

КАБІНЕТ МІНІСТРІВ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

**ГНАТЕНКО АЛЬОНА ВАСИЛІВНА**

УДК 619:614.48:544.142.3

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ  
ДЕЗИНФІКУЮЧОГО ЗАСОБУ НА ОСНОВІ  
ПОЛГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИНУ ГІДРОХЛОРИДУ ТА  
НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ У СИСТЕМІ ВЕТЕРИНАРНО-САНІТАРНИХ  
ЗАХОДІВ**

16.00.06 – гігієна тварин та ветеринарна санітарія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата ветеринарних наук

Київ – 2015

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Інституті ветеринарної медицини Національної академії аграрних наук України

**Науковий керівник** доктор ветеринарних наук, старший науковий співробітник **Коваленко Вячеслав Леонідович**, ННЦ “Інститут бджільництва ім. П. І. Прокоповича”, завідуючий відділом музейної роботи

**Офіційні опоненти:** доктор ветеринарних наук, професор **Лясота Василь Петрович**, Білоцерківський національний аграрний університет, професор кафедри гігієни тварин і основ санітарії

доктор ветеринарних наук, старший науковий співробітник **Кухтин Микола Дмитрович**, Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, професор кафедри харчової біотехнології і хімії

Захист відбудеться “27” лютого 2015 р. о 14 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 26.004.12 у Національному університеті біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ – 41, вул. Полковника Потехіна, 16, навчальний корпус № 12, конференц-зал

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного університету біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ – 41, вул. Героїв Оборони, 13, навчальний корпус № 4, кімната 41 а

Автореферат розісланий “26” січня 2015 р.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради

Л. В. Шевченко

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Технологічний процес утримання продуктивних тварин в Україні недостатньо забезпечений ефективними засобами попередження хвороб інфекційної етіології, обумовлених умовно-патогенною мікрофлорою. Це вимагає розробки нових, ефективніших методів і засобів забезпечення стабільного ветеринарного благополуччя тваринництва й охорони здоров'я населення.

У системі ветеринарно-санітарних заходів на тваринницьких об'єктах провідне місце займає дезінфекція, основне призначення якої полягає у розірванні епізоотичного ланцюга поширення хвороб від джерела інфекції до чутливого організму. Провідну роль у цьому відіграє проведення дезінфекційних заходів, які повинні бути ефективними у біологічному, екологічному, та в економічному відношенні. Проблемам впровадження й удосконалення цих заходів присвятили свої праці Литвина В.П. та ін. (2002), Якубчак О.М. та ін. (2005), Яценка М.Ф. та ін. (2006), Коваленка В.Л. та ін. (2012).

В сучасних умовах ведення тваринництва доступні до використання як вітчизняні, так і зарубіжні дезінфікуючі засоби, які поряд з високою бактерицидною активністю є досить дорогими, екологічно небезпечними, здатні призводити до корозії металевих поверхонь та мають незначний спектр дії відносно різних видів мікроорганізмів. Крім того, більшість цих засобів мають ще й інші недоліки, зокрема високу токсичність.

Саме тому актуальним науковим завданням є розробка нових рецептур дезінфікуючих засобів, введення до їхнього складу нових діючих речовин, які поряд з широким бактерицидним спектром дії, спрощенням умов застосування, економічною доцільністю повинні відповідати вимогам екологічної безпеки щодо впливу на навколишнє середовище.

Серед сучасних засобів для дезінфекційної обробки перспективним напрямом є використання досягнень галузі нанотехнологій, зокрема розробка нових матеріалів із заданими властивостями, що будуть застосовуватися як альтернатива небезпечним хімічним дезінфектантам (Засекін Д.А. та ін., 2009; Лопатько К.Г. та ін., 2010; Коваленко В.Л. та ін., 2012).

Тому розробка дезінфектантів на основі нанотехнологій, де наночастинки металів володіють широким спектром дії (бактерицидною, противірусною та протигрибковою діями), високою біологічною активністю та низькою токсичністю, є альтернативою традиційним дезінфікуючим й антибактеріальним засобам.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є складовою частиною досліджень, передбачених тематичними планами Інституту ветеринарної медицини Національної академії аграрних наук України: "Дослідити механізми та закономірності комплексної дії четвертинних амонійних, хлормістких сполук, альдегідів з синтетичними піретроїдами на особливо небезпечних збудників інфекційних хвороб тварин, обґрунтувати методологію створення дезінфікуючих засобів нового покоління (номер державної реєстрації 0108U006224, 2006–2010 рр.); "Вивчити механізми та закономірності взаємодії наночастинок металів з субстанціями дезінфікуючих засобів, обґрунтувати концепцію підвищення їх ефективності та безпечності" (номер державної реєстрації 0111U000460, 2011–2013 рр.); "Дослідити закономірності застосування

бактерицидних та імуномодуючих препаратів на основі наночастинок металів для підвищення природної резистентності та профілактики інфекційних хвороб тварин” (номер державної реєстрації 0114U000065, 2013–2015 рр.).

**Мета і задачі дослідження.** Мета роботи – експериментальне обґрунтування застосування дезінфікуючого засобу на основі полігексаметиленгуанідину гідрохлориду та наночастинок металів у системі ветеринарно-санітарних заходів.

Поставлена мета досягалася вирішенням наступних задач:

- провести аналіз дезінфікуючих препаратів в Україні;
- розробити новий бактерицидний препарат на основі полігексаметиленгуанідину гідрохлориду та колоїдних розчинів наночастинок Аргентуму й Купруму;
- дослідити ефективність застосування отриманого бактерицидного препарату;
- дослідити токсикологічні та клініко-гематологічні показники периферичної крові лабораторних тварин за впливу різних концентрацій створеного бактерицидного препарату;
- провести цитотоксичну оцінку створеного препарату на культурах клітин тваринного походження та визначити безпечні концентрації за показниками активності культури інфузорій *Tetrahymena pyriformis*;
- розробити схеми аерозольної дезінфекції в системі профілактичних ветеринарно-санітарних заходів із використанням створеного препарату;
- провести виробничу перевірку та розрахувати економічну ефективність бактерицидного препарату ”Аргіцид” у разі проведення дезінфекції в тваринницьких приміщеннях;
- на основі одержаних експериментальних даних розробити нормативну документацію на створений препарат.

**Об’єкт дослідження** – розробка та ефективність застосування дезінфікуючого препарату ”Аргіцид” для дезінфекції тваринницьких приміщень.

**Предмет дослідження** – продуктивні та лабораторні тварини, визначення стабільності, нешкідливості, бактерицидних, віруліцидних і фунгіцидних властивостей препарату ”Аргіцид”.

**Методи дослідження** – клінічні (загальний стан тварин), гематологічні, патоморфологічні, токсикологічні (ступінь токсичності та нешкідливості препарату), вірусологічні (дія на штам ЛК-М вакцинного вірусу КЧС та на штам Ла Сота вірусу хвороби Ньюкасла), мікологічні (чутливість мікроміцетів родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* до препарату), бактеріологічні (дія на тест-культури *S. aureus*, *E. coli*, *M. fortuitum*, лептоспіри), зоогігієнічні (параметри мікроклімату приміщень), фізико-хімічні, статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше в основу створення дезінфікуючого препарату покладено використання наночастинок металів у поєднанні з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом для підвищення ефективності та забезпечення пролонгованості його дії. Розроблено бактерицидний препарат ”Аргіцид” на основі колоїдних розчинів Аргентуму й Купруму у формі наночастинок, одержаних у процесі об’ємного електроіскрового диспергування струмопровідних матеріалів у деіонізованій воді, та полігексаметиленгуанідину гідрохлориду. Встановлено бактерицидну активність відносно грампозитивних та

грамнегативних мікроорганізмів та визначено ефективні віруліцидні та фунгіцидні концентрації препарату.

