

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ
МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ ІМЕНІ С. З. ГЖИЦЬКОГО

Кваліфікаційна освітньо-наукова
праця на правах рукопису

СОЛТИС МАРІЯ ПЕТРІВНА

УДК 632.953:661.43

ДИСЕРТАЦІЯ

ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА
АНТИБАКТЕРІАЛЬНА ДІЯ ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ ГІПОХЛОРИТУ
НАТРІЮ

211 –ветеринарна медицина

Подається на здобуття наукового ступеня
доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень.
Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання
на відповідне джерело _____ М. П. Солтис
(підпис, ініціали і прізвище здобувача)

Науковий керівник – **Гунчак Василь Михайлович**,
доктор ветеринарних наук, професор, член-кореспондент НААН,
заслужений працівник освіти України

ЛЬВІВ – 2021

АНОТАЦІЯ

Солтис М. П. Фармако-токсикологічна характеристика та антибактеріальна дія препарату на основі гіпохлориту натрію. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття освітньо-наукового рівня доктора філософії за напрямом підготовки 21 – «ветеринарна медицина», спеціальність 211 – «ветеринарна медицина». – Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Міністерства освіти і науки України, Львів, 2021.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню параметрів токсичності, фармакологічних і протимікробних властивостей новоствореного препарату «Вітосепт» та його ефективності за передінкубаційної обробки яєць курей і лікування інфікованих ран у тварин. В основі Вітосепту є розчин високочистого натрію гіпохлориту (ВНГХ), одержаний в спеціально розробленому бездіафрагмовому проточному електролізері, за прямою електрохімічною реакцією, минаючи процес утворення молекулярного хлору. Як вихідний електроліт використовувався ізотонічний розчин натрію хлориду (0,9% NaCl), приготовлений на воді, очищеній за спеціальною технологією. Такі розчини не містять домішок органічних речовин та іонів перехідних металів. Електролізер дозволяє отримувати розчини за струму поляризації від 0,5 А до 3,5 А та за швидкості потоку електроліту від 6,0 – 10,0 л/год.

Встановлено, що Вітосепт є малотоксичним препаратом. Внутрішньошлункове задавання лабораторним щурам і внутрішньочеревне введення визначеної його кількості білим мишам в концентрації 1000 мг/л загибелі тварин не викликало. Будь яких порушень фізіологічних процесів в їх організмі не спостерігали. Препарат істотно не впливав на процеси травлення і сечовиділення. Рефлекторна активність і поведінкові реакції у тварин дослідних

груп були збережені. Відповідно до СОУ 85.2-37-736:2011 досліджуваний засіб належить до 4-го класу токсичності (малотоксичні речовини). При цьому було встановлено, що в умовах підгострого досліду в щурів, які одноразово отримували різну кількість досліджуваного розчину (10, 15 і 20 мл) з концентрацією в ньому 1000 мг/л ВНГХ, маса тіла тварин II і III-ої дослідних груп на 15-у добу досліду як і коефіцієнти маси внутрішніх органів (печінка, селезінка, нирки, серце) були близькими до показників контролю. Досліджувані гематологічні показники знаходились у межах фізіологічних величин. При цьому, у крові щурів групи Д₂ – Д₄ відзначено тенденцію до збільшення на 19,4, 28,6 і 33,7% числа лейкоцитів.

Еритроцитарний індекс інтоксикації у тварин четвертої дослідної групи, якій через зонд задавали найбільший досліджуваний об'єм Вітосепту, вірогідно зростав у понад 2 рази, порівняно із щурами, які в якості контролю отримували ізотонічний (0,9%) розчин натрію хлориду. Така виражена зміна показника інтоксикації є, очевидно, відображенням зростання в крові ендогенних токсинів, які сприяли підвищенню проникності мембран еритроцитів. Препарат «Вітосепт» в досліджуваних дозах проявляв стимулювальний вплив на протеїнсинтезувальні процеси. Вміст загального протеїну в сироватці крові лабораторних тварин другої і третьої дослідних груп мав характерну тенденцію до збільшення. При цьому, нами відзначено вірогідне зростання протеїнів альбумінової фракції в щурів цих груп на 33,2 і 36,4% ($P < 0,05$). Ситуація стосовно глобулінів була протилежною. Із збільшенням досліджуваної дози Вітосепту в сироватці крові щурів відсоток α - і γ -глобулінів різко знижувався і був, швидше за все, ознакою пригнічення імунореактивності та резистентності організму піддослідних тварин.

Подібною, але з певними особливостями була динаміка клініко-функціональних проявів інтоксикації щурів залежно від концентрації Вітосепту після багаторазового внутрішньошлункового його задавання. Так, тварини групи Д₄, які впродовж 30-и діб отримували через зонд 5 мл препарату з концентрацією в ньому 500 мг/л ВНГХ, впродовж першої години після проведеної маніпуляції

були дещо пригнічені, слабше реагували на звукові та світлові подразники, мали порушену рефлекторну збудливість та частий діурез. В подальшому функціональний стан організму повністю нормалізувався. Досліджуючи функціональний стан окремих органів і систем встановлено, що антитоксична функція печінки (за оцінкою тривалості тіопенталового сну) у тварин дослідних третьої і четвертої груп, яким задавали гіпохлоритвмісний препарат в концентрації 100 і 500 мг/л, була в 1,6 і 2 рази ($P < 0,05$) нижчою, порівняно з контролем. Аналогічно, поведінкові реакції цих тварин за оцінкою тесту «відкритого поля» і рівень їх фізичних можливостей (тривалість плавання з 10% навантаженням) знаходились у залежності від концентрації Вітосепту. За оцінкою складу периферичної крові на 20-у добу досліджу з'ясовано, що кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну, гематокритна величина та показники, які характеризують величину і насиченість еритроцитів гемоглобіном (MCH, MCHC, MCV) не зазнавали вірогідних відхилень. На тлі збільшення в крові лабораторних щурів числа лейкоцитів на 42,9% ($P < 0,05$) в лейкограмі тварин четвертої дослідної груп відзначено тенденцію до зростання відсотка моноцитів і навпаки – до зниження відсоткової кількості лімфоцитів. У сироватці крові тварин групи Д₃ вміст загального протеїну вірогідно зменшувався на 5,2% ($P < 0,05$) і більш ніж у 1,5 рази знижувалась активність лужної фосфатази, порівняно з контролем. За найвищої досліджуваної дози препарату «Вітосепт» у крові щурів четвертої групи крім зміни рівня протеїну і активності лужної фосфатази, які продовжували зменшуватися, вірогідно низьким був також вміст білірубину прямого та активність γ -амілази ($P < 0,05$).

Із збільшенням дози препарату і тривалості його надходження відзначено також окремі характерні функціональні відхилення в організмі піддослідних тварин. Так, на тлі зростання на 20-у добу досліджу в сироватці крові тварин четвертої групи активності аспартатамінотрансферази ($P < 0,05$), коефіцієнт Де Рітиса тенденційно знижувався. На пригнічення функціонального стану печінки і нирок у тварин цієї дослідної групи вказувало також зниження в їх крові

концентрації білірубину прямого на 46,2% ($P < 0,05$), сечовини – на 5,1% і креатиніну – на 8,9%, відповідно. Крім того з'ясовано, що у щурів, які отримували Вітосепт в концентрації 100 і 500 мг/л знижувалась протеїнсинтезувальна функція. На 20-у добу досліду в сироватці крові тварин груп Д₃ і Д₄ рівень загального протеїну, порівняно з контролем, був нижчим на 7,6 ($P < 0,05$) і 11,3% ($P < 0,05$).

В умовах хронічного досліду з'ясовано, що макроструктура внутрішніх органів щурів за тривалого надходження різних концентрацій Вітосепту не зазнавала характерних змін, хоч коефіцієнти маси печінки і селезінки тварин четвертої групи, на 20-у добу досліду, були на 14,0 і 39,4% ($P < 0,05$) більшими, порівняно з щурами, які в якості контролю отримували ізотонічний розчин натрію хлориду.

Отже, за тривалого (30 діб) внутрішньошлункового введення лабораторним тваринам Вітосепту в концентрації 50 і 100 мг/л відхилень у досліджуваних морфологічних і біохімічних показниках крові, порівняно з аналогічними у тварин контрольної групи не відзначено. Стосовно тварин четвертої групи, які отримували через зонд найвищу досліджувану дозу препарату (500 мг/л) виявлені окремі вірогідні зміни (зростання в крові числа лейкоцитів, активності АсАт і зменшення активності ЛФ, концентрації в сироватці крові сечовини, креатиніну) носили на нашу думку, компенсаторний характер і зникали впродовж кількох діб після припинення введення препарату.

У результаті проведених досліджень встановлено, що застосування різних концентрацій препарату «Вітосепт» щурам впродовж 30-и діб до та під час вагітності не чинить ембріотоксичної та тератогенної дій. За показниками загальної, до- і постімплантаційної летальності ембріонів у 20-добових плодів відсутні вірогідні зміни в будові і морфометрії внутрішніх органів і тканин, а їх розвиток відповідав строкам вагітності. Вірогідної різниці між плодовитістю самок щурів дослідних і контрольної груп не виявлено.

Оцінюючи протимікробну дію гіпохлоритвмісного біоцидного засобу підтверджено, що Вітосепт має виражені бактерицидну, спороцидну і фунгіцидну дії. При цьому, за місцевого його застосування лабораторним тваринам, не проявляє подразнювальної чи алергенної дії. Ефективність антисептичної та дезінфікуючої дії є залежною як від виду мікроорганізмів так і від концентрації препарату та тривалості контакту. Досліджено, що створений препарат проявляє бактерицидну активність по відношенню до *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans* в концентрації натрію гіпохлориту 130 мг/л. Біоцидна дія щодо ефективного знезараження об'єктів, забруднених грибами (*A. niger*) проявляється за концентрації препарату на рівні 600 мг/л і збільшення тривалості контакту до 3-х і більше годин. Спороцидний ефект (*B. subtilis*) досягається за концентрації діючої речовини 320 і 600 мг/л та обов'язкового підігріву робочого розчину до 50°C і часу контакту не менше 4 год. Встановлено, що дезінфікуючий ефект забезпечується передінкубаційною обробкою яєць курей препаратом «Вітосепт» в концентрації 500 мг/л. За цих умов виводимість курчат, порівняно з партією яєць, оброблених парами формальдегіду, зростає до 97,5%, а збереженість – до 95,7%.

Антисептичну активність та ефективність досліджуваного засобу визначали за лікування експериментальних ран у щурів та інфікованих – у собак. В умовах змодельованих трафаретних ран встановлено, що за швидкістю загоєння та зменшенням площі експериментальних ран у щурів дослідних груп препарат «Вітосепт» не поступався ефективності препарату вибору «Диоксизоль-Дарниця». При лікуванні собак із інфікованими ранами з'ясовано кращий терапевтичний ефект за застосування препарату «Вітосепт», порівняно з фурациліном. Відповідно до проведених досліджень Вітосепт проявляє високу антисептичну дію на ранову мікрофлору, а саме здійснює повне її знешкодження уже до 5-ої доби лікування, що забезпечує швидке очищення ран від гнійно-некротичного детриту, мікроорганізмів і продуктів їх життєдіяльності та створює сприятливі умови для регенерації тканин і сприяє більш швидкому загоєнню ран

у собак. Підтверджено, що на тлі нормалізації клінічного стану та досліджуваних морфологічних і біохімічних показників крові повне загоєння різаних ран в собак на тлі дії Вітосепту настає на 17 ± 1 , рваних – на $18 \pm 0,9$ і комбінованих – на 19 ± 1 доби, що порівняно із групою тварин в яких рани лікували з використанням фурациліну, випереджувало період одужання на, відповідно, 4-9, 6 і 8 діб.

Наукова новизна одержаних результатів. В умовах доклінічних досліджень на лабораторних тваринах вперше досліджено параметри токсичності новоствореного біоцидного засобу на основі ВНГХ, одержаного за спеціально розробленою технологією. За визначення гострої (підгострої) і хронічної токсичності встановлено, що досліджуваний засіб є безпечним в токсикологічному відношенні; не проявляє ембріотоксичного і тератогенного впливу; характеризується відсутністю будь-якої реакції шкіри чи слизових оболонок за умови тривалих його аплікацій. На чистих культурах мікроорганізмів і грибів та за лікування експериментальних (трафаретних) ран у щурів уперше підтверджено високу антисептичну і дезінфікуючу активність Вітосепту. Наукова новизна підтверджена деклараційним патентом на корисну модель №144831 «Спосіб передінкубаційної обробки яєць».

Практичне значення отриманих результатів. За результатами проведених експериментальних досліджень, в тому числі клінічних випробувань, підтверджено, що новий гіпохлоритвмісний препарат «Вітосепт», за відсутності в нього ознак токсичності та побічних явищ, проявляє виражені протимікробну та протигрибкову активність за зовнішнього його застосування.

Встановлено, що досліджуваний бактерицидний засіб у запропонованій схемі є ефективним за лікування інфікованих ран у собак та може бути використаний в якості дезінфектанта за передінкубаційної обробки яєць.

На основі результатів досліджень отримано ТУ України 21.2-02070758-001:2020 на новостворений препарат «Вітосепт».

Матеріали дисертаційних досліджень використовуються студентами, що навчаються за програмами магістерської підготовки з ветеринарної медицини та

слухачами Інституту перепідготовки кадрів АПК за вивчення окремих розділів із курсів «Ветеринарна фармакологія» (антисептичні, дезінфікуючі, протигрибкові засоби), «Ветеринарна хірургія», «Ветеринарна токсикологія» тощо.

Ключові слова: високочистий натрію гіпохлорит (ВНГХ), препарат «Вітосепт», токсикологічні параметри, передінкубаційна обробка яєць, лабораторні тварини, собаки, інфіковані рани.

SUMMARY

Soltys M.P. Pharmacotoxicological characteristics and antimicrobial action of the drug based on sodium hypochlorite. - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation on competition of educational and scientific level of the doctor of Philosophy in the direction of preparation 21 - Veterinary Medicine, specialty 211 - "Veterinary Medicine". - Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology in the name of S.Z. Gzhytsky, Ministry of Education and Science of Ukraine, Lviv, 2021.

The dissertation is devoted to the study of toxicity parameters, pharmacological and antimicrobial properties of the newly created drug «Vitosept» and its effectiveness in pre-incubation treatment of chicken eggs and treatment of infected wounds in animals. Vitosept is based on a solution of high-purity sodium hypochlorite, obtained in a specially designed diaphragm-free flow cell, by a direct electrochemical reaction, bypassing the formation of molecular chlorine. An isotonic solution of sodium chloride (0.9% NaCl) prepared on water purified by a special technology was used as the starting electrolyte. The solutions do not contain impurities of organic substances and ions of transition metals. The cell allows to obtain solutions with a polarization current from 0.5 A to 3.5 A and an electrolyte flow rate of 6.0 l / h up to 10.0 l / year.

Vitosept has been found to be a low-toxic drug. Intra-gastric administration of the drug to laboratory rats and intraperitoneal administration of the drug to white mice at a concentration of 1000 mg/l did not cause death. No violations of physiological processes in their body were observed. The drug did not significantly affect the processes of digestion and urination. Reflex activity and behavioral responses in animals of the experimental groups were preserved. According to Ukrainian Organization Standard (UOS) 85.2-37-736: 2011 the investigated means belongs to the 4th class of toxicity (low-toxic substances). It was found that in the conditions of subacute experiment in rats, which once received a different amount of test solution (10, 15 and 20 ml) with a concentration of 1000 mg / l of high-purity sodium hypochlorite, body weight of animals II and III experimental groups on the 15th day of the experiment as well as the coefficients of mass of internal organs (liver, spleen, kidneys, heart) were close to control values. The studied hematological parameters were within physiological values. At the same time, in the blood of rats of group D₂ – D₄ there was a tendency to increase by 19.4, 28.6 and 33.7% the number of leukocytes.

The erythrocyte intoxication index in animals of the fourth experimental group, which was given the largest volume of Vitosept studied through the probe, probably increased more than 2 times, compared with rats, which received isotonic (0.9%) sodium chloride solution as a control. Such a pronounced change in the rate of intoxication is obviously a reflection of the growth in the blood of endogenous toxins, which contributed to increased permeability of erythrocyte membranes. The drug «Vitosept» in the studied doses had a stimulating effect on protein synthesis. The content of total protein in the serum of laboratory animals of the second and third experimental groups had a characteristic tendency to increase. At the same time, we noted a probable increase in albumin fraction proteins in these groups of rats by 33.2 and 36.4% (P <0.05). The situation with globulins was the opposite. With increasing study dose of Vitosept in the serum of rats, the percentage of α and γ -globulins decreased sharply and was most likely a sign of suppression of immunoreactivity and resistance of the experimental animals.

The dynamics of clinical and functional manifestations of rat intoxication depending on the concentration of Vitosept after repeated intragastric administration was similar, but with certain features. Thus, animals of group D₄, which for 30 days received through a probe 5 ml of the drug with a concentration of 500 mg / l of high-purity sodium hypochlorite, during the first hour after the manipulation were somewhat depressed, less responsive to sound and light stimuli, had impaired reflex excitability and frequent diuresis. Subsequently, the condition of their organs was completely normalized. Examining the functional state of individual organs and systems, it was found that the antitoxic function of the liver (according to the duration of thiopental sleep) in experimental animals of the third and fourth groups, who were given a hypochlorite-containing drug at a concentration of 100 and 500 mg / l, was 1.6 and 2 times ($P < 0,05$) lower compared to control. Similarly, the behavioral responses of these animals according to the "open field" test and the level of their physical capabilities (duration of swimming with a 10% load) were dependent on the concentration of Vitosept. According to the assessment of the composition of peripheral blood on the 10th day of the experiment, it was found that the number of erythrocytes, hemoglobin content, hematocrit and indicators that characterize the size and saturation of erythrocytes with hemoglobin (MSN, MCNS, MCV) did not deviate significantly. Against the background of an increase in the blood of laboratory rats by the number of leukocytes by 42.9% ($P < 0.05$) in the leukogram of animals of the fourth experimental group showed a tendency to increase the percentage of monocytes and vice versa to reduce the percentage of lymphocytes. In the serum of animals of group D₃, the content of total protein was significantly reduced by 5.2% ($P < 0.05$) and more than 1.5 times decreased alkaline phosphatase activity compared with the control. At the highest study dose of Vitosept in the blood of rats of the fourth group, in addition to changes in protein levels and alkaline phosphatase activity, which continued to decrease, the bilirubin direct and γ -amylase activity was probably also low ($P < 0.05$).

With increasing dose of the drug and the duration of its receipt, there were also some characteristic functional abnormalities in the body of experimental animals. Thus,

against the background of growth on the 20th day of the experiment in the serum of animals of the fourth group of aspartate aminotransferase activity ($P < 0.05$), the De Ritis coefficient tended to decrease. The suppression of the functional state of the liver and kidneys in animals of this experimental group also indicated a decrease in their blood concentration of bilirubin direct by 46.2% ($P < 0.05$), urea - by 5.1% and creatinine - by 8.9%, in accordance. In addition, it was found that rats treated with Vitosept at a concentration of 100 and 500 mg / l decreased protein synthesis. On the 20th day of the experiment in the serum of animals of groups D₃ and D₄, the level of total protein, compared with the control, was lower by 7.6 ($P < 0.05$) and 11.3% ($P < 0.05$).

In the chronic experiment, it was found that the macrostructure of the internal organs of rats with long-term intake of different concentrations of Vitosept did not undergo significant changes, although the coefficients of liver and spleen of animals of the fourth group on the 20th day of the experiment were 14.0 and 39.4% ($P < 0,05$) are larger compared to rats treated with isotonic sodium chloride solution as a control.

Therefore, during long-term (30 days) intragastric administration to laboratory animals Vitosept at a concentration of 50 and 100 mg / l deviations in the studied morphological and biochemical parameters of blood, compared with similar animals in the control group were not observed. In the case of animals of the fourth group, which received through the probe the highest studied dose of the drug (500 mg / l) revealed some probable changes (increase in blood leukocytes, AST activity and decrease in ALP activity, serum concentrations of urea, creatinine) were in our opinion, compensatory nature and disappeared within a few days after discontinuation of the drug.

As a result of the conducted researches it was established that the use of different concentrations of the drug «Vitosept» in rats during 30 days before and during pregnancy does not have embryotoxic and teratogenic effects. According to the indicators of total, pre- and postimplantation mortality of embryos in 20-day-old fetuses there are no probable changes in the structure and morphometry of internal organs and

tissues, and their development corresponded to the gestation period. A significant difference between the fertility of female rats of the experimental and control groups was not found. Evaluating the antimicrobial action of hypochlorite-containing biocidal product, it was confirmed that Vitosept has pronounced bactericidal, sporocidal and fungicidal effects. In this case, when applied topically to laboratory animals does not show irritating or allergenic effects. The effectiveness of antiseptic and disinfectant action depends on the type of microorganisms, the concentration of the drug and the duration of contact. It was investigated that the created drug shows bactericidal activity against *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans* in the concentration of sodium hypochlorite 130 mg / l. The biocidal effect of effective disinfection of objects contaminated with fungi (*A. niger*) is manifested at a concentration of 600 mg / l and increasing the duration of contact to 3 hours or more. The sporocidal effect (*B. subtilis*) is achieved at concentrations of the active substance 320 and 600 mg / l and mandatory heating of the working solution to 50 ° C and contact time of at least 4 hours. It was found that the disinfectant effect is provided by pre-incubation treatment of chicken eggs with the drug «Vitosept» at a concentration of 500 mg / l. Under these conditions, the hatchability of chickens, compared with a batch of eggs treated with formaldehyde vapor, increases to 97.5%, and safety - up to 95.7%.

The antiseptic activity and efficacy of the study agent were determined in the treatment of experimental wounds in rats and infected wounds in dogs. In the conditions of simulated stencil wounds it was found that the speed of healing and reduction of the area of experimental wounds in rats of experimental groups, the drug «Vitosept» was not inferior to the effectiveness of the drug of choice «Dioxyzol-Darnitsa». In clinical trials of Vitosept in dogs, it was found that it provides effective antimicrobial and wound-cleansing action in the treatment of infected wounds, promotes the development of granulation tissue in the wound and its epithelialization. It is confirmed that against the background of normalization of the clinical condition of the studied morphological and biochemical parameters of blood, complete healing of cut wounds in dogs occurs at 17±1, torn - at 18±0.9 and combined - at 19±1 days, compared with a group of

animals in whose wounds were treated with chlortetracycline ointment, preceded the recovery period by, respectively, 4-9, 6 and 8 days.

Scientific novelty of the obtained results. In the conditions of preclinical researches on laboratory animals the parameters of toxicity of the newly created biocide on the basis of high-purity sodium hypochlorite, received by specially developed technology are investigated for the first time. In the determination of acute (subacute) and chronic toxicity, it was found that the study drug is safe in toxicological terms; does not show embryotoxic and teratogenic effects; characterized by the absence of any reaction of the skin or mucous membranes, subject to prolonged applications. For the first time, high antimicrobial and antifungal activity of Vitosept was confirmed in pure cultures of microorganisms and fungi and in the treatment of experimental (stencil) wounds in rats. The scientific novelty is confirmed by the declaratory patent for the utility model №144831 «Method of pre-incubation treatment of eggs».

The practical significance of the results. The practical significance of the results. According to the results of experimental studies, including clinical trials, it was confirmed that the new hypochlorite-containing drug «Vitosept», in the absence of signs of toxicity and side effects, shows pronounced antimicrobial and antifungal activity when applied externally.

It was found that the studied bactericidal agent in the proposed scheme is effective in the treatment of infected wounds in dogs and can be used as a disinfectant for pre-incubation treatment of eggs.

Based on the research results, the Technical Specification of Ukraine 21.2-02070758-001: 2020 for the newly created drug «Vitosept» was obtained.

Materials of dissertation researches are used by students studying on programs of master's preparation on veterinary medicine and listeners of Institute of retraining of personnel of agrarian and industrial complex for studying of separate sections of courses «Veterinary pharmacology» (antiseptic, disinfectants, antifungals), «Veterinary surgery», «Veterinary surgery», «Veterinary toxicology», etc .

Key words: high-purity sodium hypochlorite, Vitosept drug, toxicological parameters, pre-incubation treatment of eggs, laboratory animals, dogs, infected wounds

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних

1. **Солтис М.П.**, Гунчак В.М. До вивчення токсикологічних параметрів препарату «Вітосепт» за умов гострої токсичності. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З.Гжицького, 2018. Т.20, №88. С.115-119. doi:10.32718/nvlvet8821. *(Дисертантка виконала експериментальні дослідження, проаналізувала отримані результати, підготувала статтю до друку).*

2. **Солтис М.П.** Морфологічні та біохімічні показники крові щурів за довготривалої дії препарату «Вітосепт». Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З.Гжицького. Серія: Ветеринарні науки, 2019. Т.21. №94. С. 109-114. doi:10.32718/nvlvet9420.

3. **Soltys M. P.**, Rudyk H. V., Gunchak V. M., Gutyi B. V. Embryotoxic and teratogenic effects of Vitosept on white rats. Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety. Volume 5, Issue 4, 2019. P. 22-26. doi 10.36016/JVMBBS-2019-5-4-6. *(Дисертантка виконала експериментальні дослідження, провела статистичну обробку отриманих результатів, підготувала статтю до друку).*

4. **Солтис М. П.**, Гунчак В. М., Рудик Г.В., Васів Р. О. Динаміка морфологічних і біохімічних показників у крові білих мишей за дії препарату «Вітосепт». Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З.Гжицького. Серія: Ветеринарні науки, 2020. Т. 22, №99. С. 167-172. doi:10.32718/nvlvet9925.

Статті у наукових фахових виданнях України, включених до переліку ДАК України

5. **Солтис М.П.** Ефективність препарату «Вітосепт» за передінкубаційної обробки яєць. Науково-технічний бюлетень ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин. Львів, 2019. Вип. 20, №2. С. 324-330. doi:10.36359/scivp.2019-20-2.42.

Статті у періодичних наукових виданнях держав Європейського Союзу.

6. **Soltys M.P** , Gunchak V.M , Rudyk G.V, Gutiy B.V , Brezvin O.M , Vasiv R.O. To assess the biocidal action of the drug based on sodium hypochlorite. Colloguium journal №30 (82), 2020 (Warszawa, Polska). P. 11-17. *(Дисертантка виконала експериментальну частину роботи, провела обробку та аналіз цифрових даних, підготувала статтю до друку).*

Патенти України на корисну модель

7. Гунчак В.М., **Солтис М.П.**, Гутий Б.В. (Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького). Спосіб передінкубаційної обробки яєць. Патент України на корисну модель №144831; опубл. 26.10. 2020, бюл. №20. *(Дисертантка провела дослідження, отримала нові дані та брала участь в оформленні документів на патент).*

Технічні умови на препарат

8. Технічні умови на препарат «Вітосепт» ТУ У 21.2-02070758-001:2020. Брезвин О.М., Гунчак В.М., **Солтис М.П.**, Рудик Г.В., Курилас Л.В. *(Дисертантка виконала експериментальну частину роботи та брала участь у розробці технічних умов).*

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ І СКОРОЧЕНЬ

АлАТ – аланін-амінотрансфераза

АсАТ – аспартат-амінотрансфераза

Б.А. – бичачий альбумін

ВНГХ – високочистий натрію гіпохлорит

ДНДКІ ветпрепаратів і кормових добавок – Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів і кормових добавок (м.Львів)

КУО – колонієутворюючі одиниці

ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького – Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

ЛФ – лужна фосфатаза

МПА – м'ясо-пептонний агар

НГХ – натрію гіпохлорит

ПАР – поверхнево-активні речовини

ЧАС – четвертинні амонійні сполуки

	Стор.
ЗМІСТ	
АНОТАЦІЯ	2-14
СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ	15-16
ЗМІСТ	18-19
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ І СКОРОЧЕНЬ	17
ВСТУП	20-25
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	26
1.1. Біоцидні засоби. Загальна характеристика, механізм дії та застосування	26-33
1.2. Антисептична терапія за лікування ран у тварин	33-36
1.3. Гіпохлорити. Перспектива застосування у ветеринарній медицині	36
1.3.1. Особливості електрохімічної технології отримання гіпохлоритів	36-39
1.3.2. Гіпохлорит натрію. Фізико-хімічні властивості, біологічна дія та фармакологічна активність	40-48
РОЗДІЛ 2. ВИБІР НАПРЯМКІВ ДОСЛІДЖЕНЬ. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	49
2.1. Експериментальні тварини, схеми та методика дослідів	49-63
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	64
3.1. Токсикологічні параметри препарату «Вітосепт» за вивчення підгострої токсичності в щурів і білих мишей	64-68
3.2. Оцінка токсичності Вітосепту за його впливу на організм лабораторних щурів в умовах хронічного досліді	69
3.2.1. Функціональний стан та поведінкові реакції організму щурів за впливу Вітосепту	69-73
3.2.2. Морфологічні та біохімічні показники крові щурів за тривалої дії препарату «Вітосепт»	74-80
3.2.3. Місцево- і шкірно-подразнювальна та алергенна дія препарату «Вітосепт»	80-81

3.2.4.Макроструктура окремих внутрішніх органів щурів за тривалого поступлення Вітосепту	81-83
3.2.5. Ембріотоксична та тератогенна дія препарату «Вітосепт» на організм білих щурів	83-86
3.3. Параметри хронічної токсичності препарату «Вітосепт» в інтактних білих мишей за оцінкою загального стану, маси тіла та гематологічних і біохімічних показників крові	86-92
3.4. Дослідження біоцидних (бактерицидних, спороцидних, фунгіцидних) властивостей препарату «Вітосепт»	92-104
3.5. Ефективність препарату «Вітосепт» за оцінкою загоєння експериментальних ран у щурів	104-108
3.6.Дезінфікуюча дія препарату «Вітосепт» за передінкубаційної обробки яєць	108-111
3.7. Протимікробна дія Вітосепту та його ефективність за лікування собак з інфікованими ранами	111-121
РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ	122-138
ВИСНОВКИ	139-141
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	142
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ	143-168
ДОДАТКИ	168-175

ВСТУП

Актуальність теми. Екологічна безпека виробництва продуктів тваринництва набуває все більшої актуальності. Хімічні сполуки або їх активні діючі компоненти можуть кумулюватися в молоці, м'ясі, яйцях, різних видах меду та створювати небезпеку для здоров'я людини. З урахуванням цього створювані нові технології ветеринарно-санітарної безпеки мають забезпечувати своєчасну та якісну профілактику і лікування захворювань тварин [1-3].

Арсенал ветеринарних препаратів, зокрема протимікробних в Україні є досить обширним [4-9]. Антисептичні і дезінфікуючі препарати, які разом із консервантами сьогодні об'єднані під терміном «біоциди», мають, у своїй переважній більшості, визначальну роль у забезпеченні антибактеріальної активності як на шкірі, слизових оболонках тварин, так і на об'єктах довкілля. При цьому необхідно констатувати, що не всі такі засоби є абсолютно безпечними. Вони різняться між собою за багатьма ознаками, однак визначальними при цьому є фізико-хімічні властивості, спектр протимікробної активності та стійкість препарату до вироблення резистентності [10].

В останні роки в тваринництві все частіше застосовують препарати на основі натрію гіпохлориту (НГХ). Саме широкий спектр його протимікробної дії, бактерицидні, спороцидні та фунгіцидні властивості відкривають широкі можливості для його застосування у ветеринарній медицині як ефективного біоцидного засобу, що не володіє шкідливою дією на навколишнє середовище, не викликає ускладнень і побічних явищ, не проявляє мутагенних та канцерогенних впливів [11-17].

Гіпохлорити або солі хлорноватистої кислоти мають свою давню лікувальну історію. Особливий поштовх до їх примінення в галузі гуманної і ветеринарної медицини відбувся за розробки сучасних технологій виробництва високочистих і стабільних розчинів. Їх отримання в промислових умовах

досягається, як правило, електрохімічним методом, зокрема шляхом електролізу розчинів натрію хлориду [18, 19].

Нами в своїх дослідженнях використано розчин високочистого натрію гіпохлориту (ВНГХ), одержаний з допомогою бездіафрагмового проточного електролізера.

Всі вищі багатоклітинні організми, включаючи людину, синтезують в особливих клітинних структурах гіпохлоритну кислоту та високоактивні оксигенвмісні сполуки для утилізації сторонніх мікроорганізмів і токсичних речовин. Новостворений препарат, на основі ВНГХ, під назвою «Вітосепт» за своїм складом і дією близький до таких метастабільних сполук, які виконують бактерицидні функції поліморфноядерних і нейтрофільних лейкоцитів, що дозволяє говорити про його природність і фізіологічність, а застосування в практиці ветеринарної медицини віднести до екологічно безпечних немедикаментозних методів лікування [12].

За повідомленнями багатьох науковців [18, 20, 21] параметри активності розчинів натрію гіпохлориту, отриманих на різних електролізерах різняться. Тому, з'ясування безпечності таких препаратів, дослідження бактерицидних, спороцидних, фунгіцидних властивостей та вивчення впливу їх різних концентрацій на організм як хворих, так і здорових тварин є особливо актуальним, як в науковому так і в практичному аспекті.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом експериментальних досліджень, які були проведені у 2017-2021 роках на кафедрі фармакології та токсикології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького відповідно до теми «Розробка та впровадження нових екологічно безпечних ветеринарних препаратів та кормових добавок для тварин і птиці, що мають протимікробну, імуностимулювальну, антинеопластичну, протипаразитарну, антиоксидантну та дезінтоксикаційну дію» (номер держреєстрації – ДР0116U00426, 2016-2020 рр.).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було встановити токсикологічні, фармакологічні і протимікробні властивості препарату «Вітосепт» та його ефективність за передінкубаційної обробки яєць і лікування ран у тварин.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- в умовах доклінічних досліджень на лабораторних тваринах встановити параметри гострої (підгострої) і хронічної токсичності Вітосепту;
- визначити загальний стан, поведінкові і функціональні реакції організму тварин на дію різних концентрацій гіпохлоритвмісного препарату;
- з'ясувати вплив різних концентрацій гіпохлориту натрію в складі Вітосепту на морфологічні і біохімічні показники крові піддослідних тварин;
- дослідити макроскопічну оцінку внутрішніх органів та встановити коефіцієнти їх маси у лабораторних тварин за тривалого внутрішньошлункового введення Вітосепту;
- в умовах хронічного дослідження на білих щурах з'ясувати ембріотоксичні і тератогенні властивості ВНГХ;
- встановити фармакологічні властивості, шкірно-резорбтивну, місцеву та алергенну дію гіпохлоритвмісного препарату за його зовнішнього застосування;
- на культурах мікроорганізмів і грибів з'ясувати бактерицидні, спороцидні і фунгіцидні властивості Вітосепту;
- визначити протимікробну активність та лікувальну ефективність препарату «Вітосепт» за лікування експериментальних (трафаретних) ран у щурів;
- дослідити дезінфікуючу активність досліджуваного засобу за передінкубаційної обробки яєць курей;
- з'ясувати вплив препарату «Вітосепт» на організм собак за лікування інфікованих ран.

Об'єкт досліджень – новостворений на основі ВНГХ препарат «Вітосепт», його безпечність та ефективність за використання у практиці ветеринарної медицини.

Предмет досліджень – показники, що характеризують гостру (підгостру) і хронічну токсичність досліджуваного засобу, фармакологічні і біоцидні властивості та визначають його лікувальну ефективність.

Методи дослідження – токсикологічні (визначення DL_{50} , загальний стан, поведінкові і функціональні реакції, антитоксична функція печінки, макроскопія та коефіцієнти маси внутрішніх органів, ембріо- та тератотоксичність); фармакологічні (шкірно-резорбтивна, шкірно-подразнювальна, алергенна дія); мікробіологічні (бактерицидна, спороцидна, фунгіцидна дія); гематологічні (вміст гемоглобіну, гематокритна величина, кількість еритроцитів і лейкоцитів, лейкограма; показники, що визначають величину і насиченість еритроцитів гемоглобіном, еритроцитарний індекс інтоксикації); біохімічні (рівень загального протеїну та його фракційний склад, концентрація глюкози, загального холестеролу, сечовини, креатиніну в сироватці крові, активність ензимів АЛАТ, АсАТ, ЛФ); клінічні (анамнез, клінічний огляд); статистичні (біометрична обробка результатів експериментальних досліджень).

Наукова новизна одержаних результатів. В умовах доклінічних досліджень на лабораторних тваринах вперше досліджено параметри токсичності новоствореного біоцидного засобу на основі ВНГХ, одержаного за спеціально розробленою технологією. За визначення гострої і хронічної токсичності встановлено, що досліджуваний засіб є безпечним в токсикологічному відношенні; не проявляє ембріотоксичного і тератогенного впливу; характеризується відсутністю будь-якої реакції шкіри чи слизових оболонок за умови тривалих його аплікацій. На чистих культурах мікроорганізмів і грибів та за лікування експериментальних (трафаретних) ран у щурів уперше підтверджено високу протимікробну і протигрибкову активність Вітосепту.

Наукова новизна підтверджена патентом на корисну модель: Гунчак В.М., Солтис М.П., Гутий Б.В. (Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького). Спосіб передінкубаційної обробки яєць. Патент України на корисну модель №144831; опубл. 26.10. 2020, бюл. №20.

Практичне значення отриманих результатів. За результатами проведених експериментальних досліджень, в тому числі клінічних випробувань, підтверджено, що новий гіпохлоритвмісний препарат «Вітосепт», за відсутності в нього ознак токсичності та побічних явищ, проявляє виражені протимікробну та протигрибкову активність за зовнішнього його застосування. Встановлено, що досліджуваний бактерицидний засіб у запропонованій схемі є ефективним за лікування інфікованих ран у собак та може бути використаний в якості дезінфектанта за передінкубаційної обробки яєць курей.

На основі результатів досліджень отримано ТУ України 21.2-02070758-001:2020 на новостворений препарат «Вітосепт».

