

УДК 619.22.28:614.48:615.9:636.065

**Коваленко В.Л.**, к.вет.н., с.н.с., **Чехун А.І.**, н. с.,  
**Ярохно Я.М.**, лікар ветмедицини, (yarokhno@ukr.net)  
**Гнатенко А.В.**, аспірант, (alenagnatenko@ukr.net)  
Інститут ветеринарної медицини НААН України, м. Київ  
**Савченко Л.Г.** ©  
ТОВ БНВП «РІВС» (м. Київ)

## ВПЛИВ ДЕЗІНФЕКТАНТУ НА ОСНОВІ ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИН ГІДРОХЛОРИДУ НА ОРГАНІЗМ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН

*Визначено гостру токсичність, кумулюючу, сенсibiliзуючу, подразнюючу, шкірно-резорбтивну дію дезінфікуючого препарату на основі полігексаметилентетрамінгуанідину гідрохлориду на організм лабораторних тварин. Встановлено, що досліджуваний препарат згідно санітарно-гігієнічних норм відноситься до 3 групи токсичності, в концентраціях, які значно перевищують бактерицидні, не має вираженої кумулюючої, сенсibiliзуючої, шкірно-резорбтивної дії.*

**Ключові слова:** полігексаметиленгуанідин гідрохлорид, токсичність, лабораторні тварини.

**Вступ.** Обираючи препарати для дезінфекції об'єктів тваринництва, необхідно звертати увагу не тільки на їх антимікробну дію, а також можливу токсичність для тварин [1, 2]. На сучасному етапі проводиться удосконалення розробки та впровадження дезінфікуючих засобів з діючою речовиною полігексаметиленгуанідин гідрохлорид (ПГМГ-ГХ). За хімічними характеристиками ПГМГ-ГХ – це лінійний або розгалужений полімер, за фізичними – прозора склоподібна маса, добре розчинна у воді, за санітарно-гігієнічними – дезінфікуюча речовина, ефективний фунгіцид та антисептик щодо грампозитивної та грамнегативної мікрофлори. Дія діючої речовини ПГМГ-ГХ основана на коагуляції білка мікробної клітини [3, 4]. За результатами наших попередніх досліджень [5] були визначені бактерицидні концентрації препарату на основі ПГМГ-ГХ щодо грампозитивної мікрофлори – 0,0075%, та щодо грамнегативної – 0,05%.

**Метою досліджень** було визначення гострої токсичності та встановлення шкідливої дії препарату з діючою речовиною ПГМГ-ГХ на організм тварин.

**Матеріали і методи.** Дослідження проводили згідно чинних методик [6]. Для дослідів відбирали клінічно здорових білих мишей з вагою тіла 18–20 г, за якими на протязі 6 діб проводили спостереження, виключали слабких мишей.

Перед визначенням гострої токсичності (LD<sub>50</sub>) попередньо визначали LD<sub>100</sub> та LD<sub>0</sub>. Для цього визначали мінімальну концентрацію препарату за якої наступала загибель всіх дослідних тварин, та максимальну концентрацію, за якої всі

залишались живі. Дози препаратів для наступного етапу брали так, щоб нижча доза не викликала загибелі мишей, вища викликала б 100% загибель та між ними було не менше 4-х проміжних доз, що викликали загибель більше або менше 50% мишей. Для визначення гострої токсичності препарату ми підібрали 7 дослідних та одну контрольну групи білих мишей, масою 18–20 г, по 7 голів в кожній групі. Розчин дезінфектанту вводили безпосередньо в шлунок 0,5 мл. По концентрації досліджуваного препарату та введеного об'єму розраховували кількість введеної діючої речовини на 1 кг ж. м. Обрахунки проводили за методом Кербера. Дослід тривав 15 діб. Протягом досліду спостерігали за поведінкою тварин, фіксували кількість загиблих в кожній групі. Проводили патолого-анатомічний розтин загиблих мишей.

З метою вивчення кумулятивної дії препарату на основі ПГМГ-ГХ сформували дослідну та контрольну групи мишей по 7 голів в кожній групі, живою масою 18–20 г. Контрольній групі тварин щодня згодовували з молоком досліджуваний препарат з розрахунку 1/5 від ЛД<sub>50</sub>, дослідній – досліджуваний препарат в тій же дозі, протягом 60 днів.