Розроблено безпечні режими застосування препарату з метою якісної дезінфекції тваринницьких приміщень із використанням альтернативних методів оцінки ступеня цитотоксичності на культурах клітин тваринного походження та з застосуванням показників активності культури інфузорій *Tetrahymena pyriformis*. Новизна та актуальність розробки підтверджена патентами: № 76059, № 89001.

**Практичне значення одержаних результатів.** Цінність роботи полягає у впровадженні у практику ветеринарної медицини експериментальної технологічної розробки, яка полягає у виробництві, застосуванні в системі проведення профілактичних заходів і у можливості використання бактерицидного препарату "Аргіцид" (ТУ У 24.2.05510830.003-2012) з метою дезінфекції об'єктів, які підлягають ветеринарно-санітарному контролю.

Одержані результати з визначення бактерицидної ефективності дії дезінфектантів використані в методичних рекомендаціях "Методи визначення ефективності та якості дезінфікуючих засобів щодо спор *Bacillus anthracis*". Результати досліджень щодо можливості широкого застосування дезінфектанту на виробництві з профілактичною метою та для проведення вимушеної дезінфекції тваринницьких, птахівничих, м'ясо- та молокопереробних підприємств увійшли в "Методичні рекомендації щодо застосування препарату бактерицидного "Аргіцид" з використанням аерозольних генераторів *Hurricane* та *Smart Fog* для проведення профілактичної, поточної, завершальної та вимушеної дезінфекції на об'єктах ветеринарного нагляду і контролю", що розглянуті та затверджені науково-технічною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України (протокол № 1 від 24.12.2012 р.).

Ці результати досліджень впроваджені в наукову, методичну та практичну роботу факультету ветеринарної медицини Харківської державної зооветеринарної академії, використовуються у відділах Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів та у Національному науковому центрі "Інститут бджільництва ім. П.І. Прокоповича".

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем особисто здійснено аналіз літератури за темою дисертаційної роботи, спільно з керівником розроблено програму досліджень, самостійно проведено аналіз і узагальнення матеріалу, виконано експериментальну, статистичну обробку отриманих результатів.

Розробку бактерицидного препарату "Аргіцид" і метод його отримання проведено у співпраці із завідувачем кафедри технології конструкційних матеріалів і матеріалознавства НУБіП, к.тех.н. Лопатьком К.Г.; дослідження із вивчення віруліцидних властивостей і цитотоксичної дії проведено з науковим співробітником ІВМ НААН, к.вет.н. В.І. Білоконем; дослідження щодо ефективності препарату відносно спороутворюючих аеробів роду *Bacillus* відбувалося під керівництвом завідувачої лабораторії з вивчення сибірки к.вет.н. У.М. Яненко; дослідження щодо ефективності препарату відносно мікобактерій проведено у співпраці зі співробітником відділу з вивчення туберкульозу та бруцельозу ННЦ ІЕКВМ, м. Харків, д.вет.н. А.П. Палійом. Автор висловлює глибоку вдячність науковцям, із якими проводилися спільні дослідження.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертації доповідалися й обговорювалися упродовж 2009–2014 рр. на засіданнях Вченої ради ІВМ НААН, на науково-практичній конференції ”Сучасний стан та проблеми інфекційної захворюваності в Україні“, Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського (Київ, 2012 р.) та на міжнародних конференціях: науково-практичній конференції ”Основные направления развития ветеринарной науки“, присвяченій 90-річчю РУП ”Інститут експериментальної ветеринарії ім. С.Н. Вишелеського“ (Мінськ, 2013 р.), 17-й щорічній конференції Європейської асоціації біологічної безпеки (Гент, Бельгія, 2014 р.).

**Публікації.** За результатами досліджень опубліковано 21 наукову працю, у тому числі 1 монографію, 8 статей (із них 2 одноосібних) у фахових наукових виданнях, рекомендованих МОН України, 2 статті в інших виданнях; 5 тез доповідей на науково-практичних конференціях. Окремі положення дисертації реалізовано в 1 нормативному документі (ТУ України), 2 методичних рекомендаціях та 2 патентах на корисну модель.

**Структура і обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 177 сторінках комп’ютерного тексту, з них основного тексту – 128 сторінок. Робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків і пропозицій виробництву, списку використаних джерел, який складається з 251 найменувань, у тому числі 55 – латиницею, а також 8 додатків. Дисертаційна робота містить 31 таблицю і 17 рисунків.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

### **Матеріали та методи досліджень**

Дослідження проводилися протягом 2009–2013 рр. У дослідах використано 220 лабораторних тварин (білі миші, мурчаки) та 60 свиней. Науково-виробничі досліди та апробація препарату були проведені у тваринницьких господарствах Київської області: СВК ім. Щорса, ТОВ ”Фастівка“, ТОВ ”Агрофірма Нива“, ПАТ ”Городище-Пустоварівський бурякорадгосп“, із використанням клінічних, біохімічних, патоморфологічних та імунологічних методів. Схему досліджень представлено на рис. 1.

Об’єктом досліджень виступав бактерицидний препарат ”Аргіцид“, діючими речовинами якого є полігексаметиленгуанідину гідрохлорид та наночастинки Аргентуму й Купруму. Препарат розроблено в лабораторії гігієни і санітарії ІВМ НААН у співпраці з кафедрами санітарії та гігієни переробних підприємств АПК та технології конструкційних матеріалів і матеріалознавства НУБіП України.

Для визначення ступеня бактерицидності дезінфікуючого засобу використано штами тест-культур *E. coli* шт. 1257, *S. aureus* шт. 209-Р, відносно спороутворюючих аеробів роду *Bacillus* проведено з використанням штаму *Bac. anthracis* UA-07 у вегетативній та споровій формі й антракоїдів за методикою, описаною в ”Рекомендаціях щодо санітарно-мікробіологічного дослідження змивів з поверхонь тест-об’єктів та об’єктів ветеринарного нагляду і контролю“, затверджених Міністерством АПК 23.12.2004 р. Для визначення чутливості препарату ”Аргіцид“ до 8 культур штамів лептоспір була використана методика послідовних розведень.

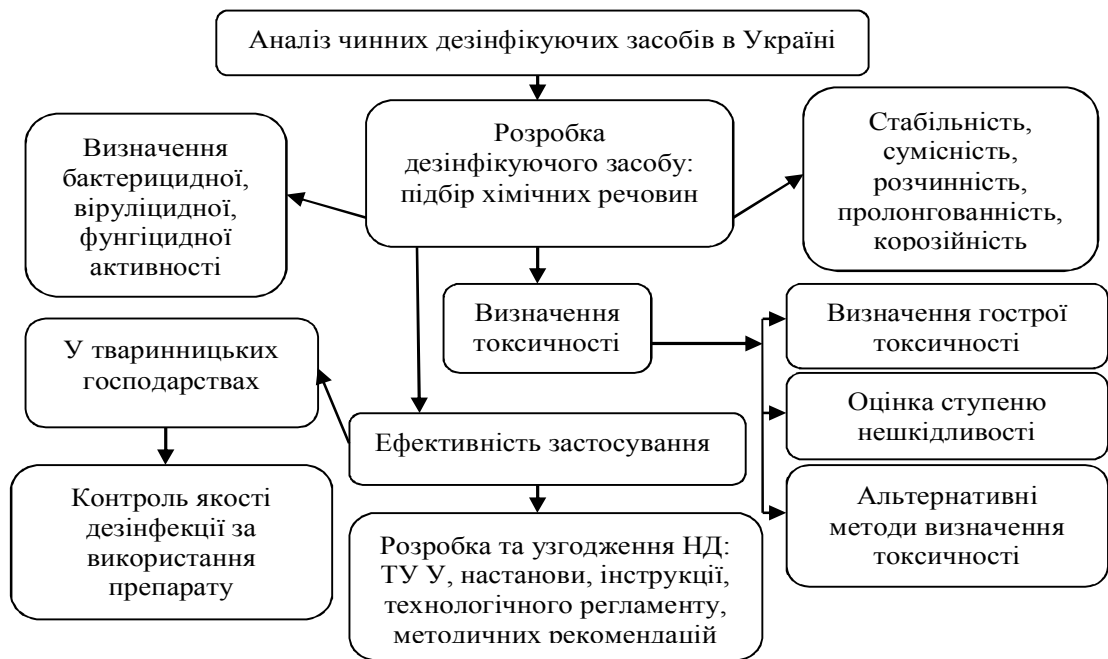


Рис. 1. Загальна схема проведених наукових досліджень

Для визначення ефективності щодо мікобактерій туберкульозу використано методичні рекомендації "Визначення бактерицидних властивостей дезінфікуючих засобів, проведення дезінфекції та контроль її якості при туберкульозі сільськогосподарських тварин", затверджених науково-технічною радою Державного комітету ветеринарної медицини України 20.12.2007 р.