Матеріали дисертаційних досліджень використовуються студентами, що навчаються за програмами магістерської підготовки з ветеринарної медицини та слухачами Інституту перепідготовки кадрів АПК за вивчення окремих розділів із курсів «Ветеринарна фармакологія» (антисептичні, дезінфікуючі, протигрибкові засоби), «Ветеринарна хірургія», «Ветеринарна токсикологія» тощо.

Особистий внесок здобувач. Дисертантка самостійно провела пошук і аналіз джерел літератури, оформила патентний пошук. Нею запропоновано загальну схему досліджень та опрацьовано хід проведення окремих експериментів, освоєно методичні прийоми і методики досліджень, виконано весь обсяг запланованих експериментальних робіт, проведено аналіз та статистичну обробку отриманих результатів, підготовлено наукові статті до публікації та дисертаційну роботу до захисту. Обговорення отриманих результатів, формулювання висновків та пропозицій проведено за участю

наукового керівника – доктора ветеринарних наук, професора, член-кор. НААН Гунчака Василя Михайловича.

Апробація результатів досліджень. Основні положення та результати дисертаційної роботи доповідались та отримали схвалення на щорічних наукових звітах на засіданні науково-технічної та Вченої ради Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького (2017-2020 рр); конференції «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактики у ветеринарній медицині» (Львів, 29-30 жовтня 2018 р.), VII і VIII-ій Міжнародних науково-практичних конференціях «Ветеринарні препарати: розробка, контроль якості та застосування» (ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок, м. Львів, 4-6 жовтня 2017 р. і 1-4 жовтня 2019р.), Міжнародній науковій конференції «Львівсько-Вроцлавська ветеринарна школа» (м. Львів, 14-15 листопада 2019 р.).

Публікації. Результати дисертаційної роботи опубліковані в 8 наукових працях, серед яких 5 – у фахових виданнях, що входять до переліку, затвердженого ДАК України (в т.ч. 4 – у виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз даних), 1 – стаття у міжнародному періодичному виданні, 1 – патент України на корисну модель, 1 – ТУ України на препарат «Вітосепт».

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.

1.1. Біоцидні засоби. Загальна характеристика, механізм дії та застосування

Антисептичні та дезінфікуючі препарати є одними із найбільш поширених протимікробних засобів у практиці ветеринарної медицини. Останнім часом їх разом із консервантами прийнято іменувати як «біоциди» [16, 17].

Поділ препаратів на антисептики і дезінфікуючі є відносним. У класичному розумінні механізмів дії антисептики і дезінфектанти мають багато спільного. Відмінність полягає, здебільшого, у визначенні об'єкта застосування. Так, про антисептичну дію говорять за умови знешкодження мікроорганізмів на шкірі, слизовій оболонці чи на рановій поверхні тварин. Дезінфікуючі препарати чинять бактерицидну чи бактеріостатичну дію на об'єкти зовнішнього середовища (збруя тварин, годівниці, приміщення і т.д.). Хоч необхідно визнати, що цей поділ є доволі умовним, оскільки одні і тіж речовини можуть проявляти свій протимікробний ефект як на тварин, так і на середовище в якому вони знаходяться [24-26]. Антисептики в більш високих концентраціях можуть бути використані як засоби для дезінфекції приміщень, обладнання м'ясних цехів та молочних кухонь тощо. Для примінення антимікробних речовин в якості антисептиків важливо, щоб вони не подразнювали тканини [22, 23].

Ринок біоцидних засобів в Україні на сьогодні представлений широким асортиментом препаратів, більшість з яких в якості діючої субстанції мають одну чи кілька високоактивних хімічних сполук [4-6, 10, 27, 28].

Станом на 01.01. 2015 року в Україні було зареєстровано 77 ветеринарних дезінфікуючих засобів, з них 35 вітчизняного і 42 – зарубіжного виробництва [5]. За повідомленням з Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів і кормових добавок число таких протимікробних засобів в Україні

постійно зростає і на сьогоднішній день (на 01.01.2020 р) коливається в межах 107-110 [29]. При цьому необхідно відзначити, що ефективність застосування того чи іншого біоцидного засобу визначається його діючою субстанцією, зокрема її хімічною структурою, фізико-хімічними та фармакологічними властивостями. Важливими чинниками є концентрація препарату або його діючої субстанції, тривалість контакту засобу з об'єктом дії, стан тваринного організму. Впливає на антисептичну активність також і ступінь мікробного забруднення. У середовищі із значною кількістю мікроорганізмів протимікробна дія навіть визнаних біоцидів буде слабшою, ніж у середовищі де їх менше [30].

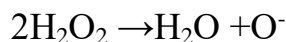
Н.О. Проскудіна (2016) у своїй оглядовій статті [5] визначає, що серед дезінфектантів, які на сьогодні активно використовуються в практиці ветеринарної медицини і тваринництва, багато засобів в якості діючої речовини містять альдегіди і діальдегіди (формальдегід, гліоксалевий та глютаровий альдегід); феноли, крезолі і їх похідні; кислоти, луги та їх солі (фосфорна кислота, каустична та кальцинована сода); спирти та спиртовмісні речовини; галогеноподібні речовини (хлорамін, хлорпохідні гідантоїну, гіпохлорити, похідні ціануронової кислоти, йод); перекисні сполуки (окиснювачі) – пероксид гідрогену, надоцтова та надмолочна кислоти та їх солі тощо.

Класичними, і в якісь мірі традиційними засобами для дезінфекції в Україні, впродовж кількох останніх століть, є галогени. Препарати хлору і найчастіше хлорне вапно, гіпохлорити та хлорамін через наявну в них високу активність до більшості видів патогенних мікроорганізмів є широко вживаними як у гуманній, так і у ветеринарній медицині. При цьому необхідно враховувати, що вони не позбавлені ефектів, які є небажаними за нанесення їх на шкіру чи слизові оболонки. На думку науковців та практикуючих лікарів активний хлор, який власне і проявляє бактерицидний ефект, діє подразнювально на слизові оболонки очей та верхніх дихальних шляхів. Слабка розчинність та нестабільність водних розчинів обмежує широке застосування гіпохлоритів кальцію і натрію. Ефективні за оцінкою протимікробної дії лише концентровані

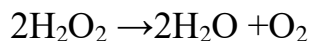
розчини гіпохлоритів, але вони у такому вигляді, на думку окремих дослідників, є надто лабільними а економічна складова проведеної дезінфекції не завжди оправдована [31, 32].

Протимікробна дія Йоду ґрунтується на тому, що він вступає в реакцію з Гідрогеном води і вивільняє атомарний Оксиген, який будучи сильним окиснювачем згубно діє на мікроорганізми. При цьому атомарний Йод денатурує білки, і в першу чергу ті, що накопичуються в патологічно змінених тканинах та прискорює їх розклад і розсмоктування. Йод, як і Хлор будучи галогенами свій бактерицидний чи бактеріостатичний ефект проявляють через взаємодію з аміногрупами протоплазми мікробів, спричиняють коагуляцію їх структурних білків, оскільки ці хімічні реагенти витісняють Гідроген з амінокислот [22, 34].

До групи окисників належать препарати Оксигену, зокрема гідрогену пероксид та калію перманганат. Основним в механізмі дії цих протимікробних засобів є здатність віддавати Оксиген. При цьому гідрогену пероксид розкладаються з виділенням молекулярного, а калію перманганат – атомарного Оксигену. Зазначені препарати окиснюють білки протоплазми мікроорганізмів, спричиняючи їх загибель. Гідрогену пероксид розкладається на Оксиген за участі ензимів пероксидази і каталази. Пероксидазний тип цієї біохімічної реакції більш характерний за умови відсутності в рані гною, крові, змертвілих тканин. За цих умов його розщеплення відбувається за реакцією:



За нанесення препарату на гнійну рану процес утворення Оксигену йде за дещо іншим, а саме каталазним типом:



У цьому випадку процес виділення Оксигену характеризується утворенням піни, яка механічно вимиває на поверхню гній, згустки крові та відмерлі тканини, сприяє очищенню рани та прискоренню процесів грануляції [34]. Однак, за повідомленням ряду вчених препарати цієї групи не завжди відзначаються високою ефективністю. Так, традиційно вживані водні розчини перекису водню

(3%) і калію перманганату (0,1%) добре забезпечують санацію лише свіжих ран. Їх антисептичний ефект, на жаль, часто обмежується рановою поверхнею і не розповсюджується вглиб інфікованих тканин. Як, і більшість антисептиків (фурацилін, хлорамін Б, хлоргексидину біглюконат, баліз, етакридину лактат) вони мають вузький спектр протимікробної дії [35, 36].

Окремі дослідники звертають увагу на те, що одні бактерицидні речовини діють цілою молекулою, інші – іонами. Додавання неорганічних солей до речовин, які діють цілою молекулою, посилює їх дезінфікуючий ефект, а до діючих іонами – послаблює [33].

В сучасних умовах, коли за технологічних умов вирощування є потреба у проведенні профілактичних заходів за присутності в приміщенні тварин, як правило застосовують дезінфектанти на основі пероксиду водню. Їх перевагою, порівняно з іншими препаратами є відсутність запаху.

За повідомленням Р.О. Димко і співавт. (2015) сучасні антисептики і дезінфектанти найбільш часто містять у своєму складі четвертинні амонійні сполуки (ЧАС), киснев- і хлорвмісні компоненти, гуанідини тощо [30]. Четвертинні амонійні сполуки за своєю хімічною структурою є альдегідами мурашиної кислоти. Вони володіють відносно сильними окиснювальними властивостями. Як і класичні препарати вони відбирають Оксиген від білків протоплазми мікроорганізмів, що спричиняє їх загибель (наприклад, глютаровий альдегід) [39]. Хімічні сполуки цієї фармакологічної групи, які використовують для антисептики та дезінфекції у практиці ветеринарної медицини є, зазвичай, похідними алкілдиметилбензиламонію хлориду, діоктилметиламонію хлориду і дідецилметиламонію хлориду. Механізм бактерицидної дії цих діючих начал полягає в руйнуванні первинної структури мікробної клітини та наступними змінами їх властивостей і структури [38].

Препарати аліфатичного ряду (спирт етиловий, формальдегід) теж широко застосовують у ветеринарній медицині як засоби антисептичної та дезінфікуючої дії. Тут механізм протимікробної дії пов'язують із здатністю таких речовин

відбирати воду з протоплазми мікроорганізмів, викликаючи цим денатурацію внутрішньоклітинних білків. Крім того, у механізмі бактерицидної дії формальдегіду важливою є також його здатність відбирати Оксиген, приєднуватись до аміногруп білків та їх осаджувати, викликаючи загибель різноманітних мікроорганізмів [34, 40].

Для альдегідів (гліоксаль, глутаральдегід) також характерна виражена бактерицидна, віруліцидна, фунгіцидна та спороцидна дії. Визначальним у механізмі їх протимікробного ефекту є алкілювання та меркапто-, гідроксі- і карбоксилування аміногруп РНК і ДНК та білків мікроорганізмів, що призводить до пригнічення в них білоксинтезувальних процесів і нездатності до розмноження, що в кінцевому результаті призводить до загибелі мікроорганізмів [22, 34].

Більшість дослідників вважають, що на сьогодні кращими біоцидами в гуманній і ветеринарній медицині є препарати, що містять у своєму складі поверхнево-активні речовини (ПАР). Їхній механізм протимікробної дії пов'язаний із зниженням поверхневого натягу, порушенням проникності мембран мікроорганізмів, їх осмотичної рівноваги, азотного, вуглеводного обміну. ПАР активують протеолітичні ензими, лізис і загибель бактеріальної клітини [41, 42]. До числа найбільш ефективних широковживаних препаратів із цієї групи належить розчин хлоргексидину біглюконат (0,05%). Останнім часом все частіше за санації раневих поверхонь використовують 0,01% розчин мірамістину та 0,02% розчин декаметоксину або декасан [43].

Отже, ринок ветеринарних препаратів з вираженою антисептичною та дезінфікуючою дією є досить обширним. Однак, більшість з них не повною мірою відповідають сучасним вимогам щодо універсальності, розчинності у воді, активності стосовно широкого спектру мікроорганізмів, стійкості щодо формування резистентності, екобезпеки тощо [44, 47].

Антисептичні речовини, крім безпосереднього впливу на мікроорганізми можуть спричиняти слабке подразнення тканин: це сприяє припливу крові,

кращому живленню клітин і швидкому росту грануляцій в ранах. Ефект бактерицидності в значній мірі залежить від середовища. Так, ліпотропні антисептики і дезінфектанти є менш ефективні у субстраті багатому на жири; ті, що денатурують білок – у гнійних ранах з відмерлими тканинами; речовини, що в силу своєї хімічної будови діють іонами – послаблюють свій ефект у присутності сполук, які розпадаються на іони [22, 48].

Наявний потенціал антисептичних та дезінфікуючих засобів, на думку А.Г. Салманова та інш. (2010) не в змозі завжди забезпечувати ефективну протимікробну дію за лікування тварин з інфекційною патологією. Мінливість мікроорганізмів у процесі розвитку патології та вироблення резистентних штамів часто призводить до відсутності ефекту [49]. На жаль, ця проблема все складніше вирішується шляхом використання комбінованих антисептичних засобів або застосування підвищених їх концентрацій. Через це більшість дослідників підтримують позицію щодо необхідності зміни самих підходів до створення нових антисептиків, а саме, на їх думку, використовувати субстанцію або створювати готовий препарат необхідно не лише з урахуванням його ефективності за кінцевим результатом а й встановлювати механізми набуття резистентності у даного збудника та знаходити відповідні мішені для дії протимікробного препарату [50].

Чутливість мікроорганізмів до дії біоцидних засобів є мінливим показником. Як правило, на етапі клінічних випробувань та в перші кілька місяців застосування бактерицидність новостворених дезінфікуючих чи антисептичних засобів не викликає жодних сумнівів. Однак, в подальшому, через природну або індуковану мінливість мікроорганізмів їх чутливість до стосованих ветеринарних препаратів суттєво знижується. На думку багатьох авторів (24,51-54) механізми вироблення такої стійкості можуть бути різними, однак тут мають місце як набуті властивості, пов'язані із зміною генного апарату, так і внутрішньо притаманні характеристики бактерійних клітин. При цьому рахують, що підвищувати бактерицидність чи хоча би забезпечувати виражену

бактеріостатичну дію антисептиків або дезінфектантів можна через регулювання концентрації їх робочих розчинів або шляхом збільшення тривалості експозиції [56-58].

Серед вітчизняних дослідників цікаві результати щодо з'ясування впливу антимікробних засобів на адгезію грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів представлені в роботі О.І. Жорняка і співавт. (2010). Показано, що антисептичні препарати септефріл, себодин та аджисепт гальмували адгезію бактерій [37].

Феноли та саліциламід, будучи сильними дезінфектантами, теж не завжди проявляють свою ефективну дію через можливість вироблення до них резистентності. Випадки адаптації бактерій до фенолів описані давно. Деяко пізніше, в 60 рр. вже ХХ ст.. було доведено, що міжклітинний матеріал, який виділяють з клітин, знешкоджених фенолом, може бути джерелом поживних речовин для тих клітин, що вижили. Цим і пояснюється збільшення кількості колонієутворюючих одиниць (КУО) на пізніших етапах обробки дезінфікуючим засобом [45, 48].

Значний рівень резистентності мікроорганізмів до антибіотиків потребує пошуку нових сполук з антимікробною дією та розробки на їх основі більш ефективних лікарських засобів [59, 60]. Основними вимогами до них, на думку багатьох дослідників [61, 62] має бути наявність у засобу багатофункціональної і довготривалої активності з широким діапазоном антимікробної дії, стійкість до утворення резистентних штамів мікроорганізмів; здатність забезпечувати відповідні фізико-хімічні властивості препарату, а саме добре розчинятися, не мати різкого запаху та подразнювального ефекту, зберігати стабільність за різних режимів і термінів зберігання та транспортування; бути безпечним для тварин, людини і довкілля. При цьому антисептики і дезінфектанти мають бути нетоксичними [63, 64].

Хімічні біоцидні засоби, здебільшого, є загальними протиплазматичними отрутами. Проте це не означає, що одна і та ж речовина з однаковим успіхом

знешкоджує всі мікроорганізми. Спостерігається, до певної міри, вибірковість у цій дії залежно від будови мікробної клітини. Її відношення до дії дезінфікуючих чи антисептичних речовин не однакове. Одні з них чутливіші до ліпотропних речовин і стійкі проти окиснювачів, інші – швидко гинуть від коагулюючих білок речовин і стійкі до сорбентів [65]. Суть дії бактерицидних речовин залежить від їх хімічної структури і характерних властивостей. Ліпотропні речовини розчиняються в ліпоїдних структурах мікроорганізмів, проникають всередину і цим самим проявляють свою згубну на них дію. Інші – денатурують білок протоплазми мікроба, чим порушують його колоїдну будову. Окремі препарати діють дегідратаційно, обезводнюючи збудника хвороби чи окиснюють мікробну клітину атомарним Оксигеном. На думку окремих дослідників не можна виключати в забезпеченні протимікробного ефекту здатність окремих хімічних речовин адсорбуватися на поверхні клітин, змінювати осмотичний тиск та поверхневий натяг її [22, 66, 67].

У практиці гуманної і ветеринарної медицини арсенал засобів для санації інфікованих ран є широким, хоч на жаль, не всі з них мають достатньо виражену протимікробну активність. Достатньо багато наукових повідомлень, які піддають сумніву бактерицидність в ранах розчинів фурациліну. Не відкидаючи позитивної ролі 0,1–0,5% розчинів цього нітрофуранового препарату за умови промивання рани очевидним є його низька здатність тривалий час осмотично елімінувати гній за використання у формі зволжених ватно-марлевих тампонів [34]. Все це вимагає пошуку і розробки нових антимікробних засобів з різними механізмами бактерицидної дії.

1.2. Антисептична терапія за лікування ран у тварин

На даний час травматичні ушкодження шкіри у собак займають значне місце серед захворювань різного генезису і є актуальним питанням, що потребує особливої уваги з боку фахівців ветеринарної медицини. Незалежно від причин виникнення ці захворювання є дуже небезпечними для тварин і призводять до їх

виснаження, зниження імунітету, довготривалого і недешевого лікування [68, 70].

У структурі захворювань собак хірургічна патологія складає понад 50%. При чому відсоток травматизму в них тут є достатньо великим. Вважають, що інфіковані рвани, кусані, різані, комбіновані рани становлять 9,9-18%. Такі ушкодження шкірних покривів і м'язової тканини, як правило, ускладнюються розвитком запальних процесів. На думку багатьох вчених такий рановий процес є складним та тривалим, а його розрішення характеризується клінічними, біохімічними і морфологічними змінами. Це стан цілого організму, який характеризується не лише місцевою реакцією (гіперемія, температура, болючість) але й ознаками зниженої імунорезистентності організму [71,72]. Про раціональність запропонованої фармакотерапії, її ефективність говорять, як правило, вже на етапі загоєння ран. Однак, при цьому визначають, що схема лікування є результатом комплексного підходу і враховує ступінь та площу пошкодження тканин, крововтрати, наявність і тривалість впливу на рану пошкоджуючих чинників, характер ранової інфекції, клінічний стан та резистентність організму собак. У процесі загоєння ран виникає необхідність його постійного моніторингу для своєчасної діагностики ускладнень, характеру та спрямованості перебігу запально-регенеративних процесів за допомогою гістологічних досліджень. У собак рани піддаються гнійно-ферментативному очищенню, що характеризується добре вираженими гнійно-ексудативними явищами, посиленою міграцією лейкоцитів, активним фагоцитозом та гістолізом мертвих тканин за рахунок тканинних і мікробних ферментів. Одночасно в рані формується специфічний захисний бар'єр, який попереджає інфікування здорових тканин [73].

Наявність в ранах надзвичайно різноманітної мікрофлори, різні їх асоціації роблять дуже проблематичним, а інколи і неможливим адресний підбір відповідних антибіотичних препаратів, що знижує ефективність антисептичної терапії. Рана створює широкі ворота для проникнення у тваринний організм

чужорідних антигенів, багато з яких є потенційно загрозливими для життя і супроводжуються вираженим запаленням. У лікуванні ран актуальним є протидія рановій інфекції, зменшення інтенсивності запалення і стимулювання ранового загоєння [74].

Проблема лікування ран, в тому числі інфікованих, впродовж багатьох років залишається в числі особливо актуальних. За виникнення у тварин відкритих ушкоджень шкіри і шкірного покриву загоєння ран, зазвичай, відбувається із розвитком гнійно-некротичних процесів, оскільки захистити рану від контамінації мікрофлорою практично не можливо. Серед основних принципів лікування таких ран, як правило, є локалізація гнійного вогнища, запобігання його генералізації, проведення асептики рани, звільнення її від шкірно-некротичних мас, відновлення структури і функції уражених тканин [75].

Роль антисептичної терапії за ранової інфекції переоцінити дуже важко. Однак, необхідно враховувати, що більшість протимікробних засобів за контакту з раною спричиняють загибель наявної в ній мікрофлори, але одночасно вони пригнічують ріст грануляційної тканини і таким чином сповільнюють процес загоєння ран [76].

Операційні рани є результатом планового чи екстреного хірургічного втручання, що проводиться за обов'язкового дотримання правил асептики і антисептики. Однак, уникнути мікробного забруднення таких ран, навіть за ідеального виконання всіх вимог, не реально. Вважають, що рівень контамінації мікроорганізмами пошкоджених тканин напряму залежить від їх вірулентності і рівня захисних механізмів макроорганізму. За цих умов важливим є функціональний стан пошкоджених тканин [76, 77]. За повідомленнями В.С. Коженкова і співавт. (2004) в оцінці перебігу патологічного процесу та розробці схеми його лікування важливим є врахування таких показників як ступінь бактеріальної контамінації рани ($>10^5$, КУО/мл), інвазивність, патогенність, вірулентність і токсичність збудника, супутні захворювання тощо [78, 79].

На сьогодні лікування ран, є, зазвичай, комплексним і диференційованим залежно від характеру походження рани та індивідуальних особливостей організму тварин. Воно включає як засоби антисептичного, так і загальноотерапевтичного впливу [80, 81]. Основними класами протимікробних біологічно активних речовин, які застосовуються зовнішньо, являються шкірні антисептики. Для них характерним є широкий спектр антимікотичного та антибактеріального ефекту і неспецифічність механізму дії по відношенню до клітин мікроорганізмів [82].

Шкіра є важливим і найбільшим за площею органом тваринного організму. При цьому вона відіграє роль потужного бар'єра, що не дозволяє проникати в організм значній кількості мікроорганізмів чи хімічних сполук. Зазнаючи різноманітних, часто несприятливих впливів вона зберігає гомеостаз організму, реагуючи на більшість навіть малопомітних змін у ньому. Все це обумовлює різноманітність і складність морфофункціональних характеристик, що накладає виражений відбиток на особливості виникнення і перебігу наявної патології шкіри [68, 69, 83, 84].

Тому, розробка і впровадження в практику ветеринарної медицини нових антисептичних засобів, які б на тлі ефективної протимікробної дії проявляли також добрі репаративні і регенеративні властивості є досить актуальною проблемою, що потребує якнайшвидшого вирішення. При цьому, важливим є те, щоб такі речовини не проявляли місцевої подразнювальної дії на поверхні рани, оскільки це пригнічуватиме епітелізацію ранової поверхні та процес її загоєння [85].

1.3. Гіпохлорити. Перспектива застосування у ветеринарній медицині

1.3.1. Особливості електрохімічної технології отримання гіпохлоритів

Історія створення гіпохлоритів сягає далекого 1774 року коли К. Бертолле вперше хімічним способом було отримано хімічну сполуку. На жаль, через

присутність в ній значних кількостей інших супутніх речовин, зокрема лугів та високу лабільність такий «технічний» розчин гіпохлориту не мав перспективи для застосування в медицині [17, 19].

Розчини натрію гіпохлориту (НГХ) як у лабораторному, так і в промисловому масштабах, отримують двома базовими способами: хімічним (взаємодією натрію гідроксиду з молекулярним хлором:



або електрохімічним – шляхом електролізу розчину натрію хлориду. Щодо останнього то цей шлях є більш перспективним, оскільки дає можливість отримувати розчини, концентрація яких не перевищує 5-6 %. В силу різних причин, серед яких недосконалість технології та невеликі за розмірами електролізери, не забезпечуються достатні об'єми створеного препарату та його якість. Це зумовило подальшу працю науковців щодо створення нових конструкцій електролізерів [12].

На початку ХІХ ст. синтез гіпохлоритів одержав новий поштовх, оскільки для цього було запропоновано новий електролізний спосіб. Проблема нестабільності розчинів гіпохлоритів вирішувалася, на той час, створенням невеликих за розміром і продуктивністю електролізерів, розрахованих, головним чином, на електроліз розведених розчинів натрію хлориду та екстемпоральним використанням утворених розчинів натрію гіпохлориту (НГХ), які необхідно було ще додатково розводити водою для зниження рівня токсичних домішок хлоритів, зокрема і хлоратів. Основною причиною, що не дозволяла ефективно використовувати розчини НГХ у практиці гуманної і ветеринарної медицини стала відсутність сучасної технології промислового виробництва високочистих і стабільних розчинів на основі гіпохлоритів. Наявні електролізери ЭДО-4 і ДЭО-01- МЕДЭЖ, які використовувалися на той час мали низькі техніко-економічні характеристики. Так, їх продуктивність за одержання антисептичного засобу на основі НГХ складала $1,0 \text{ л/год}^{-1} - 1,5 \text{ л/год}^{-1}$ [84].

У практиці найчастіше використовують електролізери російського виробництва, серед яких в останні роки перевага віддається апаратам типу ЕЛМА-1, САНЕР-5, СТЭЛ. Відзначається, що різновидностей електролізерів цієї модифікації є достатньо а суть удосконаленої технології отримання гіпохлоритів зводиться до збільшення їх біологічної активності, забезпечення стабільності та зменшення супутніх продуктів і домішок за проведення електрохімічного електролізу [86, 87].

Для електролізу розведених розчинів хлориду натрію використовують стаціонарні та проточні електролізери. Кращими вважають останні, оскільки вони дозволяють інтенсифікувати процес електролізу, за рахунок зменшення міжелектронної відстані, і як наслідок запобігти нагріванню електроліту та зменшити затрати електроенергії [88-89]. Основним принциповим методом синтезу електрохімічно активного гіпохлориту натрію є розділення катоду та аноду напівпроникливою мембраною. На межі «діафрагма-розчин» виникає ефект неоднорідного розміщення поверхнево-активних речовин, які характеризуються малою концентрацією діючих агентів та відсутністю у їх складі нових хімічних елементів. Ці можливості дають гіпохлориту натрію схожість із фізіологічним розчином, що має каталітичні ефекти на окисно-відновні процеси у травмованому організмі. Гіпохлорит натрію має малу молекулярну масу та структурні розміри, що сприяє його проходженню через біологічні мембрани [88].

На думку Д.В.Гиренко и соавт. (2014) максимальною біологічною активністю відзначаються розчини високочистого гіпохлориту натрію з рН – 7,5-9,0, що досягається у електролізерах без розділення електродних просторів, або за відсутності в них мембрани [88]. Однак, більшість таких стосованих препаратів ветеринарного і медичного призначення є водними розчинами із вмістом гіпохлориту натрію до 1 г/л і хлориду натрію – 4-30 г/л. При цьому, на думку дослідників в складі цих засобів часто присутні хлорити, хлорати, хлорганічні сполуки, іони перехідних метаболітів, що виражають як недоліки

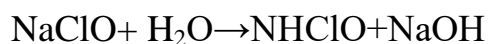
технології отримання гіпохлоритів так і не відповідність чистоти вихідних реагентів. Порогова концентрація ВНГХ в крові, яка спричиняла зниження активності ензимів, а саме амінотрансфераз, креатинфосфатокінази і лактатдегідрогенази знаходилася у межах 0,03% [90]. Отримання високочистих розчинів гіпохлориту натрію в промислових умовах досягається електрохімічним методом шляхом електролізу розчинів натрію хлориду в електролізерах з розділеним і недорозділеним електродним простором. Кожен із цих способів має свої переваги і недоліки. Так, відсутність мембрани спрощує і здешевлює конструкцію електролізера, однак при цьому є втрата частини гіпохлориту натрію, що відновлюється на катоді. І навпаки, наявність мембрани, крім здорожчання самої конструкції апарату збільшує також розхід електроенергії. При цьому, такі електролізери дозволяють отримувати розчини з вищою концентрацією активного хлору [90]. Основою технології отримання високочистих розчинів натрію гіпохлориту являється електрохімічний реактор з 3-ма послідовно з'єднаними проточними електрохімічними комірками коаксіального типу з нерозділеним електродним простором. Відсутність мембрани дозволяє проводити синтез розчинів NaClO без присутності в них хлоратів і хлоритів за рахунок відновлення їх на катоді в процесі електролізу [88].

Окремі дослідники, зокрема Діаб Хасан і співавт. (2013) вважають, що існуючі технології діафрагмового та мембранного електролізу водного розчину натрію хлориду є малоефективними для одержання концентрованих розчинів гіпохлориту натрію. Основним недоліком загальноживаних способів є необхідність в підігріві а потім охолодженні продуктів електролізу та застосуванні твердого NaCl (х.ч.). Як альтернативу окремі дослідники пропонують технологію мембранного електролізу з водних розчинів натрію хлориду з метою одержання концентрованого розчину гіпохлориту безпосереднім змішуванням продукції анодної та катодної реакції [89]. Отже, способів одержання розчинів ВНГХ є достатньо, однак всі вони мають свої особливості, в тому числі і стосовно ефективності фармакологічного впливу.

1.3.2. Гіпохлорит натрію. Фізико-хімічні властивості, біологічна дія та фармакологічна активність

Гіпохлоритами називають солі хлорноватистої кислоти або сполуки, що містять у своєму складі ClO^- - аніони [91, 92]. В історичному плані за такими речовинами закріпилася ще тривіальна назва «лабарракова» або «жавелева» вода [12]. Міжнародне видавництво «Greenwood Press» внесло у 2007 р. натрію гіпохлорит до списку «100 найважливіших хімічних сполук» [93].

NaClO є сполукою нестійкою, зазвичай її використовують у вигляді стабільного пентагідрату $(\text{NaClO}) \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ або у формі водного розчину. Гіпохлорити лужних і лужноземельних металів як у вигляді розчинів, так і в кристалічній формі більш стабільні, порівняно з гіпохлоритною кислотою. Вони добре розчинні у воді (г/100 г H_2O): LiClO – 72; NaClO – 54,3; $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ – 33,3. Розчини гіпохлориту натрію є одним з основних продуктів даного класу, які знаходять широке застосування в медицині [94]. Гіпохлорит натрію являє собою прозорий розчин із зеленуватим відтінком та дещо специфічним запахом хлору. Вміст активного хлору в ньому нестабільний і залежить від способу отримання та виду електролізера. Як правило, він коливається в межах від 300 до 3000 мг/л. Отриманий розчин являє собою газоподібну суміш, що містить активні форми хлору, зв'язані з Оксигеном в суміші з гіпохлоритом натрію. У водних розчинах може зазнавати гідролізу, утворюючи гіпохлоритну кислоту за формулою:



За нагрівання розчинів НГХ (розведеного або концентрованого) розкладається з утворенням твердої речовини. Сполука може поглинати вуглекислий газ із повітря і частково втрачати свої властивості (тому її зберігають у щільно закріплених контейнерах). Під активною реакцією рН препарату розуміють активні кислотні і лужні речовини, обумовлені концентрацією іонів Гідрогену H^+ і гідроксилу OH^- . Величина рН гіпохлориту натрію повинна знаходитися у межах 7,5-8,5. Обов'язковою вимогою до препарату є його стерильність і апірогенність [91, 92].

Гіпохлорити лужних і лужноземельних металів добре розчинні у воді. У нейтральних і лужних розчинах вони виявляють усі властивості сильних електролітів. Надлишок негативного заряду на гіпохлорит-іоні виявляє стабілізуючу дію на хімічний зв'язок між атомами Хлору та Оксигену, і тим самим зумовлює більш високу стабільність цих сполук [96]. Готовий розчин є самостерилізуючим. Потреби в проведенні термічної його обробки немає. Розчини натрію гіпохлориту (НГХ) проявляють високу біологічну активність стосовно багатьох бактерій, вірусів, грибів і найпростіших. Через це дана діюча субстанція знаходить широке застосування в якості антисептичного засобу зовнішнього і внутрішнього примінення. Більшість препаратів ветеринарного і медичного призначення є водними розчинами гіпохлориту натрію із вмістом останнього 1 г/л, а натрію хлориду – 5-20 г/л [95]. Розчини ЕХА із вмістом активного НГХ 300мг/л при рН 5,0 і 9,0, а також 150 мг/л (рН 5,0) володіють вираженими бактеріостатичними та бактерицидними властивостями щодо *G. perfringens* [97]. За повідомленням И.С. Жолобовой (2004) і Л. Купрієнко зі співавт. (2013) NaClO відзначається сильною бактерицидною дією. Він вбиває мікроби швидко і в дуже низьких концентраціях. Найвища біоцидна дія гіпохлориту натрію проявляється в нейтральному середовищі, коли концентрації HClO^- і гіпохлорит-іону ClO^- приблизно рівні [16, 98].

Активні компоненти розчину натрію гіпохлориту (гіпохлорит-іон і хлорноватиста кислота) мають здатність знижувати резистентність мікрофлори до антибіотиків, підвищувати їх ефективність та піддавати детоксикації продукти токсичного метаболізму, в тому числі сприяють розпаду мікробів, лейкоцитів і тканин. Характерним також є некролітичний ефект та стабілізація мікроциркуляції фізіологічних рідин [99].

Розкладання гіпохлориту супроводжується утворенням активних частинок і зокрема синглетного кисню, що володіє високим бактерицидним ефектом. Утворені частинки беруть участь у знешкодженні мікроорганізмів, взаємодіючи з біополімерами в їх структурі, здатними до окиснення. Дослідженнями

встановлено, що цей процес аналогічний тому, який відбувається природним чином у всіх вищих організмів. Деякі клітини у людей і тварин (гепатоцити, мієлоцити, нейтрофіли) синтезують хлорнуватисту кислоту і супутні високоактивні радикали для боротьби з мікроорганізмами та чужерідними субстанціями [12, 88, 100].

Чутливість окремих видів мікроорганізмів до дії гіпохлориту натрію є різною. Так, відзначається, що дріжджоподібні гриби роду *Candida* в умовах *in vitro* за дії досліджуваного засобу в концентрації 0.5-5,0% гинуть впродовж 30 сек. За нижчої концентрації гіпохлориту (<0,5%) вже через 24 год. у грибів виробляється резистентність. Ентерококи піддаються згубному впливу гіпохлориту натрію за 30 сек., лише за концентрації 5 і більше %. Менші концентрації препарату можуть теж проявляти протимікробну дію, але час контакту має бути значно довшим (для 0,5% розчину – 30 хв.). Анаеробні мікроорганізми роду *Porphyromonas* гинуть протягом 15 сек. після обробки 0,5-5,0% розчином NaClO [101]. Як повідомляється в окремих джерелах наукової літератури на лямблії і кристоспоридії натрію гіпохлорит практично не діє. Багато антибіотикорезистентних грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів є чутливими до розчину натрію гіпохлориту, що очевидно, є результатом здатності останнього гідроксилувати амінокислоти, зокрема сірковмісні триптофан, гістидин і фенілаланін. Це дало підстави припустити, що інактивація бактерій при дії НГХ зумовлена окисненням SH-груп [102, 103].

Експериментально доведено, що окиснення мембран клітин може супроводжуватись утворенням поперечних зшивок «ліпід-протеїн» і порушенням на цьому тлі ультраструктури плазматичної мембрани. Локальні пошкодження за дії гіпохлориту натрію призводять до втрати життєдіяльності та здатності до розмноження бактеріальної клітини. За повідомленням окремих вчених (А. Б. Величенко и соавт., 2006), порушення бар'єрних властивостей плазматичної мембрани спричиняє зміни внутріклітинного гомеостазу, що призводить до руйнування структурних елементів клітин, зокрема органел [104].

Г.І. Коцюмбас зі співавт. (2009) проведено комплекс клінічних, гематологічних і морфологічних досліджень щодо впливу розчинів ВНГХ і НГХ на загальний стан організму щурів, курей і поросят та структури перебудови імунних органів, печінки, нирок і головного мозку за експериментального Т-2 токсикозу. Встановлено особливості морфофункціональних змін у вищезгаданих органах, що дало можливість визначити оптимальні концентрації досліджуваних розчинів з детоксикуючою, імунокорегуючою та нейрометаболічною дією [12].

За окремими даними біохімічних досліджень повідомляється, що всі багатоклітинні організми, включаючи і людину в спеціалізованих клітинних структурах синтезують хлорнуватисту кислоту і високоактивні метастабільні хлоркисневі і гідропероксидні сполуки для боротьби з мікроорганізмами і вірусами. Суть методу лікування полягає у введенні в організм людини чи тварини розчину сильного окиснювача – натрію гіпохлориту, одержаного електрохімічним методом з ізотонічного розчину натрію хлориду. Попавши в організм останній розпадається на ClO^- і на Na^+ або на O^- і NaCl . Гіпохлорит-аніон і атомарний кисень є сильними окиснювачами і бактерицидними речовинами [12, 105, 106]. Крім того важливим є те, що у процесі розкладання гіпохлориту, що перебуває у молекулярній чи іонній формі в розчині, де відсутні хлорити, хлорати- і перхлорати утворюються хлорид-іони та молекулярний Оксиген [107]. Фізіологічність таких розчинів дозволяє віднести їх використання до екологічно чистих немедикаментозних методів лікування [12]. Розчин натрію гіпохлориту є оптимальним носієм активного Оксигену, що може проникати через мембранні бар'єри. Утворений при електролізі НГХ є природним для організму, оскільки така сполука утворюється ендогенно в макрофагах за адгезії та знешкодження мікробних клітин [108, 109].

