

Бабарук А.В. ВИРУЛИЦИДНА АКТИВНОСТЬ ДЕЗИНФЕКТАНТА «БИ-ДЕЗ» В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

В статье приведены результаты определения активности препарата «Би-дез» по отношению к возбудителю АЧС. Установлено, что препарат «Би-дез» в виде водного раствора 2 % концентрации при 30-минутной экспозиции частично инактивирует вирус АЧС на тест-объектах из полипропилена и бетона. Водный раствор препарата «Би-дез» в 3 % концентрации при 60-минутной экспозиции проявляет дезинфицирующую активность в отношении вируса АЧС как на адсорбирующих, так и на не адсорбирующих поверхностях.

Ключевые слова: препарат «Би-дез», вирулицидные свойства, африканская чума свиней, возбудитель.

Babaruk A.V. VIRUCIDAL ACTIVITY OF DISINFECTANTS "BI-DEUX" AGAINST THE PATHOGEN AFRICAN SWINE FEVER

The results of determination of the activity of the drug "Bi-des" with respect to the causative agent of ASF. It is found that the drug "Bi-des" in the form of an aqueous solution of 2 % concentration at 30-minute exposure partially inactivate ASF virus to the test objects made of polypropylene and concrete. The aqueous solution of the "Bi-des" in 3 % concentration at 60 minutes of exposure exhibits disinfectant activity against ASF both absorbent, so on a non absorbent surfaces.

Keywords: drug "Bi-des" virucidal properties, African swine fever, the causative agent.

Дата надходження до редакції: 26.07.2014 р.

Рецензент: д.вет.н., професор Березовський А.В.

УДК 619.22.28:614.615.9:636.065

**ВПЛИВ ДЕЗИНФІКУЮЧОГО ПРЕПАРАТУ «ГЕОЦИД»
НА МОРФОЛОГІЧНИЙ ТА ІМУННИЙ СТАТУС ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН**

В. Л. Коваленко, д.вет.н., ст. наук. співр., Інститут ветеринарної медицини НААН України (м. Київ)

В. П. Лясота, д.вет.н., професор, Білоцерківський національний аграрний університет

Ю. О. Балацький, аспірант*, Білоцерківський національний аграрний університет

* Науковий керівник – д.вет.н. В. П. Лясота

Досліджено вплив дезінфікуючого препарату «Геоцид» (0,5 % розчин) у на основі полігексаметиленуанідин гідрохлориду (ПГМГ-ГХ), бензалконію хлориду та дельтаметрину на морфологічні показники крові лабораторних щурів та трансформаційну активність стовбурових клітин-попередників макрофагів крові. Експериментально підтверджено, що 0,5 % розчин Геоциду не пригнічує морфологічні показники крові та імунний потенціал лабораторних щурів, тому є перспективним препаратом в якості дезінфікуючого засобу.

Ключові слова: дезінфекція, бактерицидний, інсектицид, «Геоцид», морфологія крові, фагоцитарний індекс, фагоцитарне число, імунний потенціал.

Формування наукових і методичних основ розробки, контролю ефективності та нешкідливості дезінфікуючих засобів є гарантією якісного та безпечного проведення протиепізоотичних заходів у тваринницьких господарствах.

Проблема боротьби з інфекційними захворюваннями із застосуванням дезінфікуючих засобів вивчена недостатньо. Значна кількість із запропонованих препаратів є токсичними, імунодепресивними для організму тварин та спричиняють віддалений вплив на їх організм. Пошук нових, більш ефективних, нешкідливих і економічно обґрунтованих дезінфікуючих засобів, особливо комплексних залишається актуальною проблемою сучасної ветеринарної медицини [1].

Актуальним питанням для вирішення проблеми є вивчення та експериментальне обґрунтування впливу на мікроорганізми дезінфікуючих засобів, до складу яких входять поверхнево-активні речовини (ПАР), детергенти – четвертинні

амонієві сполуки (ЧАС) із властивою їм пролонгованою дією та високим рівнем змочуючого контакту з обробленими поверхнями в комплексі із інсектоакарацидним препаратом дельтаметрином [2–6].

Сучасні досягнення в галузі нанотехнологій у найближчому майбутньому дозволять розглядати наноматеріали, як реальну альтернативу шкідливим, складним хімічним дезінфікуючим засобам, що масово застосовуються у тваринництві та птахівництві з метою знезараження об'єктів навколишнього середовища. Сформовано новий напрямок на основі нанотехнології, де нанометали володіють широким спектром біоцидної дії, проявляють високу біологічну активність і не є токсичними [4, 7]. Тому є необхідність у розробці комплексу завдань з визначення їх контролю ефективності при дезінфекції та нешкідливості для тварин.

