерної будови для використання в зимовий період // Наук. вісник Волинського нац. ун-ту ім. Л. Українки. – 2012. – № 19. – С. 16-19.
6. Мандигра М.С., Лисиця А.В., Степаняк І.В. СОУ 85.2-37-325:2005. Препарати ветеринарні. Визначення хімічної сумісності інгредієнтів в розчинах методом мас-спектрометрії. – К.: Мінагрополітики України, 2006. – 14 с.
7. Маслій І.Г., Немкова С.М., Ступак Л.П., Десятникова О.В., Плескач К.М., Мандигра-Мельник Ю.М. Вплив дезінфектантів на спори збудника американського гнильцю *Raenibacillus larvae subsp. larvae* та бджіл // Наук.-тех. бюл. Інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – Львів. – 2009. – 10, № 4. – С. 80-85.
8. Романішишина О.О., Мандигра-Мельник Ю.М., Лисиця А.В., Мандигра М.С. Біоцидна дія полімерних похідних гуанідину на культуру лептоспір // Наук. вісник Нац. ун-ту біоресурсів і природокористування України. – 2010. – 151, Ч. 2. – С. 166-170.
9. Чуєнко А.І., Наконечна Л.Т., Жданова Н.М. Видовий склад грибів, виділених з уражених гумових шин та їх компонентів // Мікробіол. ж-л. – 2010. – 72, № 2. – С. 21-29.
10. Шевцова Г.М., Ярошенко М.О., Степаняк І.В., Лисиця А.В., Мандигра Ю.М. Вивчення фунгіцидних властивостей дезінфікуючого препарату «Епідез» на тест-культурах пліснявих грибів роду *Aspergillus* // Ветеринарна медицина. – Харків, 2008. – 91. – С. 508-511.
11. Gabriel G., Som A., Madkour A., Eren T., Tew G. Infectious disease: connecting innate immunity to biocidal polymers // Mater Sci Eng R Rep. – 2007. – 57, № 8. – P. 28–64.
12. Gilbert P., Moore L. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet // J Appl Microbiol. – 2005. – 99. – P. 703-715.
13. Kratzer C., Tobudic S., Assadian O., Buxbaum A., Graninger W., Georgopoulos A. Validation of Akacid plus as a room disinfectant in the hospital setting // Appl and Environ Microbiol. – 2006. – 72, № 6. – P. 3826–3831.
14. Moore L.E., Ledder R.G., Gilbert P., McBain A.J. In vitro study of the effect of cationic biocides on bacterial population dynamics and susceptibility // Appl and Environ Microbiol. – 2008. – 74, № 15. – P. 4825–4834.
15. Oule M.K., Azinwi R., Bernier A.-M., Kablan T., Maupertuis A.-M., Mauler S., Nevry R.K., Dembele K., Forbes L., Diop L. Polyhexamethylene guanidine hydrochloride-based disinfectant: a novel tool to fight methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and nosocomial infections // Journal of medical microbiology. – 2008. – 57. – P. 1523-1528.
16. Zhou Z., Zheng A., Zhong J. Interactions of biocidal guanidine hydrochloride polymer analogs with model membranes: a comparative biophysical study // Acta Biochimica et Biophysica Sinica. – 2011. – 43, № 9. – P. 729-737.

Отримано 18.05.2014