Подразнюючу дію ПГМГ-ГХ вивчали на шкірі мурчаків, у яких за день до досліду вистригали шерсть в ділянці спини з обох боків. Було сформовано три дослідних і одну контрольну групи мурчаків по 5 голів у кожній групі. Двічі на день на вистрижену поверхню рівномірно наносили розчини у 1 і 3 % концентраціях. Тваринам контрольної групи на вистрижену поверхню наносили воду. Дослідження продовжувались протягом 30 днів.

Дослідження сенсibiliзуючих властивостей проводили на мурчаках масою тіла 340–380 г. В дослідній і контрольній групах було по 5 тварин. Попередньо проводили підбір сенсibiliзуючої та тестуючої концентрацій речовини на 3 мурчаках. На шкіру тварин наносили речовину у нативному вигляді 25%, 10% водних розчинів по 0,2 мл у продовж 10 днів. Для сенсibiliзації організму речовину вводили внутрішньошкірно одноразово в зовнішню поверхню вуха тваринам дослідної групи – по 200 мкг в 0,02 мл, контрольним тваринам – 0,02 мл дистильованої води. Починаючи з 12 дня піддослідним тваринам упродовж 7 днів на вистрижені ділянки шкіри наносили речовину по 0,02 мл у вигляді 25% водного розчину, контрольним – таку ж кількість дистильованої води. Тестування тварин проводили на 10 та 20 день експерименту при нанесенні 0,2 мл речовини у нативному вигляді на інтактні ділянки шкіри піддослідних та контрольних тварин. Після нанесення тестувальної концентрації речовини на шкіру спостереження за тваринами проводили через 24 та 48 годин. Реакцію шкіри оцінювали візуально за 5-ти бальною уніфікованою шкалою.

Шкірно-резорбтивну дію досліджуваного засобу вивчали на білих мишах масою 18–20 г, шкіра яких не мала видимих ознак патології. Протягом 15 днів по дві години на добу хвосту дослідних мишей (п'ять голів) занурювали в пробірки з 1 % та 3 % розчинами препарату на 2 год. Хвосту контрольних тварин поміщали в пробірки з водою.

Після введення в шлунок 0,5 мл рекомендованого робочого розчину досліджуваного препарату 0,05–0,1 % (що в 10 разів перевищує бактерицидне

розведення) проводили забій мишей (10 голів) з метою патолого-анатомічної діагностики та взяття і дослідження проб крові.

**Результати дослідження.** За результатами попереднього дослідження нами визначені  $LD_{100}=2200$  мг/кг,  $LD_0=556$  мг/кг. Після розрахунків доз препарату на 1кг живої маси дослідних тварин мишам першої групи вводили препарат в шлунково-кишковий тракт із розрахунку 556 мг/кг ж. м.; другої – 776 мг/кг; третьої – 1112 мг/кг; четвертої – 1444 мг/кг; п'ятої – 1668 мг/кг; шостої – 1888 мг/кг; сьомої – 2200 мг/кг. Мишам контрольної групи вводили по 0,5 см<sup>3</sup> води. На протязі цього часу в першій дослідній і контрольній групі всі тварини залишились живими. Загибель тварин інших груп основному спостерігалась з 1 по 10-й день спостережень. Результати обчислення  $LD_{50}$  наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

### Визначення $LD_{50}$ для препарату на основі ПГМГ-ГХ за методом Кербера

$LD_0=556$  мг/кг ж. м.,  $LD_{100}=2200$  мг/кг ж. м.

|                               |     |     |      |      |      |      |      |
|-------------------------------|-----|-----|------|------|------|------|------|
| Досліджуваний деззасіб, мг/кг | 556 | 776 | 1112 | 1444 | 1668 | 1888 | 2200 |
| Вижило тварин, n              | 7   | 6   | 5    | 4    | 3    | 1    | 0    |
| Загинуло, n                   | 0   | 1   | 2    | 3    | 4    | 6    | 7    |
| Z                             | 0,5 | 1,5 | 2,5  | 3,5  | 5    | 6,5  |      |
| D                             | 220 | 336 | 332  | 224  | 220  | 312  |      |
| Z*D                           | 110 | 504 | 830  | 784  | 1100 | 2028 |      |

Де: Z – половина суми числа тварин, які загинули в дослідних з використанням двох останніх доз;

D – різниця числового значення двох доз, які стоять поруч;

$$LD_{50}=2200-((110+504+830+784+1100+2028)/7)=1434 \text{ мг/кг ж. м.}$$

При розтині загиблих мишей (при введенні дози  $LD_{100}$ ) спостерігались зміни в кишково-шлунковому тракті, а саме почервоніння та відшарування слизової оболонки шлунку і тонкого кишечника, печінка збільшена, в черевній і грудній порожнині – піниста рідина.