Мета роботи вивчити вплив дезінфікуючого

препарату «Геоцид» на морфологічний та імунний статус лабораторних тварин.

Матеріали і методи. Доклінічні дослідження створеного дезінфектанту проводили у віварії Білоцерківського НАУ, де піддослідним тваринам були створені належні умови перебування, згідно санітарно-гігієнічних вимог. Підбір тварин для досліджень проводили згідно загальноприйнятих методів [9]. Для цього було сформовано п'ять груп тварин: три дослідних по 10 голів у кожній, клітки яких обробляли 0,5 % розчином «Геоцид» у кількості 50 мл, одну контрольну групу у аналогічній кількості тварин, клітка даної групи оброблялась 0,5 % розчином формальдегіду та ще одна контрольна група, яка не оброблялась дезінфікуючим препаратом.

Лабораторних щурів під час досліду годували 2–3 рази на добу в зазначений час. Основний вид корму для тварин були: зерно пшениці, ячменю, насіння соняшнику, комбікорм. В раціоні тварин постійно була: вітамінна підкормка, кормові буряки, морква, вода вволю. Період досліджень складав 30 діб. По завершенню періоду спостережень проводили поетапний забій тварин. Усі втручання та забій проводили із дотриманням вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1985) та «Положення про захист хребетних тварин, яких використовують в наукових експериментах» [9, 10].

Методи досліджень. Зоотехнічні, зоогігієнічні: загально-прийняті (Демчук М.В., 1994). До-

слідження показників мікроклімату приміщення проводили двічі протягом періоду досліджень.

Дослідження води проводили згідно ГОСТу-2874–82. Корми – органолептичним способом. *Клініко-фізіологічні:* загальний клінічний стан тварин (поведінка, прийом корму, розмноження, стан серцево-судинної системи, травного тракту) [8, 9]. *Морфологічні:* концентрація гемоглобіну, вміст еритроцитів, гематокрит, лейкоцитів, лімфоцитів – загальноприйнятими методами (В.І. Левченко та інші, 2003) [9]. *Імунологічні:* визначення функціональної оцінки попередників макрофагів (дослідження стану стовбурових клітин-попередників, А-клітини, В.Г. Квачов та інші, 2004) [8]. *Варіаційно-статистичний:* з використанням програми “Excel-97 для Windows (Т.Ф. Лакін, 1990).

Результати досліджень й обговорення. Нами проведені дослідження стану системи периферичної крові білих щурів за обробки 0,5 % розчином дезінфікуючого засобу «Геоцид», результати яких наведені в табл. 1.

Аналіз результатів морфологічних досліджень периферичної крові білих щурів за обробки 0,5 % розчином дезінфектанту «Геоцид» показали, що початкові морфологічні показники у тварин дослідної та контрольної груп знаходилися в межах норми (табл. 1).

Як показали дослідження, загальний вміст гемоглобіну та еритроцитів залишався в межах фізіологічної норми у білих щурів усіх груп до кінця терміну досліджень.

Таблиця 1

Морфологічні показники крові щурів за обробки 0,5 % розчином «Геоцид», (M±m, %, n=10)

Показники	Контрольні тварини	Дослідні тварини			
		Початкові дані	За обробки препаратом через, діб:		
			1	7	30
Гемоглобін, г/л	134,0±4,0	134,0±3,0	133,0±2,0	133,0±2,6	135,0±2,4
Еритроцити, Т/л	7,2±0,3	7,4±0,3	7,3±0,5	7,4±0,3	7,3±0,4
Лейкоцити, Г/л	11,2±0,1	11,4±0,2	11,4±0,4	11,2±0,2	11,2±0,4
Лейкограма:					
базофіли	1,0±0,1	1,0±0,1	1,0±0,2	1,0±0,1	0
еозинофіли	3,0±0,1	2,0±0,8	3,6±0,3*	3,6±0,2*	3,0±0,4
Нейтрофіли:					
мієлоцити	–	–	–	–	–
юні	–	–	–	–	–
паличкаядерні	4,0±0,3	4,0±0,6	3,0±0,2	3,0±0,5	3,0±0,4
сегментоядерні	26,0±2,0	26,0±1,4	27,4±1,4	27,6±1,6	27,8±1,6
лімфоцити	64,1±0,6	64,0±0,5	64,9±0,4	64,0±0,4	65,0±0,6
моноцити	2,0±0,4	2,0±0,1	2,0±0,14	2,0±0,2	2,0±0,6

Примітка, тут і надалі * (P<0,05).