Фунгіцидну дію препарату та чутливість мікроміцетів родів *Aspergillus*, *Penicillium* і *Fusarium* визначено суспензійним методом та методом паперових дисків згідно з методичними рекомендаціями "Методи контролю ефективності дії дезінфектантів на мікроміцети", затвердженими науково-методичною радою Державного комітету ветеринарної медицини 23.12.2009 р.

Віруліцидну дію препарату вивчено суспензійним методом та методом знезараження поверхонь тест-об'єктів (інкубаційних яєць), попередньо інфікованих вірусами вакцинного штаму Ла-Сота хвороби Ньюкасла згідно з чинними методиками І.І. Бойка та ін. (2005 р.). Для визначення ступеня впливу вказаного препарату на інфекційну активність вірусу класичної чуми свиней (КЧС) застосовано методику проведення імунопероксидазного дослідження з використанням культури клітин SK-6 (за методикою М.П. Ситюка та ін., 2014 р.).

Доклінічні дослідження створеного бактерицидного препарату виконано в Інституті ветеринарної медицини НААН. Підбір тварин для дослідження здійснювався згідно із загальноприйнятими методами (Коцюмбас І.Я. та ін., 2006 р.). Усі втручання та забій тварин проведено з дотриманням вимог "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей" (Страсбург, 1985 р.), "Положення про захист хребетних тварин, яких використовують в наукових експериментах" (Ушкалов В.О. та ін., 2011 р.).

Летальні дози препарату визначено за адаптованим і рекомендованим для хімічних засобів методом Г. Кербера (1986 р.). Вплив летальних та робочих доз

засобу на організм білих мишей вивчено за результатами патологоанатомічного розтину (Жаров А.В. та ін., 2003 р.).

Кількість еритроцитів і лейкоцитів у крові лабораторних тварин визначено у камері з сіткою Горяєва, лейкограму – у мазках крові, пофарбованих уніфікованим методом за Май-Грюнвальдом, вміст гемоглобіну – гемоглобін-ціанідним методом.

Проведено визначення токсичної дії препарату: на культури клітин тваринного походження – перещеплювальну культуру нирки ембріону свині (СНЕВ) і перещеплювальну культуру тестикул поросяти (ПТП) – за методикою В.І. Білоконя та ін. (2009 р.); на культуру вільної інфузорії *Tetrahymena pyriformis* (штам WH14) – за методикою В.Л. Коваленка та ін. (2010 р.).

Розрахунок економічної ефективності застосування “Аргіциду” з метою профілактики шлунково-кишкових хвороб поросят у неблагополучних господарствах визначено за цінами 2012 року відповідно до чинної методики щодо визначення економічної ефективності ветеринарних заходів (1982 р.).

Параметри мікроклімату вимірювалися наступними приладами: температура повітря – ртутним термометром; відносна вологість повітря – статичним психрометром; концентрація аміаку – приладом УГ-2. Загальну оцінку мікроклімату приміщень здійснювали за Марковим Ю.М. (1983 р.) у модифікації Демчука М.В. та ін. (1997 р.).

Для визначення ефективності профілактичної дезінфекції у тваринницьких приміщеннях використано одноразово 0,5–1,5%-ний розчин “Аргіциду”. В якості контролю використано 2,0%-ний розчин натрію гідроксиду за витрати робочих розчинів  $50 \text{ см}^3/\text{м}^3$  та експозиції 1 год.

Статистичну обробку експериментальних даних проведено за допомогою комп’ютерної програми Microsoft Office Excel 2007 з використанням таблиці Стюдента, статистичного пакета Statistic for Windows 6,0 і програми BIOM.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

### Розробка та склад бактерицидного препарату ”Аргіцид“

За результатами експериментальних досліджень з підбору хімічних речовин і субстанцій, враховуючи аналіз фізико-хімічних властивостей їхніх складників, розроблено бактерицидний препарат ”Аргіцид“.

У технологічному процесі розробки бактерицидного препарату ”Аргіцид“ використано полігексаметиленгуанідину гідрохлорид (ПГМГ), колоїдні розчини наночастинок Аргентуму та Купруму (отримані методом об’ємного електроіскрового диспергування струмопровідних матеріалів у деіонізованій воді) з подальшим змішуванням. Введення додаткових речовин, а саме наночастинок Аргентуму і Купруму, дозволило розширити спектр протимікробної дії. Препарат добре розчиняється у воді, не втрачає своєї активності в присутності органічних часток, не роз’їдає метали, не псує тканини і фарбовані поверхні, має пролонгуючу дію. Для підвищення ефективності Аргентум був поєднаний з біоцидним засобом – полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом. Таким чином, до складу препарату було включено, %: полігексаметиленгуанідину гідрохлориду – 10,0; n-пропанолу – 10,0; наночастинок Аргентуму – 0,0075; наночастинок Купруму від – 0,0075; дистильованої води – 79,985.



### Бактерицидна активність препарату "Аргіцид"

Визначення властивостей "Аргіциду" показало, що бактерицидна дія препарату сильніша за дію фенолу в 49,25 раз.

Встановлено, що бактерицидна дія препарату на мікроорганізми, що знаходяться на оброблюваних поверхнях, за контакту з білковими субстанціями знижується у 8 раз. Даний показник враховано при визначенні ефективних концентрацій робочих розчинів препарату (табл. 1).

Таблиця 1

#### Бактерицидна активність препарату "Аргіцид" щодо *E. coli*, шт. 1257, n=5

Розчини препаратів у відношенні	Бактерицидне розведення		Фенольний коефіцієнт	Білковий індекс
	за 10 хв	за 30 хв		
Фенол 1:50	1: 98	1: 192,8	–	–
Аргіцид 1:50	1:6400	1:6400	49,25	–
Аргіцид+білок	1:800	1:800	–	8

Встановлено, що бактерицидне розведення після 24-годинного інкубування у термостаті за температури 37 °С та експозиції 10 хв складало 1:25600, а 30 хв – 1:51200, де відмічено незначний ріст колоній *S. aureus* з мінімальної концентрації препарату 0,0195%, відповідно за експозиції 30 хв – з 0,00975%.

Спостерігається незначний ріст колоній *E. coli* за бактерицидного розведення після 24-годинного інкубування за експозиції 10 та 30 хв – 1:12800, де мінімальна концентрація препарату відповідає 0,039%. Отримані результати свідчать про високу бактерицидну дію проти *S. aureus*, починаючи з першої доби застосування.

Бактерицидна активність розчину препарату "Аргіцид" проти *S. aureus* настає за концентрації 0,039%, *E. coli* – 0,078%. Отже, досліджуваний препарат має високу бактерицидну активність щодо грамположитивної та грамнегативної мікрофлори.

Дослід щодо визначення ефективності засобу на тест-культурі *S. aureus* для дезінфекції різних типів поверхонь (цегла, бетон, кахель, дерево), показав, що на поверхні кахелю препарат ефективний у 0,039%-ній концентрації, на бетонній поверхні – у 0,3125%-ній, на дерев'яній поверхні – у 0,078%-ній, на цегляних поверхнях – у 0,625%-ній, що пояснюється якісними характеристиками оброблюваних поверхонь, а саме пористістю.