Є ряд наукових повідомлень про характерний вплив гіпохлориту натрію на антиоксидантну систему тварин. Так, встановлено пришвидшення процесів ліпопероксидації у селезінці курей за дії натрію гіпохлориту в концентрації 5 мг/л упродовж 14-ти діб. На 20-ту добу досліду (після введення натрію гіпохлориту в

концентраціях 5 і 10 мг/л) відбувається підвищення вмісту продуктів ліпопероксидації у клітинах селезінки. За дії натрію гіпохлориту в селезінці птиці порушується робота ключових ензимів антиоксидатного захисту організму – супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази [110].

Розчини НГХ призводять до порушення процесів ліпопероксидації, про що свідчить динаміка дієнових кон'югатів і значне накопичення ТБК-активних продуктів. Дія НГХ в усіх концентраціях призводить до зниження активності СОД та ГПО на фоні зростання активності КАТ на всіх етапах раннього ебріогенезу в'юна. Стадія раннього розвитку зародків 16 бластомерів є найбільш стійкою до дії НГХ, тоді як стадія 10 поділу раннього розвитку зародків є найбільш чутливою до дії НГХ. Останній призводить до збільшення вмісту відновленого глутатіону, який відіграє ключову роль у захисті клітин і внутрішньоклітинного середовища від АФК [111].

Н. Головчак (2013) у своїх експериментальних дослідженнях встановив, що натрію гіпохлорит призводить до зростання процесів ліпопероксидації також у клітинах печінки птиці. Доведено, що за дії досліджуваної речовини відбувається активація ферментів антиоксидантної системи, зокрема супероксиддисмутази та каталази. Підтверджено, що застосування розчину ВНГХ на тлі вакцинації молодняка птиці проявляє стимулювальний вплив на місцеві механізми захисту та індукції імунної відповіді з боку цілого організму [112]. Зустрічаються окремі повідомлення щодо позитивного впливу гіпохлориту натрію на еритропоетичні процеси у тварин. Так, одноразове внутрішньовенне введення собакам розчину гіпохлориту натрію в дозі 5 мл/кг м.т. викликало зменшення кольорового показника з 1,6-1,9 до 1,31; числа лейкоцитів у крові – на 20-30%. У лейкограмі появлялись моноцити, знижувався відсоток сегментноядерних нейтрофілів на 60-70% [113, 115].

Чисельними дослідженнями з'ясовано можливість застосування гіпохлоритів у птахівництві. Він підвищує резистентність організму, покращує загальний стан, стимулює апетит та конверсію корму, збільшує прирости маси

тіла курей. Крім того, в якості дезінфікуючого засобу його використовують для передінкубаційної обробки яєць та інкубаторію, що забезпечує кращу виводимість курчат та їх збереженість в перші 2-а тижні життя [116-121].

Ю.К. Дунаєв і співавт. (2009) описують вплив обробки качиних яєць гіпохлоритом натрію в період інкубації. Ними встановлено, що останній підвищує газо-і вологопроникність шкаралупи яєць, позитивно впливає на біохімічні показники крові каченят у період вирощування, підвищує резистентність їх організму, зменшує рівень продуктів метаболізму та ембріотоксичність формальдегіду, яким обробляли яйця перед закладкою на інкубацію [122].

В останні два десятиліття зросло зацікавлення вчених та практиків до водних розчинів гіпохлориту натрію. Клініцисти оцінили останній через характерні його дезінфікуючі, антисептичні та дезінтоксикаційні властивості [123-126]. Гіпохлорит натрію на противагу іншим біоцидним засобам є препаратом із широким спектром протимікробної дії та низькою здатністю до вироблення резистентності. Він відзначається нетоксичністю, високою біологічною активністю та універсальністю по відношенню до різних екзо- і ендотоксинів. При цьому, простота отримання, економічна ефективність та відсутність протипоказань і побічних явищ роблять його перспективним антисептиком і дезінфектантом у ветеринарній медицині [127, 128].

Застосування високочистих розчинів натрію гіпохлориту є доволі поширеним у практиці ветеринарної медицини. Їх використовують за різних показань, а основними шляхами введення препарату в такій лікарській формі є пероральний, аерозольний та зовнішній. П.Г. Захаров (2000) рекомендує використовувати в якості антисептичного засобу високоактивний хлор у формі гіпохлоритів за лікування захворювань шлунково-кишкового каналу в телят, ендометритів і маститів у корів, як засіб неспецифічного детоксикаційного ефекту, а також за різноманітних хірургічних втручань [129].

Розчини натрію гіпохлориту не мають вираженої місцево-подразнювальної дії, шкірно-резорбтивних та сенсibiliзуювальних властивостей. Подразнювальна концентрація препарату для шкіри тварин складає біля 5%, а для слизових оболонок – 0,5%. Алергічна та подразнювальна реакція шкіри та слизових оболонок за концентрації 0,05-0,1% не проявляється. Здатності до кумуляції не мають ні препарат, ні його компоненти. Нашкірна сполучна тканина однаково реагує на 0,9% розчин натрію хлориду і розчин NaClO^- концентрацією від 2 до 8%. Використання 0,9% розчину гіпохлориту натрію спричиняє запальну реакцію, навіть менш характерну ніж за дії фізіологічного розчину натрію хлориду [130].

Розчини натрію гіпохлориту проявляють свою ефективність за лікування гнійних та шкірно-алергічних уражень шкіри [131-136]. Концентрація діючої речовини в таких розчинах суттєво залежить від стадії перебігу патологічного процесу. На початку лікування, за вираженої інфільтрації гнійного ексудату застосовують розчини з концентрацією НГХ до 1800 мг/л, в подальшому пов'язки, тампони зрошуються препаратом дещо меншої концентрації (600-1200 мг/л). За появи ніжно вираженої грануляційної тканини насичення антисептичним засобом зменшують навіть до 300 мг/л. Однак, вважається, що зміна компресів, зволжених гіпохлоритом, має відбуватися хоч би 1 раз на 2-3 години через можливу мацерацію шкіри.

На позитивний ефект від зрошування натрію гіпохлоритом грижевих післяопераційних ран у поросят вказує М.Л. Жолнерович (1997, 1999), на лікування маститів у корів – В.А. Володин и соавт. (1994), а М.В. Степаненко и соавт. (2000) описують імуностимулювальний вплив гіпохлоритів за парентерального введення препарату телятам [135, 136, 137, 138].

А.Г. Зафириди (2007) за результатами своїх досліджень стверджує, що натрію гіпохлорит є ефективним за профілактики та лікування гнійно-запальних ран. Так, на його думку, за проведення первинної хірургічної обробки рани НГХ через 8-12 год після травми показники мікробного обсіменіння склали 0,04%,

а за використання етакридину лактату – 0,4 або в 10 разів більше. Період загоєння ран теж залежав від термінів первинної її обробки. За використання гіпохлориту натрію з цією метою через 8-12 год після травмування загоєння рани наступало через $9,9 \pm 0,3$ дні, а за умови, що рану обробили пізніше (20-24 год) процес загоєння тривав $12,9 \pm 0,3$ дні. При цьому, автор відзначає, що обробка свіжих інфікованих ран у собак досліджуваним розчином натрію гіпохлориту характеризується загоєнням по первинному натягу [17].

Гур'єв С.О. і співавт. (2016) у своїй статті повідомляють, що ними вивчено вплив розчину натрію гіпохлориту (600-1200 мг/л) за лікування інфікованих ран у людей. Застосовували його як для проточно-промивного дренивання, так і для змочування марлевих серветок, тампонів, туруна або пов'язок з вуглецевими волокнистими сорбентами, накладеними на поверхню рани. При цьому, концентрація розчину гіпохлориту натрію становила 600-1000 мг/л, об'єм розчину – 400-1600 мл/добу, час лікування – 1-20 діб залежно від тяжкості перебігу процесу [139].

Розчин натрію гіпохлориту має високу протимікробну активність за лікування в собак сепсису, дерматиту, піодермії, фурункульозу різної етіології, післяродового ендометриту, що характеризувався токсичністю і сепсисом ендогенної етіології [140-146].

За лікування у тварин хронічних уражень шкіри (піодермії, дерматомікози) позитивний ефект досягається при застосуванні високо концентрованих розчинів НГХ (1500-3000 мг/л), хоч за окремими повідомленнями ефективними за подібної шкірної патології були і слабші розчини (150-300 мг/л) [147-152].

Заклучення до розділу: отже, будучи, в цілому, не токсичною сполукою застосування гіпохлориту натрію у ветеринарній медицині можливе за обов'язкового дотримання певних норм. Зокрема, розчини високочистого натрію гіпохлориту не повинні містити розчинених хлоритів, хлоратів і перхлоратів; їх рН має знаходитись у межах 7,5-8,5 одиниць а хімічний склад і біологічна активність не мають зазнавати суттєвих змін за тривалого зберігання.

Вважається, що термін придатності ВНГХ в умовах кімнатної температури має становити не менше 3-6 міс. [12, 17]. Крім того, однією з умов ефективного застосування гіпохлоритвмісних препаратів є можливість створення препарату в необхідних об'ємах та застосування надійних методів його контролю [18, 19].

РОЗДІЛ 2

ВИБІР НАПРЯМКІВ ДОСЛІДЖЕНЬ. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Експериментальні тварини, схеми та методика дослідів

Дисертаційна робота виконана впродовж 2017-2021 років у Львівському національному університеті ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького (ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького) відповідно до загальної схеми досліджень (рис. 2.1).

Експериментальні доклінічні дослідження, пов'язані з вивченням токсикологічних параметрів новоствореного гіпохлоритвмісного препарату «Вітосепт», проведено в умовах віварію Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів і кормових добавок (ДНДКІ ветпрепаратів і кормових добавок, м.Львів) на лабораторних тваринах (білі миші, щурі, мурчаки, кролі). Базою для клінічних випробувань антисептичного засобу була амбулаторія «Ветдок» (м. Львів, вул. Шевченка, 80 Б).

Лабораторні дослідження (гематологічні, біохімічні, мікробіологічні, морфологічні) проведено в умовах лабораторії кафедри фармакології та токсикології ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Окремі дослідження виконані також у лабораторії контролю кормових добавок і преміксів ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок м. Львів, за методичної допомоги старших наукових співробітників, д. вет. наук Брезвин О.М. і к. вет.н. Рудик Г.В.

Експерименти на тваринах проводили відповідно до правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментах і для інших наукових цілей (ETS № 123. Страсбург, 1986) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) [154, 155].

ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ПРЕПАРАТУ «ВІТОСЕПТ»

Перший етап

Другий етап

Доклінічні дослідження

(лабораторні тварини, щурі, білі миші, мурчакі і кролі)

Клінічні випробування

Дезінфікуюча дія

Антисептична дія

Токсичність
гостра, хронічна
(білі миші, щурі)

Фармакологічні
властивості

передінкубаційна
обробка яєць

лікування собак з
інфікованими
ранами

поведінкові реакції,
загальний
і функціональний
стан організму

шкірно-
подразнювальна
дія

місцево-
подразнювальна
дія

ступінь
мікробного
забруднення,
ефективність
дезінфекції

анамнез,
клінічні ознаки,
морфологічні і
біохімічні
показники крові,
перебіг та оцінка
загоєння ран

морфологічні
та біохімічні
показники крові

алергенна дія

Біоцидні властивості

антитоксична
функція печінки

бактерицидність

спороцидність

макроскопія
внутрішніх органів,
коефіцієнти їх маси

фунгіцидність

Ефективність препарату за
лікування
експериментальних ран

ембріо- і тератогенна
дія

Рис. 2.1 Загальна схема досліджень

Експериментальні дослідження проведені згідно з методами і методиками, які описані в монографії „Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів“ [156]. Токсикологічну оцінку препарату «Вітосепт» проводили згідно методичних рекомендацій «Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин» [157, 158].

Дослідження гострої (підгострої) і хронічної токсичності Вітосепту проведено на лабораторних мишах і щурах, які рекомендуються як одні з найбільш адекватних тест-систем для з'ясування загально-токсичних властивостей потенційних фармацевтичних препаратів [159-161]. Для вивчення місцевої і шкірно-резорбтивної дії використано мурчаків і кролі. Характеристика лабораторних тварин подана в табл. 2.1

Таблиця 2.1

Характеристика лабораторних тварин, що були задіяні у доклінічних дослідженнях препарату «Вітосепт»

Вид дослідження	Тварини				
	Вид	Стать	Вік (міс.)	Маса тіла (г)	К-сть тварин у досліді
Підгостра токсичність	щури (лаб.)	р/ст.	2,5-3	170-200	40
	миші (білі)	р/ст.	2-2,5	20-25	40
Хронічна токсичність	щури (лаб.)	р/ст.	2,5-3	180-190	80
	миші (лаб.)	р/ст.	2-2,5	18-24	90
Шкірно-подразнювальна дія	мурчаки (лаб.)	р/ст.	3-4	500-520	10
Місцево-подразнююча дія	кролі	р/ст.	3-4	2500-3000	10
Алергенна дія	мурчаки (лаб.)	р/ст.	3-4	500-520	10
Ембріотоксична і тератогенна дія	щури (лаб.)	самки	2,5-3	180-200	30
Лікування експериментальних ран	щури (лаб.)	самки	2,5-3	180-210	18

Гостру (підгостру) токсичність вивчали на 40 білих різностатевих щурах, масою тіла 170-200 г, які знаходились на стандартному раціоні віварію. Після попереднього 10-и добового карантину тварини, згідно «Методичних рекомендацій щодо експериментального вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів» [161-163], методом рандомізації були поділені на 4 групи по 10 голів у кожній. Дослід тривав 15 діб, всі лабораторні тварини знаходились в однакових умовах утримання та годівлі [164, 167]. Щурам I (контрольної) групи протягом доби внутрішньошлунково за допомогою голки з тупим кінцем, вводили по 5 мл фізіологічного (0,9%) розчину натрію хлориду; щурам II, III і IV-ої груп (дослідні), відповідно, по 10 15 і 20 мл досліджуваного препарату «Вітосепт», концентрація натрію гіпохлориту в якому становила 1000 мг/л.

З урахуванням вимог щодо проведення токсикологічних досліджень мінімум на 2-х видах тварин [156], нами також вивчено підгостру токсичність високочистого натрію гіпохлориту (ВНГХ) в різних концентраціях на організм білих мишей. Аналогічно, як і в попередньому досліді було сформовано 4 групи тварин по 10 голів в кожній. При цьому, тваринам I групи (контроль) але вже внутрішньочеревно впродовж 7-и діб вводили по 1 мл 0,9% розчину натрію хлориду, а миші II, III- і IV-ої (дослідні) груп аналогічним способом отримували Вітосепт з концентрацією ВНГХ, відповідно – 1000, 800 і 500 мг/л. Оцінку дії препарату «Вітосепт» проводили за наступними показниками: поведінка тварин, їх рефлекторна реакція на зовнішні подразники, збудливість, відношення до корму і води, частота серцевих поштовхів і серцевих скорочень тощо. Величину DL_{50} визначали за методикою Б.М. Штабського (1980) [165, 166].

Для виявлення небажаної а можливо і шкідливої дії досліджуваного препарату «Вітосепт» за тривалого застосування, з'ясування найбільш чутливих до нього систем і органів та встановлення реакцій зворотнього відновлення функцій [168, 169] нами проведено хронічний дослід на 80 білих безпородних щурах (табл. 2.1), які утримувалися на стандартному раціоні (з вільним доступом до води). Дослід тривав 30 діб. За принципом аналогів було сформовано чотири

групи тварин, по 20 у кожній. Препарат «Вітосепт» по 5 мл вводили щоденно, внутрішньошлунково, за допомогою голки з тупим кінцем. Тварини I групи (контроль) отримували по 5 мл фізіологічного розчину натрію хлориду, а дослідні – по 5 мл препарату «Вітосепт» з різною концентрацією ВНГХ: II-а – 50 мг/л; III-а – 100 мг/л; IV-а – 500 мг/л. Подібні дослідження проведено також на 6 групах (1 контрольна і 5-дослідних) білих інтактних мишей. Останнім внутрішньошлунково задавали Вітосепт в концентраціях 100, 200, 300, 400 і 500 мг/л.

Порушення функцій організму під час фізичних навантажень визначали пробою з плаванням за М.Л. Риловою (1964). Для досліду використовували наявну у віварії стаціонарну ванну. Стовп води у ній становив 30 см за температури 12°C. Дослідним тваринам прикріплювали вантаж вагою 10 % від маси тіла та хронометрично визначали час, упродовж якого тварини трималися на воді [156].

Вивчення поведінкових реакцій у білих щурів проводили методом відкритого поля за А.П. Маркель (1976) [156]. Для цього було відібрано по 5 щурів із кожної групи, всі тварини відрізнялися великою варіабельністю реакцій поведінки. Основним показником тесту «відкритого поля» вважали реакцію поведінки горизонтального пересування, тобто рухову активність тварин по горизонталі протягом 10 хв. та їх перебування в умовах відкритого поля. Реакцію поведінки щурів оцінювали за кількістю пересічених квадратів, заглядувань у нірку, вмивань та вставань на задні лапки (рис.2.2)

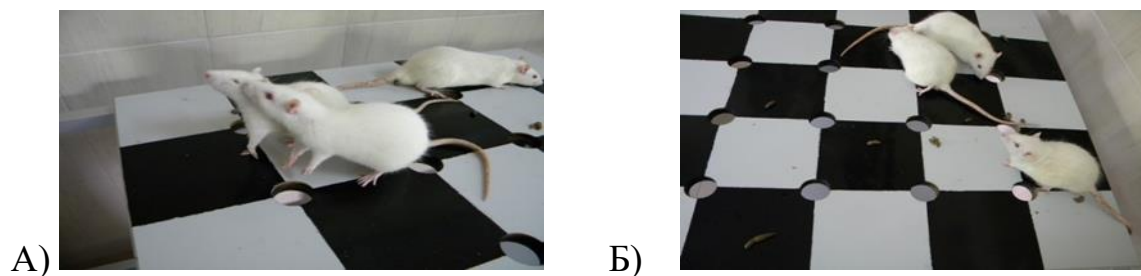


Рис. 2.2. Проведення тесту з вивчення поведінкових реакцій дослідних щурів за умов відкритого поля, після введення препарату «Вітосепт»: А – щури II групи; Б – щури IV групи

Клінічні спостереження протягом досліду проводили, реєструючи терміни можливого розвитку токсикозу та загибель тварин, відбирали кров для гематологічних і біохімічних досліджень, а також визначали коефіцієнти маси внутрішніх органів (печінки, селезінки, нирок) загальноприйнятими методами. На 10-ту, 20-ту та 30-ту доби по 5 щурів із кожної групи зважували, за умов легкого ефірного наркозу декапітували та відбирали кров для подальших досліджень.

У крові визначали концентрацію гемоглобіну гемоглобінціанідним методом за Г.М. Тименовою, Г.В. Дервіз (1979) [170]. Підрахунок кількості еритроцитів здійснювали фотонфелометрично (Є.С. Гаврилець і співавт., 1966) [171]. Величину гематокриту визначали центрифужним методом за допомогою мікрокапілярів. Кількість лейкоцитів підраховували у лічильній камері на сітці Горяєва. Диференційований підрахунок лейкоцитів (лейкограма) здійснювали шляхом мікроскопічної оцінки сухих мазків крові, фіксованих метиловим спиртом та пофарбованих барвником за Романовським-Гімзою [172-173]. Вміст загального протеїну у сироватці крові визначали за допомогою біуретового реактиву методом Л.Н. Делекторської та співавт. (Меншикова В.В., 1987) [174, 175]. Концентрацію глюкози визначали ферментативним методом за допомогою приладу «Екзан-Д» (1971); загальний холестерол – за методом М.А. Станкевічене (1969); активність АсАТ (К.Ф.2.6.1.1.) та АлАТ (К.Ф.2.6.1.2.) – за методом Райтмана-Френкеля в модифікації К. Г. Капетанакі (1962). У плазмі крові визначали активність ЛФ (К.Ф.3.1.3.1.) методом гідролізу динатрійфенолфосфату за допомогою тест-наборів „Фелісіт-Діагностика“. Еритроцитарний індекс інтоксикації вивчали за Л.Я. Кальф-Каліфом. Оптичну щільність вимірювали колориметричним методом відносно фізіологічного розчину натрію хлориду (А.А. Тогайбаєва, 1988) [171, 173, 176].

Антитоксичну функцію печінки визначали методом тіопенталової проби (Гацура В.В., 1974). Для цього щурам внутрішньошлунково вводили 1% розчин

тіопенталу натрію у дозі 45 мг/кг маси тіла. Визначали середню тривалість сну щурів кожної групи [177, 178].

Коефіцієнти маси внутрішніх органів визначали як відношення маси органа в грамах до маси тіла тварин у відсотках [188].

Дослідження ембріотоксичної та тератогенної дії Вітосепту. Для визначення ембріотоксичної дії препарату «Вітосепт» на розвиток нащадків білих щурів I покоління із вагітних самок сформували контрольну (К) та три дослідних групи (I, II і III). Самкам контрольної групи за допомогою голки з тупим кінцем вводили щоденно впродовж 30 діб по 5 мл фізіологічного розчину NaCl, а дослідним – препарат «Вітосепт» з різною концентрацією ВНГХ: II група – 50 мг/л; III група – 100 мг/л; I група – 500 мг/л.

На підставі результатів розтину за формулами О.М. Малашенко, М.К. Єгорової визначали наступні показники:

а) загальну ембріональну смертність (%) – $(B - A) : B \times 100$;

б) доімплантаційну смертність ((%) – $[B - (A + B) : B] \times 100$;

в) постімплантаційну смертність (%) – $B : (A + B) \times 100$,

де: А – кількість живих плодів; Б – кількість мертвих і резорбованих ембріонів; В – кількість жовтих тіл вагітності.

Показниками ембріотоксичної дії «Вітосепту» вважали: а) ембріональну (до- та постімплантаційну) загибель плодів; б) відставання у розвитку, що проявлялось у зменшенні маси тіла і краніо-каудальних розмірів плодів; в) поява патології розвитку внутрішніх органів; г) поява зовнішніх аномалій (тератогенний ефект).

Імовірний тератогенний ефект досліджуваної речовини відзначали візуально (у процесі розтину вагітних самок). Новонароджених щуренят оглядали, реєстрували краніо-каудальний розмір, визначали масу тіла. Враховували випадки загибелі щуренят від моменту народження до припинення вигодовування. Вивчаючи постнатальний розвиток потомства від щурів дослідних і контрольної груп, брали до уваги наступні показники: динаміку

збільшення маси тіла, час відкривання очей, відлипання вушної раковини, появу первинного і постійного шерстного покриву, прорізування різців, індекс життєздатності (число живих новонароджених / число народжених), індекс лактації (число живих щурят до 21-ї доби життя / число живих щурят до 4-ї доби життя), індекс виживання (число щурят, які вижили до 4-ї доби / число народжених живими).

За тваринами встановлювали спостереження: контролювали стан і поведінку самок, реєстрували динаміку зміни маси тіла, тривалість вагітності, перебіг пологів. Паралельно вели спостереження за контрольними групами тварин. Облік результатів експерименту проводили як при заборі вагітних самок на 20-й день вагітності, так і за станом потомства в постнатальний період розвитку [179, 180].

Дослідження шкірно-подразнювальної дії препарату «Вітосепт» проведено на 10 різностатевих мурчаках (табл. 2.1), що знаходились на стандартних умовах віварію (годування і догляд). Досліджуваний препарат «Вітосепт», в нативному вигляді, наносили на підготовлену шкіру боку тварин двічі на день з розрахунку 2810 мг/кг м.т. Протягом наступних 2-х тижнів проводили спостереження за станом шкірного покриву на місці аплікації препарату. При цьому, спостерігали за загальною поведінкою тварин, визначали предмет можливої резорбтивної дії препарату. Тваринам контрольної групи на шкіру аналогічно наносили рослинну (оливкову) олію. Піддослідні тварини знаходились в індивідуальних клітках, для попередження злизування препарату їм на шию одягали комірці.

Реакцію оцінювали щодня за шкалою шкірних проб у балах: 0 – відсутність реакції; 1 – легка гіперемія; 2 – гіперемія і набряк; 3 – запалення і виразки [156].

Дослідження місцево-подразнювальної дії натрію гіпохлориту, у складі препарату «Вітосепт», проводили на 10-и різностатевих кролях (табл. 2.1). На слизову оболонку очей тварин контрольної групи (n=5) наносили піпеткою по 1 мл дистильованої води, а дослідним (n=5) – досліджуваного засобу «Вітосепт».

Оцінювання реакції здійснювали впродовж 14 діб за шкалою: 0 балів – реакція відсутня; 1 бал – легке ураження слізної протоки і 2 бали – гіперемія слизової і набряк [156].

Дослідження алергенних властивостей Вітосепту. На 15-и мурчаках білої масті або з наявністю білих плям (табл 2.1), що знаходились на стандартному раціоні після 10-и денного карантину вивчено алергізувальні властивості досліджуваного засобу «Вітосепт». Тваринам дослідної групи (n=6) препарат вводили в зовнішню поверхню вуха в об'ємі 0,02 см³, а контрольній (n=3) – аналогічну кількість 0,9% розчину натрію хлориду. Сенсibiliзувальні властивості визначали на 12-у добу шляхом внутрішньошкірного введення роздільної дози препарату в об'ємі 0,1 см³ на вистрижену бічну поверхню тулуба тварин. Фізіологічний розчин вводили в такому ж об'ємі на відстані 2 см від середини боку тварини. Реакцію вираховували через 0,5, 6 і 24 год. відповідно до універсальної шкали О.Г. Алексєєвої і А.І. Петкевич [181]. На основі бальної оцінки (від 0-6) враховували наявність реакцій на дію препарату, інтенсивність (слабка, чітка, помірна) вогнищевої еритеми, потовщення шкірної складки і шкіри, присутність крапкових геморагій, виразок тощо.

Дослідження бактерицидних, спороцидних та фунгіцидних властивостей препарату «Вітосепт». В якості тест-культур використовували штами мікроорганізмів: для вивчення бактерицидної активності – *E. coli* (АТСС 25922), *S. aureus* (АТСС 6583), *P. aeruginosa* (АТСС 9027); для вивчення фунгіцидної активності – *C. albicans* (АТСС 885-653) та *A. niger* (АТСС 16404); спороцидну дію вивчали на моделі *B.subtilis* АТСС 6633. Вказані мікроорганізми використовували в кінцевій концентрації 10⁵-10⁷ колонієутворюючих одиниць на мл (КУО/мл) (5-71 %/мл). *A. niger* вирощували при 36°C впродовж п'ять діб, *B. subtilis* – за 30°C, дев'ять діб, до моменту утворення біля 80 % спор. Останні відмивали тричі у фізіологічному розчині хлориду натрію, шляхом центрифугування.

Бактеріостатичну концентрацію препарату «Вітосепт» визначали методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі. Після внесення тест-

культур у серійні розведення досліджуваного препарату проводили інкубування в термостаті за температури $37^{\circ} \pm 0,5^{\circ} \text{C}$ протягом 18-24 годин. Результати досліджень вираховували за відсутністю видимого росту мікроорганізмів у пробірках.

Для оцінки протимікробної активності препарату «Вітосепт» *in vitro* використовували метод дифузії в агар. З цією метою на підсушену поверхню м'ясо-пептонного (МПА) агару, розлитого в чашки Петрі, засівали тест-культуру в кількості 0,1 мл (концентрація 1 млрд. клітин на 1 мл фізіологічного розчину). Чашки знову підсушували в термостаті протягом 20 хв. На поверхню контамінованого середовища поміщали металеві циліндри з нержавіючого металу, після чого у всередину циліндра вносили 0,2 мл досліджуваного розчину. Чашки інкубували за температури 37°C протягом 24 годин. Після закінчення інкубації вираховували зони пригнічення росту тест-культур в мм. Всі досліди з тест-культурами проводили в 5 повторностях після чого вираховувалася середня (M), помилка (m) і ймовірність помилки (P) [182, 183].

Дезінфікуючі властивості засобу «Вітосепт» вивчали суспензійним методом шляхом внесення мікроорганізмів у відповідні концентрації препарату з органічним навантаженням та без нього. Ефективність вивчали при застосуванні його для дезінфекції поверхонь (лінолеум, кахель, фаянс), а також для передстерилізаційної дезінфекції та стерилізації ветеринарних виробів, інструментів хірургічного призначення з органічним навантаженням (пластмаса, гума, скло, нержавіюча сталь), використовуючи метод змивів та занурення [184].

В якості забруднення об'єктів органічною основою використовували бичачий альбумін (Б. А.) в концентрації 5, 0,3 і 0,03 %. З метою дезінфекції використовували Вітосепт (t 18° ; концентрація 650 мг/л). Проби для оцінки дезінфекції відбирали через 30, 60, 120, 180 та 240 хв. контакту.

Процес стерилізації вивчали на моделі *B.subtilis* в чотири етапи: 1) дезінфекція інфікованого об'єкта; 2) механічна очистка в дезрозчині від органічного забруднення; 3) відмивання в фізрозчині; 4) стерилізація Вітосептом.

Дезінфікаційну активність Вітосепту досліджували з використанням виробів з гуми на каучуковій основі, скла, нержавіючої сталі, лінолеуму. На об'єкти наносили тест-мікроорганізм в концентрації 10^6 КУО/мл ($6 \lg$) з 0,3 % Б.А. Після висихання мікробного навантаження дослідні об'єкти заливали дезрозчином на 30 хв, контрольні – фізіологічним розчином. Через 30 хв. предмети відмивали від органіки в дезінфікуючому і фізіологічному розчинах, *B.subtilis* визначали в останній промивній воді. Потім дослідні предмети заливали свіжим розчином Вітосепту. Через 30 хв контакту визначали наявність *B.subtilis* в дезрозчині. Після чого предмети виймали, відмивали стерильною водою і занурювали у тіогліколеве середовище та середовище Сабуро дотримуючись умов стерильності [189].

Основний об'єм досліджень стосувався визначення дезінфікуючої дії Вітосепту методом занурення. Бактерицидну дію на грамнегативні мікроорганізми вивчали на моделі *E.coli* та *P.aeruginosa*. Вихідна концентрація культур дорівнювала $1 \times 10^7 - 3 \times 10^7$ х ($7-7,48 \lg$) та $6,2 \times 10^6 - 7,7 \times 10^6$ х ($6,79 - 6,89 \lg$) КУО/мл, відповідно. Вихідна концентрація *S. aureus* дорівнювала $4,2 \times 10^6 - 9,9 \times 10^6$ КУО/мл ($6,62 - 7,0 \lg$).

Дослідження ефективності Вітосепту за лікування експериментальних (трафаретних) ран. За відсутності альтернативного доклінічного методу вивчення ефективності потенційного ветеринарного засобу нами досліджено протимікробну активність «Вітосепту» за лікування експериментальних ран у лабораторних тварин. При цьому їх кількість була мінімальною, а оперативне втручання відбувалось за обов'язкового знеболення та контролю за функціональним станом організму. З цією метою проведено експериментальні дослідження на 9-и білих щурах (табл.2.1), розділених на контрольну і 2 дослідні групи по три тварини у кожній.

Модельовану патологію відтворювали згідно з методичними рекомендаціями ДФЦ МОЗ України з доклінічного вивчення лікарських засобів [156]. Анестезіологічне забезпечення оперативного втручання здійснювали шляхом комбінованого знеболення (нейролептаналгезія плюс місцева анестезія).

Через 20 хв після премедикації 0,1% розчином атропіну сульфату (п/шкірно у дозі 0,01 мл на 100 г маси тіла) в/м'язово вводили ксилазин (2% розчин у дозі 0,1 мл на 100 г м.т.) та виконували інфільтраційну анестезію 0,5% розчином новакаїну за місцем розрізу. Якість знеболювання верифікували за відсутністю реакції на болеві подразники (уколи голкою в ділянці операції). Модель рани створювали наступним чином на спині (міжлопаткова ділянка) у тварин, після вистригання шерстного покриву, за дотримання правил асептики і антисептики, вирізали ділянку шкіри з підшкірною основою і поверхневою фасцією. Поверхня рани в усіх дослідних тварин була однаковою і складала за шаблоном 20 x 20 мм. Після відтворення ранового процесу ушкоджені ділянки шкіри були відкритими. Контрольна група тварин залишалася нелікованою впродовж усього досліджу; рани тварин I-ої дослідної групи обробляли препаратом «Вітосепт»; II-ої – розчином «Диоксизоль-Дарниця», з аналогічною фармакологічною дією. Параметрами загоєння рани слугували показники зменшення площі ран (мм²) та швидкість загоєння ранових дефектів (доба). Модельовані рани у тварин I-ої та II-ої груп обробляли щоденно, до повного загоєння ран. У процесі дослідження визначали ступінь зрілості грануляцій та швидкість епітелізації поверхні рани. Для визначення контрактації країв рани на її поверхню накладали стерильну плівку і відмірювали контури країв наростаючого епітелію. Площу рани обмежену відповідним контуром визначали за допомогою міліметрового паперу. На підставі зменшення площі через певні проміжки часу вираховували швидкість епітелізації і швидкість контрактації країв рани. Вимірювання проводили на 3-тю, 5-ту, 7-му, 9-ту, 11-ту, 13-ту та 15-ту доби. У ці терміни вимірювали площу ран та вираховували швидкість загоєння за формулою:

$$V = 100 \cdot (S_0 - S_t)/S_0,$$

де S_0 – початкова площа рани, мм²;

S_t – площа рани в день вимірювання, мм².

Оцінка дезинфікуючих властивостей препарату «Вітосепт» за передінкубаційної обробки яєць.

Інкубація яєць проводилася за загальноприйнятими нормами згідно з ДСТУ РСТ УССР 1924-82 «Яйця курячі інкубаційні. Технічні умови» та 4655:2006 «Яйця інкубаційні. Технологія передінкубаційної обробки. Основні параметри», затвердженими 01.08.2006 р. наказом №227 Держспоживстандарту України, а також методичним посібником («Інкубація яєць сільськогосподарської птиці», 2001) [185]. Для передінкубаційної обробки яєць контрольних груп використовували фумігацію формальдегідом, а для дослідних – препарат «Вітосепт», з концентрацією натрію гіпохлориту в ньому 650 та 500 мг/л.

В процесі інкубації яєць спостерігали за розвитком ембріонів курей шляхом проведення біологічного контролю. Овоскопію проводили на 5-ту, 11-ту та 19-ту добу інкубації. За допомогою розтину встановлювали причини ембріональної патології. Після виводу курчат підраховували відсоток виводимості яєць. Сортування добового молодняку виконували згідно ДСТУ 2021:2006 «Молодняк сільськогосподарської птиці добовий. Технічні умови». ДСТУ 4661:2006 «Молодняк сільськогосподарський ремонтний. Технічні умови» [185].

Дослідження з виділення й ідентифікації мікрофлори яєць та інкубаторів проведені з урахуванням вимог РСТ УРСР 1969-86 «Яйця курячі інкубаційні. Технічні умови», ДСТУ «Яйця інкубаційні сільськогосподарської птиці. Методи мікробіологічного контролю» (2006 р.) [186].

Бактеріологічний контроль якості дезінфекції інкубаційної шафи та поверхні яєць проводили на 13–15 доби інкубації. Для визначення ступеня мікробної забрудненості поверхонь робили змиви (10 × 10 см) стерильним тампоном з фізіологічним розчином із внутрішніх частин інкубаційних шаф (двері, верхня, нижня, права та ліва стінки). Змиви з поверхні шкаралупи яєць, що перебували у лотках кожної зони шафи (верх, середина, низ, визначали середній показник з 5 проб), брали на тупому, гострому кінцях і боковій частині за діаметром. Матеріал

висівали на поживні й елективні середовища з метою визначення кількості колоній та видового складу мікрофлори.

Видовий склад мікрофлори, виділеної на рідких та щільних поживних середовищах, визначали за морфологічними, культуральними та біохімічними властивостями згідно з визначником бактерій Берджі (1997) [187].

Дослідження ефективності препарату «Вітосепт» за лікування собак з інфікованими ранами. Вивчення ефективності лікування тварин за умов спонтанних інфікованих уражень шкіри проводили на 20 собаках (вік 3-5 років, безпородні і середні за величиною породи (15-20 кг, 28-50 см росту), самці і самки), які надходили у клініки ветеринарної медицини м. Львова з інфікованими ранами (рвані – 6, різані – 6 і комбіновані – 8).

Для собак першої групи (n=10) в якості антисептика за обробки ран використовували 0,1% розчин фурациліну (контроль), а для другої – (10 тварин) застосовували препарат «Вітосепт» (дослід). Загальні принципи обробки ран у собак обох груп були аналогічними, згідно з вимогами щодо первинної хірургічної їх обробки. У випадках розвитку септичного процесу тваринам контрольної та дослідної груп внутрішньом'язово вводили офлоксацинвет (в дозі 10 мг/кг маси тіла).

Характер і ступінь складності патології, етіологія ран та тривалість травматичних пошкоджень (не більше 2-3 діб від моменту одержання травми) у тварин обох груп були аналогічними. Всі тварини мали власників і утримувалися в домашніх умовах. Перед лікуванням нами проведено ретельне дослідження загального стану собак та місцевого патологічного процесу. Залежно від ступеня важкості поранення проводили місцеве знеболювання тканин навколо рани 1%-ним розчином лідокаїну, за потреби застосовували седацію, використовуючи 2% розчин ксилазину (0,1-0,2 мл/кг м.т.). Первинну обробку ушкоджених тканин та шкіри у тварин обох груп проводили за однією методикою. Закривши поверхню рани стерильним тампоном, змоченим гідрогену пероксидом, навкруги вистригали або виголювали шерсть, а шкіру асептизували 5 %-ним спиртовим

розчином йоду. Після знеболювання рани видаляли змертвілі та нежиттєздатні тканини, згустки крові та сторонні тіла. Для забезпечення відтоку гнійного ексудату розсікали кишені та затоки, після чого рану промивали 3 %-ним розчином гідрогену пероксиду і висушували стерильним тампоном.