Згідно санітарно-гігієнічних норм ГОСТ 12.1.007-76 за класом даний препарат при введенні в шлунок відноситься до 3 класу небезпечності.

Під час спостереження за дослідними і контрольними тваринами при вивченні кумулятивної дії препарату не було виявлено відхилень в поведінці і фізіологічних функціях піддослідних тварин. Жодна тварина не загинула. Після закінчення дослідження і розтину забитих мишей макроскопічних змін у внутрішніх органах не встановлено. При вивченні подразнюючої дії за дослідний період (30 днів) при нанесенні 1 і 3 % розчинів дезінфектанту не виявляли будь-яких видимих змін як на поверхні шкіри, так і щодо фізіологічних функцій піддослідних тварин.

При дослідженні сенсibiliзуючих властивостей встановлено що при нанесенні на шкіру тварин речовини у всіх досліджуваних концентраціях подразнюючої дії не проявляли. Після внутрішньошкірного введення у вуха мурчаків у місці введення змін шкіри не спостерігалось. Аплікації речовин у сенсibiliзуючій концентрації упродовж 7 діб не чинили подразнюючої дії на

шкіру мурчаків. Упродовж усього досліджу шкіра була чистою, звичайного кольору. Через 24–48 годин після першого та другого тестування у піддослідних і контрольних тварин реакція шкіри на дію антигену становила 0 балів. Під час проведення досліджень з визначення шкірно-резорбтивної дії деззасобу і після їх закінчення не було виявлено ознак токсичної дії 1 та 3 % розчинів на мишах.

Слід зауважити, що в рекомендованій робочій концентрації – 0,05–0,1 % препарат, введений перорально в дозі 0,5 см<sup>3</sup>, не спричинив видимих патолого-анатомічних змін при розтині забитих мишей. Результати дослідження крові забитих мишей подані в таблиці 2.

Таблиця 2

**Морфологічні показники крові мишей після обробки робочими розчинами ПГМГ-ГХ, M±m, (n=10)**

| Показники       | Контроль  | До обробки | 3 год після обробки | Через 7 діб після обробки | Через 14 діб після обробки |
|-----------------|-----------|------------|---------------------|---------------------------|----------------------------|
| Гемоглобін, г/л | 105,0±2,0 | 95,0±4,0   | 109,0±3,7**         | 97,3±3,2                  | 102,2±4,1**                |
| Еритроцити, Т/л | 9,3±0,10  | 9,5±0,21   | 8,5±0,32**          | 9,5±0,11                  | 9,1±0,14**                 |
| Лейкоцити, Г/л  | 10,2±0,23 | 11,1±0,17  | 13,7±0,27**         | 12,3±0,3                  | 11,0±0,3**                 |
| Лейкограма, %:  |           |            |                     |                           |                            |
| базофіли        | 0         | 1,0±0,1    | 2,0±0,3             | 0                         | 0                          |
| еозинофіли      | 2,0±0,1   | 1,0±0,1    | 3,0±0,2             | 2,0±0,1                   | 1,0±0,1                    |
| нейтрофіли:     |           |            |                     |                           |                            |
| мієлоцити       | -         | -          | -                   | -                         | -                          |
| юні             | -         | -          | -                   | -                         | -                          |
| паличкоядерні   | 4,0±0,3   | 3,0±0,2    | 4,0±0,3             | 3,0±0,1                   | 3,0±0,2                    |
| сегментоядерні  | 28,0±1,2  | 30,0±1,1   | 29,0±1,6            | 28,0±1,2                  | 28,0±1,2                   |
| лімфоцити       | 67,0±1,5  | 70,0±0,8   | 73,0±0,3            | 66,0±1,1                  | 65,0±0,7                   |
| моноцити        | 1,0±0,1   | 2,0±0,3    | 3,0±0,2             | 2,0±0,1                   | 2,0±0,1                    |