Дослідження з визначення бактерицидної дії препарату на спороутворюючі аероби роду *Bacillus* показало, що бактерицидний розчин у дозі 50 см<sup>3</sup>/м<sup>3</sup> за експозиції 60 хвилин у 3,0%-ній концентрації та вище діє бактерицидно на спорову і вегетативну форми *Bac. anthracis* UA-07.

Аналіз результатів дослідження властивостей "Аргіциду" щодо мікобактерій туберкульозу свідчить про те, що препарат (5,0% за 48 год експозиції) проявляє бактерицидні властивості щодо атипичних мікобактерій *M. fortuitum*.

З метою розширення переліку тест-організмів були проведені дослідження з визначення стійкості 8 серогруп лептоспир *Sejroe*, *Hebdomadis*, *Tarassovi*, *Pomona*, *Grippotyphosa*, *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae*, *Australis* до розробленого препарату "Аргіцид". Встановлено, що за мінімальної 0,02%-ної концентрації та експозиції

75 хв препарат діє бактерицидно на дослідні культури лептоспір. А за 0,55%-ної концентрації бактерицидність настає через 15 хв.

### Фунгіцидна активність препарату “Аргіцид”

У дослідженнях щодо визначення фунгіцидної активності препарату контролем слугували культури грибів родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* з робочим розведенням. У порівняльному аспекті в досліді використано аналог “Аргіциду” (за вмістом наночастинок Аргентуму й Купруму) – Шумерське срібло у 1,0 – 5,0%-них концентраціях розчинів (табл. 2).

Таблиця 2

### Вплив “Аргіциду” і “Шумерського срібла” на ріст грибів родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* в суспензійному методі, %, n=10

Рід грибів	Контроль	Тривалість експозиції, хв								
		10 хв			30 хв			60 хв		
		Концентрація препаратів								
		1,0	3,0	5,0	1,0	3,0	5,0	1,0	3,0	5,0
		“Аргіцид”								
<i>Aspergillus</i>	+	+	±	–	±	–	–	±	–	–
<i>Penicillium</i>	+	+	±	–	±	–	–	–	–	–
<i>Fusarium</i>	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–
		Шумерське срібло								
<i>Aspergillus</i>	+	+	+	+	+	±	±	+	±	±
<i>Penicillium</i>	+	+	+	+	±	±	±	+	±	–
<i>Fusarium</i>	+	+	±	±	±	±	–	–	–	–

Примітка: “+” – наявність росту гриба; “–” – відсутність росту гриба (фунгістатична дія); “±” – поодинокі колонії гриба (затримка росту).

Результати досліджень показали, що за експозиції 30 хв у 1,0%-ній концентрації розчинів засобу спостерігається затримка росту культури грибів, тобто проявляється фунгістатична дія (спостерігається незначний ріст мікроміцетів). Розчини препарату у концентраціях від 3,0 до 5,0% за експозиції 30–60 хв володіють фунгіцидною дією.

Таким чином, наявність у складі препарату “Аргіцид” наночастинок Аргентуму, Купруму, зв’язаних з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом, дозволяє підвищити ефективність та тривалість його фунгіцидної дії.

### Віруліцидна активність препарату “Аргіцид”

Аналіз результатів досліджень з визначення віруліцидних властивостей препарату “Аргіциду” показав, що розчини у 0,5 та 1,0% у концентраціях повністю знищували вірус Ньюкаслської хвороби птахів (штам Ла Сота) за експозиції 30 хв (табл. 3). “Аргіцид” у 1,0%-ній концентрації забезпечував повну інактивацію вірусу, зберігаючи життєздатність ембріонів, що свідчило про нетоксичність та безпечність препарату. Отже, обробка яєць 0,5–1,0%-ними розчинами засобу за експозиції 30 хв виявляє інактивуєчу дію відносно вірусу Ньюкаслської хвороби птиці.

**Віруліцидна активність препарату “Аргіциду” на збудник Ньюкаслської хвороби птахів на поверхнях тест-об’єктів, %, (M±m, n=5)**

Тривалість експозиції,	Концентрація препарату, %				
	0,1	0,2	0,5	1,0	2,0
10	47,5±2,9	56,1±4,6	99,0±6,0	99,9±5,0	100
30	96,3±2,1	98,2±4,3	100	100	100
60	98,1±5,2	99,0±5,1	100	100	100

За визначення ефективності протівірусної дії препарату щодо вірусу КЧС було встановлено, що у контактних лунках з культурою клітин SK-6 вірусу виявлено не було, в той час як у лунках контролю вірусу спостерігалися чітко сформовані бляшки. Активність контрольного вірусу (який не піддавався контакту з дезінфектантом) склала  $5,0 - 5,2 \lg \text{TKID}_{50}/0,2 \text{ см}^3$ . Отже, в мінімальній концентрації 0,1% препарат інактивує вірус КЧС шт. ЛК-М.

Таким чином, дезінфікуючий препарат “Аргіцид” у концентраціях від 0,5 до 1,0% можна використовувати для профілактичної дезінфекції об’єктів ветеринарної медицини в присутності тварин у рекомендованих дозах та експозиціях.

**Токсикологічні властивості дезінфікуючого препарату  
Визначення біологічної дії розчинів “Аргіциду”**

Встановлено величину гострої токсичності препарату за внутрішньошлункового введення мишам препарату ( $LD_{50}$ ), яка склала 6345,71 мг/кг, що відповідає четвертому класу згідно класифікації хімічних речовин за ступенем небезпечності.

З’ясовано, що препарат у робочій концентрації (0,5–2,5%), введений мишам перорально в дозі  $1,0 \text{ см}^3$ , не спричиняв видимих патолого-анатомічних змін (після розтину забитих тварин). Це свідчить про низьку токсичність і нешкідливість засобу за його потрапляння в робочих концентраціях в організм.

Окрім цього, “Аргіцид” не чинить сенсibiliзуючої дії на організм мурчаків. Під час проведення досліджень з визначення шкірно-резорбтивної дії не було виявлено ознак токсичного впливу 2,5%-ного та 5,0%-ного розчинів препарату на мурчаків.

При дослідженні периферичної крові піддослідних тварин встановлено, що за обробки 0,5%-ним розчином препарату вихідні гематологічні показники у тварин дослідної та контрольної груп знаходилися у межах норми. Вміст еритроцитів залишався в межах фізіологічної норми у білих мишей обох груп до кінця терміну досліджень. Вміст лейкоцитів у крові мишей дослідної групи через 3 год після обробки бактерицидним препаратом “Аргіцид” вірогідно зростав проти вихідних показників та показників тварин контрольної групи на 20,1 і 25,5% відповідно ( $p < 0,01$ ). Незважаючи на вірогідне зростання кількості лімфоцитів ( $p < 0,05$ ), кількість еритроцитів залишалася в межах норми, що засвідчувало активацію саме лейкопоетичного апарату та надходження у периферичну кров лейкоцитів із органів кровотворення через судинну реакцію організму на бактерицидний препарат.

Слід зауважити, що всі вищезгадані гематологічні зміни в периферичній крові

білих мишей за обробки 0,5%-ним розчином препарату мали тимчасовий характер, так як аналогічні дослідження стану периферичної крові через 7 діб після застосування бактерицидного препарату показали, що всі показники знаходилися в межах фізіологічної норми та залишалися такими до закінчення терміну експерименту.

При гістологічному дослідженні нирок, селезінки, печінки, міокарду мишей контрольної та дослідної груп не було виявлено розбіжностей у структурі вищезазначених органів обох груп тварин.

Таким чином, препарат “Аргіцид” можна застосовувати для проведення вимушеної та профілактичної дезінфекції тваринницьких господарств у рекомендованих настановою 0,5%-них концентраціях у присутності тварин.