Подальше лікування проводили з урахуванням патогенезу ранового процесу і його стадій. У собак дослідної і контрольної груп лікування дещо відрізнялось. Так, у 10-ти собак дослідної групи рани промивали розчином препарату «Вітосепт» та накладали бинтову пов'язку товщиною 8-10 шарів, змочену препаратом. При глибоких ранах порожнину заповнювали дренажем, просоченим досліджуваним розчином. Пов'язку залишали на добу. У випадках, коли пов'язка ставала надто просоченою ексудатом, її змінювали двічі на добу, до повного звільнення від некротизованих тканин. У перші 2-3 доби (перша фаза загоєння) досліджуваний засіб (Вітосепт) застосовували 1 раз на добу після попереднього зрошення рани, а в подальшому (друга фаза загоєння) розчин наносили через добу з метою профілактики вторинного інфікування рани.

Для лікування спонтанних ран у собак контрольної групи застосовували методику загальноприйнятого способу. Після хірургічної обробки у першу фазу ранового процесу поверхню рани зрошували 0,1%-ним розчином фурациліну та накладали бинтову пов'язку, просочену цим же антисептичним засобом. У процесі лікування досліджували загальний стан тварини та рани. Визначали швидкість загоєння рани та загальне одужання хворих тварин. Для поглибленого вивчення ефективності лікування, при надходженні собак у клініку та протягом періоду лікування, проводили морфологічні і біохімічні дослідження крові [190-192].

Отримані результати експериментальних досліджень статистично опрацьовували за допомогою комп'ютерного пакета програм Statist для Windows XP з використанням критерію Стьюдента (Г.Ф. Ларкін, 1990) [193, 194]. Результати середніх значень вважали вірогідними при : * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.

3.1. Токсикологічні параметри препарату «Вітосепт» за вивчення підгострої токсичності в щурів і білих мишей

У процесі проведених досліджень нами встановлено, що протягом всього терміну спостережень дослідні тварини були активними, мали задовільний апетит, реагували на звукові та світлові подразники, у них зберігалась рефлекторна збудливість. Отримані результати клінічного спостереження протягом дослідного періоду наведені в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Клінічний та функціональний стан організму щурів за вивчення підгострої токсичності «Вітосепту» при внутрішньошлунковому введення ($M \pm m$, $n=40$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	«Вітосепт», 1000 мг/л		
	К ₁	Д ₂	Д ₃	Д ₄
Початкова маса тіла, г	121,9±2,7	123,1±3,7	122,3±7,1	120,9±2,4
Кінцева маса тіла, г	122,0±2,7	124,1±1,7	123,4±5,7	121,9±3,3
Температура тіла, °С	37,9±0,1	37,5±0,5	37,3±0,3	37,5±0,4
Частота дихання, рухів/хв.	127±4	123±9	123±7	124±2
Розлади ШКТ	відсутні	відсутні	відсутні	відсутні
Пульс, рухів/хв.	57±4	59±9	58±7	59±2
Неадекватні реакції	відсутні	відсутні	відсутні	відсутні
Загибель тварин	відсутня	відсутня	відсутня	відсутня

Клінічні ознаки порушень зі сторони дихальної та сечовидільної систем, а також розлади шлунково-кишкового каналу були відсутні. Неадекватних реакцій та загибелі тварин не спостерігали. За загально-клінічними показниками

(температура тіла, пульс та частота дихання), поведінкою, відношенням до корму і води, станом зовнішніх слизових оболонок, а також за функцією шлунково-кишкового тракту і сечовидільної системи дослідні щурі не відрізнялися від тварин контрольної групи.

Після проведення патолого-анатомічного розтину трупів щурів за візуального огляду шкірного покриву, слизових оболонок, природніх отворів та макроскопічного обстеження внутрішніх органів у тварин контрольної та II, III і IV-ої дослідних груп не виявлено ознак інтоксикації або інших проявів патологічного процесу. За розміром, кольором, консистенцією, а також за розташуванням внутрішні органи тварин всіх дослідних груп відповідали анатомічній нормі. Динаміка коефіцієнтів маси внутрішніх органів щурів дослідних груп також була нехарактерною (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Коефіцієнти маси внутрішніх органів щурів на 15-у добу досліду за вивчення підгострої токсичності препарату «Вітосепт», ($M \pm m$, $n=10$)

Групи тварин	Показники, %			
	Печінка	Селезінка	Нирки	Серце
K ₁	3,1±0,3	0,4±0,2	0,6±0,3	0,3±0,01
D ₂	3,2±0,1	0,5±0,1	0,8±0,1	0,4±0,03
D ₃	3,7±0,4	0,3±0,1	0,6±0,0	0,3±0,01
D ₄	3,7±0,1	0,5±0,1	0,7±0,01	0,4±0,02

У порівняльному аспекті проведено також дослідження впливу препарату «Вітосепт» на важливі параметри гомеостазу організму щурів – гематологічні показники. Отримані результати досліджуваних морфологічних величин крові у щурів представлені в табл. 3.3

Гематологічні показники у щурів, на 15-у добу досліді, за вивчення підгострої токсичності препарату «Вітосепт», ($M \pm m$, $n=10$)

Групи тварин	Показники			
	Еритроцити, Т/л	Лейкоцити, Г/л	Гемоглобін, г/л	Еритроцитарний індекс інтоксикації
К ₁	5,9±0,4	7,7±0,8	117,2±5,6	21,5±0,52
Д ₂	6,1±0,5	9,2±0,7	128,4±9,9	25,4±0,36
Д ₃	6,1±0,6	9,9±0,4	120,7±10,2	26,2±0,09
Д ₄	5,9±0,1	10,3±1,8	114,9±10,9	46,6±0,26*

Примітка: у цій і наступних таблицях * – $P < 0,05$, порівняно з контролем ** – $P < 0,01$;

*** – $P < 0,001$

У крові щурів всіх дослідних груп (Д₂, Д₃ і Д₄) спостерігалось незначне підвищення, але в межах фізіологічних величин, загальної кількості лейкоцитів на відповідно 19,4%, 28,6% та 33,7%, у порівнянні з контролем. На нашу думку, встановлене зростання їх числа може бути результатом компенсаторної реакції або реакції на запалення, спричинене стресом при введенні препарату. При цьому, видимих вогнищ запальних процесів при розтині трупів тварин не виявляли. Очевидно, виявлений стимулювальний позитивний ефект на досліджувані показники гемопоезу обумовлений стимуляцією кровотворної і дихальної функцій, покращенням надходження Оксигену і більш інтенсивним проходженням окиснювально-відновлювальних процесів, які відбуваються в організмі щурів. Досліджувані гематологічні показники були у межах фізіологічних величин, що вказує на відсутність токсичного впливу препарату «Вітосепт» на організм щурів. Щодо еритроцитарного індексу інтоксикації (табл. 3.3), то виявлено його вірогідне зростання в понад 2 рази у щурів IV-ої групи, які щоденно отримували по 20 мл препарату ($P < 0,05$). Така виражена зміна досліджуваного показника інтоксикації може вказувати, що задана концентрація (1000 мг/л) все таки викликала хоч і незначне, але зростання концентрації ендогенних токсинів, які спричиняли зміну проникності мембран еритроцитів.

Нами відзначено, що застосування препарату «Вітосепт» у щурів мало стимулювальний вплив не тільки на морфологічний склад крові, але й на вміст загального протеїну та його фракційний склад (табл. 3. 4).

Таблиця 3.4

Вміст загального протеїну та його фракційний склад у сироватці крові щурів за вивчення підгострої токсичності препарату «Вітосепт», (M±m, n=10)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	Дослід		
	К ₁	Д ₂	Д ₃	Д ₄
Загальний протеїн, г/л	71,0±0,6	77,6±1,1	73,3±1,3	71,1±1,4
Альбуміни, %	34,6±4,5	40,6±3,9	46,1±12,4*	47,2±5,7*
Глобуліни, %	65,4±2,7	59,4±2,0	53,9±4,7	52,8±6,0
α- глобуліни, %	11,0±1,2	11,9±1,2	7,7±2,5	7,9±0,8
β - глобуліни, %	19,2±4,5	22,8±4,8	17,3±4,1	20,2±0,9
γ- глобуліни, %	14,5±8,9	12,2±1,6	7,9±4,4	5,1±1,1

Аналіз протеїнограми давав підставу стверджувати, що препарат «Вітосепт», в досліджуваних дозах, проявляв стимулювальний вплив на протеїнсинтезувальні процеси в організмі щурів. Так, вміст загального протеїну в сироватці крові лабораторних тварин II і III-ої дослідних груп був вищим за показник тварин контрольної групи, на 9,3 і 3,2%. За цих умов, характерним було вірогідне зростання протеїнів альбумінової фракції в щурів III і IV-ої груп на 33,2 і 36,4% ($P < 0,05$). Однак, ситуація із глобуліновою фракцією протеїнів була протилежною. Із збільшенням досліджуваної дози Вітосепту в сироватці крові щурів відсоток α- і γ-глобулінів різко знижувався, що є ознакою пригнічення імунореактивності та резистентності організму піддослідних тварин.

Результати токсикологічних досліджень за умов вивчення підгострої токсичності Вітосепту у мишей, наведені у таблиці 3.5. Нами встановлено, що протягом усього періоду дослідні миші були активними, мали задовільний

апетит, реагували на звукові та світлові подразники, у них зберігалась рефлекторна збудливість.

Таблиця 3.5

Клінічні спостереження за білими мишами в досліді за умов вивчення підгострої токсичності препарату «Вітосепт»(за внутрішньочеревного введення) ($M \pm m$, $n=40$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	Дослід		
	К ₁	Д ₂	Д ₃	Д ₄
Початкова маса тіла, г	24,9±0,7	24,8±0,7	24,3±0,5	24,9±0,4
Кінцева маса тіла, г	25,0±0,3	25,1±1,7	25,0±0,7	24,5±0,3
Температура тіла, °С	37,9±0,1	37,5±0,5	37,3±0,3	37,5±0,4
Частота дихання, рухів/хв.	87±4	93±9	92±7	94±5
Розлади ШКТ	відсутні	відсутні	відсутні	відсутні
Пульс, рухів/хв.	57±4	59±9	58±7	59±2
Неадекватні реакції	відсутні	відсутні	відсутні	відсутні
Загибель тварин	відсутня	відсутня	відсутня	відсутня

За умов парентерального введення білим мишам різних концентрацій Вітосепту клінічних симптомів отруєння не спостерігалось. Відхилень з боку дихальної, сечовидільної та харчотравної систем виявлено не було. За загальноклінічними показниками, а саме: поведінкою, відношенням до корму та води, станом видимих слизових оболонок, а також за функцією травного каналу, сечовидільної системи дослідні миші були подібними до тварин контрольної групи. Нехарактерних поведінкових реакцій та загибелі у процесі дослідження не виявляли. Виходячи з вищенаведеного констатуємо, що максимально введена концентрація Вітосепту становила для мишей і щурів 1000 мг/л. Оскільки, в результаті проведених досліджень загибелі дослідних тварин не зафіксовано можна зробити висновок, що досліджуваний препарат, за СОУ 85.2-37-736:2011, належить до 4 класу токсичності або – малотоксичні речовини.

Результати досліджень опубліковані у статті: Солтис М.П., Гунчак В.М.. До вивчення токсикологічних параметрів препарату «Вітосепт» за умов гострої токсичності. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З.Гжицького, 2018. Т.20, №88. С.115-119. [195].

3.2. Оцінка токсичності Вітосепту за його впливу на організм лабораторних щурів в умовах хронічного дослідження

3.2.1. Функціональний стан та поведінкові реакції організму щурів за впливу Вітосепту

Впродовж всього дослідження з вивчення хронічної токсичності досліджуваного препарату «Вітосепт» інтоксикації і загибелі щурів не спостерігали. При цьому, тварини I-ої і II-ої дослідних груп на тлі збереженої рефлекторної збудливості та активності добре поїдали корм, адекватно реагували на зовнішні подразники; клінічних проявів порушення дихання, акту сечовиділення та дефекації відзначено не було. За оцінкою клінічного стану (температура, пульс, дихання), поведінкових реакцій, станом шкірних покривів і слизових оболонок, а також за функціональним станом серцево-судинної, травної та сечовидільної систем щури дослідних груп суттєво не відрізнялися від контролю. Динаміка клінічних проявів інтоксикації щурів залежно від концентрації Вітосепту після багаторазового внутрішньошлункового введення приведена в табл. 3.6.

Встановлено, що в окремих щурів III-ої групи, де концентрація препарату «Вітосепт» була 100 мг/л, на 20-у добу введення спостерігали незначне пригнічення, яке проявлялось періодично впродовж доби, і особливо зразу ж після введення.

За поступлення Вітосепту у найвищій концентрації, тобто 500 мг/л (D₄), поведінкові реакції та рефлекси у тварин були збережені. Лише після введення досліджуваного розчину впродовж першої години щури були дещо пригнічені,

слабше реагували на звукові та світлові подразники, мали порушену рефлекторну збудливість та частий діуретичний ефект.

Таблиця 3.6

Динаміка клінічних проявів інтоксикації в щурів за дослідження хронічної токсичності препарату «Вітосепт» ($M \pm m$, $n=80$)

Групи тварин	К-ть тварин, з проявами інтоксикації / доби						Всього загинуло
	1-5	5-9	10-15	16-19	20-24	25-30	
К ₁	0	0	0	0	0	0	0
Д ₂	0	0	0	0	0	0	0
Д ₃	0	0	0	0	2	2	0
Д ₄	0	0	5	7	5	5	0

З даних поданих в табл. 3.7 видно, що у тварин IV-ої групи, в період з 10 до 20-ої доби від початку досліду почастишали періоди пригнічення, щури мали неохайний вигляд, в окремих з них спостерігали діарею. При цьому всі тварини, які були в досліді до 30-ої доби залишалися живими.

Таблиця 3.7

Клінічні спостереження за щурами в період досліду з вивчення хронічної токсичності препарату «Вітосепт» ($M \pm m$, $n=20$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль,	Дослід		
	К ₁	Д ₂	Д ₃	Д ₄
Маса тіла на 1-у добу досліду, г	198,6±1,66	195,3±1,45	193,6±1,69	198,9±1,31
Маса тіла на, 30-у добу досліду, г	199,7±2,45	199,5±1,49	187,0±3,41	180,2±2,19
Температура тіла, °C	37,3 ± 0,1	37,5 ± 0,5	37,8 ± 0,3	37,8 ± 0,4
Частота дих. рухів/хв.	127,5 ± 2,4	123,7 ± 2,9	123,3 ± 2,7	124,5 ± 3,2
Розлади ШКТ	відсутні	відсутні	+ (25 %)	+ (50 %)
Неадекватні реакції	відсутні	відсутні	+	+
Загибель тварин	відсутня	відсутня	відсутня	відсутня

Одним з об'єктивних показників безпечності лікарських препаратів є їх вплив на масу тіла тварин. Динаміка зміни цього показника, залежно від концентрації Вітосепту після багаторазового внутрішньошлункового введення, наведена в табл. 3.8

Таблиця 3.8

Динаміка маси тіла щурів за вивчення хронічної токсичності препарату «Вітосепт», (M±m)

Групи тварин	Доби досліджу/маса тіла (г)				
	5 (n=20)	10 (n=20)	15 (n=15)	20 (n=10)	30 (n=5)
K ₁	198,6±1,66	198,5±1,75	198,8±1,44	198,6±2,14	199,7±2,45
Д ₂	195,3±1,45	198,0±2,36	198,4±1,71	198,2±1,82	199,5±1,49
Д ₃	193,6±1,69	195,4±3,75	195,3±2,19	189,2±2,63	187,0±3,41
Д ₄	198,9±1,31	198,4±3,36	187,8±2,41	181,5±1,12*	180,2±1,19*

Встановлено, що за тривалого введення препарату «Вітосепт» у щурів контрольної і дослідних груп мали місце незначні коливання приростів маси тіла, але вірогідної різниці між показниками тварин контрольної та дослідних II-ої і III-ої груп не відзначено. При цьому досліджено, що відносний приріст маси тіла у тварин IV-ої групи на 20-ту і 30-ту добу досліджу був нижчим порівняно з контролем на 8,6 і 9,8% і становив відповідно 181,5±1,12 та 180,2±1,19 г.

Таким чином, аналіз наведених даних дозволяє зробити обґрунтований висновок, що препарат «Вітосепт» в концентрації 50, 100 і 500 мг/л, за умов тривалого введення (30 діб), суттєво не впливав на динаміку приростів маси тіла щурів в порівнянні з контролем.

За надходження в організм тварин ксенобіотичних речовин змінюються біохімічні процеси в тканинах, а це, відповідно, веде до порушень у функціонуванні окремих органів і систем. Оцінюючи антитоксичну функцію печінки, на тлі дії гіпохлоритвмісного препарату «Вітосепт», за тіопенталовою пробою нами було встановлено, що тривалість штучно викликаного сну і

швидкість пробудження тварин залежали від функціонального стану печінки. Результати цих досліджень наведені в табл. 3.9

Таблиця 3.9

Тривалість тіопенталового сну в щурів за вивчення хронічної токсичності препарату «Вітосепт», (M±m) n=20

Групи тварин	Тривалість сну, хв. / доби дослідю		
	10 (n=5)	20 (n=5)	30 (n=5)
K ₁	98,6±1,66	99,5±1,75	98,8±1,44
Д ₂	102,4 ± 1,38	104,2 ± 2,15	104,4 ± 1,53
Д ₃	138,6 ± 3,7	132,1 ± 2,5 ^{*®}	158,7 ± 2,1 ^{*®}
Д ₄	142,6 ± 1,15 ^{*®}	154,6 ± 1,15 ^{*®}	196,5 ± 1,19 ^{*®}

Примітка: вірогідність до контролю *P<0,05; [®]P <0,05 – вірогідність до II групи

За аналізом отриманих показників можна припустити, що стан антитоксичної функції печінки, за оцінкою тіопенталового сну, в щурів дослідних груп, за тривалого введення Вітосепту був різним. У тварин II-ої дослідної групи, які отримували препарат в концентрації 50 мг/л тривалість сну була наближена до показників тварин контрольної групи, що вказувало на достатньо високий рівень дезінтоксикаційної функції печінки. В той же час у щурів III-ої та IV-ої груп на 30-ту добу дослідю цей показник був вірогідно вищим, відповідно, у 1,6, і 2 рази (P<0,05), в порівнянні з тваринами контрольної та II-ої дослідної груп.

Системні порушення найважливіших фізіологічних функцій організму можуть викликати зміну гомеостазу, сприяти зниженню рівня фізичних можливостей організму. Нами, за оцінкою тривалості плавання щурів, в умовах вивчення хронічної токсичності препарату «Вітосепт» (табл. 3.10) встановлено, що найменша за часом тривалість плавання (за навантаження 10 % від маси тіла) була у щурів IV-ої групи. Досліджуваний показник був вірогідно нижчим на 27,9 хв. (P<0,05), порівняно з тваринами групи контролю.

**Тривалість плавання у щурів за вивчення токсичності препарату
«Вітосепт», хв., (M±m)**

Групи тварин	Показники / Доби дослідю		
	10 (n=5)	20 (n=5)	30 (n=5)
K ₁	27,8 ± 1,62	37,4 ± 1,62	37,5 ± 1,62
Д ₂	25,8 ± 1,12	25,4 ± 1,26	24,8 ± 1,32
Д ₃	20,4 ± 2,19	19,1 ± 1,91 [®]	19,9 ± 2,19 [®]
Д ₄	14,6 ± 1,15 ^{*®}	10,6 ± 1,15 ^{*®}	9,6 ± 2,61 ^{*®}

Примітка: вірогідність до контролю *P<0,05; [®]P <0,05 – вірогідність до II групи

Відомо, що всі ендокринні і вегетативні реакції організму є вторинними й зумовлені, в першу чергу, змінами функціонального стану центральної нервової системи. Через це нами вивчено особливості поведінкових реакцій, на тлі дії Вітосепту у щурів, за умови «відкритого поля» (табл. 3.11).

Таблиця 3.11

**Результати тесту з вивчення поведінкових реакцій щурів за умов
«відкритого поля» на 30-ту добу застосування препарату «Вітосепт»
(M±m, n=5)**

Групи тварин	К-ть заглядань у нірку	К-ть вмивань	К-ть вставань на задні лапи	К-ть перетинань квадратів
K ₁	12,6 ± 3,6	6,4 ± 0,9	6,5 ± 0,8	8,4 ± 0,9
Д ₂	10,1 ± 5,3	5,2 ± 1,8	5,6 ± 0,3	4,5 ± 0,2
Д ₃	7,5 ± 4,6	2,7 ± 0,3	4,1 ± 0,3	4,6 ± 0,5
Д ₄	5,2 ± 4,5	1,5 ± 0,5	0,8 ± 0,04	2,3 ± 0,3

Вивчення поведінки тварин вказувало на деяке пригнічення стану нервової системи у щурів IV-ої групи, зокрема реакції їх поведінки (зменшувалася кількість заглядань у нірку, вмивань та вставань на задні лапки) у порівнянні з тваринами контрольної групи. У щурів II-ої групи вегетативні реакції в організмі, їх поведінка за умов "відкритого поля" була наближеною до аналогічних показників контролю.

3.2.2 Морфологічні та біохімічні показники крові щурів за тривалої дії препарату «Вітосепт»

Кров завдяки своїй реактивності, постійному руху та виконанню ряду функцій відіграє ключову роль у розвитку адаптації за дії на організм різних токсичних чинників. Нами вивчено вплив препарату «Вітосепт» на важливі параметри гомеостазу організму досліджуваних щурів – гематологічні показники. Отримані результати наведені в таблиці 3.12.

Таблиця 3.12

Гематологічні показники у щурів на 10-ту добу досліду за умов тривалого введення препарату «Вітосепт», ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	Дослід		
	К ₁	Д ₂	Д ₃	Д ₄
Гематокрит, %	39,1±0,63	40,7±0,71	39,1±0,43	38,9±1,96
Гемоглобін, г/л	123,9±1,95	125,0±1,74	125,0±1,05	114,5±5,67
Еритроцити, Т/л	7,16±0,13	7,33±0,12	6,97±0,10	6,58±0,32
Сер. вміст Нв в еритроц., пг	16,9±0,14	17,4±0,21	17,4±0,30	17,7±0,13
Сер. вміст Нв в еритроц., %	31,5±0,08	31,5±0,15	31,8±0,15	30,2±0,39
Сер. об'єм еритроц., мкм ³	53,8±0,48	55,3±0,61	55,2±0,62	58,0±0,46
Пок. анізоцитозу еритроц., %	14,9±0,14	14,5±0,16	14,4±0,15	13,9±0,13

Відзначаємо, що за аналізом отриманих результатів (табл. 3.12) виявлено незначні коливання досліджуваних величин у щурів. Останні не виходили за межі аналогічних в контролі і були характерними для тварин даного виду. Стан периферичної крові у щурів, які отримували препарат «Вітосепт» теж був в межах фізіологічних величин і не зазнавав критичних змін.

У крові щурів IV-ої групи відзначено вірогідне зростання кількості лейкоцитів ($P < 0,05$) та тенденцію до збільшення відносної кількості моноцитів і, навпаки, зниження відсотка лімфоцитів (табл. 3.13).

Лейкограма щурів на 10-ту добу досліду за вивчення хронічної токсичності препарату «Вітосепт», ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	Дослід		
	К ₁	Д ₂	Д ₃	Д ₄
Лейкоцити, Г/л	5,2±0,44	5,7±0,43	6,8±0,29	7,4±0,13*
Нейтрофіли, %	33,2±7,9	32,9±6,6	35,1±5,3	38,0±3,1
Паличкоядерні, %	11,20±0,44	11,10±0,43	16,1±0,29	19,4±0,53
Сегментоядерні, %	22,0±2,46	21,8±2,87	19,0±1,92	28,6±4,41
Еозинофіли, %	0,60±0,27	1,20±0,25	1,10±0,23	0,6±0,30
Моноцити, %	0,80±0,39	0,90±0,31	0,80±0,20	2,40±0,53
Лімфоцити, %	65,4±2,68	65,0±2,96	63,0±2,06	59,0±4,03

Динаміка біохімічних показників сироватки крові у щурів за вивчення хронічної токсичності досліджуваного препарату подана в таблиці 3.14.

Біохімічні показники сироватки крові щурів на 10-ту добу досліду за вивчення хронічної токсичності препарату «Вітосепт», ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Групи тварин			
	К ₁	Д ₂	Д ₃	Д ₄
Глюкоза, ммоль/л	5,99±0,18	6,32±0,12	6,22±0,10	5,60±0,27
Сечовина, ммоль/л	8,23±0,3	7,41±0,24	7,39±0,32	7,81±0,45
Креатинін, ммоль/л	45,1±0,8	42,6±1,08	40,8±1,85	41,1±1,74
Білірубін заг., мкмоль/л	11,4±0,3	11,1±0,64	11,7±0,37	11,4±1,05
Білірубін прям., мкмоль/л	3,05±0,2	2,41±0,21	2,08±0,46	0,89±0,18*
АсАТ, Од./л	160,7±9,1	190,3±11,2	205,2±18,3	168,4±5,32
АлАТ, Од./л	47,1±2,1	53,2±2,43	53,4±2,14	52,8±1,32
Коефіцієнт Де Рітиса	3,53±0,2	3,69±0,23	3,93±0,48	3,20±0,18
Лужна фосфатаза, Од./л	404,7±36,8	324,9±36,2	248,4±22,1*	151,5±8,93*
Альфа-амілаза загал., Од./л	502,0±22,4	453,3±20,1	457,7±18,6	392,7±23,9*

За аналізом отриманих результатів можна зробити висновок, що за тривалого внутрішньошлункового введення Вітосепту в найменшій досліджуваній концентрації (50 мг/л) вірогідних змін біохімічних показників

крові у щурів цієї групи на 10-ту добу досліджу не відзначено. Щодо лабораторних тварин третьої групи (концентрація препарату 100 мг/л) – у них вірогідно зменшувалася у більш ніж у 1,5 рази активність лужної фосфатази, порівняно з контролем. За найвищої досліджуваної концентрації препарату «Вітосепт» у крові щурів IV групи крім зміни активності лужної фосфатази, яка продовжувала зменшуватись, вірогідно низьким був також вміст білірубину прямого та активність γ -амілази ($P < 0,05$).

Функціональний стан нирок характеризують рівень сечовини і креатиніну в сироватці крові піддослідних щурів. Нами з'ясовано, що при введенні препарату «Вітосепт» у трьох тестових концентраціях в щурів усіх дослідних груп тенденційно знижувався вміст сечовини і креатиніну в крові, хоч дані показники не виходили за межі фізіологічних величин, характерних для даної групи тварин. При дослідженні протеїнового профілю сироватки крові встановлено, що на тлі незначного але вірогідного зниження рівня загального протеїну у щурів IV-ої дослідної групи, фракційний його склад змінювався неоднозначно (табл. 3.15).

Таблиця 3.15

Фракційний склад протеїнів сироватки крові щурів за тривалого надходження Вітосепту (10-та доба досліджу) ($M \pm m, n=4$)

Показники	Групи тварин			
	К ₁	Д ₂	Д ₃	Д ₄
Заг.протеїн, г/л	67,0±1,13	64,9±0,86	64,6±0,95	62,9±0,84*
Альбумін, %	49,9±4,43	49,5±4,41	49,0±2,83	48,7±4,72
α_1 -глобуліни, %	10,6±0,84	10,2±0,64	9,0±1,37	11,7±0,42
α_2 -глобуліни, %	10,5±0,20	11,4±0,93	9,80±1,3	9,70±0,28
β -глобуліни, %	15,45±0,37	13,5±0,78	13,6±0,29	18,5±0,44*
γ -глобуліни, %	13,55±0,26	15,40±0,04	18,6±0,43*	11,4±0,88

Так, вміст альбумінів дещо знижувався, порівняно з тваринами контрольної групи. Щодо глобулінів, то характерним було тенденційне зростання

вмісту α_1 -глобулінів за зниження рівня α_2 -глобулінів. Глобуліни за найвищою досліджуваною концентрацією Вітосепту (500 мг/л) зростали в сироватці крові щурів IV-ої групи на 19,7% ($P < 0,05$), а рівень γ -глобулінів в крові щурів III-ої групи був на 37,2% ($P < 0,05$) вищим, ніж у тварин контролю.

За оцінкою морфологічних показників крові лабораторних щурів на 20-у добу досліду (табл. 3.16) встановлено, що вірогідних відхилень від показників контролю не було, хоча на тлі незначного збільшення в крові тварин IV-ої дослідної групи еритроцитів вміст гемоглобіну був нижчим на 5,8%. Динаміка показників, які характеризують середній об'єм та насиченість еритроцитів гемоглобіном у щурів контрольної і дослідних груп була не характерною.

Таблиця 3.16

Гематологічні показники у щурів на 20-ту добу хронічного досліду з вивчення токсичності препарату «Вітосепт», ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль К ₁	Дослід		
		Д ₂	Д ₃	Д ₄
Гематокрит, %	39,6±1,36	41,3±1,17	40,1±1,33	35,4±1,56
Гемоглобін, г/л	123,7±1,55	125,4±1,68	125,1±1,35	116,5±3,27
Еритроцити, Т/л	7,16±0,13	7,23±0,16	7,57±0,18	7,38±0,38
Сер. вміст Нв в еритр., пг	16,9±0,44	16,4±0,32	18,4±0,45	18,7±0,63
Сер. вміст Нв в еритр., %	31,5±0,08	30,7±0,16	29,6±0,18	28,2±0,59
Сер. об'єм еритр., мкм ³	54,8±0,48	56,3±0,41	57,2±0,62	58,0±0,46
Пок. анізоцитозу ерит, %	14,3±0,14	14,5±0,16	14,6±0,15	14,9±0,13

За аналізом лейкограми крові щурів II і III-ої дослідних груп на 20-ту добу досліду, за вивчення хронічної токсичності препарату «Вітосепт», з'ясовано, що зміни окремих клітин в складі лейкоцитів крові не були суттєвими. Стан периферичної крові у щурів в цей період досліду був в межах фізіологічної норми і не зазнавав жодних критичних змін (табл. 3.16). Щодо тварин IV-ої групи, то нами відзначено вірогідне зростання в їх крові лейкоцитів ($P < 0,05$) і лімфоцитів ($P < 0,05$).

Лейкограма щурів на 20-ту добу досліду за умов вивчення хронічної токсичності препарату «Вітосепт», ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	Дослід		
	К ₁	Д ₂	Д ₃	Д ₄
Лейкоцити, Г/л	8,2±0,44	7,1±0,43	10,8±0,29	11,4±0,53 *
Нейтрофіли, %	34,7±5,1	35,4±4,6	36,1±5,3	32,3±3,1
Паличкоядерні, %	14,20±0,44	13,6±0,43	17,0±0,29	11,0±0,53
Сегментоядерні, %	20,5±2,46	21,8±2,87	21,1±1,92	21,3±4,41
Еозинофіли, %	0,60±0,27	1,20±0,25	1,10±0,23	0,57±0,30
Моноцити, %	0,80±0,39	0,90±0,31	0,80±0,20	2,43±0,53
Лімфоцити, %	63,9±2,68	62,5±2,46	62,0±2,06	64,7±4,03 *

Результати біохімічних досліджень сироватки крові тварин на 20-ту добу досліду за впливу препарату «Вітосепт» наведені в таблиці 3. 17. На тлі зростання активності аспартат-амінотрансферази ($P < 0,05$) у тварин, яким задавали Вітосепт у концентрації 500 мг/л (IV група), коефіцієнт Де-Рітиса тенденційно знижувався. На пригнічення функціонального стану печінки і нирок у щурів цієї дослідної групи вказувало також зниження в сироватці їх крові концентрації білірубіну прямого на 46,2% ($P < 0,05$), сечовини – на 5,1% і креатиніну – на 8,9%, відповідно. Характерною також була динаміка щодо зниження активності окремих ензимів, зокрема лужної фосфатази (на 41,6%) ($P < 0,05$) і α -амілази – на 20,6% ($P < 0,05$). Стосовно досліджуваних біохімічних показників крові лабораторних тварин II-ої і III-ої дослідних груп (50 і 100 мг/л препарату) вірогідних відхилень від цифрових даних щурів групи контролю не виявлено.

Крім того нами з'ясовано, що за тривалого введення щурам Вітосепту в досліджуваних концентраціях (100 і 500 мг/л) у тварин знижувалась протеїнсинтезувальна функція (табл. 3.18). Так, на 20-ту добу досліду в сироватці крові тварин цих груп (III, IV) рівень загального протеїну був нижчим на 7,6 ($P < 0,05$) і 11,3% ($P < 0,05$) відповідно.

Біохімічні показники сироватки крові щурів (20-а доба дослідю) за вивчення хронічної токсичності препарату «Вітосепт», ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	Дослід		
	К ₁	Д ₂	Д ₃	Д ₄
Білірубін заг., мкмоль/л	11,4±0,3	11,1±0,64	11,9±0,37	12,4±1,05
Білірубін прям., мкмоль/л	3,01±0,25	2,41±0,21	2,08±0,46	1,61±0,18*
АсАТ, Од/л	161,7±9,1	166,3±5,2	176,2±8,3	201,4±5,62*
АлАТ, Од/л	47,1±2,1	53,2±2,43	53,4±2,14	52,8±1,32
Коефіцієнт Де-Рітиса	3,53±0,2	3,69±0,23	3,93±0,48	3,20±0,18
Сечовина, ммоль/л	8,23±0,3	7,41±0,24	7,39±0,32	7,81±0,45
Креатинін, ммоль/л	45,1±0,8	42,6±1,08	40,8±1,85	41,1±1,74
Лужна фосфатаза, Од/л	402,5±26,4	354,9±23,2	388,6±21,1*	235,1±5,62*
Альфа-амілаза загаль., Од/л	502,0±22,4	483,6±18,9	453,7±19,9	398,7±23,5*
Глюкоза, ммоль/л	5,99±0,18	6,22±0,12	6,21±0,10	5,81±0,27

При цьому відзначено, що зниження концентрації протеїну в крові відбувалося за рахунок зменшення відсотка альбумінів та вірогідного підвищення протеїнів β -глобулінової фракції.

Фракційний склад протеїнів сироватки крові щурів на 20-у добу дослідю за вивчення хронічної токсичності препарату «Вітосепт», ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Групи тварин / Концентрація Вітосепту, мг/л			
	Контроль	Дослід		
	К ₁	Д ₂	Д ₃	Д ₄
Загальний протеїн, г/л	63,5±1,31	62,97±1,74	58,7±1,64*	56,3±1,76*
Альбуміни, %	50,8±1,23	49,5±2,31	48,0±1,83	48,8±3,27
α_1 -глобуліни, %	12,7±0,53	10,2±0,34	12,6±0,67	9,8±0,42
α_2 -глобуліни, %	10,5±0,22	11,4±0,97	10,8±0,93	9,6±0,48
β -глобуліни, %	13,3±0,27	14,3±0,48	15,4±0,29	16,9±0,54*
γ -глобуліни, %	12,7±0,24	14,6±0,24	13,2±0,43	14,9±0,98

Отже, за тривалого внутрішньошлункового введення лабораторним тваринам групи Д₂ і Д₃ препарату «Вітосепт» відхилень у досліджуваних

морфологічних і біохімічних показниках крові, порівняно з аналогічними у тварин контрольної групи, не відзначено. Стосовно тварин IV-ої групи, які отримували через зонд найвищу досліджувану концентрацію препарату (500 мг/л) виявлені окремі вірогідні зміни (зростання в крові числа лейкоцитів, активності АсАТ, ЛФ, зменшення концентрації в сироватці крові сечовини, креатиніну) носили, на нашу думку, компенсаторний характер і зникали впродовж кількох днів після припинення введення препарату.

Результати досліджень опубліковані у статті: **Солтис М.П.** Морфологічні та біохімічні показники крові щурів за довготривалої дії препарату «Вітосепт». Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З.Гжицького. Серія: Ветеринарні науки, 2019. Т.21. №94. С. 109-114 [196].

3.2.3 Місцево- і шкірно-подразнювальна та алергенна дія препарату «Вітосепт»

Після 14-и добового спостереження у кролів дослідної групи, яким закапували в око по 1 краплі препарату встановлено, що лише впродовж перших 60 хвилин досліду у 3-х тварин (60%) в місці нанесення препарату, були наявні ознаки розвитку запальної реакції у вигляді легкої гіперемії, які самостійно і повністю зникали вже через 5 год. спостереження. У подальшому, будь-яких інших ознак гіперемії кон'юнктиви або її набряку не відзначено.

За вивчення шкірно-подразнювальної дії гіпохлоритвмісного препарату на мурчаках візуально, на основі 2-х тижневих спостережень з'ясовано, що відсутність гіперемії, болючості, зморщування чи набряку (з потовщенням шкіри і можливим утворенням окремих лусочок) характеризує Вітосепт, як препарат, що не викликає подразнювальної, дермонекротичної та резорбтивної дії при його нанесенні на шкіру.

Оцінку алергенних властивостей препарату «Вітосепт» проводили на 15 мурчаках білої масті. Як специфічний методу оцінки сенсibiliзувальних

властивостей досліджуваний препарат у вигляді водної суспензії, вводили в зовнішню поверхню вуха тварини дослідної групи в об'ємі 0,02 см³ (контроль – ізотонічний розчин натрію хлориду). Сенсibiliзувальні властивості Вітосепту визначали на 12-у добу шляхом внутрішньошкірного введення роздільної дози препарату в об'ємі 0,1 см³ на вистрижену бічну поверхню тулуба тварини. За результатами спостережень через 30 хв., 6 год. і через добу (за шкалою О.Г. Алексєєвої і А.І. Петкевич, 1988) встановлено, що препарат «Вітосепт» алергенних властивостей не викликав.