Примітка: \* -  $P < 0,05$ , \*\* -  $P < 0,01$  у порівнянні з контролем

Результати таблиці свідчать про зміни через 3 години після проведення дезінфекції показників крові у мишей. Так, порівняно з вихідними даними, вірогідно збільшувалися показники: лейкоцитів; базофілів; еозинофілів; лімфоцитів; також було збільшення моноцитів; незначне збільшення вмісту гемоглобіну та незначне зменшення еритроцитів. Кількість паличко- і сегментоядерних нейтрофілів знаходились в межах норми. У контрольних мишей за час досліджу активність нейтрофілів та в лейкоцитарній формулі крові дослідних тварин значних змін не виявляли. Проявився короточасний медикаментозний лейкоцитоз який виник після зовнішньої обробки тварин. Також ми спостерігали еозинофілію при захворюванні, яке перебігає з явищами алергії. Проте прогностичне значення еозинофілії необхідно оцінювати в комплексі з іншими клінічними ознаками та змінами крові. Лімфоцитоз був короткотерміновим, супроводжувався збільшенням кількості еозинофілів, моноцитів, незначним

зменшенням нейтрофілів без суттєвих змін рівня гемоглобіну та еритроцитів, що свідчить про швидке відновлення організму.

**Висновки.** 1. Досліджуваний препарат має високу бактерицидність яка настає за концентрації 0,0075 %, та низьку токсичність  $LD_{50}=1434$  мг/кг ж. м.

2. Препарати в рекомендованих робочих концентраціях, які в 10 разів вищі за бактерицидні, не токсичні для тварин, при забої і патологоанатомічному розтині яких не виявлені видимі зміни, при дослідженні крові морфологічні показники достовірно не змінювались.

3. Препарат не володіє кумулятивною, сенсibiliзуючою, подразнюючою чи шкірно-резорбтивною дією за концентрацій 1–3 %, що в 100 і більше разів перевищують бактерицидне розведення.

#### Література

1. Ветеринарна дезінфекція (інструкція та методичні рекомендації) / за ред. О. М. Якубчак. – К.: «Компанія Біопром», 2010. – 152 с.

2. Кирпиченко В. А. Справочник по ветеринарной дезинфекции / Кирпиченко В. А., Ятусевич А. И., Горидовец В. У. – Минск: Урожай. 1991. – 151 с.

3. Дезінфекція. В 3-х частинах. Ч 1. Дезінфікуючі засоби та їх застосування / А. М. Зарицький Житомир: ПП «Рута», 2001. – 384 с.

4. Николаенко В. П. Аэрозольная дезинфекция Пербаксаном в присутствии птицы / В. П. Николаенко, А. П. Цапко // Птицеводство. – 2008. – № 8. – С. 43–44.

5. Коваленко В.Л. Визначення бактерицидності комплексного дезінфікуючого препарату на основі полігексаметиленгуанідин гідрохлориду / В.Л. Коваленко, 5. А.І. Чехун, Я.М. Ярошно, та ін. // Ветеринарна біотехнологія. – Київ, 2011. – № 18. – С. 65–70.

6. Рекомендації щодо санітарно-мікробіологічного дослідження змивів з поверхонь тест-об'єктів та об'єктів ветеринарного нагляду і контролю / методичні рекомендації / О.М. Якубчак, В.І.Хоменко, В.Л. Коваленко та ін. – Київ, 2005. – 18 с.

#### Summary

**Kovalenko V.L., Chekhun A.I., Yarokhno Y.M., Gnatenko A.V., Savchenko L.G.**  
**THE INFLUENCE OF DISINFECTANT WITH**  
**POLYHEXAMETHYLENGUANIDINE HIDROCHLORIDE ON THE**  
**ORGANISM OF LAB ANIMALS**

*There were studied toxicology, allergic, irritable, skin-resorbitive properties of disinfection preparation on the Polyhexamethylenguanidine hydrochloride on the organism of lab animals. Determined that preparation, had been studied, be included in the 3-rd toxic group, accordingly to hygienic requirements, doesn't have visible allergic, irritable, skin-resorbitive action.*

**Key words:** Polyhexamethylenguanidine hydrochloride, toxicology, lab animals.

Рецензент - д.вет.н., проф. Демчук М.В.