### **Токсичність препарату “Аргіцид” для перещеплювальних клітинних культур СНЕВ та ПТП**

Дослідження токсичного впливу “Аргіциду” на перещеплювальні культури клітин СНЕВ та ПТП ґрунтувалися на візуальному оцінюванні стану моношару культур клітин, оброблених препаратом, із визначенням можливості цих клітин до репродукції порівняно з контролем. У результаті досліду дегенеративні зміни в моношарі культур клітин відмічалися у 1,0%-ній концентрації розчину препарату і більше (табл. 4).

Таблиця 4

### **Токсичність препарату “Аргіцид” для перещеплювальних клітинних культур, %; n=8**

Препарат	Концентрація (ступінь розведення)	Культура клітин		Ступінь токсичності
		СНЕВ	ПТП	
“Аргіцид”	0,1	–	–	Нетоксичний
	0,5	–	+/-	Слаботоксичний
	1,0	–	+	Слаботоксичний
	2,0	+	+	Токсичний
К		–	–	

Примітка: (–) – відсутність токсичного впливу; (+) – токсичний вплив – відображений цитопатичною дією препарату на клітину; К – контроль клітин у лунках мікропланшету

При оцінці морфологічного стану та підрахунку кількості клітин культури за допомогою інвертованого мікроскопу (зб. 10×10) з 1 по 6 добу у лунках мікропланшету встановлено, що за дії Аргіциду в 0,5–1,0%-них концентраціях спостерігається відновлення проліферативної здатності культур клітин, а отже, препарат в зазначених концентраціях можна використовувати для профілактичної дезінфекції об’єктів ветеринарно-санітарного нагляду в присутності тварин у рекомендованих дозах та експозиціях.

### **Вплив препарату на культуру інфузорій *Tetrahymena pyriformis***

Результати досліджень за використання експрес-методу визначення токсичності на інфузоріях *Tetrahymena pyriformis* показали, що “Аргіцид” у 0,1%-ній концентрації з 1-ї по 15-у хвилину (55% живих інфузорій) не впливав на їхній

функціональний стан, а починаючи з 30 хвилини, пішов різкий спад кількості загиблих, що свідчить про зниження токсичного ефекту або адаптацію до зміни навколишнього середовища (температура, стрес та інше). Також не було виявлено тератогенного впливу препарату в досліджуваних концентраціях на інфузорій – під час досліду відмічено поділ клітин та їхню репродукцію.

Встановлено, що розчин препарату “Аргіцид” в 0,03–0,5%-них концентраціях та експозиції 1–10 хв не проявляв токсичної дії на культуру інфузорій *Tetrahymena pyriformis*. Враховуючи те, що інфузорії – це біологічний об’єкт, який є досить чутливим до впливу токсичних речовин, їх можна використовувати у практиці санітарного контролю ступеня токсичності дезінфектантів.

### Ефективність препарату “Аргіцид” при дезінфекції тваринницьких приміщень

Дослідження показали, що у всіх секторах на ділянках дорошування молодняку свиней відслідковувався виражений мікробний фон, що характеризується різноманітною асоціацією мікроорганізмів бактеріальної, вірусної та грибової природи. За результатами бактеріологічного контролю якості дезінфекції, орієнтовний рівень контамінації мікроорганізмами становив близько 0,9–1,1 млн. КУО/см<sup>2</sup> площі. Після проведення дезінфекції приміщення для утримання поросят засобом, який використовують у господарствах, кількість мікроорганізмів у аналізованих змивах знизилась у три-чотири рази.

За обробки приміщень 0,5%-ним та 1,5%-ним розчином препарату вдалося за 60 хв досягти зниження рівня мікробної контамінації в 42000 та 91000 разів відповідно (кількість КУО становила 11–21 од./см<sup>2</sup>).

У результаті проведення дезінфекції цими препаратами в присутності поросят було отримано високий бактерицидний ефект. За 60-хвилинної експозиції вони забезпечили повне знезараження інфікованих тест-об’єктів і поверхонь. У змивах з поверхонь підлоги, станків, стін, годівниць виявлено мікроорганізми у всіх зразках (11,0–21,0 КУО/см<sup>2</sup>), що пов’язано з постійним їх виділенням тваринами (табл. 5).

Таблиця 5

#### Контроль якості дезінфекції об’єктів тваринництва, %, М±m, n=8

Дезінфікуючий засіб	Концентрація	Експозиція, год	До дезінфекції	Після дезінфекції	Ефективність знезараження, %
			млн. КУО/см <sup>2</sup>	КУО/см <sup>2</sup>	
“Аргіцид”	0,5	1	0,9 ± 0,05	21,0±0,6	100
	1,5	1	1,0 ± 0,03	11,0±0,1	100
Шумерське срібло	3,0	1	0,9 ± 0,05	59300,0±34,5	93,4
	5,0	1	1,3 ± 0,05	8050,4±39,4	99,38
Контроль: Натрію гідроксид	2,0	1	1,1 ± 0,03	335000,0±16750,0	69,5

Проведення аерозольної дезінфекції препаратом “Аргіцид” сприяє відновленню параметрів мікроклімату (температури, відносної вологості, мікробної забрудненості).

Одноразове застосування препарату шляхом аерозольної дезінфекції дозволяє у два рази скоротити втрати тварин на ділянці дорощування (період спостереження становив 60 діб) у порівнянні з аналогічним показником у контролі. При цьому в контрольному секторі, обробленому за традиційною технологією, падіж поросят фіксувався з 5-ї доби після постановки тварин на дорощування.

За обробки 0,5 %-ним розчином аргіциду та 3,0 %-ним розчином Шумерського срібла змін показників мікроклімату не відмічали (табл. 6).

Таблиця 6

**Показники мікроклімату приміщень для утримання свиней,  $M \pm m$ , %,  $n=8$**

Приміщення	Температура повітря, °С	Відносна вологість повітря, %	Аміак, мг/м <sup>3</sup>	Вуглекислий газ, %
0,5 % Аргіцид				
До дезінфекції	19,0± 0,7	75,2±3,76	15,3±0,5	0,18±0,01
Після дезінфекції	20,0± 1,1	75,0±2,8	17,3±0,65*	0,21±0,01
5,0 % Шумерське срібло				
До дезінфекції	21,0± 1,2	73,3±3,1	13,5±0,5	0,28±0,05
Після дезінфекції	18,0± 1,1	77,1±3,4	14,1±0,6*	0,3±0,03
Контроль: 2,0 % Натрію гідроксид				
До дезінфекції	23,1± 1,7	78,3±3,8	16,9±0,7	0,26±0,01
Після дезінфекції	23,5± 1,5	77,4±3,3	15,5±0,8*	0,28±0,03
Норма (ГДК)	15	75–76	20	0,25

Примітка: \*–  $p \leq 0,05$ , порівняно з відповідними параметрами до та після проведення дезінфекції

Проведення аерозольної дезінфекції препаратом “Аргіцид” сприяє поліпшенню параметрів мікроклімату (відносної вологості, мікробної забрудненості).

Отже, аерозольна обробка повітря, робочих поверхонь ділянок дорощування, виробничого устаткування “Аргіцидом” дозволяє досягти якісної дезінфекції типового тваринницького комплексу в умовах високих попередніх рівнів контамінації патогенною та умовно патогенною мікрофлорою.

**Економічна ефективність застосування бактерицидного препарату “Аргіцид” за дезінфекції свинарників**

Розрахунки показали, що розчини препарату для дезінфекції є ефективними та економічно доцільними у разі застосування у тваринницьких приміщеннях з метою профілактики захворювань поросят. Економічні аспекти дезінфекції препаратом полягають у скороченні тривалості дезінфекції, кількості обслуговуючого персоналу та витрат дезінфікуючого засобу, якісному поліпшенні санітарно-гігієнічних умов утримання (нормалізації мікроклімату та мікробного фону в цехах), а низька

токсичність препарату дозволяє використовувати його в присутності тварин. Це дозволить в більшій мірі підвищити ефективність дезінфекції й поліпшити показники “ціна-якість”. Економічний ефект від проведення профілактичних заходів із використанням препарату становить 3,39 грн. на одну гривню витрат.