Таким чином, досліджуваний препарат за оцінкою місцевої, шкірно-подразнювальної і алергенної дії є безпечним для нашкірного його примінення лабораторним тваринам.

3.2.4. Макроструктура окремих внутрішніх органів щурів за тривалого поступлення Вітосепту

При макроскопічному дослідженні внутрішніх органів щурів на 10-ту добу введення препарату «Вітосепт» в різних концентраціях встановлено, що печінка, нирки, селезінка, легені і серце у тварин II-ої і III-ої дослідних груп за зовнішнім виглядом, величиною, формою не зазнали видимих змін. Так, легені у тварин всіх дослідних груп, за проведеного паталого-анатомічного розтину мали вигляд пористої, губчастої структури біло-рожевого кольору. Нирки на розрізі були темно-червоного кольору, щільної консистенції. Серцевий м'яз у щурів мав теж темно-червоний колір, форму неправильного конуса із добре видимими протоками артеріальних і венозних судин. Щодо селезінки, то вона мала блискучу поверхню темно-червоного кольору з сіруватим відтінком. Зовнішня її поверхня була гладкою і опуклою. Щодо піддослідних тварин IV-ї групи, то в окремих з них, печінка була збільшеною із ділянками зміненого і не властивого кольору.

Результати дослідження відносних коефіцієнтів маси внутрішніх на 10-ту добу досліду за впливу препарату «Вітосепт» наведені в табл. 3.20

Коефіцієнти маси внутрішніх органів щурів на 10-у добу при застосуванні різних концентрацій препарату «Вітосепт», ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Групи тварин			
	K ₁	Д ₂	Д ₃	Д ₄
Печінка	37,7±0,83	37,2±0,87	39,6±0,41	41,3±0,94*
Нирки	7,3±0,37	7,8±0,49	7,0±0,02	7,5±0,59
Селезінка	3,8±0,45	4,2±0,78	4,4±0,68	5,3±0,18*

Що стосується відносних коефіцієнтів маси досліджуваних внутрішніх органів, то у щурів II і III-ої груп ці показники були на рівні аналогічних у контролі. У той же час, у тварин IV-ої групи відзначено вірогідне збільшення коефіцієнту маси печінки ($P<0,01$) та селезінки ($P<0,05$). Ці показники зросли, відповідно на 9,5 % та 39,4 % у порівнянні з тваринами контрольної групи (табл. 3.19).

Отже, результати проведених досліджень вказують, що препарат «Вітосепт» у концентраціях 50 і 100 мг/л не викликав суттєвих змін в організмі щурів. Застосування його в концентрації 500 мг/л мало помірну токсичну дію на організм щурів, що підтверджено також отриманими даними біохімічних та патоморфологічних досліджень.

За патолого-анатомічного розтину щурів дослідних груп, на 20-у добу після введення різних концентрацій препарату «Вітосепт» встановлено, що печінка у тварин контрольної групи однорідна, забарвлена у світло-вишневий колір, на розрізі структура збережена. У тварин II, III та IV-ої дослідних груп вона теж була світло-вишневого кольору, пружної консистенції, на розрізі структура зерниста.

Форма обох нирок у щурів контрольної та усіх дослідних груп була в цей період не зміненою, світло-вишневого кольору. На розрізі добре виражена межа між мозковою та кірковою зонами. Капсула з органу знімалася легко.

Селезінка у всіх тварин мала вишневе забарвлення, пружну консистенцію. Капсула в неї була гладенькою, блискучою на розрізі, зішкріб пульпи був

незначним. Коефіцієнти маси внутрішніх органів, на тлі впливу Вітосепту, не зазнавали суттєвих змін, результати досліджень наведені в табл. 3.21.

Таблиця 3.21

Коефіцієнти маси внутрішніх органів щурів на 20-у добу досліджень хронічної токсичності препарату «Вітосепт», ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Групи тварин			
	К ₁	Д ₂	Д ₃	Д ₄
Печінка	38,0±0,23	37,2±0,87	37,0±0,41	36,2±0,54
Нирки	8,13±0,73	7,29±0,81	7,42±0,32	8,35±0,95
Селезінка	4,71±0,65	5,32±0,43	4,34±0,68	5,13±0,42

Отже, наведений опис макроскопічних досліджень органів відповідає фізіологічній нормі. В цілому слід зазначити, що при багаторазовому введенні різних концентрацій препарату «Вітосепт» отримані результати дослідження вказують на виражені адаптаційно-приспосувальні процеси, що проходили в організмі щурів. При цьому, спостерігали незначні коливання досліджуваних гематологічних і біохімічних показників, що вказувало на активне використання фізіологічних резервів та підвищення реактивності системи імунітету тварин в процесі досліду. Саме тому, продовжувати дослід до 30-ої доби було недоцільним.

3.2.5. Ембріотоксична та тератогенна дія препарату «Вітосепт» на організм білих щурів

За проведеними в експерименті дослідженнями встановлено, що упродовж 20-и діб вагітності загибелі самок-щурів дослідних груп не реєстрували, вони були активними та добре поїдали корм. Як видно з даних, що наведені в таблиці 3.22, динаміка приросту маси тіла самок у всіх групах характеризувалась збільшенням впродовж всього терміну вагітності.

Динаміка приросту маси тіла вагітних самок при застосуванні різних концентрацій препарату «Вітосепт», ($M \pm m$, $n=5$)

Групи	Період досліджу, доби/маса тіла, г			
	0	10-та	15-та	20-та
Контроль (K_1)	198,8 \pm 1,44	199,6 \pm 5,37	217 \pm 10,2	254,6 \pm 15,09
D_2	198,4 \pm 1,71	202,3 \pm 8,19	228,6 \pm 13,8	259,5 \pm 23,9
D_3	195,3 \pm 2,19	198,5 \pm 2,23	218,4 \pm 3,39	256,7 \pm 14,3
D_4	187,8 \pm 2,41	195,5 \pm 7,17	207,9 \pm 8,23	245,8 \pm 8,94

При цьому, на 20-у добу маса тіла найбільше зростала у тварин дослідних груп II-ої, III-ої і IV-ої, відповідно на 28,8, 30,7 та 30,8 %, порівняно з масою їх тіла на початку експерименту.

Динаміка показників постембріонального розвитку щуренят наведена у таблиці 3.23.

Вплив препарату «Вітосепт» на морфо-анатомічний постембріональний розвиток плодів, ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Групи тварин			
	K_1	D_2	D_3	D_4
Середня кількість плодів на самку (гол.)	9,49 \pm 0,27	9,19 \pm 0,17	9,20 \pm 0,33	9,33 \pm 0,25
Маса щуренят на першу добу, г	4,94 \pm 0,12	4,89 \pm 0,18	4,93 \pm 0,07	4,89 \pm 0,27
Середньодобовий приріст щуренят, г	1,54 \pm 0,07	1,49 \pm 0,8	1,49 \pm 0,07	1,50 \pm 0,07
Поява шерстяного покриву, доба	5	5	5	5
Відлипання вушної раковини, доба	13	13	13	13
Відкривання очної щілини, доба	16	16	16	16
Індекс життєздатності	1	1	1	1
Індекс виживання	1	1	1	1
Індекс лактації	1	1	1	1

Встановлено, що шерстний покрив у тварин контрольної та дослідних груп появлявся одночасно, на 5-у добу після народження. Відкривання очей у щурів

контрольної та дослідних груп реєстрували на 16-у добу. Відлипання вушної раковини на 13-у добу життя. Після народження щуренят, на 1, 5, 10 та 20-у доби їх життя, визначали динаміку маси тіла та проводили їх морфометрію. Результати досліджень наведені у таблиці 3.24.

Таблиця 3.24

Маса тіла щуренят I покоління за умов застосування самкам різної концентрації препарату «Вітосепт», г (M±m, n=5)

Доби досліджу	Групи тварин			
	K ₁	D ₂	D ₃	D ₄
1-ша	4,94±0,12	4,89±0,18	4,93±0,07	4,89±0,27
5-та	8,6 ±0,57	8,9±0,04	8,2±0,13	8,5±0,76
15-та	27,2±2,57	26,8±0,58	27,2±0,54	26,2±1,99
20-та	45,3±2,18	44,6±2,25	44,9±0,71	44,8± 1,31

Нами встановлено, що показники ембріогенезу щурів дослідних груп відповідали аналогічним показникам тварин контролю. Зокрема, маса плодів на 20-ту добу вагітності коливалась в контрольній групі від 2,5 г, а в дослідних – від 2,12 до 2,29 г, при цьому середні значення цього показника в усіх групах статистично не відрізнялись.

Результати морфо-анатомічного дослідження внутрішніх органів 20-и добових ембріонів у самок щурів, які протягом вагітності отримували різні концентрації препарату «Вітосепт», показали відсутність вірогідних змін, порівняно з контролем, у стані внутрішніх органів та тканин.

За проведення макроскопічного огляду плодів як у тварин контрольної, так і в дослідних груп на 20-ту добу вагітності не було виявлено відставання їх розвитку відносно строку вагітності. При цьому встановлено, що плодіві оболонки були правильно сформованими, амніотична рідина прозора, плацента повнокровна. При розсіканні плодіві оболонки та перерізуванні пуповини плоди починали дихати самостійно. Шкіра мала рожеве забарвлення і дещо

зморшкуватий вигляд. В усіх ембріонів контрольної та дослідних груп були відсутні помітні вади у будові черепа та тулуба. Спина була випрямлена. Череп мав овально-подовгувату форму. Вушна раковина та повіки очей були закриті. Передня черевна стінка зрощена, без ознак пупкової грижі. Хвіст був звичайної довжини. Кінцівки мали добре розвинуте плече, передпліччя, кисть, стегно, гомілку та стопу. Положення, форма кінцівок, кількість пальців у ембріонів дослідних та контрольної груп знаходились у межах норми.

Отже, в результаті проведених досліджень встановлено, що застосування різних концентрацій препарату «Вітосепт» щурам протягом 30-и діб до та під час вагітності не чинить ембріотоксичної та тератогенної дій. За показниками загальної, до- і постімплантаційної летальності ембріонів у 20-добових плодів відсутні вірогідні зміни в будові і морфометрії внутрішніх органів і тканин, а їх розвиток відповідав строкам вагітності. Вірогідної різниці між плодовитістю самок щурів дослідних і контрольної груп не встановлено. Середня кількість плодів на самку перебувала в межах 9 тварин. Щуренята, отримані від самок дослідних груп, були життєздатні й не відставали в рості та розвитку, порівняно з контрольними тваринами, що в цілому характеризує досліджуваний препарат «Вітосепт» як нетоксичний, що не володіє ембріотоксичною і тератогенною дією.

Результати досліджень опубліковані у статті: **Soltys M. P., Rudyk H. V., Gunchak V. M., Gutyi B. V.** Embryotoxic and teratogenic effects of Vitosept on white rats. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*. Volume 5, Issue 4, 2019. P. 22-26 [197].

3.3 Параметри хронічної токсичності Вітосепту в інтактних білих мишей за оцінкою загального стану, маси тіла та гематологічних і біохімічних показників крові

За з'ясування основних токсикологічних параметрів встановлено, що Вітосепт у мишей є малотоксичним препаратом. Тривале пероральне

поступлення навіть найвищих концентрацій (500 мг/л) цього біоцидного засобу не проявляло вираженої токсичної дії. За оцінкою стану піддослідних тварин, проведеного на основі спостережень, підтверджено, що в лабораторних мишей контрольної і дослідних груп впродовж усього періоду експерименту суттєвих клінічних відхилень, зміни поведінкових реакцій чи ознак фізіологічного дискомфорту не відзначено. Тварини були активними, з апетитом поїдали корм, поведінкові реакції і рефлекторна діяльність були збережені. Будь-яких порушень фізіологічних процесів в організмі тварин не спостерігалось а про відповідний перебіг метаболічних реакцій в їх організмі підтвердженням була маса тіла мишей контрольної та дослідних груп (табл. 3.25).

Таблиця 3.25

Динаміка впливу препарату «Вітосепт» на масу тіла білих мишей (M±m)

Показники	Групи тварин	Доби дослідю		
		5-та, (n=15)	10-та, (n=10)	20-та, (n=5)
Маса тіла, г	K ₁	19,4 ± 0,27	21,9 ± 0,72	24,8 ± 0,57
	D ₂	21,9 ± 0,43	23,4 ± 0,23	24,8 ± 0,25
	D ₃	22,5 ± 0,47	21,9 ± 0,57	22,3 ± 0,24
	D ₄	21,6 ± 0,43	20,3 ± 0,26	21,1 ± 0,32
	D ₅	21,8 ± 0,69	20,8 ± 0,29	20,2 ± 0,51
	D ₆	22,3 ± 0,32	21,6 ± 0,38	21,9 ± 0,52

Із побічних явищ, характерних для досліджуваного засобу, нами відзначено незначне за силою і короткотривале (2-3 год.) пригнічення стану центральної нервової системи піддослідних мишей, причиною якого є, очевидно, введення в шлунок значного об'єму рідини. Підтвердженням цього є подібна реакція мишей контрольної групи на поступлення в їх шлунок аналогічного об'єму фізіологічного розчину хлориду натрію. За подальших досліджень, в тому числі гематологічних виявлено, що більшість величин, які характеризують функціональний стан кровотворної системи, на тлі стосованого перорального біоцидного засобу, не зазнавали вірогідних змін, порівняно з контролем.

Результати досліджень впливу різних концентрацій препарату «Вітосепт» на рівень гемоглобіну в крові інтактних мишей наведені у табл. 3.26

Таблиця 3.26

Вплив різних концентрацій препарату «Вітосепт» на рівень гемоглобіну в крові інтактних мишей, Г/л, (M±m, n=5)

Групи тварин	Доби досліджу		
	5-та	10-та	20-та
K ₁	104,7 ± 3,69	105,1 ± 2,45	105,2 ± 3,78
Д ₂	112,8 ± 2,10*	114,4 ± 2,23*	115,6 ± 1,96*
Д ₃	114,8 ± 3,19*	114,9 ± 2,28*	110,6 ± 2,79
Д ₄	118,9 ± 3,04**	114,5 ± 3,03	114,6 ± 1,91
Д ₅	116,8 ± 5,16	116,1 ± 5,21	112,1 ± 5,15
Д ₆	110,7 ± 2,76	110,9 ± 5,12	112,3 ± 5,62

Встановлено, що вже на 5-ту добу, від початку внутрішньошлункового введення мишам гіпохлоритвмісного препарату, в їх крові збільшувався вміст гемоглобіну. При цьому, його рівень мав певну залежність від концентрації препарату, що поступав у організм тварин. Нами відзначено вірогідне зростання вмісту гемоглобіну у крові інтактних мишей II-ї, III-ї і IV-ї груп (100-300 мг/л), порівняно з контролем, на 4,7, 8,6 і 13,6 %, відповідно. За подальшого підвищення концентрації препарату до 500 мг/л рівень гемоглобіну в крові мишей не зазнавав вірогідних змін. Подібною була динаміка цього показника і на 10-у добу досліджу. Однак вірогідне підвищення концентрації гемоглобіну встановлено лише у тварин, що отримували 100 і 200 мг/л препарату (II і III-я групи). На 20-у добу досліджу рівень гемоглобіну у крові білих мишей усіх дослідних груп був вищим, ніж у контролі але дещо зменшувався порівняно із аналогічним показником тварин у попередні періоди досліджу. При цьому, у крові лабораторних мишей II-ї дослідної групи концентрація гемоглобіну була на 9,9% вищою (P<0,05), ніж у тварин, що через зонд внутрішньошлунково отримували 0,9% розчин натрію хлориду (K₁).

Нами досліджено також дію Вітосепту, залежно від його концентрації, на кількість еритроцитів в крові білих мишей (табл. 3.27).

Таблиця 3.27

Вплив різних концентрацій препарату «Вітосепт» на кількість еритроцитів в крові інтактних мишей, Т/л, (M±m, n=5)

Групи тварин	Доби досліджу		
	5-та	10-та	20-та
К ₁	7,40±0,38	7,52 ± 0,30	7,48 ± 0,29
Д ₂	7,76 ± 0,30	7,84 ± 0,28	8,60 ± 0,44
Д ₃	8,20 ± 0,26	8,34 ± 0,26	7,60 ± 0,37
Д ₄	8,70 ± 0,52	8,86 ± 0,52	7,72 ± 0,38
Д ₅	8,56 ± 0,39	8,70 ± 0,40	8,78 ± 0,55
Д ₆	8,24± 0,42	8,48 ± 0,42	8,24 ± 0,43

Встановлено, що досліджуваний засіб навіть у такому значному діапазоні концентрацій не викликав вірогідних змін в кількості еритроцитів у крові мишей.

Таблиця 3.28

Гематокритна величина крові у білих мишей за впливу засобу «Вітосепт» M±m, n=5

Групи тварин	Доби досліджу		
	5-та	10-та	20-та
К ₁	31,04 ±3,12	31,92± 4,18	32,16±2,26
Д ₂	31,16± 4,08	31,68±3,62	31,84± 3,92
Д ₃	31,88± 3,64	32,26± 4,50	32,40±2,06
Д ₄	30,88±3,80	31,66±2,11	31,50± 4,12
Д ₅	30,18± 3,05	31,20± 3,75	31,10±6,02
Д ₆	30,24± 4,54	31,36± 3,28	31,62± 3,88

Подана на табл. 3.28 і 3.29 характеристика гематокриту та показників, що характеризують насиченість еритроцитів крові гемоглобіном є своєрідним маркером відсутності у новоствореного препарату специфічного негативного

впливу на еритропоетичні процеси в організмі лабораторних піддослідних тварин.

Таблиця 3.29

Динаміка індексів червоної крові у лабораторних мишей за впливу різних концентрацій препарату «Вітосепт» (10 доба) $M \pm m$, $n=5$

Групи тварин	MCV	MCH	МС НС
	(фл.)	(пг.)	(г/100 мл)
К ₁	41,7±5,12	14,0± 1,10	32,9± 2,82
Д ₂	40,4± 2,90	14,6± 0,90	36,1± 3,60
Д ₃	38,7± 3,70	13,8± 1,12	35,6± 1,94
Д ₄	35,7±5,00	12,9±0,64	36,2±6,05
Д ₅	35,9±6,12	13,3± 0,88	37,2±5,84
Д ₆	37,0± 3,66	13,1±0,70	35,4± 5,75

Кількість лейкоцитів у крові білих мишей, як встановлено нами у процесі експериментальних досліджень, знаходилась у прямій залежності від концентрації стосованого препарату.

За отриманими в експерименті результатами (табл. 3.30) можна стверджувати, що із зростанням концентрації препарату в крові піддослідних тварин збільшувалась кількість клітин білої крові.

Таблиця 3.30

Вплив різних концентрацій препарату «Вітосепт» на кількість лейкоцитів в крові інтактних мишей, Г/л ($M \pm m$, $n=5$)

Групи тварин	Доби дослідю		
	5-та	10-та	20-та
К ₁	7,80±0,41	7,84 ± 0,39	7,76 ± 0,45
Д ₂	10,04 ± 0,41**	10,44 ± 0,37**	8,84 ± 0,70
Д ₃	8,40 ± 0,41	8,68 ± 0,43	9,78 ± 0,9
Д ₄	9,14 ± 0,45*	9,44± 0,39*	9,36 ± 0,82
Д ₅	9,44 ± 0,96	9,84 ± 0,69	9,96 ±1,12
Д ₆	9,28± 0,73	9,40 ± 0,73	9,48 ± 0,87

При цьому, вірогідне підвищення аналогічного показника, виявлене лише у мишей II-ї дослідної групи за перорального застосування тваринам найнижчої досліджуваної концентрації препарату, є, правдоподібно, результатом толерантно-компенсаторних змін (функціональних та морфологічних) на значне, за об'ємом, поступлення в шлунок ксенобіотичних речовин.

Оцінюючи ефекти за дії «Вітосепту» на організм білих мишей можна передбачити, що досліджуваний засіб, поступаючи в їх організм через зонд, сприяв корекції газового складу крові, впливав на мембрани клітин та забезпечував нормалізацію периферичної та системної гемодинаміки. Відсутність негативного впливу досліджуваного препарату на гепатобіліарну систему підтверджена нами за дослідження окремих біохімічних показників крові білих мишей (табл. 3.31).

Таблиця 3.31

Динаміка окремих біохімічних показників крові білих мишей за впливу Вітосепту в різних концентраціях ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Групи тварин		
	Контроль	Дослід	
		K_1	D_2 (100 мг/л)
Загальний протеїн, г/л	54,84±3,16	55,12± 3,64	53,16±2,68
Сечовина, ммоль/л	4,64± 4,12	4,70±0,15	4,82±0,16
Глюкоза, ммоль/л	4,90± 2,66	4,66± 0,36	5,12± 0,24
Лужна фосфатаза, Од/л	254,2±13,16	260,16±19,18	294,3± 18,18
АлАТ, Од/л	90,42±2,14	92,18±3,30	98,2± 5,16
АсАТ, Од/л	96,16± 4,40	100,5± 6,60	108,16± 6,06

Встановлена відсутність змін у концентрації загального протеїну, сечовини і глюкози в крові мишей II-ої і VI -ої дослідних груп, за перорального поступлення в їхній організм різних концентрацій Вітосепту (найнижчої і найвищої). Виявлена тенденція щодо зростання активності окремих ензимів (ЛФ, АлАТ, АсАТ), є швидше за все, компенсаторною реакцією організму піддослідних тварин на ксенобіотичну дію препарату, оскільки аналогічні

показники у тварин на 20-у добу досліду вже були близькими до таких у групі контролю.

Отже, як підсумок цього фрагменту токсикологічних досліджень можна зробити висновок, що гіпохлорит натрію, у складі препарату «Вітосепт», є нетоксичною сполукою. Він не проявляв негативного впливу на клінічні ознаки, функціональний стан центральної нервової системи та перебіг метаболічних процесів в організмі піддослідних білих мишей. Будь-якого негативного впливу препарату на кровотворну і гепатобіліарну системи піддослідних тварин, залежно від його концентрації, не виявлено, що дає підстави для подальших доклінічних і клінічних випробувань.

Результати досліджень опубліковані у статті: **Солтис М. П.,** Гунчак В. М., Рудик Г.В., Васів Р.О. Динаміка морфологічних і біохімічних показників у крові білих мишей за дії препарату «Вітосепт». Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З.Гжицького. Серія: Ветеринарні науки, 2020. Т. 22, №99. С. 167-172 [198].

3.4 Дослідження біоцидних (бактерицидних, спороцидних, фунгіцидних) властивостей препарату «Вітосепт».

Препарати на основі гіпохлориту натрію, як і інші дезінфікуючі засоби, повинні забезпечувати загибель як патогенних, так і умовно патогенних мікроорганізмів. У табл. 3.32 наведено результати визначення мінімальної бактерицидної концентрації препарату «Вітосепт» до музейних штамів мікроорганізмів.

Аналіз даних наведених у вище представленій таблиці показав, що за концентрації препарату «Вітосепт» 50 та 65 мг/л відмічено ріст усіх досліджуваних тест-культур. Із збільшенням концентрації досліджуваного препарату до 125 мг/л встановлено відсутність росту тест-культури *S. aureus* ATCC 6583. Це свідчить про те, що мінімальна бактерицидна концентрація Вітосепту для даного мікроорганізму становить 125 мг/л. Із

збільшенням концентрації досліджуваного препарату до 130 мг/л поряд із *S. aureus* ATCC 6583 встановлено відсутність росту і інших досліджуваних тест-культур, зокрема *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 9027 і *B. subtilis* ATCC 6633. Варто відзначити, що за вищезазначеної концентрації був відсутній також ріст дріжджоподібного гриба *C. albicans* ATCC 885-653.

Таблиця 3.32

Мінімальна бактерицидна концентрація препарату «Вітосепт» до музейних штамів мікроорганізмів (n=5)

Тест-культури мікроорганізмів	Концентрація мг/л						
	50	65	125	130	250	500	525
<i>E. coli</i> ATCC 25922	+	+	+	—	—	—	—
<i>S. aureus</i> ATCC 6583	+	+	—	—	—	—	—
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	+	+	+	—	—	—	—
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	+	+	+	—	—	—	—
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	+	+	+	—	—	—	—

Примітка: в цій та наступних таблицях *: + – ріст тест-культур мікроорганізмів; — – відсутність росту тест-культур мікроорганізмів

Отже, проведені дослідження свідчать, що препарат «Вітосепт» спричиняє затримку росту як мікроорганізмів, так і дріжджоподібних грибів. Серед досліджуваних мікроорганізмів найбільш чутливим до дії Вітосепту був *S. aureus* ATCC 6583, який належить до грампозитивних мікроорганізмів, що не утворюють спори. Мінімальна бактерицидна концентрація препарату «Вітосепт» відносно вказаного мікроорганізму становила 125 мг/л, а для *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 9027 і *B. subtilis* ATCC 6633 і дріжджоподібного гриба *C. albicans* ATCC 885-653 вона була на рівні 130 мг/л.

Важливим для оцінки антибактеріального препарату є час впродовж якого він проявляє свою дію відносно мікроорганізмів. Результати дослідження бактерицидної дії препарату «Вітосепт» у різних концентраціях та за різних експозицій на тест-культури мікроорганізмів наведено у табл. 3.33.

Таблиця 3.33

Бактерицидна дія препарату «Вітосепт» у різних концентраціях та за різних експозицій на тест-культури мікроорганізмів

Тест-культури мікроорганізмів	Експозиція, хв/ Концентрація, мг/л						Контроль росту культури, lg КУО
	30		60		120		
	650	320	650	320	650	320	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	—	—	—	—	—	—	7,0
<i>S. aureus</i> ATCC 6583	—	—	—	—	—	—	6,62
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	—	—	—	—	—	—	6,89
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	—	—	—	—	—	—	6,32

У результаті проведених досліджень встановлено, що за концентрацій 320 і 650 мг/л та експозицій 30, 60 і 120 хв, препарат викликав затримку росту досліджуваних культур мікроорганізмів. У контролі, де препарат не застосовували, характерним був ріст досліджуваних мікроорганізмів і кількість *E. coli* ATCC 25922 становила – 7,0 lg КУО, *S. aureus* ATCC 6583 – 6,62 lg КУО, *P. aeruginosa* ATCC 9027 – 6,89 lg КУО та *C. albicans* ATCC 885-653 – 6,32 lg КУО.

За менших експозицій (рис 3.) препарат «Вітосепт» зумовлював не значну зону затримки росту тест-культур *S. aureus* ATCC 6583, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 9027 та *C. albicans* ATCC 885-653, що вказує на його бактериостатичну дію відносно цих мікроорганізмів.

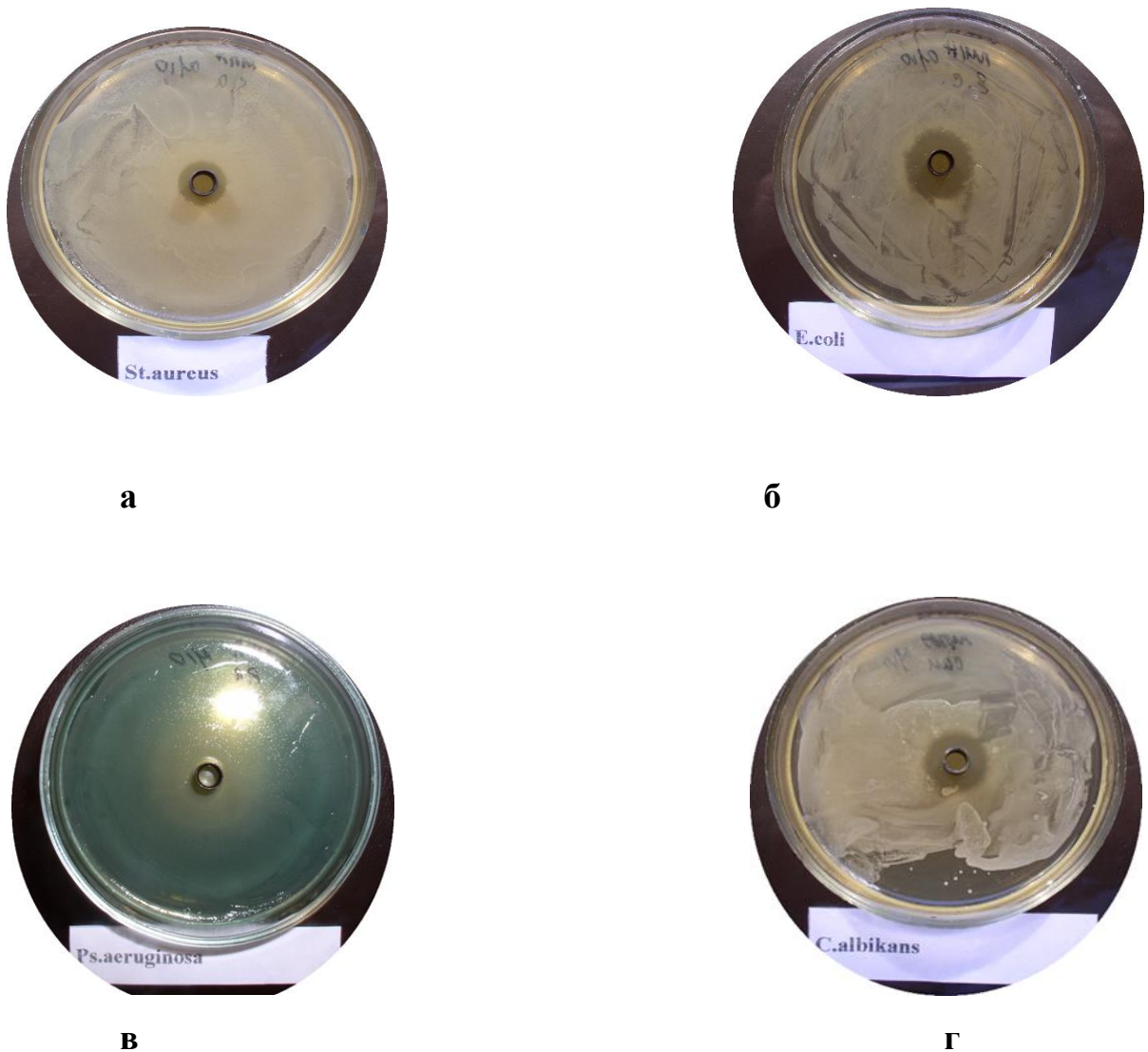


Рис. 3.3. Затримка росту тест-культур *S. aureus* ATCC 6583, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 9027 та *C. albicans* ATCC 885 - 653 за експозиції препарату «Вітосепт» менше 30 хв.

Під час застосування дезінфікуючі препарати зазвичай взаємодіють не лише із мікроорганізмами, але і з органічними та не органічними речовинами, що призводить до зниження їх ефективності. У табл. 3.34 наведено результати досліджень впливу препарату «Вітосепт» на ріст тест-культур мікроорганізмів за протеїнового навантаження. Встановлено, що препарат у концентрації 650 мг/л за органічного навантаження, створеного бичачим альбуміном (Б.А.), зумовлював затримку росту музейних штамів тест-культур *E. coli* ATCC 25922,

S. aureus ATCC 6583 та *P. aeruginosa* ATCC 9027 за усіх вибраних експозицій. Це свідчить про ефективність препарату «Вітосепт» навіть за високого органічного забруднення.

Таблиця 3.34

Ріст тест-культур мікроорганізмів за дії препарату «Вітосепт» та протеїнового навантаження

Тест-культури мікроорганізмів	Експозиція, хв / Концентрація, мг/л			Контроль росту культури, lg КУО
	30	60	120	
	650	650	650	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	—	—	—	7,48
<i>S. aureus</i> ATCC 6583	—	—	—	7,0
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	—	—	—	6,79
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	—	—	—	6,59

Більш стійким до хімічних речовин, зокрема дезінфектантів, порівняно із дріжджоподібним грибокком *C. albicans* є грибок *A. niger*. Результати досліджень впливу препарату «Вітосепт» у різних концентраціях за різної експозиції та протеїнового навантаження на ріст тест-культури *A. niger* ATCC 16404 наведено у табл. 3.35. Встановлено, що за органічного навантаження вплив препарату «Вітосепт» на ріст досліджуваних тест-культур залежав від його концентрації. Так, за концентрації 160 мг/л та експозиції 30, 60, 120 і 180 хв кількість *A. niger* ATCC 16404 у дослідних чашках була меншою, порівняно із контролем, відповідно на 1,46, 1,58, 1,77 і 2,97 lg КУО. Із зростанням концентрації препарату до 320 мг/л вказана різниця становила відповідно 2,09, 2,04, 2,37 і 3,87 lg КУО. Найбільш виражена затримка росту тест-культури була за концентрації Вітосепту 650

мг/л. За вибраних експозицій кількість *A. niger* ATCC 16404 у дослідних чашках Петрі була найменшою, а різниця порівняно із контролем становила відповідно на 2,87, 3,09, 3,62 і 6,57 lg КУО.

Таблиця 3.35

Вплив препарату «Вітосепт» у різних концентраціях за різної експозиції та протеїнового навантаження на ріст тест-культури

***A. niger* ATCC 16404, lg КУО**

Концентрація препарату «Вітосепт», мг/л	Експозиція, хв				Контроль росту культури
	30	60	120	180	
650	3,7	3,48	2,95	0	6,57
320	4,48	4,53	4,2	2,7	
160	5,11	4,99	4,8	3,6	

Отже, за наявності протеїнового навантаження для знищення *A. niger* ATCC 16404 препарат «Вітосепт» необхідно застосовувати у більш високій концентрації а час експозиції має бути більшим. За результатами наших досліджень для досягнення 100% фунгіцидного ефекту концентрація препарату не повинна бути меншою за 650 мг/л, а час контакту – 180 хв. Застосування досліджуваного засобу у менших концентраціях є не доцільним, оскільки, вимагає тривалої експозиції і не має гарантії досягнення бажаного результату.

Відомо, що для підсилення фунгіцидної дії препаратів на практиці часто застосовують додавання до них етанолу. У табл. 3.36 наведено результати впливу Вітосепту у концентрації 650 мг/мл із додаванням до нього 1 % етанолу на ріст тест-культури *A. niger* ATCC 16404.

Вплив препарату «Вітосепт» із додаванням 1 % етанолу на ріст тест-культури *A. niger* АТСС 16404 , lg КУО

Тест-культура	Концентрація препарату		Експозиція, хв			Контроль росту культури
	«Вітосепт», мг/л	Б. А, %	30	60	120	
<i>A. niger</i> АТСС 16404	650+1 % етанолу	5,0	3,40	3,43	3,00	5,40
		0,3	—	—	—	

З наведених даних видно, що за концентрації бичачого альбуміну 0,3 % Вітосепт у поєднанні із етанолом проявляв затримку росту культури *A. niger* АТСС 16404 за усіх часових діапазонів. Підвищення протеїнового навантаження до 5 % суттєво знизило ефективність препарату «Вітосепт», оскільки за всіх експозицій було відзначено ріст культури гриба і його кількість за дії препарату впродовж 30 хв становила 3,40 lg КУО, 60 хв – 3,43, і 120 хв – 3,00 lg КУО . Проте, варто відмітити, що за дії препарату «Вітосепт» впродовж 30 хв кількість *A. niger* АТСС 16404 у чашках Петрі була меншою, порівняно із контролем, на 2,0 lg КУО, 60 хв – на 1,97 lg КУО і впродовж 120 хв – на 2,40 lg КУО.

Результати дослідження впливу препарату «Вітосепт» на ріст тест-культури *A. niger* АТСС 16404 за різних експозицій та протеїнового навантаження наведено у табл. 3.37. Аналізуючи одержані результати встановлено, що за 0,3 % протеїнового навантаження препарат «Вітосепт» у концентрації 320 і 650 мг/л проявляв 100 % затримку росту тест-культури *A. niger* АТСС 16404 за усіх обраних експозицій. Варто відзначити, що ріст музейного штаму *A. niger* АТСС 16404 був відсутній за дії препарату «Вітосепт» у зазначених концентраціях та вибраних експозицій і за відсутності органічного навантаження.

Вплив препарату «Вітосепт» на ріст тест-культури *A. niger* ATCC 16404 за протеїнового навантаження

Тест-культура	Концентрація		Експозиція, хв			Контроль росту культури, lg КУО
	«Вітосепт», мг/л	Б. А, %	30	60	120	
<i>A. niger</i> ATCC 16404	650	0,3	—	—	—	6,42
	320	0,3	—	—	—	
	650	0	—	—	—	
	320	0	—	—	—	

Отже, за результатами проведених досліджень можна зробити висновок, що препарат «Вітосепт» у концентрації 320 та 650 мг/л володіє достатньо високою фунгіцидною дією, про що свідчить відсутність росту тест-культури *A. niger* ATCC 16404, при чому, як за наявності органічного навантаження, що частіше зустрічається в практиці ветеринарної медицини, так і за його відсутності.

Поряд із бактерицидними і фунгіцидними властивостями не менш важливим для дезінфектантів є здатність негативно впливати на спори мікроорганізмів. Для дослідження спороцидної дії препарату «Вітосепт» нами було використано моделі спор *B. subtilis* ATCC 6633.

За результатами проведених досліджень (табл. 3.38) встановлено, що препарат «Вітосепт» відносно спор *B. subtilis* ATCC 6633 проявляв споростатичну дію, як без протеїнового навантаження, так і за його наявності. Про це свідчить наявність росту культури у дослідних чашках Петрі, кількість якої, порівняно з контролем, була значно меншою. Зокрема, без бичачого альбуміну за концентрації Вітосепту 320 мг/л та при експозиції 30 хв кількість спороутворюючих мікроорганізмів була меншою на 2,96 lg КУО, за 60 хв – на 2,94, 120 хв – на 4,23 і 240 хв – на 5,34 lg КУО, а за концентрації 650 мг/л – відповідно на 3,29, 3,81, 4,71 і 5,71 lg КУО. Додавання до препарату 0,3 % бичачого альбуміну зумовило зниження його негативної дії на спори

мікроорганізмів. Так, за концентрації препарату 320 мг/л кількість бактерій, що вирости на поживному середовищі за вказані періоди експозиції, була меншою, порівняно з контролем, на 2,04, 2,44, 2,82 та 3,51 lg КУО, а за його концентрації 650 мг/л – відповідно на 2,81, 2,88, 3,07 і 3,87 lg КУО.