Вміст лейкоцитів у білих щурів дослідної групи через 1, 7 та 30 діб за обробки препаратом «Геоцид» вірогідно не зростає проти початкових показників та показників тварин контрольної групи, що вказувало на добру неспецифічну реактивність організму. Крім того, на цей період часу дослідні щурі відповідали на вплив дезінфікуючого препарату алергічною реакцією, протягом семи

діб, що було засвідчено зростанням кількості еозинофілів в 1,2 рази в порівнянні із показниками контрольної групи тварин та початковими даними відповідно (P<0,05).

Слід зауважити, що всі вище згадані морфологічні зміни в периферичній крові білих щурів за обробки 0,5 % розчином «Геоциду» носили стабільний характер так, як аналогічні дослідження

стану периферичної крові через 7 діб після застосування дезінфектанту показали, що всі показники знаходилися в межах фізіологічної норми та залишалися такими до закінчення терміну експерименту. Результати морфологічних досліджень периферичної крові білих щурів усіх груп через 7 та 30 діб після застосування дезінфікуючого засобу «Геоцид» засвідчували, що всі показники функціонального стану периферичної крові знаходилися в нормі, що вказувало на безпечність та не токсичність досліджуваного дезінфектанту.

Для визначення критерію ефективності дезінфікуючого препарату Геоцид в статусі імунорегулюючого було визначено функціональну оцінку

попередників макрофагів (А-клітин), а саме дослідження стану стовбурових клітин попередників, які мають сформувати клітинну базу імунітету щодо забезпечення імунної відповіді.

В результаті експериментальних досліджень було встановлено, що препарат Геоцид не пригнічує трансформаційну активність стовбурових клітин-попередників макрофагів крові, не знижує кількість активно-фагоцитуючих клітин та потужність фагоцитозу (табл. 2). Так, відсоток макрофагальної трансформації становив $43,20 \pm 5,10$ - дослід проти $53,33 \pm 7,44$ - контроль ($p < 0,05$). Збільшення фагоцитарного індексу (%) становило 1,18 рази та фагоцитарного числа (од.) 1,11 рази ($p < 0,05$).

Таблиця 2

Показники клітинного імунітету білих щурів після застосування 0,5 % розчину «Геоцид» (М±м, n=10, 30- доба)

Група тварин	Показник макрофагальної трансформації (%)	Фагоцитарний індекс (%)	Фагоцитарне число (од.)
Дослідна	$43,20 \pm 5,10^*$	$63,14 \pm 4,57^*$	$6,33 \pm 0,62$
Контрольна 1 (0,5 % формальдегід)	$35,22 \pm 4,17$	$53,33 \pm 7,44$	$5,67 \pm 0,30$
Контрольна 2 (без препарату)	$44,80 \pm 6,20$	$65,41 \pm 5,60^*$	$7,10 \pm 0,54$

Нами експериментально підтверджено, що препарат «Геоцид» не пригнічує імунний потенціал лабораторних тварин, тому є перспективним препаратом в якості дезінфікуючого засобу.

Проведені порівняльні дослідження впливу на імунний статус щурів відомого на ринку дезінфікуючого засобу формальдегіду в ідентичній концентрації показали, що даний препарат впливав супресивно на показники клітинного імунітету тварин. Так, показник макрофагальної трансформації становив $35,22 \pm 4,17$ %, фагоцитарний індекс - $53,33 \pm 7,44$ %, та фагоцитарне число - $5,67 \pm 0,30$ (од.).

Висновки: 1. Морфологічні показники крові щурів за обробки 0,5 % розчином «Геоцид» знаходилися в межах норми.

2. Дослідні щурі відповідали на вплив дезінфікуючого препарату алергічною реакцією, протягом семи діб, що було засвідчено зростанням кількості еозинофілів в 1,2 рази в порівнянні із показниками контрольної групи тварин та початковими даними відповідно ($P < 0,05$).

3. Дезінфікуючий препарат «Геоцид» не пригнічує трансформаційну активність стовбурових клітин-попередників макрофагів крові, не знижує кількість активно-фагоцитуючих клітин та потужність фагоцитозу. Відсоток макрофагальної трансформації становив $43,20 \pm 5,10$ - дослід проти $53,33 \pm 7,44$ - контроль ($p < 0,05$). Збільшення фагоцитарного індексу (%) становило 1,18 рази та фагоцитарного числа (од.) 1,11 рази ($p < 0,05$).