Підсумовуючи отримані наукові результати, необхідно зазначити, що наші дослідження були спрямовані на створення нового вітчизняного бактерицидного препарату на основі полігексаметиленгуанідину гідрохлориду та наночастинок металів призначеного для дезінфекції. Порівняльні дослідження традиційних дезінфектантів – формальдегіду, натрію гідроксиду із розробленим препаратом дають підставу стверджувати, що аргіцид є ефективнішим за рахунок комплексної дії проти бактерій, вірусів, грибів. Окрім цього, проведено оцінку нешкідливості дезінфікуючого засобу за ступенем токсичності на лабораторних тваринах, а також *in vitro*, на культурах клітин та з використанням інфузорії *Tetrahymena pyriformis*.

Отже, препарат “Аргіцид” є ефективним, екологічно безпечним для навколишнього середовища та може бути застосованим для дезінфекційної обробки приміщень у присутності тварин, що дає можливість одержувати якісну продукцію тваринництва та запобігати інфекційним захворюванням.

## ВИСНОВКИ

У роботі вперше експериментально обґрунтовано розробку й доцільність використання вітчизняного дезінфікуючого препарату нового напрямку та його контроль. Впроваджена інновація дозволяє покращити систему ветеринарно-санітарних заходів, розкриває нові критерії виробництва препаратів, які створюються на основі нанотехнологій. Основні висновки за результатами дисертаційного дослідження наступні:

1. Результати аналізу ринку дезінфікуючих препаратів України дають підстави для висновку, що основними діючими речовинами дезінфектантів є четвертинно-амонієві сполуки, полігуаніди, оксигеномісні, хлормісні та їхні комбінації. Частка препаратів вітчизняного виробництва складає лише 42,7%.

2. Розроблено технологічний підхід до конструювання ефективного, екологічно безпечного, нешкідливого дезінфікуючого препарату ”Аргіцид“ (діючі речовини: полігексаметиленгуанідину гідрохлорид і наночастки Аргентуму та Купрум) для застосування у ветеринарній медицині, встановлено фізико-хімічні властивості, оптимальні концентрації, дози та експозицію його ефективного застосування.

3. Встановлено, що дезінфікуючий препарат “Аргіцид” у 0,5%-ній концентрації за експозиції 30 хв володіє ефективними бактерицидними властивостями щодо *S. aureus* і *E. coli*.

Розчин “Аргіциду” у 5,0%-ній концентрації та експозиції 48 год проявляє бактерицидні властивості щодо атипових мікобактерій *M. fortuitum*. А стосовно спороутворюючих аеробів роду *Bac. anthracis* UA-07 бактерицидна дія проявляється за 3,0%-ної концентрації та експозиції 30 хв.

Встановлено, що “Аргіцид” у 3%-ній концентрації за експозиції 30 хв виявляє фунгіцидну дію щодо мікроміцетів родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*. Препарат повністю інактивує вірус вакцинного штаму Ла-Сота за концентрації 0,5% протягом

30 хв, за концентрації 0,1% інактивує вірус КЧС шт. ЛК-М.

4. Після дії 0,5%-ного розчину “Аргіциду” на перещеплювальні культури клітин СНЕВ та ПТП реєструється відновлення їх проліферативної здатності, що свідчить про ефективність і нешкідливість зазначеної робочої концентрації.

5. Встановлено гранично безпечні концентрації препарату за результатами токсикологічних досліджень на білих мишах, що вказує на можливість використання препарату для дезінфекції в присутності тварин. Величина гострої токсичності за внутрішньошлункового введення мишам препарату “Аргіцид” LD<sub>50</sub> – 6345,71 мг/кг. Розроблений препарат за результатами досліджень належить до четвертого класу згідно класифікації хімічних речовин за ступенем небезпечності.

6. Встановлено, що дезінфікуючий препарат “Аргіцид” у концентраціях від 0,1 до 0,5% за експозиції 10 хв є нетоксичним щодо культур інфузорії *Tetrahymena pyriformis*.

7. При проведенні виробничої перевірки з визначення економічної ефективності встановлено, що у разі застосування препарату “Аргіцид” для дезінфекції приміщення в присутності тварин у концентрації 1,0%, спостерігається поліпшення санітарно-гігієнічних умов утримання та профілактики інфекційних захворювань, а економічний ефект від проведених заходів складає 3,39 грн на 1 грн затрат.

### Пропозиції виробництву

1. Для проведення дезінфекції в системі профілактичних ветеринарно-санітарних заходів рекомендується використовувати бактерицидний препарат “Аргіцид” (ТУ У 24.2.05510830.003-2012) згідно з рекомендаціями щодо його застосування.

2. Для визначення ефективності застосування дезінфікуючих препаратів слід користуватися методичними рекомендаціями “Методи визначення ефективності та якості дезінфікуючих засобів, щодо спор *Bacillus anthracis*”, що розглянуті та затверджені науково-технічною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України (протокол № 1 від 24.12. 2012 р.).

3. Для профілактичної та вимушеної дезінфекції тваринницьких, птахівничих, м'ясо- та молокопереробних підприємств рекомендується використовувати “Методичні рекомендації щодо застосування препарату бактерицидного “Аргіцид” з використанням аерозольних генераторів *Hurricane* та *Smart Fog* для проведення профілактичної, поточної, завершальної та вимушеної дезінфекції на об'єктах ветеринарного нагляду і контролю”, що розглянуті та затверджені науково-технічною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України (протокол № 1 від 24.12. 2012 р.).

4. Для виробництва препарату бактерицидного “Аргіцид” слід застосовувати спосіб “Препарат бактерицидний “Аргіцид” (патент на корисну модель № 76059 від 25.12.2012).

5. З метою визначення резистентності мікроорганізмів до розчинів дезінфектантів рекомендується застосовувати “Спосіб дослідження впливу дезінфікуючих речовин на персистенцію *B. anthracis*” (Патент на корисну модель № 89001 від 10.04.2014).



## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

## Монографія

1. Розробка і контроль дезінфікуючого засобу. Монографія / В.Л. Коваленко, Д.А. Засекін, В.В. Недосєков, С.А. Ничик, **А.В. Гнатенко**; за ред. В.Л. Коваленка, Д.А. Засекіна / – Київ: ТОВ НВП “Інтерсервіс”, 2013. – 166 с. *(Здобувачем виконано частину експериментальної роботи та описано результати).*

## Публікації у фахових наукових виданнях:

2. Визначення бактерицидності комплексного дезінфікуючого препарату на основі полігексаметиленгуанідин гідрохлорида / В.Л. Коваленко, А.І. Чехун, Я.М. Ярошно, **А.В. Гнатенко**, Ю.І. Пущик, Л.Г. Савченко // Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень. – 2011. – № 18. – С. 106–110. *(Здобувачем прийнято участь у виконанні експериментальної частини та проведено статистичне опрацювання результатів).*

3. Визначення бактерицидності комплексного дезінфікуючого препарату щодо грамнегативної мікрофлори на основі полігексаметиленгуанідин гідрохлориду / В.Л. Коваленко, А.І. Чехун, Я.М. Ярошно, **А.В. Гнатенко** // Сільськогосподарська мікробіологія: здобутки та перспективи. Збірник праць. – Чернігів: ЦНП, 2011. – С. 389–392. *(Здобувачем прийнято участь у виконанні експериментальної частини та проведено статистичне опрацювання результатів).*