Таблиця 3.38

Вплив препарату «Вітосепт» в умовах протеїнового навантаження та його відсутності на спори *B. subtilis* ATCC 6633

Тест-культура	Концентрація		Експозиція, хв				Контроль росту культури, lg КУО
	«Вітосепт», мг/л	Б. А, %	30	60	120	240	
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	650	0,3	3,08	3,01	2,82	2,02	5,89
	320	0,3	3,85	3,45	3,07	2,38	
	650	0	2,60	2,08	1,18	0,18	
	320	0	2,93	2,95	1,66	0,55	

Ще одним відомим способом підвищення ефективності дезінфектантів є їх використання теплими і навіть гарячими. Результати дослідження впливу препарату «Вітосепт» (в умовах протеїнового навантаження та його відсутності) на спори *B. subtilis* ATCC 6633 за температури 50 °С наведено в табл. 3.39.

Встановлено, що для досягнення 100 % спороцидної дії підігрітого до 50°C препарату «Вітосепт» без протеїнового навантаження є достатньою експозиція 60 хв. Додавання до препарату бичачого альбуміну у кількості 0,03 % та 0,3 % знижує його спороцидну дію. Встановлено, що за всіх обраних експозицій і досліджуваних концентрацій проявлявся ріст культури, спори якої були оброблені препаратом, проте у значно меншій кількості. Так, кількість культури *B. subtilis* ATCC 6633, що виростила із спор, оброблених препаратом «Вітосепт» у концентрації 320 мг/л із протеїновим навантаженням 0,3 та 0,03 % за експозиції 30 хв була меншою, порівняно з контролем, відповідно на 2,88 і 3,17 lg КУО, за експозиції 60 хв – на 3,0 і 3,30 lg КУО, за експозиції 120 хв – на 3,25 і

3,70 lg КУО, експозиції 180 хв – на 3,40 і 3,90 lg КУО і експозиції 240 хв – на 3,49 і 4,00 lg КУО. За концентрації препарату «Вітосепт» 650 мг/л кількість мікроорганізмів, що вирости, була меншою, порівняно з контролем, відповідно на 3,15 і на 3,04 lg КУО, 2,85 і 3,10 lg КУО, 3,00 і 3,34 lg КУО, 3,26 і lg КУО та 3,20 і 3,68 lg КУО.

Таблиця 3.39

Вплив препарату «Вітосепт» в умовах протеїнового навантаження та його відсутності на спори *B. subtilis* ATCC 6633 за температури 50 °С

Концентрація		Експозиція, хв					Контроль росту культури, lg КУО
Б. А, %	«Вітосепт», мг/л	30	60	120	180	240	
0	650	3,94	—	—	—	—	6,30
	320	1,95	—	—	—	—	
0,03 %	650	3,26	3,20	2,96	2,75	2,62	
	320	3,13	3,00	2,60	2,40	2,30	
0,3 %	650	3,15	3,45	3,30	3,04	3,10	
	320	3,42	3,30	3,05	2,90	2,81	

У табл. 3.40 представлено результати дослідження впливу препарату «Вітосепт» на спори *B. subtilis* ATCC 6633 за тривалого його підігрівання до 50 °С.

Аналізуючи дані наведені у вище представлений таблиці встановлено, що підігрівання препарату «Вітосепт» до температури 50 °С впродовж всього досліді значно підвищило його спороцидну дію, про що свідчить відсутність за усіх вибраних експозицій росту культури, спори якої зазнали впливу препарату у концентраціях 320 і 650 мг/л як без так і з протеїновим навантаженням.

Вплив препарату «Вітосепт» в умовах протеїнового навантаження та його відсутності на спори *B. subtilis* ATCC 6633 за тривалого підігрівання до температури 50 °С

Тест-культура	Концентрація		Експозиції, хв.			Контроль росту культур, lg КУО
	«Вітосепт», мг/л	Б. А., %	30	60	120	
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	650	0,3	—	—	—	5,38
	320	0,3	—	—	—	
	650	0	—	—	—	
	320	0	—	—	—	

Одним з варіантів вивчення спороцидної активності було зниження мікробного навантаження до 2,8 lg КУО ($6,4 \times 10^2$ КУО/мл). Результати цих досліджень представлені в табл. 3.41. Вони підтверджують здатність Вітосепту, за наявності протеїнового навантаження, знезаражувати об'єкт від спороутворюючих мікроорганізмів на рівні 2,8 lg КУО.

Таблиця 3.41

Ефект спороцидної дії препарату «Вітосепт», за умов незначного обсіменіння спорами культури *B. subtilis* ATCC 6633

Концентрація Б.А.	Концентрація препарату «Вітосепт», мг/л	Тривалості контакту, хв					Контроль росту культури, lg КУО
		30	60	120	180	240	
0,3 %	650	—	—	—	—	—	2,81
	320	—	—	—	—	—	
0,03 %	650	—	—	—	—	—	
	320	—	—	—	—	—	

Результати дослідження зміни концентрації натрію гіпохлориту, за умов введення органічного навантаження наведені в таблиці 3.42.

З'ясовано, що процес зв'язування натрію гіпохлориту був пролонгованим у часі. Зокрема, за концентрації бичачого альбуміну 0,3 % рівень натрію гіпохлориту через 30 хв. знизився до 216 мг/л, що в два рази нижче від вихідної концентрації. За 0,03 % концентрації Б. А. кількість натрію гіпохлориту знизилася в 1,5 рази (до 326 мг/л), не дивлячись на різницю концентрацій альбуміну в 10 разів. Порівняльний аналіз отриманих результатів вказував на відсутність лінійної залежності між величиною органічного навантаження і окисненням. Можна вважати, що саме особливість цього процесу у певній мірі вплинула на приведені вище результати спороцидної активності Вітосепту щодо *B. subtilis* ATCC 6633, коли не було виявлено прямої залежності між концентрацією натрію гіпохлориту, органічним навантаженням і величиною спороцидної активності.

Таблиця 3.42

Зміна концентрації натрію гіпохлориту в препараті «Вітосепт», за умов різних концентрацій протеїнового навантаження

Концентрація Б.А.	Тривалості контакту/Концентрація гіпохлориту натрію, мг/л				
	Вихідна	В процесі+Б.А.	10 хв	30 хв	20 год
0,3 %	475	340	264	216	173
0,03 %	475	394	351	326	212

Підтвердження розроблених режимів ефективності знезараження поверхонь ми виконували на ліноліумі, кахелі та фаянсі. На площу 100 см² наносили *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 6583, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *C. albicans* ATCC 885-653, *A. niger* ATCC 16404 і *B. subtilis* ATCC 6633 в концентрації 2×10^6 – 8×10^6 КУО/мл (6,3–6,9 lg) з навантаженням бичачим альбуміном 5 %.

Розрахована концентрація виражалася – 10 КУО/см площі (~41g). Після висихання поверхонь їх протирали марлевою серветкою, змоченою Вітосептом.

Витрати препарату складали ~ 5 мл на 100 см², а термін контакту – 30 та 60 хвилин. Після вказаного терміну на поверхню наносили нейтралізатор – 0,5 % розчин гіпосульфїту натрію. Через 5 хвилин відбирали проби шляхом протирання поверхонь стерильними ватними тампонами. Тампони занурювали у відповідні поживні середовища. Облік результатів проводили шляхом візуального спостереження (помутніння середовища) та висіву на щільні поживні середовища. З 90 випадків спостереження в 5 випадках (5,5%) були виділені *A. niger* ATCC 16404 та інші спороутворюючі види мікроорганізмів за терміну контакту 30 хвилин. Це дає підстави рекомендувати у вогнищах мікозів проводити дворазове протирання поверхонь препаратом «Вітосепт» у концентрації 0,05 % з інтервалом 15 хвилин.

Результати досліджень опубліковані у статті: Soltys M.P, Gunchak V.M , Rudyk G.V , Gutiy B.V , Brezvin O.M , Vasiv R.O. To assess the biocidal action of the drug based on sodium hypochlorite. Colloguium journal №30 (82), 2020 (Warszawa, Polska). P. 11-17 [199].

3.5. Ефективність препарату «Вітосепт» за оцінкою загоєння експериментальних ран у щурів

Показники швидкості загоювання ран є відносними і дають можливість характеризувати динаміку перебігу ранового процесу, незалежно від різниці величини площі рани. Для встановлення достовірних відмінностей при аналізі числових показників (за загоєння ран) були застосовані методи варіаційної статистики з використанням прикладного пакету Statsoft Statistica 6,0 for Windows.

Оскільки, загоєння рани залежить від швидкості виповнення дефекту грануляційною тканиною, швидкості контракції країв і епітелізації поверхні для постійного контролю за процесом її загоєння проводили планіметричні

дослідження методом Е.В. Кулешової та К.В. Поворинської. Результати проведеного дослідження наведені у таблиці 3.43.

У всіх дослідних тварин після нанесення травми утворилися рани з вираженими запальними змінами навколишніх тканин. Вони супроводжувалися гнійно-некротичними ураженнями шкіри і м'яких тканин. Загоєння проходило за типом репаративного запалення у три фази: деструктивна, відновлююча і рубцювання та епідермізація. Хоча між окремими фазами немає різкої межі, проте перехід від одної з них до іншої відбувався поступово і кожна фаза мала свої морфологічні та біохімічні особливості, що вимагало відповідного лікування ранового процесу.

Таблиця 3.43

**Динаміка зміни площі рани у процесі загоєння на моделі
трафаретних ран у щурів, ($M \pm m$; $n = 6$)**

Доби	Контроль, S, мм ²	Д ₁ - «Вітосепт» 300 мг/л; S, мм ²	Д ₂ - «Диоксизоль- Дарниця», S, мм ²
3	233,6±16,2	239,6±9,22*	237,5±9,34*
5	167,1±44,5	163,8±19,2	164,6±23,4*
7	127,4±44,5	123,17±9,41*	125,8±4,21*
9	70,3±3,57	25,33±5,4*	26,0±5,16*
11	18,6±8,0	3,0±1,28*	2,52±1,51*
13	4,83±2,9	—	—
15	1,45±0,9	—	—

Як показали наші дослідження, на 3-тю добу після травми у всіх тварин контрольної групи в рановому дефекті домінували зміни некротично-запального характеру. Майже $\frac{2}{3}$ об'єму дефекту вкриті фібринозно-лейкоцитарним ексудатом, під яким розташовувався шар дуже незрілої грануляційної тканини.

На 5-ту добу досліду лише у 50 % щурів контрольної групи, грануляційна тканина, яка виповнювала дефект, мала зріліший характер, ніж у попередній термін. У цей же час у тварин II-ої групи (під впливом розчину «Вітосепт») (рис.3.4) та III-ої групи (під впливом розчину «Диоксизоль-Дарниця») встановлено вірогідне зменшення площі трафаретних ран, що свідчить про пришвидшення процесу загоєння ран (табл. 3.43).

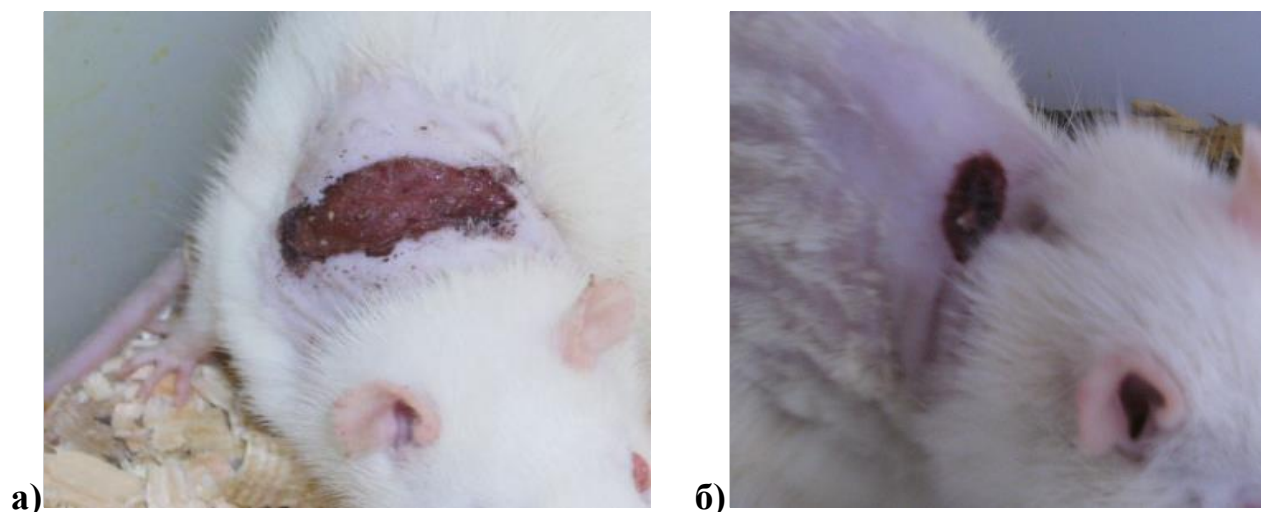


Рис. 3.4. Загоєння трафаретної рани у щурів на 5-ту (а) і 9-у (б) доби досліду під впливом препарату «Вітосепт»

Динаміка швидкості загоєння рани на моделі трафаретних ран у щурів представлена в таблиці 3.44. На 9-ту добу лікування час загоєння ран у тварин, яких лікували «Вітосептом» та «Диоксизолем-Дарниця» перевищував, відповідно, час загоєння у тварин контрольної групи у 63,9 та 58,9%. Слід зауважити, що у тварин, лікованих розчином препарату «Вітосепт» (I група), процес загоєння рани у період із 7-ої по 9-ту доби дещо відрізнявся від тварин II-ої дослідної групи. Зокрема, спостерігали очищення рани від гнійно-некротичних мас та утворення молоді грануляційної тканини. В той же час у тварин II-ої дослідної групи спостерігалася сухість рани з наступним її розтріскуванням. На

нашу думку, такі явища очевидно пояснюються гіперосмолярними властивостями розчину «Диоксизоль-Дарниця».

Таблиця 3.44

Динаміка загоєння ран у щурів, ($M \pm m$; $n = 6$)

Доби	Контроль, V мм ² /добу	Д ₁ - «Вітосепт» 300 мг/л, V, мм ² /добу	Д ₂ «Диоксизоль- Дарниця», V, мм ² /добу
3-тя	41,7±3,57	47,7±2,31	48,3±3,47
5-та	58,3±6,87	60,1±1,27	59,2±3,41
7-ма	68,2±8,75	64,21±1,51	62,5±3,59
9-та	81,5±8,67	133,6±1,17	129,5±2,63
11-та	130,4±9,97	454,1±1,15	466,3±3,87
13-та	151,3±9,87	-	-
15-та	175,3±7,69	-	-

**Примітка:* V – швидкість загоєння рани.

На 11-ту добу експерименту у 67 % тварин контрольної групи у зоні дефекту був сформований м'який рубець, який займав $\frac{3}{4}$ об'єму дефекту, решту – досить незріла грануляційна тканина з гнійним нальотом на поверхні. Водночас період загоєння ран у тварин I-ої групи, яким застосовували препарат «Вітосепт» та II-ої - «Диоксизоль-Дарниця», перевищував, відповідно, у 1,63 та 1,58 рази показник тварин контрольної групи. Впродовж наступного терміну спостереження (13-та і 15-та доби експерименту) час загоєння та темпи зростання зрілої грануляційної тканини у рановому дефекті щурів I-ої та II-ої дослідних груп відповідно були в 3,48 та 3,57 рази більшими. І, як наслідок цього, повне загоєння ранового дефекту в тварин цих груп відбулося на 13-ту добу: у 85 % тварин контрольної груп та у 100 % тварин I-ої та II-ої дослідних груп.

Узагальнюючи результати досліджень можна зробити висновок, що за швидкістю загоєння та зменшенням площі ран у дослідних щурів препарат

«Вітосепт» не поступався препарату вибору «Диоксизоль-Дарниця». Згідно результатів наших досліджень застосування препарату «Диоксизоль-Дарниця» є доцільнішим у першій фазі перебігу ранового процесу, тоді як використання препарату «Вітосепт» у другій та третій фазах сприяло пришвидшенню утворення зрілих грануляційних тканин. Препарат володіє доброю антисептичною здатністю, оскільки у жодному випадку не було встановлено вторинного нагноєння ран.

3.6 Дезінфікуюча дія препарату «Вітосепт» за передінкубаційної обробки яєць.

Мікробіологічними дослідженнями рівня контамінації інкубаторів і поверхні шкаралупи яєць встановлено, що на візуально чистій поверхні шкаралупи яєць перебуває від 1 до 13 тис., на середньо-забрудненій – від 300 до 950 тис., за сильного забруднення – від 3,5 до 24 млн мікробних тіл. Через 1 годину після знесення кількість мікробних тіл на візуально чистій поверхні шкаралупи яєць збільшувалась до 10 тис., вже через 2 години – до 450 тис. (табл.3.45)

Таблиця 3.45

Контамінація інкубаторів та поверхні шкаралупи яєць, (M±m)

	Мікроорганізми	Кількість, м.т./см ²
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,2x10 ⁵ ±0,2x10 ³
2	<i>Micrococcus halobius</i>	0,5x10 ⁵ ±0,1x10 ⁵
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,2x10 ⁵ ±0,2x10 ⁵
4	<i>Escherichia coli</i>	1,7x10 ⁵ ±0,7x10 ⁵
5	<i>Salmonella typhimurium</i>	0,3x10 ⁴ ±0,4x10 ³
6	<i>Salmonella pullorum</i>	1,7x10 ³ ±0,7x10 ³
7	<i>Proteus vulgaris</i>	1,5x10 ⁴ ±0,4x10 ⁴
8	<i>Aeromonas spp.</i>	1,3x10 ³ ±0,3x10 ³

Отже, у процесі аналізу на поверхні яєць встановлено наявність бактерій, дріжджів, пліснявих грибів, у тому числі й гнильних мікроорганізмів. Згідно з

даними табл. 3.45 було виявлено та ідентифіковано таку мікрофлору: *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus halobius*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella pullorum*, *Proteus vulgaris*, *Aeromonas spp.*. Залежно від ступеня забруднення, мікробна контамінація поверхні яєць коливалась у межах від 2 до 5 млн. мікробних тіл у розрахунку на одне яйце. Найменше забруднення яєць в інкубаційній і вивідній шафах спостерігали на рівні верхнього ярусу лотків, найбільше – нижнього.

Першу партію яєць, яка слугувала контролем, обробляли парами формальдегіду, а другу і третю аерозольно препаратом «Вітосепт», концентрація якого становила 500 мг/л та 300 мг/л. Впродовж інкубації спостерігали за розвитком ембріонів, враховували ембріональну патологію. Після інкубації рахували виводимість і збереженість молодняка до 60-и добового віку. Результати інкубації курячих яєць, оброблених перед інкубацією різними методами дезінфекції, наведені у табл. 3.46

Таблиця 3.46

Результати інкубації яєць, оброблених різними методами дезінфекції в умовах віварію

Показники	Одиниці виміру	Партія яєць / Групи		
		К	Д ₁	Д ₂
Закладено	шт.	1500	1500	1500
Незапліднені яйця	шт.	189	67	45
	%	12,6	4,5	3,0
«Кров'яне кільце»	шт.	126	39	5
	%	8,4	2,8	1,1
Завмерлі	шт.	42	7	4
	%	2,8	0,5	0,9
«Задохлики»	шт.	58	18	3
	%	3,9	1,2	0,6
Слабкі та каліки	шт.	25	3	1
	%	1,7	0,2	0,3
Вивід курчат	шт.	1060	1366	1442
	%	70,6	91,1	96,1

Як видно з табл. 3.46, показники виводимості яєць, при застосуванні препарату «Вітосепт» в різних концентраціях вірогідно вищі, ніж у варіанті, де застосовувалась обробка класичним методом – парами формальдегіду. При цьому відзначено, що найменшим відсоток незапліднених яєць був у партії яєць, оброблених Вітосептом у концентрації 500 мг/л. За такої кількості активного натрію гіпохлориту в препараті відсоток недорозвинених плодів (завмерлі, "задохлики", слабкі та каліки) теж був найнижчим, порівняно із партією яєць, оброблених класичним способом, шляхом застосування формальдегіду, чи цим же препаратом, але з дещо нижчою кількістю активно діючої речовини. Показники виводимості та збереженості курчат, за умов застосування різних методів передінкубаційної обробки яєць у виробничих умовах, наведено в табл. 3.47

Таблиця 3.47

Показники виводимості та збереженості курчат, за умов застосування різних методів передінкубаційної обробки яєць у виробничих умовах

Методи обробки	Виводимість, гол./%		Збереженість до 60 доби	
	Всього	%	Всього	%
К - Формальдегід (контроль)	33660	74,8	28872	85,2
Д ₁ - «Вітосепт» (500 мг/л)	32940	97,5**	31536	95,7 *
Д ₂ - «Вітосепт» (300 мг/л)	35595	94,3 *	34136	95,7 *

Встановлено, що первинний (протягом приблизно доби після обробки) санаційний ефект випробуваних дезінфектантів у кількісному аспекті майже не відрізнявся. Однак, під час подальшої інкубації оброблених яєць були виявлені значні розбіжності в дослідних партіях, як за показниками загальної контамінації поверхні яєць патогенною мікрофлорою, так і за біологічними показниками (виводимість та збереженість курчат). Так, виводимість курчат при застосуванні препарату «Вітосепт» в концентраціях 500 мг / л (97,5 %) і 300 мг / л (94,3%) була

вірогідно вищою, при цьому збереженість курчат до 60-добового віку теж була на 10 % більшою, ніж у варіанті, де застосовувалась обробка класичним методом парами формальдегіду (74,8 %).

Результати досліджень опубліковані у статті: Солтис М.П. Ефективність препарату «Вітосепт» за передінкубаційної обробки яєць. Науково-технічний бюлетень ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин. Львів, 2019. Вип. 20, №2. С. 324-330 [200].

3.7 Протимікробна дія Вітосепту та його ефективність за лікування собак з інфікованими ранами

Після проведення мікробіологічних досліджень виділень із ран у всіх 20 собак встановлено їх високу бактерійну забрудненість. Виявляли, в основному, кокову мікрофлору, причому як у монокультурі, так і в асоціаціях. У монокультурі вони були представлені: *Staphylococcus aureus* – 32%; *Streptococcus pyogenes* – 23%; *Streptococcus spp.* 18%; *Proteus spp.* – (12 %); *Pseudomonas aureginosa* – (10 %); *Escherihia coli* – (3 %); на іншу мікрофлору припадало 2 %. Результати проведених досліджень представлені у таблиці 3.48.

Після посівів виділених мікроорганізмів на кров'яний агар чітко проявлялась зона гемолізу еритроцитів, що вказувала на патогенність ранової мікрофлори. Слід відзначити, що найбільш вираженими зони гемолізу були у посівах умісту із рвано-забитих та рвано-кусаних ран, які характеризувалися наявністю нежиттєздатних та змертвілих тканин. За результатами гематологічних досліджень встановлено, що у собак дослідної і контрольної груп морфологічні та біохімічні показники крові характеризувалися, порівняно з аналогічними клінічно здорових тварин, зменшенням кількості еритроцитів і зниженням рівня гемоглобіну в крові, високою активністю амінотрансфераз та підвищеною кількістю лейкоцитів.

**Склад ранової мікрофлори у собак за поступлення у клініку,
($M \pm m$; $n = 20$)**

Штами бактерій	Кількість бактеріальних колоній	
	Контрольна	Дослідна
<i>Staphylococcus aureus</i>	87,5±1,23	64,2±16,4
<i>Streptococcus epidermidis</i>	119,3±6,72	126,6±5,27
<i>Streptococcus aureus</i>	93,7±2,16	89,3±3,34
<i>Streptococcus piogenes</i>	73,5±3,51	68,6±9,57
<i>Echerichia coli</i>	14,9±0,05	10,5±0,27
<i>Enterobacter aerogenes</i>	28,7±0,07	23,7±1,61
<i>Proteus vulgaris</i>	39,6±2,09	46,5±1,42
Інша мікрофлора	9,68±0,62	6,56±0,69

У межах нормативних величин був рівень загального протеїну в сироватці крові та його фракцій – альбумінів і глобулінів (табл. 3.49).

Результати дослідження лейкограми крові собак, проведеного за поступлення тварин у клініку подано у таблиці 3.50.

На тлі збільшення загального числа лейкоцитів відзначався зсув ядра нейтрофілів вліво. На це вказувало збільшення кількості паличкоядерних та юних нейтрофілів. Встановлені відхилення свідчать про наявність у хворих собак гострого гнійного запалення, яке, за показниками цитологічних досліджень, належить до дегенеративно-запального процесу. Можна відзначити, що уже на 3-тю добу від початку лікування у собак обох груп загальний стан покращився, температура тіла знизилась до $38,6 \pm 0,3^\circ\text{C}$, пульс становив $82 \pm 0,6$ уд./хв, дихальні рухи $16 \pm 0,4$.

Морфологічні та біохімічні показники крові собак при поступленні у клініку %, (M ± m; n = 20)

Показник	Групи тварин	
	Контрольна	Дослідна
Еритроцити, Г/л	6,5±0,2	5,9±0,1
Лейкоцити, Г/л	10,85±0,3	11,35±0,4
Гемоглобін, г/л	152,2±6,4	148,5±7,9
Гематокритна величина, л/л	49,2±1,5	50,4±1,2
Кольоровий показник	1,18±0,06	1,25±0,03
Загальний протеїн, г/л	67,6±3,5	68,3±3,6
Альбуміни, г/л	31,4±1,4	31,5±1,5
Глобуліни, г/л	36,2±1,7	36,8±1,9
Коефіцієнт, А/Г	0,87±0,03	0,86±0,03
АсАт, мкмоль/л	0,60±0,02	0,64±0,02
АлАт, мкмоль/л	0,52±0,02	0,56±0,02
Коефіцієнт Де Рітца	1,15±0,03	1,14±0,02

Лейкограма крові собак за поступлення в клініку, (M ± m; n = 20)

Показник	Групи тварин	
	К -Контрольна	Д -Дослідна
Базофіли	1,02±0,02	0,9±0,25
Еозинофіли	3,1±0,12	3,3±0,42
Нейтрофіли юні	2,5±0,01	2,8±0,02
Нейтрофіли паличкоядерні	19,5±0,02	19,2±0,05
Нейтрофіли сегментоядерні	45,6±0,08	47,5±0,18
Лімфоцити	22,0±0,03	20,1±0,3
Моноцити	6,28±0,24	6,20±0,24

Позитивні зміни відзначалися і при дослідженні ран у тварин дослідної і контрольної груп. Припухлість та набряк навколишніх тканин значно зменшилися і були представлені у вигляді суцільного демаркаційного валика шириною 0,3-1,5 см. Болючість та підвищення місцевої температури незначні. Характерною особливістю патології інфікованих ран була наявність значної кількості гнійного ексудату, який на поверхні рани мав рідку, а на знятій пов'язці

– густу сметаноподібну консистенцію без запаху. Особливо вираженими ексудативні процеси були у собак із рваними і комбінованими ранами.

Суттєві зміни стану ран встановлені на 5-ту добу від початку лікування. На цей період загальний стан тварин нормалізувався, температура тіла, частота пульсу та дихання були в межах фізіологічних величин. У собак дослідної групи виявлено сповільнення запальної реакції, що проявлялось зменшенням припухлості та зниженням місцевої температури. Болючість частково збережена. Значно зменшилась кількість гнійного ексудату. Поверхні рвано-кусаних та рвано-забитих ран були покриті невеликою кількістю ексудату рідкої консистенції з домішками детриту, рН середовища ран становила $6,8 \pm 0,1$. Поверхня різаних ран була нерівномірно вкрита яскраво-рожевою грануляційною тканиною. Це свідчило про нормергічний перебіг запалення з ознаками завершення періоду очищення і започаткування грануляційних процесів. Згідно з планіметричними дослідженнями відзначено зменшення площі ран у дослідних тварин, де застосовували препарат «Вітосепт» в середньому на 7 %, а в собак контрольної групи – на 3 %. В останніх, на відміну від дослідних, хоча і спостерігалось покращення загального стану організму та очищення рани, але ці процеси були менш виражені. При пальпації в таких тварин відзначалась незначна припухлість навколишніх тканин і частково збережена болючість та підвищення місцевої температури. Поверхня ран була покрита значною кількістю гнійного ексудату. Це свідчило про збереження запального процесу та продовження стадії очищення рани, рН середовища таких ран становила $6,5 \pm 1,5$.

Результати дослідження складу ранової мікрофлори у собак за умов лікування препаратом «Вітосепт» (Д) та розчином фурациліну (К), представлені в таблиці 3.51.

Стосовно досліджень тварин контрольної групи слід відзначити, що кількість виявленої мікрофлори була в них у кілька разів більшою, ніж у дослідній групі. Результати мікробіологічних досліджень на 7-му добу лікування вказували на значне зменшення кількості ранової мікрофлори. Так, у посівах із

ран від дослідних тварин виявляли до восьми поодиноких колоній, які не спричиняли гемолізу еритроцитів на середовищі кров'яного агару.

Таблиця 3.51

**Динаміка і склад ранової мікрофлори у собак за умов лікування
препаратом «Вітосепт» (Д) та фурациліном (К),
($M \pm m$; $n = 20$)**

Штами бактерій	3-тя доба		5-та доба		7-ма доба	
	Д	К	Д	К	Д	К
<i>Staphyl. aureus</i>	24,5±1,6	32,8±1,3	5,67±0,8	8,7±0,2	–	–
<i>Strep.epidermidis</i>	58,6±1,6	84,5±2,6	3,75±0,4	27,3±1,1	–	–
<i>Strept. aureus</i>	31,4±0,8	62,7±1,2	–	–	–	–
<i>Strept. piogenes</i>	24,9±0,9	46,5±1,6	1,78±0,1	11,4±0,5	1,6±0,1	4,6±0,1
<i>Echerichia coli</i>	4,34±0,2	6,34±0,2	16,4±0,5	4,8±0,2	–	3,6±0,1
<i>Enter. aerogenes</i>	8,5±0,4	17±3	–	10,5±0,2	–	4,3±0,5
<i>Proteus vulgaris</i>	12,6±0,3	18,4±1,1	1,97±0,1	7,63±0,4	–	3,7±0,2
<i>Інші мікрорган.</i>	4,2±0,21	5,45±0,3	2,6±0,55	3,15±0,1	–	1,97±0,1

В чотирьох випадках із десяти спостерігали повну відсутність росту мікроорганізмів, що свідчить про досягнення стерильності ран за умови застосування досліджуваного препарату. Після проведеного лікування препаратом «Вітосепт», в цей період (5-та доба) у ранах собак був відсутній золотистий стрептокок, а на 7-му добу рани звільнені від патогенної мікрофлори. У собак, яких лікували розчином фурациліну, у відбитках із ран на 7-му добу в невеликій кількості ще виявляли гнійний стрептокок, протей та кишкову паличку. За дослідженням перебігу патологічного процесу встановлено, що у тварин контрольної групи поверхня ран в цей період була покрита незначною кількістю рідкого ексудату сірого кольору. Після його зняття тампоном, на дні рани залишався рановий детрит, поміж якого спостерігались поодинокі островки грануляційної тканини. Болючість та підвищення місцевої температури навколишніх тканин відсутні. Припухлість була виражена лише по краях ран у

вигляді демаркаційного валика шириною 0,3 см, рН ранового середовища становила $6,8 \pm 0,3$.

Таблиця 3.52

Динаміка загоєння ран у собак за лікування препаратом «Вітосепт» (Д) та фурациліном (К) ($M \pm m$), $n=20$

Види ран	Група	К-ть тварин	Фаза загоєння ран, (добы)			Повне загоєн., доби
			Очищення	Грануляцій	Епітелізації	
Різані	К	3	$5,8 \pm 1,2$	$6,5 \pm 1,4$	$10,0 \pm 0,9$	$21,5 \pm 2,4$
	Д	3	$2,6 \pm 0,5$	$3,4 \pm 1,0$	$6,2 \pm 0,7$	$16,6 \pm 1,0$
Рвані	К	3	$6,7 \pm 0,9$	$7,6 \pm 1,2$	$11,2 \pm 0,5$	$23,6 \pm 1,3$
	Д	3	$3,0 \pm 0,3$	$3,6 \pm 1,0$	$7,0 \pm 0,8$	$17,8 \pm 0,9$
Комбіновані	К	4	$7,2 \pm 1,4$	$8,3 \pm 1,0$	$12,0 \pm 1,2$	$26,5 \pm 1,2$
	Д	4	$3,7 \pm 1,2$	$4,5 \pm 0,9$	$8,2 \pm 1,0$	$18,8 \pm 0,7$

В той же час дослідження місцевого процесу у всіх тварин дослідної групи, де застосовували Вітосепт (табл. 3.52) вказувало на завершення періоду очищення ран та інтенсивне заповнення дефекту грануляційною тканиною вже на 5-ту добу. Молода яскраво-червоного кольору грануляційна тканина суцільно покривала дно і краї ран. Поверхня ран помірно зволожена, рН середовища було на рівні $7,2 \pm 0,2$. Гнійний ексудат і рановий детрит відсутній. Площі ран, порівняно з початковими замірами, у тварин дослідної групи зменшилися, в середньому, на 11 %, а контрольної – на 7 %. Цитограма раневих мазків-відбитків у дослідних тварин вказувала на стабільність грануляційного процесу. Про це свідчила невелика кількість нейтрофілів із збереженням їхньої форми, наявністю великої кількості молодих фібробластів, дещо витягнутої (веретеноподібної) форми з великими округлими гіперхромними ядрами та поява поодиноких епітеліальних клітин. У тварин контрольної групи цитограма раневих відбитків характеризувалася наявністю незначної кількості раневого детриту. Серед нейтрофілів, частина з яких була змінена, виявляли значну кількість макрофагів

та лімфоцитів малих, середніх та великих розмірів, а також поодинокі фібробласти.

Результати морфологічних та біохімічних досліджень крові, проведених протягом дослідного періоду, представлені у таблиці 3.53

Таблиця 3.53

Динаміка морфологічних та біохімічних показників крові собак за лікування інфікованих ран, ($M \pm m$; $n = 20$)

Показники	3-тя доба		5-та доба		7-ма доба	
	Д	К	Д	К	Д	К
Еритроцити, Г/л	6,5±0,2	6,4±0,3	7,7±0,2	6,3±0,2	7,8±0,2	7,5±0,4
Лейкоцити, Г/л	9,35±0,3	9,38±0,4	8,84±0,3	9,62±0,4	8,52±0,4	9,36±0,3
Гемогл-бін г/л	154,2±6,4	148,6±0,7	168,4±6,4	152,7±0,8	174,6±6,3	162,5±0,5
Гематокрт, л/л	49,2±1,5	50,6±1,6	49,6±2,4	49,8±1,2	48,4±2,6	49,6±1,4
Кольор. показник	1,18±0,06	1,15±0,03	1,09±0,05	1,20±0,04	1,11±0,04	1,18±0,04
Протеїн загал., г/л	67,6±3,5	67,2±3,4	67,6±2,6	65,6±3,2	68,4±3,6	68,6±3,6
Альбуміни, г/л	31,4±1,4	31,8±1,3	30,8±1,2	30,5±1,2	31,2±1,4	31,6±1,4
Глобуліни, г/л	36,2±1,7	35,4±1,6	36,8±1,8	35,7±1,7	37,2±1,9	37,0±1,8
Коефіцієнт, А/Г	0,87±0,03	0,91±0,04	0,83±0,04	0,85±0,03	0,84±0,03	0,85±0,02
АсАТ, мкмоль/л	0,60±0,02	0,64±0,04	0,52±0,02	0,63±0,02	0,54±0,02	0,56±0,02
АлАТ, мкмоль/л	0,52±0,02	0,52±0,02	0,43±0,02	0,54±0,02	0,42±0,01	0,48±0,02
К., АсАТ/ АлАТ	1,15±0,03	1,23±0,07	1,21±0,06	1,16±0,06	1,28±0,06	1,17±0,06

Нами відзначено позитивні зміни регенеративного характеру вже на 3-у добу за аналізом лейкограми. За зменшення загальної кількості лейкоцитів та числа юних і паличкоядерних нейтрофілів зростала кількість сегментоядерних (зрілих). До того ж, збільшувалася також кількість еозинофілів і базофілів. Результати гематологічних досліджень собак, що піддавались лікуванню, вказували на сприятливий перебіг патології. Так, згідно з даними табл. 3.52 на 3-у добу від початку лікування відзначено, порівняно з показниками тварин при поступленні в клініку, збільшення в їх крові кількості еритроцитів та підвищення рівня гемоглобіну, а також зменшення загального числа лейкоцитів. Знизилась активність амінотрансфераз.

За оцінкою гематологічних показників на 5-ту добу встановлено подальшу тенденцію до збільшення кількості еритроцитів, підвищення рівня гемоглобіну крові та зменшення загальної кількості лейкоцитів. Суттєво зменшувався відсоток юних та паличкоядерних нейтрофілів, тобто порівняно з початковими дослідженнями відзначався зсув ядра вправо (табл. 3.54).