4. Порівняльні дослідження впливу на імунний статус щурів дезінфікуючого засобу формальдегіду в ідентичній концентрації показали, що даний препарат впливав супресивно на фактори неспецифічної резистентності тварин. Показник макрофагальної трансформації становив $35,22 \pm 4,17$ %, фагоцитарний індекс - $53,33 \pm 7,44$ % та фагоцитарне число - $5,67 \pm 0,30$ (од.).

5. Експериментально підтверджено, що 0,5 % розчин Геоциду не пригнічує морфологічні показники крові та імунний потенціал лабораторних щурів, тому є перспективним препаратом в якості дезінфікуючого засобу.

Список використаної літератури:

- Афиногенов Г.Е. Оценка методов изучения эффективности дезинфектантов и антисептиков / Г.Е. Афиногенов, А.А. Домород, М.В. Краснова. – Актуальные проблемы дезинфектологии в профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний. – М.: 2002. – С. – 104–105.
- Дудницкий И.А. Оценка дезинфицирующих средств / И.А. Дудницкий, О.Н. Шувалова // Сельское хозяйство за рубежом. 1977. – № 12. – С. 40–45.
- Соколова Н.Ф. Методические основы определения устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам / Н.Ф. Соколова // Материалы VIII съезда Российского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. М., – 2002. – С. 55–56.
- Інструкція "Ветеринарна дезінфекція, дезодорація, дезінсекція, дезінвазія, дератизація", схвалена та затверджена науково-методичною радою Державного департаменту вет. мед Мінагрополітики України, протокол №3, 23.12.2005 р від 11.01. 2006 р.
- 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.]. – К., 2005. – 18 с.

6. Концепція розробки та використання комплексних дезінфектантів для ветеринарної медицини: Монографія / В.Л. Коваленко, В.В. Недосеков. – К. : 2011. – 146 с.
7. Коваленко В.Л. Актуальні проблеми застосування дезінфікуючих препаратів / В.Л. Коваленко // Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень. – №12. – К. : – 2008. – С. 78–91.
8. Квачов В.Г. Рекомендації дослідження природної резистентності свиней / В.Г. Квачов, А.М. Нікітенко, В.П. Лясота, В.В. Малина, М.В. Козак / Львівська Національна академія ветеринарної медицини ім. С. З. Гжицького, Львів, 2004. – 68 с.
9. Коцюмбас І.Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / І.Я. Коцюмбас, О.Г. Малик, І.П. Петерега, Ю.М. Косенко [та ін.], Львів: Тріада плюс, 2006, – 360 с.
10. Положення про захист хребетних тварин, яких використовують у наукових експериментах. Методичні рекомендації / В.О. Ушкалов, В.В. Чумаченко, В.О. Постоєнко [та ін.], Київ, 2011. – 8 с.

Коваленко В. Л., Лясота В. П., Балацкий Ю. О. Влияние дезинфицирующего препарата «Геоцид» на морфологический и иммунный статус лабораторных животных.

Изучено влияние дезинфицирующего препарата «Геоцид» (0,5 % раствор) на основе полигексаметиленгуанидина гидрохлорида (ПГМГ-ГХ), бензалкония хлорида и дельтаметрина на морфологические показатели крови лабораторных крыс и трансформационную активность костномозговых клеток-предшественников макрофагов крови. Экспериментально подтверждено, что 0,5 % раствор Геоцида не супрессирует морфологические показатели крови и иммунный потенциал лабораторных крыс, поэтому препарат является перспективным в качестве дезинфектанта.

Ключевые слова: дезинфекция, бактерицидный, инсектицид, «Геоцид», морфология крови, фагоцитарный индекс, фагоцитарное число, иммунный потенциал.

Kovalenko V.M., Lyasota V.P., Balatskyi Y.O., The influence of disinfection preparation “Geocid” on the morphological and immunological status of laboratory animals.

The problem of infectious diseases control by disinfecting means is not sufficiently studied. A number of preparations offered in the market are toxic and immunosuppressive agents for the animals. They have a remote effect on the body. The search for the new, more efficient, not harmful and economically justified disinfection means, in particular complex means, remains a problem of modern veterinary medicine.

The topical issue for the problem solution is a study and experimental substantiation of disinfection means impact on the microorganisms, which include surface-active substances, detergents - quaternary ammonium compounds with durable action and high level wetting ability with processed surfaces together with Deltameton(insecticide and acaricide preparation).

The modern achievements in nanotechnologies will allow in the nearest future to consider the nanomaterials as alternative to the harmful, compound disinfection chemicals, which are applied in big quantities in the animal husbandry and poultry breeding for disinfection of the environment. A new direction is set up basing on the nanotechnologies, where the nanometals possess over a big range of biocide action. They show a high biologic activity and they are not toxic. That is why there is a necessity of development of a set of tasks for considering their efficiency control as disinfection means and for their safety for the animals.