4. Вплив дезінфектанту на основі полігексаметиленгуанідин гідрохлорид на організм лабораторних тварин / В.Л. Коваленко, А.І. Чехун, Я.М. Ярошно, **А.В. Гнатенко**, Л.Г. Савченко // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнології імені С.З. Ґжицького, – 2011. – Т. 13. № 4 (50), Ч. 4. – С. 247–252. *(Здобувачем прийнято участь у виконанні експериментальної частини та проведено статистичне опрацювання результатів).*

5. **Гнатенко А.В.** Гістологічні дослідження впливу бактерицидного препарату “Аргіцид” на організм лабораторних тварин / А.В. Гнатенко // Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень. – 2013. – № 22. – С. 74–77. *(Здобувачем виконано експериментальну частину, статистичне опрацювання результатів та оформлення роботи).*

6. **Гнатенко А.В.** Дослідження бактерицидного впливу препарату “Аргіцид” на безкапсульний штам *Vacillus anthracis* / А.В. Гнатенко // Ветеринарна медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – 2013. – № 97. – С. 74–76. *(Здобувачем виконано експериментальну частину, статистичне опрацювання результатів та оформлення роботи).*

7. **Гнатенко А. В.** Устойчивость тест-культур лептоспир к бактерицидному препарату “Аргіцид” / А.В. Гнатенко, В.Л. Коваленко, В.В. Куликова, В.В. Уховский // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – Барнаул, 2013. – № 10 (108). – С. 99–102 (входить до міжнародної науко-метричної бази даних РІНЦ)

8. Ефективність застосування дезінфектанту на основі полігексаметиленгуанідину гідрохлориду на тест-об’єктах / В.Л. Коваленко, А.І. Чехун, Я.М. Ярошно, **А.В. Гнатенко**, С.А. Пономарьова // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. Зб. наук. праць. – 2011. – В 23, Т. 1, Ч. 2. – С. 173–177. *(Здобувачем прийнято участь у виконанні експериментальної частини)*

та проведено статистичне опрацювання результатів).

9. Коваленко В.Л. Порівняльне визначення токсичності бактерицидних засобів за показниками гострої токсичності та альтернативних методів / В.Л. Коваленко, **А.В. Гнатенко**, Г.В. Пономаренко // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. Зб. наук. праць. – 2012. – В. 25, Ч. 2. – С. 169–173. (Здобувачем виконано експериментальну частину, статистичне опрацювання результатів та оформлення роботи).

10. Фізико-хімічні властивості дезінфікуючого препарату на основі полігексаметиленгуанідин гідрохлориду / В. Л. Коваленко, Я. М. Ярошно, А.І. Чехун, **А.В. Гнатенко**, Л.Г. Савченко // Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень. – 2011. – № 19. – С. 106–110. (Здобувачем прийнято участь у виконанні експериментальної частини та проведено статистичне опрацювання результатів).

#### Статті в інших виданнях

11. Коваленко В.Л. Новий бактерицидний препарат / В.Л. Коваленко, А.В. Гнатенко // Науково-інформаційний бюлетень завершених наукових розробок НААН “Аграрна наука – виробництву”. – Київ, 2013. – №1 (63). – С. 27. (Здобувачем виконано узагальнення результатів досліджень та оформлення роботи).

#### Патенти:

12. Патент № 76059 Україна МПК (2012.01), CO2F 1/50 Препарат бактерицидний “АРГІЦИД” / В.Л. Коваленко, А.В. Гнатенко, Д.А. Засекін, К.Г. Лопатько, В.В. Нестеренкова, В.М. Яненко, Т.С. Ямцун; заявник і патентовласник – Інститут ветеринарної медицини Національної академії аграрних наук України. – № у 2012 06099; заявл. 21.05.2012. опубл. 25.12.2012, Бюл. № 24. (Здобувачем виконано експериментальну частину та оформлення патенту).

13. Патент № 89001 Україна МПК (2014) CO2F 1/50 Спосіб дослідження впливу дезінфікуючих речовин на персистенцію *B. anthracis* / В.Л. Коваленко, У.М. Яненко, В.М. Яненко, **А.В. Гнатенко**; заявник і патентовласник – Інститут ветеринарної медицини Національної академії аграрних наук України. – № у 2013 12274; заявл. 21.10.2013; опубл. 10.04.2014; Бюл. № 7. (Здобувачем виконано експериментальну частину та оформлення патенту).

#### Нормативні документи

14. Препарат бактерицидний “АРГІЦИД”: ТУ У № 24.2.05510830.003-2012 / В.Л. Коваленко, **А.В. Гнатенко**, В.М. Яненко, К.Г. Лопатько, Д.А. Засекін – Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів. – Київ, 28.05.2012. (Здобувачем взято участь у проведенні досліджень, написанні, оформленні документації).

#### Методичні рекомендації:

15. Методичні рекомендації щодо застосування препарату бактерицидного “АРГІЦИД” з використанням аерозольних генераторів *Hurricane* та *Smart Fog* для проведення профілактичної, поточної, завершальної та вимушеної дезінфекції на об'єктах ветеринарного нагляду і контролю. Методичні рекомендації / В.Л. Коваленко, У.М. Яненко, В.М. Яненко, **А.В. Гнатенко**. – Затверджені Науково-методичною радою Державної ветеринарної фітосанітарної служби України (протокол № 1 від 24 грудня 2012 року). – Ніжин: ПП Лисенко М.М., 2013. – 32 с. (Здобувачем узагальнено результати досліджень, взято участь у підготовці,

написанні та редагуванні рекомендацій).

16. Методи визначення ефективності та якості дезінфікуючих засобів щодо спор *Bacillus anthracis*. Методичні рекомендації / В.Л. Коваленко, С.А. Ничик, У.М. Яненко, А.І. Чехун, В.М. Яненко, **А.В. Гнатенко**, Д.А. Засєкін. – Затверджені Науково-методичною радою Державної ветеринарної фітосанітарної служби України (протокол № 1 від 24 грудня 2012 року). – Ніжин: ПП Лисенко М.М., 2013. – 36 с. (Здобувачем узагальнено результати досліджень, взято участь у підготовці, написанні та редагуванні рекомендацій).

#### **Наукові праці апробаційного характеру**

17. Коваленко В.Л. Визначення ефективності дії бактерицидного препарату “Аргіцид” на тест-культури мікроорганізмів *E.coli* та *S.aureus* / В.Л. Коваленко, **А.В. Гнатенко** // Сучасний стан та проблеми інфекційної захворюваності в Україні: науково-практична конф. Інституту епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського, 10.10.2012: тези доп. – Київ. – С. 11.

18. Коваленко В.Л. Исследование эффективности бактерицидного препарата “Аргицид” в производственных условиях / В.Л. Коваленко, **А.В. Гнатенко**, С.А. Ничик // “Основные направления развития ветеринарной науки”: Международная научно-практическая конференция, посвященная 90-летию РУП “Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского”, 24–25 октября 2013 г.; под. ред. А. А. Гусева: тезисы докл. – Минск, 2013. – С. 345–347.

19. Гнатенко А.В. Влияние бактерицидного препарата “Аргицид” на аэробную спорообразующую микрофлору / **А.В. Гнатенко**, В.Л. Коваленко, У.Н. Яненко // “Основные направления развития ветеринарной науки”: Международная научно-практическая конференция, посвященная 90-летию РУП “Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского”, 24–25 октября 2013 г.; под. ред. А. А. Гусева: тезисы докл. – Минск, 2013. – С. 342–345.

20. Influence of antimicrobials on the resistance of microorganisms / V. Kovalenko, A. Chekhun, A. Rosumniuk, **A. Gnatenko**, N. Hudz // 17th Annual Conference of the European Biosafety Association. Ghent/Belgium 13–16 may 2014. – P. 24.

21. **Gnatenko A.** Determination of the efficacy of bactericidal preparations on *Mycobacterium fortuitum* as an element of biosafety for tuberculosis / A. Gnatenko, V. Kovalenko // 17th Annual Conference of the European Biosafety Association. Ghent/Belgium 13–16 may 2014. – P. 111.