Таблиця 3.54

Лейкограма крові собак за лікування інфікованих ран препаратом «Вітосепт» (Д) та хлортетрацикліновою маззю (К), ($M \pm m$, $n=20$)

Показники, %	3-тя доба		5-та доба		7-ма доба	
	Д	К	Д	К	Д	К
Базофіли	1,2±0,18	1,1±0,18	1,2±0,12	1,2±0,12	1,2±0,3	1,2±0,04
Еозинофіли	3,2±0,13	4,1±0,21	4,6±0,25	4,9±0,14	4,9±0,1	5,8±0,01
Нейтрофіли юні	0,4±0,25	1,6±0,3	0,6±0,26	0,3±0,02	0,3±0,3	0,2±0,02
Паличкоядерні	9,6±0,2	14,6±0,2	8,2±0,3	16,2±0,3	5,4±0,2	14,7±0,02
сегментоядерні	60,8±0,2	53,6±0,22	60,5±0,1	51,5±0,13	63,2±0,2	62,2±0,2
Лімфоцити	18,5±0,1	18,9±0,2	18,4±0,1	19,4±0,1	18,8±0,1	18,9±0,1
Моноцити	6,3±0,21	6,1±0,21	6,5±0,15	6,8±0,15	6,2±0,17	6,6±0,17

Клінічні спостереження та дослідження місцевого процесу також свідчили про більш сприятливий перебіг регенеративних процесів у собак дослідної групи, де застосовували препарат «Вітосепт», порівняно з контрольними тваринами. Так, на 7-му добу лікування площа ран у дослідних тварин зменшилася, в середньому, на 29 % проти 20 % у контролі. Рановий дефект у собак дослідної групи у переважній більшості випадків майже повністю був виповнений грануляційною тканиною рожевого кольору, що вважається більш сформованою і зрілою. У тварин із комбінованими ранами в місцях заглиблень та в центрі грануляційна тканина була молода (яскраво-червоного), а по периферії – рожевого кольору. Поверхня ран була вільною від гнійного ексудату, помірно зволожена. По краях ран виявлено суцільну білу смужку епідермісу шириною 0,3-0,5 см. Цитограма ранових відбитків характеризувалася наявністю незначної

кількості нейтрофілів, в основному фіброцитів та нашарувань епітеліальних тканин.

У тварин контрольної групи грануляційна тканина, що покривала поверхню ран, була неоднорідною, місцями яскраво-червоною, а в деяких ділянках (найчастіше по краях рани) – сіро-червоною. Поверхня ран була частково покрита незначною кількістю слизового ексудату, який легко знімався тампоном.

У мазках-відбитках із ран, поряд з невеликою кількістю нейтрофілів із збереженими формами та різними за формою лімфоцитами і макрофагами, знаходилась велика кількість фібробластів, що вказувало на позитивні регенеративні процеси в рані. Обстеження дослідних тварин у наступні 9-у і 12-у доби вказували на високу ефективність проведеного лікування. Про це свідчив задовільний стан тварин та температура тіла, частота пульсу і дихання, які були у межах фізіологічних величин.

У тварин контрольної групи дослідження мазків-відбитків свідчило про більш повільне загоєння рани та збереження ознак запалення, оскільки в полі зору виявляли дистрофічно змінені нейтрофіли та лімфоцити, переважно малих розмірів, із розмитими контурами і базофільною цитоплазмою. Випередження регенеративних процесів у дослідних тварин відзначено і за подальшого лікування. У контрольних тварин початок епітелізації припадав на 10 – 12-у добу, а в дослідних – на 6-8-му, що мало пряме відображення на обсягах площі ран. Так, на 10 – 12-у добу площа ран у тварин дослідної групи зменшилася, в середньому, на 51-63 % а в контролі лише на 39-49 %.

Мікрофлору в раневих мазках-відбитках дослідних і контрольних тварин цього періоду лікування виявляли рідко. Причому, мікроби знаходилися внутрішньоклітинно, що характеризує ознаки завершеного фагоцитозу. Вірогідне зменшення кількості ранової мікрофлори ($P < 0,05$) підтверджено бактеріологічними дослідженнями у тварин дослідної групи (табл. 3.51). У них зменшилася кількість мікрофлори та змінилися її якісні властивості, тобто вона,

на відміну від мікрофлори, виділеної від тварин контрольної групи, не проявляла патогенності.

Дослідження місцевого процесу у всіх тварин дослідної групи вказувало на завершення періоду очищення ран та інтенсивне заповнення дефекту грануляційною тканиною на 9-ту добу. Молода яскраво-червоного кольору грануляційна тканина суцільно покривала дно і краї ран. Поверхня ран помірно зволожена, рН середовища було на рівні $7,2 \pm 0,2$. Гнійний ексудат і рановий детрит відсутній. У тварин контрольної групи в цей період ще була поверхня ран покрита незначною кількістю рідкого ексудату сірого кольору. Після його зняття тампоном, на дні рани залишався рановий детрит, поміж якого спостерігались поодинокі острівки грануляційної тканини. Болючість та підвищення місцевої температури навколишніх тканин відсутні. Припухлість була виражена лише по краях ран у вигляді демаркаційного валика шириною 0,3 см, рН ранового середовища становила $6,8 \pm 0,3$ одиниць.

Оскільки у тварин, що піддавалися лікуванню (К, Д) рани відрізнялися за характером травми (різані, рвані, комбіновані), то в процесі, а точніше на завершальному етапі загоєння, спостерігалось як концентричне рубцювання, так і площинна епітелізація. У тварин дослідної групи у більшості випадків вираженим було концентричне рубцювання, що закінчувалось утворенням порівняно невеликого рубця. І тільки великі за площею рани загоювалися шляхом площинної епітелізації, тобто утворенням широкого епітеліального обідка. У тварин контрольної групи концентричним рубцюванням загоювалися різані рани, а інші – шляхом площинної епітелізації. У кінцевому результаті, як видно з таблиці 3.52, різані рани у тварин дослідної групи загоювалися на $17 \pm 1,0$ добу, що на 4-9 діб раніше ніж у контролі, рвані – на $18 \pm 0,9$, що відповідно раніше на 6 діб, рвано-забиті та рвано-кусані – на 19 добу, що раніше від контрольних, в середньому, на 8 діб.

Отже, при лікуванні собак із інфікованими ранами встановлено кращий терапевтичний ефект за застосування препаратом «Вітосепт» порівняно з

фурациліном. Відповідно проведених досліджень Вітосепт проявляє високу антисептичну дію на ранову мікрофлору, а саме здійснює повне її знищення уже до 5-ої доби лікування, що сприяє швидкому очищенню ран від гнійно-некротичного детриту, мікроорганізмів і продуктів їх життєдіяльності, а отже забезпечувало сприятливі умови для регенерації тканин та сприяло більш швидкому (в середньому на 8 діб) загоєнню ран у собак.

За інфікованих ран у собак, при застосуванні препарату «Вітосепт», порівняно з фурациліном, швидше нормалізувались морфологічні та біохімічні показники крові – кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну крові, рівень загального протеїну і його фракцій та активність амінотрансфераз у сироватці крові, наступала нормалізація величин показників лейкограми, що вказувало на реабілітаційні процеси в цілому організмі.

Отже, як підсумок проведених нами досліджень робимо висновок, що гіпохлоритвмісний препарат «Вітосепт» є нетоксичним і проявляє ефективну антисептичну і дезінфікуючу дію, що створює передумови для широкого його застосування в практиці ветеринарної медицини.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Важливим чинником економічної ефективності тваринництва є забезпечення здоров'я тварин з метою отримання високих продуктивних показників та необхідної репродуктивної здатності. Тому, виробництво фармацевтичної продукції призначеної для потреб ветеринарної медицини, є важливою умовою формування пропозиції продуктів харчування тваринного походження [12].

Останні роки характеризуються інтеграцією багатьох галузей народного господарства у світовий економічний простір, інтенсифікацією тваринництва, розвитком світового ринку ветеринарних препаратів, широким асортиментом закордонної ветеринарної фармацевтичної продукції. Всі ці умови актуалізували стратегічний розвиток, стійке функціонування та системне державне регулювання вітчизняної галузі ветеринарної фармації [201-203].

Ринок ветеринарних препаратів в Україні, в тому числі з вираженою протимікробною дією досить обширний [1, 4, 5, 9]. Однак, це, на жаль, не завжди вирішує проблему лікування інфекційних захворювань у тварин, оскільки в мікроорганізмів, які спричиняють розвиток запальних процесів, через природну та індивідуальну мінливість виробляється стійкість до раніше ефективних терапевтичних засобів [204-206]. Ця проблема не нова. Впродовж багатьох десятиліть науковці і практики вирішують її, хоч і не завжди успішно, шляхом зміни схем лікування інфекційної патології та застосування комбінованих засобів або різної їх концентрації [207]. Через це потреба у створенні нових біоцидних засобів з дещо іншими механізмами протимікробної дії та високою терапевтичною ефективністю є особливо важливим завданням. При цьому необхідно враховувати, що до потенційних ветеринарних препаратів, які рекомендуються для лікування і профілактики захворювань у тварин вимоги

постійно зростають. Перш за все такі речовини мають характеризуватися високою біологічною активністю, вибірковістю і тривалістю лікувальної дії. Вони повинні бути нетоксичними та позбавлені властивостей викликати небажані побічні ефекти. За їх оцінки важливими є такі показники як висока хімічна чистота і стабільність за тривалого зберігання [203].

Лікарські речовини, які визначають фармакологічну активність нових препаратів, відповідно до вимог нормативно-технічної документації мають відноситись до класу високочистих. Наявність в них навіть незначної кількості домішок може призводити до небажаних наслідків. Ці супутні інгредієнти, є, в кращому випадку, індиферентними, однак вони часто можуть проявляти шкідливий вплив. Особливо небажаною є присутність таких домішок у лікарських препаратах, які тривалий час застосовують, оскільки їх накопичення в організмі тварин може спричиняти побічні ефекти [207, 217, 218]. Джерела забруднення лікарських речовин можуть бути різними: це і недостатня очистка сировини та допоміжних матеріалів, які використовують в синтезі; відхилення від технологічних процесів або їх недосконалість, що ведуть до утворення побічних продуктів; недостатня очистка кінцевих продуктів, неправильне зберігання і т.д. Лікарську речовину можна вважати високочистою, якщо подальша очистка не змінює її фармакологічну активність, хімічну стійкість, фізико-хімічні і біологічні властивості [208, 209].

На думку багатьох авторів створюваний лікарський засіб має бути ефективним, безпечним і якісним та базуватися на доказовій медицині, яка визначає ступінь достовірності його оцінки. Лікувальна або профілактична активність будь-якої лікарської речовини, в першу чергу, обумовлена її хімічною будовою й фізико-хімічними властивостями. Однак на лікувальну активність субстанції істотно впливають і „вторинні” властивості, набуті в результаті направленої технологічного втручання за приготування ліків: зміна ступеня дисперсності (величини часток), сполучення з допоміжними речовинами, приготування оптимальної лікарської форми і т.д. [210]. Під фізичним станом

речовини з біофармацевтичної точки зору розуміють її поліморфізм, ступінь дисперсності (величину часток), агрегатний стан, форму кристалів, електрофізичні, оптичні й інші характеристики, які обумовлюють поверхневі властивості вихідних речовин і можуть стати причиною терапевтичної нееквівалентності лікарських препаратів або їх побічної дії [209, 214, 217]. Фізичні властивості лікарської субстанції, технологічні процеси, що впливають на її властивості під час приготування ліків, і допоміжні речовини (формоутворювачі), інтегровані до складу лікарської системи у літературі прийнято поєднувати під умовним терміном „фармацевтичні фактори”. Вивчення останніх є обов’язковим з погляду біофармації через їх істотний вплив на динаміку біодоступності лікарських речовин, стабільність у процесі зберігання ліків і багато інших показників [211-215].

Останнім часом все більше повідомлень про використання електрохімічних методик у лікуванні гнійних інфекцій. Найбільш часто мова йде про оксигенвмісні препарати та гіпохлорит натрію. На думку С.О. Гур’єва і співавт. (2016), перевагою останнього над іншими антисептичними засобами є простота отримання і відносна дешевизна, відсутність протипоказань, ускладнень, побічних ефектів і резистентності з боку мікроорганізмів, універсальність по відношенню до різних ендо- і екзотоксинів [139].

Вважається, що основним в механізмі бактерицидної дії гіпохлориту натрію, одержаного електрохімічним методом з натрію хлориду є його здатність в організмі тварин розкладатися на ClO^- і Na^+ або O^- і NaCl . Гіпохлорид-аніон і атомарний Оксиген будучи сильними окисниками знижують резистентність мікроорганізмів до антибіотиків, підвищують ефективність останніх, піддають детоксикації продукти токсичного метаболізму, в тому числі сприяють розпаду мікробів, лейкоцитів і тканин, при цьому характерним для них є некролітичний ефект [17, 33].

Технологія одержання лікарської форми у багатьох випадках визначає стабільність препарату, швидкість його вивільнення з неї, інтенсивність

всмоктування тощо [98]. На думку багатьох дослідників бактерицидна, фунгіцидна і спороцидна ефективність гіпохлориту натрію залежить, як правило, від фізико-хімічних характеристик останнього, які у свою чергу визначаються способом отримання [103]. Крім того, вважають, що безпечність цього препарату в токсикологічному відношенні (відсутність в якості домішок хлоритів, хлоратів, хлорорганічних сполук, іонів перехідних метаболітів) теж залежна від технології отримання гіпохлоритів і зокрема від типу електролізера [96]. Наші дослідження, які ввійшли до даної дисертаційної роботи, є результатом проведених спільних експериментів із фірмою «Альтафарм» (м. Дніпро) щодо з'ясування доклінічних та клінічних характеристик безпеки, якості та ефективності препарату «Вітосепт» за умови застосування його у ветеринарній практиці. В основі наданого нам для дослідження «Вітосепту» є високочистий натрію гіпохлорит (ВНГХ), одержаний в прямій електрохімічній реакції в спеціально розробленому бездіафрагмовому проточному електролізері, мінаючи процес утворення молекулярного хлору. Як вихідний електроліт розробники використовували ізотонічний (0,9%) розчин натрію хлориду, приготовлений на воді, очищеній за спеціальною технологією. Застосований електролізер дозволяє отримувати досліджувані розчини за струму поляризації від 0,5А до 3,5А та за швидкості потоку електроліту від 6,0 л/год до 10 л/год. Важливим у цій технології є відсутність в одержаному розчині гіпохлориту натрію домішок органічних речовин та іонів перехідних металів [223].

Проблема якості і безпеки лікарських засобів стає все більш актуальною у світі і в Україні, зокрема. Це пов'язано насамперед з тим, що у медичній і ветеринарній практиці зростає впровадження нових лікарських засобів з високою біологічною активністю, застосування яких може супроводжуватись виникненням різних за проявом побічних ефектів [217, 218]

Критерії якості лікарських засобів встановлені Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ) включають наступні обов'язкові елементи: ефективність і безпечність; значна перевага перед аналогами, близькими за дією;

тотожність за вмістом інгредієнтів; відсутність домішок; активність і стабільність хімічного складу та стійкість за тривалого зберігання тощо [219]. Появі нового лікувального засобу на ринку ветеринарних препаратів передують тривалий і складний процес його дослідження, в якому доклінічними експериментами відводиться важлива роль. Обов'язковою умовою проведення клінічних випробувань є їх доклінічне вивчення, що передбачає хімічні, фізичні, біологічні, мікробіологічні, фармакологічні, токсикологічні та інші дослідження [220, 221]. Завданням доклінічних досліджень новоствореного препарату для ветеринарної медицини є гарантоване встановлення його потенційної небезпеки та лікувальної ефективності як діючої речовини так, і препарату в цілому [222].

Доклінічні дослідження лікарського засобу – це програма, результатом виконання якої є забезпечення максимальної безпеки препарату за клінічних випробувань і подальшого його використання в практичній медицині. За вивчення загальнотоксичної дії нових лікувальних засобів складовими, які забезпечують гарантовану оцінку їх безпечності, є з'ясування гострої і хронічної токсичності, здатності до кумуляції та можливості проявляти побічні ефекти і віддалені наслідки [224, 225].

І.Я. Коцюмбас (2006) у своїй монографії визначає, що дослідження параметрів гострої токсичності досліджуваного засобу або діючої субстанції в ньому дозволяє встановити рівень токсичності та визначити співвідношення між дозою і токсичними ефектами, з'ясувати видову та статеву чутливість лабораторних тварин до дії досліджуваної речовини за проведення гострих (підгострих) і хронічних експериментів [156]. Такі дослідження проводяться як мінімум на двох видах лабораторних тварин. Через це метою нашої роботи було вивчити токсикологічні аспекти новоствореного препарату «Вітосепт» на організм не лише лабораторних шурів але й білих мишей., причому за двома шляхами їх введення (внутрішньошлункового та внутрішньочеревного). Щодо останнього, то за його вибору виходили з того, що отримані критерії токсичності є близькими до аналогічних в умовах внутрішньовенних ін'єкцій [156, 226]. Нами

також враховано нормативні вимоги, що для об'єктивного встановлення граничних (min) концентрацій (доз) потенційно токсичної речовини досліджують, як правило, дію трьох і більше концентрацій із розривом не менше від 5 до 10 разів [156]. При цьому важливим було встановити найбільш чутливі органи і системи організму та вивчити ступінь зворотнього відновлення втраченої функції.

Плануючи дослідження із вивчення токсикологічних параметрів Вітосепту ми врахували всі вищеперераховані вимоги. Гостру токсичність з'ясовували з метою встановлення дії досліджуваного гіпохлоритвмісного препарату за одночи багаторазового введення в організм лабораторних щурів та білих мишей і визначали максимально толерантні токсичні та ймовірно смертельні його концентрації. Зважаючи на те, що максимальні концентрації препарату «Вітосепт» за різних способів введення (щурі – перорально через зонд, миші – внутрішньочеревно) у нашому досліді складали 1000 мг/л і при цьому не викликали загибелі тварин можна стверджувати, що за СОУ 85.2-37-736:2011 досліджуваний засіб належить до 4-го класу токсичності або до малотоксичних речовин. Підтвердженням цьому була адекватна поведінка лабораторних тварин за поступлення в їхній організм максимально досліджуваних концентрацій гіпохлоритвмісного препарату. За результатами спостережень встановлено, що клінічний стан тварин всіх дослідних груп був задовільним, рефлекторні та поведінкові реакції збережені. Препарат не мав істотного впливу на процеси харчотравлення та виділення, а виявлене впродовж перших двох-трьох годин досліді незначне пригнічення стану центральної нервової системи, очевидно, пояснюється попаданням в шлунок значного об'єму рідини. При цьому відзначено, що подібними були зміни із тваринами, які отримували фізіологічний розчин натрію хлориду.

За тривалого внутрішньошлункового поступлення Вітосепту (30 діб) препарат не викликав токсикозу у тварин. Клінічно виражених порушень функцій життєвоважливих органів і систем організму не реєстрували а маса тіла щурів

дослідних груп і окремих їх органів вірогідно не відрізнялася від аналогічних у тварин контролю. За вивчення малотоксичних сполук в умовах гострих або підгострих дослідів важливим є проведення морфологічних досліджень крові тварин, оскільки остання є однією з найбільш динамічних систем, що реагують на дію будь яких ксенобіотичних речовин. Необхідно враховувати, що оцінка впливу досліджуваних препаратів за динамікою морфологічних і біохімічних показників крові відіграє важливу роль у прогнозі прояву небажаних впливів на організм тварин [227]. Кров завдяки своїй реактивності, постійному руху та виконанню ряду важливих функцій відіграє ключову роль у розвитку адаптації за дії на організм різних токсичних чинників. Нами встановлено, що дія Вітосепту на форменні елементи крові обумовлена змінами, які виникають при застосуванні ВНГХ в мембранах клітин. При цьому, істотного впливу досліджуваного засобу на кількість еритроцитів не відзначено. Число лейкоцитів, на тлі тривалого поступлення препарату, збільшувалось і знаходилося в прямій залежності від концентрації натрію гіпохлориту в ньому. Зі збільшенням останньої їх кількість тенденційно зростала. Застосування досліджуваного препарату сприяло корекції газового складу крові, призводило до нормалізації периферичної і системної гемодинаміки. Зокрема встановлено, що на 5-ту добу застосування Вітосепту у концентрації 100 та 300 мг/л у крові достовірно підвищувалась концентрація гемоглобіну на 7,7 % ($P < 0,05$) та 13,5 % ($P < 0,05$), а на 10-ту добу, відповідно, на 9,0 % ($P < 0,05$) та 14,8 % ($P < 0,01$) у порівнянні з контрольною групою тварин. За перорального поступлення препарату «Вітосепт» у концентрації 500 мг/л, у крові щурів IV-ої дослідної групи, порівняно з контролем відзначали: зниження гематокриту на 10,6%, збільшення рівня гемоглобіну на 6,1% і кількості еритроцитів на 3,1%. При цьому, вміст гемоглобіну в еритроциті був вищим на 10,7%, середній об'єм еритроцитів – на 5,8%, анізоцитоз еритроцитів – на 4,5%. На нашу думку, незначна еритропенія стала причиною зниження гематокриту та анемії, внаслідок запальних процесів у шлунково-кишковому тракті, в той час як збільшення вмісту гемоглобіну в еритроциті було вже компенсаторним явищем.

Токсичні реакції, які виникають після введення високих доз препаратів, зумовлені селективним тропізмом кожного складника до різних тканин організму, внаслідок чого виникають нейро-, гепато- та нефротоксичні реакції. Діагностувати такі зміни можна після всебічного вивчення токсичності з урахуванням біохімічних та морфологічних змін. Саме тому, при вивченні ступеня метаболічного та токсичного навантаження на організм щурів, за введення препарату «Вітосепт» у високих концентраціях в окремих групах дослідних тварин виявляли зростання еритроцитарного індексу інтоксикації. Відповідно до сучасних уявлень, еритроцитарні мембрани складаються з подвійного шару змішаних біполярних ліпідів, в якому вуглеводневі ланцюги звернені всередину і утворюють безперервну вуглеводневу фазу, а гідрофільні молекули спрямовані назовні. Кожна з поверхонь подвійного шару ліпідів покрита мономолекулярним шаром білка, поліпептидні ланцюги якого знаходяться в витягнутій формі (конфігурації). Ліпідна частина мембрани переважно складається з фосфоліпідів, до складу яких входять, поряд з іншими компонентами, вищі жирні кислоти. Зміни складу еритроцитарних мембран призводять до зміни їх функціонування, зокрема до порушення проникності для іонів, що спричиняє до зміщення кислотно-лужної рівноваги еритроцитів [228]. Нами підтверджено, що тривале надходження препарату «Вітосепт» в організм щурів всіх дослідних груп призводило до вірогідного порушення проникності еритроцитарних мембран і відповідно до підвищення еритроцитарного індексу інтоксикації. Зафіксована подібна динаміка цього показника є, очевидно результатом того, що Вітосепт у концентрації 500 мг/л викликає зростання рівня ендogenous токсинів, які спричиняють зміни проникності мембран еритроцитів.

Печінка як центральний детоксикаційний орган в організмі тварин забезпечує знешкодження токсичних продуктів екзо- і ендogenous походження. Вона, в першу чергу, реагує на дію несприятливих чинників. Тому вивчення морфофункціонального стану печінки за поступлення чужорідних речовин в організм тварин є визначальним. Дослідження біохімічних показників крові

піддослідних тварин відображає функціональний стан окремих органів, які, зазвичай, є органами – мішенями токсичної дії. За дослідження функціонального стану печінки важливим є з'ясування активності органоспецифічних ензимів, які визначають внутрішньоклітинні функції. Здебільшого, зростання їх активності є результатом порушення проникності клітинних мембран на тлі розвитку запального або некротичного процесу [230-231].

В результаті проведених нами експериментів було відзначено, що Вітосепт не викликав у білих мишей функціональних порушень зі сторони печінки. Кількісний вміст білірубину, загального протеїну сироватки крові та активність гепатоспецифічних ензимів (АлАТ і АсАТ) у тварин дослідних і контрольної груп суттєво не відрізнялись. Стосовно лабораторних щурів ситуація була дещо іншою. У сироватці крові тварин III-ої групи (концентрація NaClO 100 мг/л) зменшувався на 5,2% вміст загального протеїну ($P < 0,05$) і в 1,5 раза активність лужної фосфатази. У щурів IV-ої дослідної групи, за найвищої досліджуваної дози препарату (500 мг/л), крім цього вірогідно низькими були вміст білірубину прямого та γ -амілази ($P < 0,05$). Виявлені нами зміни окремих біохімічних показників крові у щурів дослідних груп є, очевидно, результатом морфофункціональної адаптаційно-приспосувальної реакції організму піддослідних тварин на дію ксенобіотичних речовин. При цьому важливим є констатувати, що припинення задавання досліджуваного засобу веде до нормалізації біохімічних констант вже на 4-5-у доби. На подібну динаміку біохімічних показників за дослідження безпечності ветеринарних препаратів вказують у своїх дослідженнях також інші автори [232, 233].

За тривалого надходження чужорідних сполук до організму щурів змінюються біохімічні процеси в тканинах, а це, відповідно, веде до порушення функціонування окремих органів і систем. Ступінь напруги регуляторних систем, в тому числі тонусу симпатичного відділу вегетативної нервової системи, впливає на рівень функціонування кровообігу, мобілізації тієї чи іншої частини функціонального резерву. Зокрема, печінка виконує безліч важливих функцій,

знешкоджує чужерідні сполуки, що надходять в організм із зовнішнього середовища, виводить з крові шкідливі речовини, які утворюються в процесі життєдіяльності, а також синтезує безліч необхідних організму специфічних білків, жирів та вуглеводів [229]. Виходячи з вище наведеного функціональний стан печінки визначали тіопенталовою пробою. Результатом проведеного дослідження стала констатація беззаперечного факту, що антитоксична функція печінки, на тлі тривалого поступлення високих концентрацій препарату «Вітосепт», є зниженою. Очевидно, що за таких умов біотрансформація тіопенталу натрію в гепатоцитах проходить більш тривалий період а час пробудження тварин дослідної групи, порівняно з контролем набагато довший.

За вивчення дії потенційних лікувальних засобів в умовах тривалого їх поступлення в організм з'ясування стану центральної нервової системи, поведінкових реакцій є особливо важливим. Цілісність організму визначається оптимальністю керуючих впливів, їх здатністю забезпечити врівноваженість організму з середовищем і його адаптацію до умов існування. Адаптаційно-приспосувальна діяльність вимагає витрат енергії та інформації, яка визначається ступенем перенапруги регуляторних механізмів і величиною витрачених функціональних резервів. Системні порушення найважливіших фізіологічних функцій організму можуть викликати порушення гомеостазу, зниження рівня фізичних можливостей організму. Стійкість під час фізичних навантажень є показником функціонального стану організму тварин [156, 234]. Результатом наших досліджень щодо вивчення впливу гіпохлоритвмісного препарату «Вітосепт» на здатність витримувати фізичні навантаження стала констатація факту, що тривалість плавання лабораторних щурів напряду залежала від концентрації поступленого в її організм досліджуваного засобу. Так, на 30-у добу хронічного досліду тривалість перебування тварин III-ої групи (100 мг/л) на воді становила $19,9 \pm 2,19$ хв., або була на 46,6% меншою ніж в контролі. При цьому необхідно відзначити, що період плавання щурів IV-ої дослідної групи, які отримували Вітосепт в найбільшій досліджуваній дозі (500 мг/л) був майже в 4

рази коротшим, що ще раз підтверджує ймовірність негативного впливу натрію гіпохлориту в такій концентрації на фізичну стійкість і витривалість піддослідних тварин. На пригнічення функціонального стану центральної нервової системи вказують також результати тесту з вивчення поведінкових реакцій за умови «відкритого поля». Не характерною була лише реакція тварин IV-ої дослідної групи, які впродовж 30-и діб отримували 500 мг/л препарату «Вітосепт» і полягала власне у зменшенні кількості заглядань у нірку, вмивань і вставань на задні лапки, порівняно з контролем [156]. Подальші дослідження показали, що такий стан у піддослідних тварин носить короткотерміновий характер а про відновлення функціональних властивостей організму можна говорити вже на 4-5 доби після припинення дачі піддослідним тваринам Вітосепту.

На глибинні зміни в системі гомеостазу, ушкодження окремих органів і систем, на тлі одно- і багаторазового введення досліджуваних речовин, організм лабораторних тварин часто реагує зміною маси тіла. За хронічних досліджень важливим є встановлення відповідності між зростанням маси тіла піддослідних тварин і масою їх окремих органів, що визначається як коефіцієнт маси. Вважають, що за порушень метаболічних процесів в організмі тварин динаміка зростання їх маси тіла може бути не характерною, а включення окремих органів в дегенеративні процеси буде змінювати їх відносну масу. Нами встановлено, що тривале пероральне поступлення навіть найвищих досліджуваних концентрацій Вітосепту (500 мг/л) не проявляло токсичного впливу на організм білих мишей. Маса тіла тварин контрольної і дослідних груп та коефіцієнти маси їх внутрішніх органів суттєвих відхилень не зазнавали. Проте, у лабораторних щурів 30-ти добове пероральне поступлення досліджуваного засобу в аналогічній концентрації спричиняло на кінець досліду зменшення маси тіла тварин на 9,8%. При цьому, в тварин цієї дослідної групи відзначено вірогідне збільшення коефіцієнта маси печінки ($P < 0,01$) і селезінки ($P < 0,05$).

Доклінічне вивчення нешкідливості лікарського засобу передбачає вивчення ембріотоксичних ризиків, що є одним з інтегральних критеріїв безпеки в процесі використання препарату на будь-якому етапі життя тварин, оскільки складність феномену репродукції робить організм дуже вразливим. Такі дослідження дають змогу встановити характер і вираженість шкідливої дії лікарських засобів на організм плодів експериментальних тварин залежно від терміну внутрішньоутробного розвитку та оцінити безпечність його застосування при вагітності. В процесі проведення попереднього досліду було виявлено вагітних самок щурів, яких використано для з'ясування ембріотоксичних і тератогенних властивостей препарату «Вітосепт». В результаті проведених досліджень встановлено, що застосування різних концентрацій препарату «Вітосепт» щурам протягом 30 діб до та під час вагітності не чинить ембріотоксичної та тератогенної дії. За показниками загальної, до- і постімплантаційної летальності ембріонів у 20-добових плодів відсутні вірогідні зміни внутрішніх органів і тканин, а їх розвиток відповідав строкам вагітності. Суттєвої різниці між плодовитістю щурів дослідної і контрольних груп не встановлено. Середня кількість плодів на самку в дослідній і контрольних групах перебувала в межах 9 тварин. Щуренята, отримані від дослідних самок, були життєздатні й не відставали в рості та розвитку в порівнянні з контрольними тваринами. Отже, препарат «Вітосепт» нетоксичний та не володіє ембріотоксичною і тератогенною дією [197].

Відомо, що інкубаційні властивості яєць залежать від їх якості. При цьому, якість яєць визначається як якісним так і кількісним вмістом в них поживних і біологічно активних речовин та є залежною від ветеринарно-санітарних умов отримання і збереження яєць (до, і в період інкубації). В арсеналі біоцидних засобів, які застосовують для передінкубаційної обробки яєць є достатньо препаратів. Одним з найбільш широко вживаних дезінфектантів з цією метою використовують формалін (у вигляді парів формальдегіду за стабільної температури і вологості). Однак, на думку науковців та фахівців практичної

медицини це не завжди є безпечним в токсикологічному відношенні. Сьогодні все частіше звучать повідомлення про канцерогенну і мутагенну дію формаліну на тварин, його шкідливий вплив на якість продукції, отриманої за використання цього дезінфектанта. Серед безпечних засобів, які рекомендують для передінкубаційної обробки яєць у практиці ветеринарної медицини часто застосовують кисне- і хлорумісні препарати, четвертинні амонійні сполуки тощо. Часто в якості таких речовин використовують препарати «Озон-2М», «Озон-2М-02», «Озон-180» (обов'язкові константи: концентрація O 0,3-1,0 г/м³, 60 хв, t° 15-20°C, вологість 50-70%). Однак, вважають, що цей спосіб дезінфекції достатньо ефективний лише за обробки чистих яєць, оскільки доведено, що озон не проникає через шар органічного забруднення на шкаралупі. У вирішенні вищезгаданих проблем чільне місце може зайняти екологічно чистий препарат «Вітосепт», де в якості субстанції виступає натрію гіпохлорит, отриманий методом електрохімічних технологій. Виявлені в нього протимікробні, бактерицидні, бактеріостатичні, спороцидні та протигрибкові властивості є перспективною для застосування Вітосепту у птахівництві, як ефективного дезінфекційного засобу.

Для нас важливим було вивчити протимікробну активність препарату «Вітосепт», до складу якого входить високочистий натрію гіпохлорит, отриманий за спеціальною технологією. У процесі досліджень було з'ясовано, що бактеріостатична концентрація досліджуваного засобу відносно *E. coli*, *St. aureus*, *P. aeruginosa*, *B.subtilis*, *C. albicans* становила 525, 250 і 130 мг/л. При цьому можна констатувати, що новостворений біоцид проявляв ефективну антибактеріальну активність вже за концентрації 125 мг/л. Він діяв, як на грампозитивні так і на грамнегативні мікроорганізми. Підтверджено, що збільшення терміну зберігання Вітосепту призводить до зниження антисептичної активності стосовно мікроорганізмів, а зростання концентрації активної речовини її підсилює. Встановлено, що різні концентрації досліджуваного препарату «Вітосепт» проявляють достатньо високу антисептичну активність

відносно *Streptococcus pyogenes* 634, 528, *Enterococcus faecalis* 583,345, *Esherichia coli* B45,101 , *Candida albicans* 54, *Klebsiella ozaenae* 242, *Staphylococcus aureus* 209. При цьому, «Вітосепт» не проявляє активність відносно мікроорганізмів *Klebsiella ozaenae* 58, *Proteus vulgaris* 556, 635 та *Pseudomonas aeruginosa* 5, 653.

Оцінюючи дезінфікуючий ефект гіпохлоритвмісного біоцидного засобу, встановлено, що при знезараженні об'єктів забруднених грибами необхідно застосовувати високі концентрації препарату (650 мг/л) і термін його дії має бути не меншим за чотири години. Препарат проявляє ефективну фунгіцидну дію і в меншій концентрації, зокрема 320 мг/л, але при цьому важливою є відсутність органічного забруднення на об'єкті знезараження, що часто є супроводжуючим чинником у практиці ветеринарної медицини.

Оцінюючи спороцидну дію Вітосепту з'ясували, що вона є залежною від виду мікроорганізмів, концентрації препарату, терміну контакту та наявності органічного забруднення. В якості моделі для вивчення можливості використання Вітосепту для дезінфекції, передстерилізаційної обробки інструментів використовували *B.subtilis*. Останні володіють високою стійкістю до дії фізико-хімічних факторів, у тому числі до температури. Їх стійкість до дії біоцидів пов'язана з хімічним складом спор. До складу спорової оболонки входить білок типу кератину, а центр спори вміщує іони кальцію, які надають спорам стійкості до температури. Ця особливість складу спор обумовлює їх стійкість до фенолу, четвертинних амонійних сполук, органічних кислот, ефіру, хлоргексидину і т.д. [57, 62]. На відміну від вказаних біоцидів, сполуки активного Оксигену володіють бактерицидною і спороцидною активністю. Виявлена нами спороцидна активність «Вітосепту» на рівні 3 Іг за умов наявності органічного забруднення прийнятна для дезінфекції. Підтверджений в експерименті бактерицидний, фунгіцидний і спороцидний ефект препарату «Вітосепт» дає всі підстави рекомендувати його в якості антисептичного засобу за лікування інфікованих ран у тварин, дезінфекції різних поверхонь, предметів догляду за тваринами, санації вимені корів перед доїнням, передстерилізаційної очистки та

стерилізації предметів і виробів для штучного осіменіння, акушерсько-гінекологічного та хірургічного ветеринарного призначення з пластмас, гум, скла, фаянсу, металів тощо.

Механізм протимікробної дії Вітосепту очевидно, слід пов'язувати із натрію гіпохлоритом, який має низьку молекулярну масу та є ідеальним генератором активного Оксигену, що може вільно проникати крізь клітинні мембрани, і відповідно, окиснювати токсини, які знаходяться не тільки в крові, але і у тканинах. Фармакодинаміка препарату «Вітосепт» зводиться до окиснення білкових структур бактерій і пов'язана із здатністю вступати у зв'язок з аміногрупами білків і воднем тканин та порушувати їх властивості. Хлористоводнева і хлорноватиста кислоти у водних розчинах дисоціюють з утворенням катіонів та іонів, при цьому сила їх дії залежить від кількості утворених катіонів, проявляючи антисептичну, в'язучу, протизапальну та антитоксичну дії. Вступаючи в реакцію з живими тканинами вони викликають дегідратацію білка з утворенням альбумінатів, проявляють при цьому сильну антимікробну дію за рахунок зміни рН середовища та зневоднення бактеріальних клітин. Крім того, вони прискорюють розпад білка.