Materials and methods. *The pre-clinical investigations of the created disinfectant were carried out in the vivarium of the BilaTserkva national agrarian university. The necessary hygienic conditions were created for the housing of experimental animals. The selection of animals for the experiment was done according to the common standards. 5 animal groups were formed: 3 experimental groups, 10 animals each, their boxes were disinfected by 50 ml of 0,5% “Geocide” solution; one control group with 10 animals, this box was disinfected by 0,5% formaldehyde solution; and another control group without disinfection.*

The laboratory rats were fed during experiment 2-3 times per day at a special time. The main fodder was: wheat, barley, sunflower, mixed fodder. The animals ration was continuously supplied by vitamins, fodder beet and carrot. The animals had abundant amount of water. The experiment duration was 30 days. After the observation period the animals were slaughtered. All the operations and slaughtering were carried out according to the requirements of “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes” (Strasbourg, 1985) and “Regulation on the Protection of Vertebrate Animals used for Scientific Experiments”.

Research methods. *Zootechnic, zoo-hygienic: conventional. Investigation on microclimate data in the housing was carried out twice during the experiment.*

The water investigation was done according to the 2874-82 State Standard. The fodder was studied by organoleptic method.

The following clinical and physiological investigations were done: general clinical condition of animal (behavior, feed consumption, reproduction, cardio-vascular system, digestive tract). The morphological investigations: hemoglobin concentration, erythrocytes content, hematocrit, leucocytes, lymphocytes – by general methods. Immunologic investigations: determination of functional estimation of macrophagesprecursors

(investigation on stem precursor cells, A-cells, V.G. Kachanov and other. Variation-statistic investigation: by means of Excel 97 program for Windows (T.F. Lanin)

Investigation results and discussion. We have studied the peripheral blood system of white rats with disinfection by 0,5% "Geocide", the results are shown in the table 1.

The analysis of peripheral blood system of white rats with disinfection by 0,5% "Geocide" show that the initial morphological data of the experimental and control groups were within the norm (table 1).

As the study shows, the total hemoglobin and erythrocyte content was within the physiological norm in all groups of white rats up to the end of experiment.

The leucocyte content of experimental rats disinfected by "Geocide" after 1, 7 and 30 days was not growing compared to initial data and to the data of the control group. This was evidence of good nonspecific body reactivity. Besides, the experimental rats responded to the disinfection preparation by allergic reaction during 7 days, which was proved by increase of eosinophils number by 1,2 times compared to the data of control animal group and the initial data.

It should be pointed out, that all the above morphological changes in peripheral blood of white rats after disinfection by 0,5% "Geocide" solution were stable, as the similar investigations on peripheral blood after 7 days disinfector application showed that all indexes were within physiological norm and remained so up to the end of experiment. The results of morphological investigations on peripheral blood of white rats in all groups after 7 and 30 days after disinfection by "Geocide" proved that all the indexes of functional condition of peripheral blood were within the norm. This proved that the disinfectant was safe and nontoxic.

To determine the efficiency criteria of disinfection preparation "Geocide" as an immunorehabilitating preparation, the functional estimation of macrophages precursors (A-cells) was carried out and namely the condition of stem precursor cells, which have to form the cell immunity basis for the immune response.

After experimental studies, it was proved that the "Geocide" preparation does not suppress the transformation activity of the stem precursor cells of blood macrophages and it does not decrease the number of actively phagocyte cells and the phagocytosis power (table 2). Thus the percentage of macrophage transformation was $43,2 \pm 5,10$ in the experiment compared to $53,33 \pm 7,44$ in the control group ($p < 0,05$). The increase of phagocyte index (%) was by 1,18 times and that one of phagocyte number (unit) – by 1,11 times ($p < 0,05$).

We have experimentally proved, that the "Geocide" preparation does not suppress the immune potential of the laboratory animals, that is why it has prospects as a disinfection means.

The conducted comparative studies of formaldehyde, a well known on the market disinfection means, and its impact on the immune status of the rats in the same concentration showed that it had a suppressive influence on the animal cells immunity. Thus the index of macrophage transformation was $35,32 \pm 4,17\%$ and the phagocyte number was $5,67 \pm 0,30$ (unit).

Keywords: disinfection, bactericidal, insecticide, "Geotsid" morphology of blood, phagocytic index, phagocytic number, immune potential.

Дата надходження до редакції: 24.07.2014 р.

Рецензент: д.вет.н., професор Фотіна Т.І.