#### **АНОТАЦІЯ**

**Гнатенко А.В.** Експериментальне обґрунтування застосування дезінфікуючого засобу на основі полігексаметиленгуанідину гідрохлориду та наночастинок металів у системі ветеринарно-санітарних заходів. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.06 – гігієна тварин та ветеринарна санітарія. – Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, 2015.

Дисертаційна робота присвячена розробці та вивченню препарату на основі полігексаметиленгуанідину гідрохлориду та колоїдних розчинів наночастинок

металів Аргентуму і Купруму, що володіє широким спектром бактерицидної дії. Проведено доклінічні, повні клінічні й аналітичні дослідження препарату. Зокрема, вивчено його бактерицидні, віруліцидні, фунгіцидні властивості. Проведено дослідження препарату за показниками гострої токсичної дії з використанням лабораторних тварин і за допомогою альтернативних методів (перещеплюваних культур клітин тваринного походження, культури інфузорій *Tetrahymena pyriformis*). Розроблений препарат за результатами досліджень належить до четвертого класу згідно з класифікацією хімічних речовин за ступенем небезпечності.

Розроблено технологію виготовлення препарату, вивчено фізико-хімічні властивості та способи його застосування. Експериментально доведено, що аргіцид ефективний для дезінфекції тваринницьких приміщень і безпечний для тварин у концентраціях 0,2–3,0%. Встановлено ефективну концентрацію та визначено тривалість його пролонгованої бактерицидної дії.

**Ключові слова:** бактерицидний препарат, “Аргіцид”, Аргентум, Купрум, нанотехнологія, дезінфекція, токсичність, бактерицидна дія.

### АННОТАЦІЯ

**Гнатенко А. В. Экспериментальное обоснование применения дезинфицирующего средства на основе полигексаметиленгуанидина гидрохлорида и наночастиц металлов в системе ветеринарно-санитарных мероприятий. – На правах рукописи.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.06 – гигиена животных и ветеринарная санитария. – Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев, 2015.

Диссертация посвящена разработке и изучению препарата на основании полигексаметиленгуанидина гидрохлорида и коллоидных растворов наноразмерных металлов Аргентума и Купрума, которые владеют широким спектром действия. Разработанная инновация позволяет повысить качество проведения ветеринарно-санитарных мероприятий с целью улучшения санитарного благополучия в сфере животноводства.

Проведены доклинические, полные клинические и аналитические исследования препарата. Определены физико-химические показатели аргіцида: температурный коэффициент (0,714) и рН растворов ( $9,5 \pm 3,0$ ). Изучены бактерицидные свойства: феноловый коэффициент относительно *E. coli* – 49,25; при белковой нагрузке эффективность препарата снижается в 8 раз; установлены эффективные бактерицидные концентрации препарата по отношению к тест-культурам *E. coli*, *S. aureus* (эффективен в концентрации 0,5% и экспозиции 30 мин), *Bacillus anthracis* (3,0%-ный раствор – 30 мин), *M. fortuitum* (5,0%-ный – 48 часов), 8 штаммов лептоспир (1,67%-ный раствор инактивирует все штаммы за 10 мин, а 0,02%-ный – за 75 мин), а также проведены его испытания в производственных условиях; исследовано вирулицидное действие препарата на штамм Ла-Сота вируса болезни Ньюкасла (0,5–1,0%-ная концентрация обеспечивает полную инактивацию вируса, при этом не влияет на жизнедеятельность куриных эмбрионов), относительно вируса классической чумы свиней (штамм ЛК-М) препарат эффективен в 0,1%-ной концентрации; фунгицидное воздействие на грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*,

*Fusarium* (3,0% – 30 мин).

Проведены исследования показателей токсичности с использованием культуры клеток животного происхождения (СПЭВ, ПТП), а также культуры инфузорий *Tetrahymena pyriformis* (0,1–0,5%-ный раствор при экспозиции 10 мин не проявляет токсического действия). Также проведены исследования показателей острой токсичности с использованием лабораторных животных (определено LD<sub>50</sub> – 6345,71 мг/кг, что приравнивает препарат к четвертому классу токсичности).

Концентрация препарата 0,5–2,5%, введенная внутрь в дозе 1,0 см<sup>3</sup>, не вызывает видимых патологоанатомических изменений (после вскрытия мышей). Это свидетельствует о низкой токсичности и безвредности препарата при попадании его в рабочих концентрациях в организм.

Установлено, что бактерицидный препарат “Аргицид” не обладает кумулирующими и сенсибилизирующими свойствами, не проявляет раздражающего и кожно-резорбтивного действия, не влияет на гемоцитопоз, не проявляет супрессивного действия на рост и развитие животных.

Проведенное гистологическое исследование почек, селезенки, печени, миокарда мышечной контрольной и опытной групп показало, что различий в структуре вышеупомянутых органов обеих групп животных не было обнаружено.

Аргицид можно использовать для дезинфекции при заболеваниях животных, возбудители которых приравниваются по стойкости к *E. coli* и *S. aureus* в 0,5–2,0%-ных концентрациях.

Использование препарата “Аргицид” в концентрации 0,5% при аэрозольной дезинфекции помещений для содержания животных (норма расхода 50 см<sup>3</sup>/м<sup>3</sup>) позволяет добиться 100%-ной эффективности данного мероприятия. Профилактические меры с использованием современных схем оздоровительных мероприятий бактерицидным препаратом “Аргицид” предоставляют возможность разорвать эпизоотическую цепь заболеваний животных и повысить экономические показатели хозяйств.

Экономический аспект использования аргицида: сокращение времени обработки, количества обслуживающего персонала и расхода дезинфектанта, улучшение санитарно-гигиенических условий содержания животных.

Разработана технология изготовления препарата и способы его использования.

Работа была направлена на создание отечественного бактерицидного препарата для профилактической и вынужденной дезинфекции. Сравнительные исследования традиционных дезинфектантов формальдегида, натрия гидроксида с разработанным препаратом дают основание утверждать, что “Аргицид” более эффективен за счет комплексного действия относительно бактерий, вирусов и грибов, экологически безопасен для окружающей среды, безвреден для животных при обработке помещений в их присутствии. Использование препарата дает возможность профилактировать инфекционные заболевания животных, обеспечивая получение качественной продукции животного происхождения.

**Ключевые слова:** бактерицидный препарат, “Аргицид”, Аргентум, Купрум, нанотехнология, дезинфекция, токсичность, бактерицидное действие.

**SUMMARY**

**Gnatenko A. V. Experimental study of use disinfectant based polyhexamethyleneguanidine hydrochloride and nanoparticles of metals in veterinary-sanitary measures. – Manuscript.**

Dissertation for the scientific degree of Candidate of Veterinary Sciences (Ph. D. equivalent), specialty code 16.00.06 – Animal hygiene and veterinary sanitation. – National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, 2015.

The thesis is devoted to the development and study of the preparation based on from Polyhexamethyleneguanidine hydrochloride and colloidal solutions of Silver and Copper nano-particles, which has a broad spectrum of activity. Conducted pre-clinical, complete clinical and complete analytical researches of the preparation. It was studied antibacterial, virucidal and fungicidal properties. The study of the preparation on indicators of acute toxic effect using of laboratory animals and through alternative methods (primary and passaged animals cell cultures and *Tetrahymena pyriformis* infusoria culture) was conducted. To develop drugs based on the results of studies related to the fourth class of hazard classification of chemicals according to the degree of danger.

It was develop the manufacturing techniques of the preparation, studied the physicochemical properties and methods of its application. Experimentally proved that arhityd effective for disinfection of livestock buildings and safe for animals at concentrations of 0.2 – 3.0%. It has found effective concentration and determined the duration of its prolonged bactericidal action.

**Key words:** bactericidal preparation, Arhityd, Silver, Copper, nanotechnology, disinfection, toxicity, bactericidal action.