На етапі клінічних випробувань важливим було з'ясувати ефективність препарату «Вітосепт» за лікування ран різного генезису. Проблема лікування ран, в тому числі інфікованих, впродовж багатьох років залишається в числі особливо актуальних. За виникнення у тварин відкритих ушкоджень шкіри і шкірного покриву загоєння ран, зазвичай, відбувається із розвитком гнійно-некротичних процесів, оскільки захистити рану від контамінації мікрофлорою практично не можливо. Серед основних принципів лікування таких ран, як правило, є локалізація гнійного вогнища, запобігання його генералізації. Наявність в ранах надзвичайно різноманітної мікрофлори, різні їх асоціації роблять дуже проблематичним, а інколи і неможливим адресний підбір відповідних антибіотичних препаратів, що знижує ефективність антисептичної терапії. Рана створює широкі ворота для проникнення у тваринний організм чужорідних

антигенів, багато з яких є потенційно загрозливими для життя і супроводжуються вираженим запаленням. У лікуванні ран актуальним є протидія рановій інфекції, зменшення інтенсивності запалення і стимулювання ранового загоєння. Роль антисептичної терапії за ранової інфекції переоцінити дуже важко. Однак, необхідно враховувати, що більшість протимікробних засобів за контакту з раною спричиняють загибель наявної в ній мікрофлори, але одночасно вони пригнічують ріст грануляційної тканини і таким чином сповільнюють процес загоєння ран [27, 70, 73]. В результаті вивчення терапевтичної ефективності препарату «Вітосепт» встановлено, що його місцеве застосування, в середньому, на 3-4 доби пришвидшувало процес загоєння з утворенням зрілих грануляційних тканин та епітелізацією у собак із інфікованими шкірними ураженнями, ранами і забезпечувало асептичність його протікання та нормалізацію досліджуваних показників у процесі одужання. Суттєві зміни стану ран у собак встановлені вже на 5-ту добу від початку лікування. На цей період загальний стан тварин нормалізувався, температура тіла, частота пульсу та дихання були в межах фізіологічних величин. У собак дослідної групи виявлено сповільнення запальної реакції, що проявлялось зменшенням припухлості та зниженням місцевої температури. Болючість в цей період була ще частково збережена. Значно зменшилась кількість гнійного ексудату. Поверхні рвано-кусаних та рвано-забитих ран були покриті невеликою кількістю ексудату рідкої консистенції з домішками детриту, рН середовища ран становила $6,8 \pm 0,1$. Поверхня різаних ран була нерівномірно вкрита яскраво-червоною грануляційною тканиною. Це свідчило про нормергічний перебіг запалення з ознаками завершення періоду очищення і започаткування грануляційних процесів. На завершальному етапі загоєння, спостерігалось як концентричне рубцювання, так і площинна епітелізація. У тварин дослідної групи у більшості випадків вираженим було концентричне рубцювання, що закінчувалось утворенням порівняно невеликого рубця. І тільки великі за площею рани загоювалися шляхом площинної епітелізації, тобто утворенням широкого епітеліального обідка. У тварин

контрольної групи концентричним рубцюванням загоювалися різані рани, а інші – шляхом площинної епітелізації. За умови лікування собак з інфікованими ранами встановлено, що за дії Вітосепту у тварин цієї групи швидше нормалізувались морфологічні та біохімічні показники крові – кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну крові, рівень загального білка і його фракцій та активність амінотрансфераз у сироватці крові, наступала нормалізація величин показників лейкограми, що вказувало на реабілітаційні процеси в цілому організмі.

Підсумовуючи робимо загальний висновок, що препарат «Вітосепт», не відзначається токсичністю а його компоненти не володіють кумулятивними властивостями. З'ясовано, що діюча речовина, а саме високочистий натрію гіпохлорит відповідно до СОУ 85.2-37-736:2011 є малонебезпечним і відноситься до 4-го класу токсичності. Важливим є те, що досліджуваний засіб не володіє алергенними властивостями, позбавлений подразнювальної дії за нанесення на раневу поверхню, кон'юктиву ока та інші слизові оболонки. Підтверджена відсутність у Вітосепту подразнювальної, дермонекротичної і резорбтивної дії при нанесенні на шкіру та виражена бактерицидність створюють добрі передумови для його широкого застосування в якості антисептичного засобу у ветеринарній практиці. Власне ця властивість, а також характерна ранозагоювальна дія знайшли своє підтвердження за вивчення ефективності гіпохлоритвмісного антисептика при лікуванні експериментальних (трафаретних) ран у щурів та інфікованих – у собак. Висока дезінфікаційна здатність препарату «Вітосепт» була підтверджена за проведення ним передінкубаційної обробки яєць та інкубаторних кліток. Все наведене вище дає підстави рекомендувати Вітосепт в якості високоефективного, екологічно чистого та відносно дешевого профілактичного і лікувального засобу у ветеринарній медицині.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено науково-теоретичне обґрунтування і практичне вирішення поставленого завдання щодо оцінки безпечності та ефективності препарату «Вітосепт», на основі високочистого натрію гіпохлориту, отриманого за спеціальною електрохімічною технологією. За доклінічних досліджень на лабораторних тваринах визначено параметри гострої (підгострої) і хронічної токсичності та бактерицидну, спороцидну і фунгіцидну його активність. В умовах клінічних випробувань апробовано і підтверджено виражену антисептичну і дезінфікуючу дію та ефективність досліджуваного засобу за лікування собак із спонтанними інфікованими ранами.

1. Встановлено, що одно- і багаторазове внутрішньошлункове задавання щурам 5, 10 і 20 мл Вітосепту (концентрація натрію гіпохлориту 1000 мг/л) та внутрішньочеревне введення білим мишам 5 мл досліджуваного препарату з різним вмістом NaClO (1000, 800, 500 мг/л) загибелі тварин не викликає. Видимі клінічні ознаки інтоксикації або нехарактерні поведінкові реакції, на тлі дії досліджуваного біоциду, відсутні. За вимогами СОУ 85.2-37-736:2011 препарат «Вітосепт» належить до малотоксичних речовин (4-ий клас токсичності).

2. За оцінкою реакції організму щурів на дію Вітосепту в різних концентраціях з'ясовано, що 30-ти добове поступлення препарату знижує у тварин III-ої і IV-ої груп функціональний стан печінки в 1,6 і 2 рази, $P < 0,05$ (за тривалістю експериментального тіопенталового сну); у щурів IV-ої групи пригнічує в умовах «відкритого поля» поведінкові реакції та спричиняє зниження фізичних можливостей організму (тривалість плавання з 10% навантаженням на 27,6 хв. менша, $P < 0,05$). Підтверджено, що тривале введення лабораторним тваринам препарату з концентрацією натрію гіпохлориту 500 мг/л зменшує на 20-ту і 30-ту доби досліду масу тіла тварин на 8,6 і 9,8% ($P < 0,05$).

3. За дослідження хронічної токсичності Вітосепту доведено, що досліджуваний засіб не має вираженого впливу на морфологічні і біохімічні

показники крові щурів. При цьому відзначено, що у крові тварин IV-ої дослідної групи еритроцитарний індекс інтоксикації зростає у понад 2 рази ($P < 0,05$). Констатовано, що реакцією організму щурів на тривале внутрішньошлункове поступлення різних концентрацій гіпохлоритвмісного препарату є зменшення в сироватці крові тварин III-ої групи на 5,2% вмісту загального протеїну ($P < 0,05$) і в 1,5 рази – активності лужної фосфатази ($P < 0,05$). У щурів IV-ої групи, за найвищої досліджуваної концентрації препарату (500 мг/л), крім цього вірогідно низьким був вміст білірубину прямого та γ – амілази ($P < 0,05$).

4. Досліджено, що макроструктура внутрішніх органів щурів за тривалого надходження різних концентрацій Вітосепту не зазнає характерних змін. За оцінкою коефіцієнтів маси окремих органів у лабораторних щурів IV-ої групи на 20-у добу досліду для печінки і селезінки цей показник вірогідно зростає на 14,0 і 39,4% ($P < 0,05$), відповідно. У подальшому (30-а доба досліджень) динаміка цієї досліджуваної величини була не характерною.

5. Встановлено, що застосування різних концентрацій препарату «Вітосепт» щурам впродовж 30-и діб до та під час вагітності не чинить ембріотоксичної та тератогенної дій. За показниками загальної, до- і постімплантаційної летальності ембріонів у 30-добових плодів відсутні вірогідні зміни в будові і морфометрії внутрішніх органів і тканин, а їх розвиток відповідав строкам вагітності. Вірогідної різниці між плодовитістю самок щурів дослідних і контрольної груп не виявлено.

6. Підтверджено, що препарат «Вітосепт» проявляє бактерицидну активність (по відношенню до *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans*) в концентрації натрію гіпохлориту 130 мг/л. Біоцидна дія щодо ефективного знезараження об'єктів, забруднених грибами (*A. niger*) проявляється за концентрації препарату на рівні 650 мг/л і збільшення тривалості контакту до 4-х і більше годин. Спороцидний ефект (*B. subtilis*) досягається за концентрації діючої речовини 320 і 650 мг/л та обов'язкового підігріву робочого розчину до 50°C і часу експозиції не менше 4 год.

7. Встановлено, що дезінфікуючий ефект забезпечується передінкубаційною обробкою яєць курей препаратом «Вітосепт» в концентрації 500 мг/л. За такої кількості активного натрію гіпохлориту відсоток новонароджених плодів (завмерлі, задохлики, слабкі, нежиттєздатні) становить менше 3%, а виводимість і збереженість курчат зростає, порівняно з партією яєць, оброблених парами формальдегіду до – до 95,7% і 97,5% відповідно.

8. Встановлено, що за швидкістю загоєння та зменшенням площі експериментальних ран у щурів дослідних груп препарат «Вітосепт» не поступається ефективності препарату вибору «Диоксизоль-Дарниця». При цьому Вітосепт у другій і третій фазах перебігу ранового процесу пришвидшує, порівняно з «Диоксизоль-Дарниця» проліферативні процеси в рані, утворення в ній зрілої грануляційної тканини та сприяє формуванню сполучної тканини з утворенням м'якого рубця. Повне загоєння ранового дефекту у тварин на 13-ту добу досліду відбувається у 85% тварин контрольної групи і у 100% щурів дослідних I-ої і II-ої груп.

9. Застосування препарату «Вітосепт» за лікування собак з інфікованими ранами, забезпечує високу антисептичну дію на ранову мікрофлору, здійснює повне її знешкодження до 5-ої доби лікування, що сприяє кращому очищенню ран від гнійно-некротичного детриту, мікроорганізмів і продуктів їх життєдіяльності та забезпечує сприятливі умови для регенерації тканин і швидкого загоєння ран. Підтверджено, що на тлі нормалізації клінічного стану та досліджуваних морфологічних і біохімічних показників крові повне загоєння різаних ран в собак настає на 17 ± 1 , рваних – на $18 \pm 0,9$ і комбінованих – на 19 ± 1 доби, що порівняно із групою тварин в яких рани лікували з використанням фурациліну, випереджувало період одужання на, відповідно 4-9, 6 і 8 діб.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. За лікування собак із спонтанними інфікованими ранами рекомендується промити їх гіпохлоритвмісним препаратом «Вітосепт» та накласти 8-10 шарову бинтову пов'язку, змочену ним. В перші 2-3 доби досліджуваний антисептичний засіб застосовувати 1 раз на добу після попереднього зрошування рани, а в подальшому розчин наносити 1 раз на 2 доби до повного загоєння.

2. Для забезпечення кращої виводимості та збереженості курчат передінкубаційну обробку яєць та інкубаційних шаф проводити препаратом «Вітосепт» із концентрацією в ньому 500 мг/л натрію гіпохлориту.

3. Результати дисертаційної роботи рекомендуємо використовувати в навчальному процесі за підготовки студентів-магістрів, що навчаються за спеціальностями 211 – «Ветеринарна медицина» та 212 – «Ветеринарна гігієна та санітарія», із дисциплін: ветеринарна фармакологія, мікробіологія, ветеринарна хірургія тощо.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Палій Г.К., Ковальчук В.П., Фоміна Н.С. Характеристика сучасного арсеналу дезінфікуючих засобів та проблеми дезінфектології. *Biomedical and Biosocial anthropology*, 2014. №22. С. 82-85.
2. Хайс Р.Х., Гуляева Л.Ф. Биологические эффекты токсических соединений: курс лекций. Новосибир. гос. ун-т, Новосибирск, 2003. 208 с.
3. Волков Ю.П. Перспективы развития исследований в области разработки дезинфицирующих средств. Актуальные вопросы дезинфекции, стерилизации, дезинсекции и дератизации. Мат-лы науч. конф. М.: 1992. С. 13-14.
4. Мандигра М.С., Лисиця А.В., Жигалюк С.В., Дмитрієв І.М. та інш. Аналіз засобів для ветеринарної дезінфекції. *Ветеринарна медицина*. 2012. Вип. 96. С. 163-166.
5. Проскудіна Н.О. Сучасні дезінфектанти: плюси і мінуси. *Сучасне птахівництво*. 2016. №4 (161). С. 16-22.
6. Коцюмбас І.Я., Сергієнко О.І, Ковальчик Л.М., Хом'як Р.В., Копійчук Г.Т., Старчевський М.К. Сучасні засоби ветеринарної дезінфекції. *Ветеринарна медицина України*. 2010. №1. С. 36-38.
7. Федорова Л.С., Арефьева Л.И., Путинцева Л.С. и др. Современные средства дезинфекции. Характеристика, назначение, перспективы. М., 1991. 51с.
8. Березовський А.В., Фотіна Т.І., Фотіна Г.А.. Застосування новітніх засобів і методів санації об'єктів птахівництва та контроль їх ефективності. *Методичні рекомендації*. Київ, 2007. 9 с.
9. Шандала М.Г. Состояние и перспективы разработки новых дезинфектологических технологий. *Эпидемиология и инфекц. болезни*. 2000. №2. С. 4-7.
10. Тішин О.Л., Хом'як Р.В., Козира О.Н, Копійчук Г.Т., Крушельницька Н.В., Малинівський В.М., Хирівський О.В. Бактерицидні та дезінфікуючі

властивості деззасобу Ласепт-форте. Науково-технічний бюлетень інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. 2013. Вип. 14, №3-4. С. 100-104.

11. Кирюткин Г.В., Горлов И.Ф. Гипохлориты. Волгоград, 2002. 484 с.

12. Коцюмбас І.Я., Величенко О.Б., Коцюмбас Г.І. [та інш.] Перспективи застосування гіпохлоритів у ветеринарній медицині. Львів: Вид-во «Афіша», 2009. 312 с.

13. Qin G. F., Li Z.Y., Chen X. D. An experimental study of an NaClO generator for antimicrobial application in the food. J. Food Engg. 2002. Vol. 54. №2. P.111-118.

14. Vogt H. Chlorine Oxides and Chlorine oxydes Asids. Ullman's Encyclopedia of industrial Chemistry. 6 th. Weinheim: Wiley-VCH, 2005. P. 5-6.

15. Тикунов В.И. Комплексные дезинфектанты на основе гипохлорита натрия: Дис. канд. ... вет. наук: 16.00.06. Всеросс. НИИ вет. санитарии, гигиены и экологии. Белгород, 2000. 156 с.

16. Жолобова И.С. Бицидное действие гипохлорита натрия. Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. М., 2004. Т.16. С. 78-80.

17. Зафириди А.Г. Применение раствора натрия гипохлорита в ветеринарии и животноводстве. Автореф. дисс. на соиск. науч. степен. к. вет. н. (16.00.04). 2006. 20 с.

18. Гиренко Д.В., Величенко А.Б. Растворы гипохлорита натрия высокой чистоты для ветеринарии и медицины. Технология получения. Вопросы химии и химической технологии. 2013. №1. С. 139-143.

19. Тульський Г.Г., Смирнов А.А., Бровин А.Ю. Совершенствование технологии электрохимического синтеза растворов «активного хлора». Вопросы химии и химической технологии. 2011. №4(2). С. 236-238.

20. Гиренко Д.В., Пилецкая А.А., Величенко А.Б. Влияние условий получения на образование гипохлорита и хлората при электролизе низкоконцентрированных растворов хлорида натрия. Вопросы химии и химической технологии. 2014. №1. С. 138-144.

21. Андрианова М.Ю., Эвентов В.Л., Палюлина М.В. Использование электролизного гипохлорита натрия в клинической практике. Клиническая лабораторная диагностика. 1999. №11. С. 46-53.
22. Хмельницький Г.О., Духніцький В.Б. Ветеринарна фармакологія: підручник. К.: 2017. 572 с.
23. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2-х т.. 10-е изд. М.: Медицина, 1985. Т.І и Т.ІІ. 624 с.; 576 с.
24. Мак-Доннел Г., Рассел Д. Антисептики и дезинфицирующие вещества: активность, действие и резистентность. Москва: Колос, 2002. 69 с.
25. Russell A.D. (2000) Do biocide select for antibiotic resistance. J. Pharmacol., 52 (2): 227-233.
26. Russell A.D. (2002 c) Mechanisms antimicrobial action of antiseptics and disinfectants an increasingly important area of investigation. J. Antimicrob. Chemother., 49: 597-599.
27. Красильников А.П. Справочник по антисептике. Минск: Вышэйшая школа, 1995. 367 с.
28. Якубчак О.М. Ветеринарна дезінфекція. Київ: Компанія Біопром, 2010. 21 с.
29. Зареєстровані ветеринарні засоби, кормові добавки, готові корми та премікси. Державна служба України з питань безпечності харчових продуктів та захисту прав споживачів.: веб-сайт. URL: <http://www.consumer.gov.ua/Pictures/Files/Editor/documents> (дата звернення: 29.11.2019).
30. Димко Р.О., Пушкова А.Г., Соломон В.В. Номенклатура та діючі речовини ветеринарних дезінфікуючих засобів, що зареєстровані в Україні. Науковий вісник НУБіП, серія «Ветеринарна медицина», 2015. Вип. 221. С. 191-195.
31. Палій А.П. Диференційна чутливість мікобактерій до хлорних дезінфектантів. Мікробіологічний журнал, 2018. Т. 80., №2. С. 104-107.

32. Russell A.D., Day M.J.(1993). Antibacterial activiti of chlorhexidine. J. Hosp. Infect., 25: 229-238.
33. Жолобова И.С. Фармако-токсикологическое обоснование применения натрия гипохлорита в ветеринарии и животноводстве. Автореферат дисс. на соиск. учен. степ. доктора ветеринарных наук. Воронеж, 2006. 36 с.
34. Субботин В.М., Александров И.Д.. Ветеринарная фармакология . М.: Колос, 2004. 720 с.
35. Ярных В.С., Симецкий М.А., Малинин В.Р., Потанин Б.А. Использование бактерицидных пен для дезинфекции. Ветеринария. 1986. №1. С. 17-18.
36. Alfa M.J., Jackson M. A new hydrogen peroxide-based medical device detergent wish germicidal properties: Comparison wish enzymatic cleaners. Am. J. Infect. Control. 2001. №29. P. 168-177.
37. Жорняк О.І., Стукан О.К., Сухляк В.В. Дія антисептичних засобів на патогенні механізми бактерій. Annals of Mechnicov Institute, №4, 2010. С. 53-58.
38. Волощенко О.И., Мудрый И.В. Биологическая роль четвертичных аммониевых соединений. Киев, 1989. Рук. деп. в Укр. НИИНТИ, 17.04.89. №1075. 41 с.
39. Угрюмова В.С., Равилов А.З., Фехретдинов П.С. Четвертичные аммониевые соединения – перспективное направление в ветеринарной дезинфектологии. Ветеринарный врач. 2005. №1. С. 59-63.
40. Shipskii A.V., V.V. Afanasev, N.A. Polikarpov at al. Comparative analysis of antimicrobial action of polyhexamethylenguanide hydrochloride (Biopag) and clorhexidini bigluconate upon potential infectious agent of suppurative-inflammatory diseases of maxillo-facial region and neck [Text]. Stomatologia (Mosk.). 2007. Vol. 86(3). P. 46-50.
41. Волощенко О.И., Мудрый И.В. Поверхностно-активные вещества в окружающей среде и здоровье человека. Гигиена и сан. медицина. 1998. №11. С. 58-61.

42. Виьевский А.Н. Механизм биологического влияния катионных поверхностно-активных веществ. Москва: Наука, 1991. 250 с.
43. Oule M., R. Azinwi, A. Bernier et al. Polyhexamethylene guanidine hydrochloride-based disinfectant a novel tool to fight meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* and nosocomial infection [Text]. *Journal of Medical Microbiology*. 2008. Vol. 57(12). P. 1523-1528.
44. Марієвський В.Ф., Воронін Є.П., Чекман І.С., Гребельник А.І. Полігексаметиленгуанідину гідрохлорид: перспективний біоцидний засіб. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 2014. №1(37). С. 17-20.
45. Щелочи и кислоты, используемые для дезинфекции. *Ветеринария* ru: веб-сайт URL: <http://veterinarua.ru/epizootologia1/1336-shchelochi-i-kisloty-ispolzuemye-dlya-dezinfetsii.html> (дата звернення: 20.11.2019).
46. Легеза К.М. Універсальні засоби дезінфекції: плюси та мінуси [Текст]. *Управління закладом охорони здоров'я*. 2010. №1. С. 64-73.
47. Дудницкий И.А., Юдина И.Г., Мичко С.А. Биологическая активность препаратов из группы гуанидинов. *Гигиена, ветсанитария и экология животноводства: Мат. Всеросс. науч.-практ. конф. 22-24 сентября 1994 г.* Чебоксары, 1994. С. 123-124.
48. Бойко В.М., Волянський Ю.А., Волянський А.Ю. та інші. Дія антибактеріальних засобів на патогенні механізми бактерій. [Текст]. *Biomedical and biosocial anthropology*. 2008. №11. С. 32-38.
49. Салманов А.Г., Марієвський В.Ф., Хобзей М.К. Резистентність бактерій до антисептиків та дезінфікуючих засобів. *Укр. мед. часопис*, 2010. 6/80. С. 51-56.
50. Тодосійчук Т.С., Стрелець Т.І., Конопацька С.В. Підвищення стійкості мікробних патогенів як фактор розробки нових антисептиків. *Наукові вісті НТУУ "КПІ"*, 2011. №3. С. 90-97.

51. Карнаух Э.В., Летник Я.В. Резистентность микроорганизмов к современным противомикробным лекарственным средствам. EUROPEAN SCIENTIFIC JOURNAL. 2014. №2. С. 118-122.
52. McDonnell G., Russell A.D. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action and Resistance. Clinical Microbiology Reviews. 1999. Vol. 12, №1. P. 147-179.
53. Березняков И.Т. Резистентность к антибиотикам: причины, механизмы, пути преодоления. Клинич. антибиотикотерапия. 2001. №4 (12). С.18-22.
54. Russell A.D. Biocide and pharmacologically active drugs as residues in the environment is there a correlation with antibiotic resistance. Am. J. Infect. Control. 2002. №92. P. 121-135.
55. Poole K. Mechanism of bacterial biocide and antibiotic resistance. J. Appl. Microbiol., 2002. №92. P. 55-64.
56. Бойко В.М. Протимікробна дія та біологічна активність нових антисептиків і деяких хінолонів: Автореф. дис. канд. мед. наук: 03.00.07. Харків: Вінницький нац. мед. ун-т ім. М.І. Пирогова, МОЗ України, 2005. 19 с.
57. Chapman J. S. Biocide resistance mechanism. Intern. Biodeterioration and Biodegradation, 2003. №51. Issue 2. P. 133-138.
58. Russell A.D. Principle of Antimicrobial activity and resistans. Part. 1 Fundamental Principles of Activity. Disinfection, sterilization and preservation. New-York Lippincott Williams Wilkins, 2001. P. 31-57.
59. Levy S.B. Active efflux, a common mechanism for biocide and antibiotic resistance. J. Appl. Microbiol., 2002. №92. P. 66-71.
60. Кістерська Л.Д., Логінова О.Б., Садохін В.В., Садохін В.П. Інноваційна технологія виробництва біосумісних нанодезінфектантів нового покоління. Вісн. НАН України, 2015. №1. С.39-48.
61. Светлов Д.А., Васильев О.Д., Макаревич Ю.М. Разработка технологии получения биоцидных композиций, содержащих гуанидин [Текст]. Строительство, архитектура, дизайн. 2010. №1(8).

62. Грегірчик Н.М. Біоцидна дія комбінованих засобів на основі полігексаметиленгуанідину. Технологической аудит и резервы производства, 2013. №5/4(13). С. 28-32.
63. Методичні підходи щодо контролю дезінфікуючих засобів для ветеринарної медицини. Монографія. За ред. В.Л. Коваленко, В.В. Недосекова. К.: 2011. 224 с.
64. Розробка і контроль дезінфікуючого засобу. Монографія / За ред. В.Л. Коваленка, Д.А. Засєкіна. К.: 2013. 166 с.
65. Бойко В.М., Волянський Ю.А., Волянський А.Ю. [та інші]. Дія антибактеріальних засобів на патогенні механізми бактерій. Biomedical and biosocial anthropology. 2008. №11. С.32-38.
66. Lipes M., Zorawski C. Aktywnosc przeciwbakteryjna preparatow dezynfekcyjnych zarejestrowanych do uzytku weterynaryjnego. Nova Weterynaria. 1997. №3. S. 32-37.
67. Maris P. Modes of action of disinfectants. Rev. Sci. Tech., 1995. №14. P. 47-55.
68. Медведев К.С. Болезни кожи собак и кошек . К.:„ВИМА”, 1999. 152 с.
69. Патерсон С. Кожные болезни собак [пер. с англ. Е. Осипова]. М.: ООО „Аквариум – принт”, 2006. 176 с.
70. Авраменко Т.О., Стецюра Л.Г., Борисевич В.Б. Лікування травм у собак: збірник матеріалів VI міжнар. наук.- практ. конф. 2007 р.: тези допов. Київ, 2001. С. 48–51.
71. Тимофеев С.В. Открытые повреждения у животных.: Лекция. М., 2001. 25 с.
72. Андреев В.А., Сбойчаков В.Б., Нарольская Д.П., Суменова Д.К. Новые подходы к лечению гнойных ран: материалы международной научной конференции «V Лужские научные чтения. Современное научное знание: теория и практика» (22 мая 2017 года). Санкт-Петербург, 2017. С. 170–173.

73. Загальна ветеринарна хірургія. Підручник за ред. І.С. Панька. Видання друге, доп. і перероб. Біла Церква: Білоцерківський державний аграрний університет, 2008. 328 с.

74. Гучев И.А., Сидоренко С.В., Французов В.Н. Рациональная антимикробная химиотерапия инфекций кожи и мягких тканей. Антибиотики и химиотерапия. 2003. Т. 48. №10. С. 25-31.

75. Афиногенов Г.Е. Принципы антисептики в системе борьбы с раневой инфекцией. Стратегия и тактика применения антисептиков в медицине: Матер. междунар. конф. Винница, 2000. С. 267.

76. Рубленко М.В., Яремчук А.В. Клініко-морфологічна характеристика та сучасні підходи до лікування ран великої рогатої худоби. Вісник БДАУ. Біла Церква, 2007. Вип. 48. С. 87–90.

77. Ільніцький М.Г., Гердева А.О. Поширення хірургічної патології у собак в деяких районах м. Одеси. Вісник НУБіП України. 2016. Вип. 237. С. 42-49.

78. Авраменко Т.О., Стецюра Л.Г., Борисевич В.Б. Особливості травматизму собак в умовах великого міста. Наук. вісник Нац. аграр. ун-ту. Київ, 2001. Вип. 38. С. 63–67.

78. Кожевков В.С., Кудієвський А.В., Пшец В.М., Резніченко Ю.Г. Застосування цефалоспоринів третього покоління з метою профілактики та терапії гнійних ускладнень в травматології та ортопедії. Запорізький медичний журнал. 2004. №4. Т.25. С.17-19.

79. Девятов В.А., Петров С.В. Микробное обсеменение ран и профилактика гнойных осложнений. Хирургия, 1992. №7-8. С. 70-74.

80. Важбин Л.Б. Антимикробные материалы в профилактике инфекционных заболеваний кожи. Рос. журн. кожных и вен. болезней, 2000. №4. С. 35-37.

81. Абаев Ю.К. Лекарственные средства в лечении ран. Медицинские знания, 2010. №6. С. 2-5.

82. Липатов В.А. Патогенез раневого процесса и подходы к лечению гнойных ран. Хирургия, 2005. №10. С. 27-30.

83. Schlichting D., Mc Collam J.S. Recognizing and managing severe sepsis: a common and deadly threat. South. Med. J. 2007. Vol. 100. №6. P. 594–600.

84. Recommendations for the diagnosis and antibiotic treatment of surface bacterial folliculitis dogs (recommendations of the working group of the International Society for Infectious Diseases animal companions) Part 2 Treatment. Scott. Weese, Joseph Blondeau, Dawn Boothe [et all]. Veterinary Dermatology. 2014. Vol. 25, Issue 3. P. 163-173.

84. Буреев И.А., Кушнир А.Т. Универсальная установка для получения раствора гипохлорита натрия [Дезинфицирующие средства]. Состояние, проблемы развития ветеринарной науки России. М., 1999. Т.2. С. 120.

85. Лінімент для лікування тварин з гнійно-некротичними ураженнями шкіри. Гунчак В.М., Данко Г.В., Слободюк Н.М., Гутий Б.В.; заявники та патентовласники: Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. № и 2014. 03297; Заявл. 31.03.2014; Опубл. 10.11.2014, Бюл. №21.

86. Антонов М.А., Беликов В.С. Электрохимическая установка серии ЭЛМА-1 для получения раствора гипохлорита натрия. Военно-медицинский журнал. 2000. Т. 321. № 3. С. 43-45.

87. Буреев И.А. Электрохимическая установка серии „Санер-5” для получения раствора гипохлорита натрия. Ветеринария. 1996. №4. С. 53-54.

88. Гиренко Д.В., Величенко А.Б. Электрохимический реактор для получения низкоконцентрированных растворов хлорида натрия высокой чистоты. Вісник НТУ „ХПІ”, 2014. №51 (1993). С. 25-36.

89. Діаб Хасан, Оверченко А.І., Тульський Г.Г. Удосконалення електрохімічної технології концентрованих розчинів NaClO. Вісник НТУ «ХПІ», 2013, №47 (1020). С. 159-163.

90. Петров В.Б., Синяков А.Е., Драгинский В.Л. Установки по производству электрохимического NaClO . Водоснабжение и санитарная техника. 2007. №1. С. 33-36.
91. Робертс Дж., Касирио М. пер. с англ. Основы органической химии. Том 2 [Текст]. Изд. 2-е. доп. М.: Мир, 1978. 888 с.
92. Лидин Р.А. Химические свойства неорганических веществ: Учеб. пособие для вузов. 3-е изд., испр., Москва: Химия, 2000. 480 с.
93. Myers Richard L. The 100 most Important Chemical Compounds. Westport, CT: Greenwood Press, 2007. 326 p.
94. Lide D.R.. CRC Handbook of Chemistry and Physics. 86th. Boca Raton (FL): CRPress, 2005.
95. Величенко А.Б., Лукьяненко Т.В., Плаксиенко И.Л. и др.. Химический состав и стабильность растворов гипохлорита натрия медицинского назначения. Вопросы по химии и химической технологии, 2006; 6: 156-160.
96. Колесников И.В. Устойчивость реальных растворов гипохлорита натрия [Текст]. Хим. пром. 1991. №6. С. 361-365.
97. Купрієнко Л.С., Зон Г.А., Стиценко Н.В., Безвершенко О.С. Ефективність застосування електрохімічноактивних розчинів натрію хлориду за умов контамінації м'яса птиці *Clostridium perfringens*. Науковий вісник ЛНУВМ БТ імені С. З. Гжицького, 2013. Т.15, №1 (55). Ч. 4. С. 98-103.
98. Панас М.А., Корнійчук О.П. Поєднаний вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання та антибактеріальних препаратів на моделі *Escherichia coli*. Biomedical and biosocial anthrology, 2014, №22. С. 85-89.
99. Сергиенко В.И., Петросян Э.А. Гипохлорит натрия в лечении гнойных ран. Вестник хирургии им. Н.И. Грекова. 1991. №1. С. 40-43.
100. Чалий Г.Ю., Титорович О.В., Хейдоров В.П. Уникальные химико-биологические свойства гипохлоритов и их применение. Вестник Витебского государственного медицинского университета, Витебск, 2011. Т.10. №3. С.178-188.

101. Антипов В.А., Жолобова И.С. РАГН – перспективный препарат ветеринарного назначения [Раствор активного гипохлорита натрия]. Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии: Всерос. НИИ вет. санитарии, гигиены и экологии. М., 2004. Т. 116. С. 74-75.

102. Aubut V., Pommel L., Verhille B. et al. Biological properties of a neutralized 2,5% sodium hypochlorite solution. OOOOE. 2010. Vol. 109. №2. P. 120-125.

103. Бахир В.М., Леонов Б.И., Паничева С.А. [и др.] Механизм действия гипохлорита натрия. Химический состав и функциональные свойства хлорсодержащих дезинфицирующих растворов. Вестник новых медицинских технологий, 2003. №4. С. 57-62.

104. Величенко А.Б., Гиренко Д.В., Лукьяненко Т.В. [и др.]. Растворы гипохлорита натрия для медицины и ветеринарии. Вопросы химии и хим. технологии. 2006. №6. С. 160-164.

105. Jean-Marie Laplace, Magalie Thuault, Axe Hartke et al. Sodium hypochlorite stress in *Enterococcus faecalis* Influence of antecedent growth conditions and induced proteins. Current Microbiol. 1997. №34. P. 284-289.

106. Hidalgo E., Bartolome R., Dominguez C. Cytotoxicity mechanisms of sodium hypochlorite in cultured human dermal fibroblasts and its bactericidal effectiveness. Chemico-Biological Interactions, 2002. 139: 265-282.

107. Кирюткин Г. В., Рахматуллин Э. К. Гипохлориты, их дезинфицирующие свойства и механизм действия: Учеб.-метод. пособие Ульян. ГСХА. Ульяновск, 2001. 145 с.

108. Miazyn R.H. [The use sodium hypochlorite for the treatment of patients with chronic diffuse liver diseases]. Monohrafia, Volhohrad. 2010; 118. Russian.

109. Петров С.И. Применение гипохлорита натрия в клинической токсикологии: дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.20. М., 2005. 205 с.

110. Головчак Н.П., Коцюмбас Г.І., Санагурський Д.І. [та інші]. Зміна інтенсивності ліпопероксидації й активності ферментів системи

антиоксидантного захисту у тканині нирок птиці за дії гіпохлориту натрію різних концентрацій. Біологічні студії. 2011. Т.5. №1. С. 77-84.

111. Зинь А.Р, Головчак Н.П, Тарновська А.В., Галан М.Б., Санагурський Д.І. Вплив гіпохлориту натрію на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз зародків в'юна протягом раннього ембріогенезу. Біологічні студії. 2012. Т. 6(1). С. 67-74.

112. Головчак Н.П., Коцюмбас Г.І., Бішко О.І., Санагурський Д.І. Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз печінки птиці за дії гіпохлориту натрію різних концентрацій. Фізика живого, 2010. №2. С. 146-152.

113. Serhyenco V.Y., Petrosyan E.A. [Sodium hypochlorite in the treatment of purulent wounds]. Vestnyk khyrurhyu. 1991. №2. С. 40-43.

114. Ivashchenko V.V., Danilcov A.P., Golovanov S.A., Kirpatovsky V.I., Kudryavtsev Yu. V., Drozhzheva V.V. Sodium hypochlorite in concentrating function of tubules. Experimental and clinical urology, 2010, no 3. Available at: <https://ecuro.ru/article/gipokhloritnatriya-v-kontsentriruyushchei-funktsii-kanaltsev>.

115. Shylova N.A., Bitsunov N.S. [Measurement of the blood acid-base status and glycosylated hemoglobin under the influence of sodium hypochlorite in diabetic coma ketoacidoticcheskaya]. Vestnic intensivnoy terapii. 1996; №2. С.122. Russian.

116. Санагурський Д.І. Об'єкти біофізики: монографія. Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2008: 522 с.

117. Сахацкий И.Н. Дезинфицирующие средства для птицеводства. Сравнительная эффективность (обзор). Птахівництво: міжвід. темат. наук. зб. Харків, 2004. Вип. 55. С. 559-569.

118. Нестеров В.В. Дезинфекция инкубационных яиц и стимуляция эмбрионального развития кур путем использования экологически чистых препаратов: автореф. дисс. на соиск. науч. степени канд. вет. наук: спец. 03.00.07 „Микробиология”. М., 2000. 16 с.

118. Бреславець В.О., Глебова К.В., Ярошенко М.О., Павличенко О.В., Стегній О.О. Використання біоцидних препаратів для дезінфекції інкубаційних яєць курей. Сучасне птахівництво, 2017, №03-04 (12-13). С. 20-24.
119. Жолобова И. С. Влияние активного раствора гипохлорита натрия на выводимость куриных эмбрионов. Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. М., 2004. Т. 116. С. 76-77.
120. Труфанова В. О., Котик А. М., Наливайко В. П. Вплив гіпохлориту натрію на збереженість та показники продуктивності курей. Птахівництво, 2001. Вип. 51. С. 363-365.
121. Бреславець В.О., Стегній, В.А., Стегній А.А. Обеспечение биобезопасности среди инкубатория. Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб. Вип. 97. С. 23-27.
122. Дунаєв Ю.К., Стегній Б.Т., Бреславець В.О., Дунаєва О.В. Вплив обробки качиних яєць гіпохлоритом натрію в період інкубації на біохімічні показники крові качок в онтогенезі. Ветеринарна медицина, 2009. Вип. 92. С. 176-179.
123. Белова В.И., Арефьева Л.И., Лиманова В.Е. [и др.]. Основные направления исследований в области создания дезинфицирующих препаратов. Актуальные вопросы совершенствования дезинфекционных и стерилизационных мероприятий. Ч. 2. М. 1990. 137-141 с.
124. Merianos J.J. Surface-Active Agents. Disinfection, sterilization and preservation - New-York Lippincott. Williams&Wilkins, 2001. P. 283-321.
125. Dychdala G. R. Chlorine and Chlorine Compounds. Disinfection, sterilization and preservation Ed by Blick. New-York Lippincott. Williams&Wilkins, 2001. 1481 p.
126. Брезвин О.М., Кушнір Г.В., Коцюмбас І.Я., Кушнір І.М. Порівняльна характеристика бактеріостатичної активності розчинів гіпохлориту натрію (ГХН) Аграрні вісті. Біла Церква, 2005. №4. С. 26-27.

127. Технічні умови України ТУ У 24.4-00485670-047:2004. Розчин натрію гіпохлориту. Розробники: Коцюмбас І.Я., Брезвин О.М., Труфанова В.О., Котик А.М.. Затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини України від 28.12.04. 2004. 20 с.

128. Технічні умови України ТУ У 24.4-33636972-001:2006. Септокс. Розробники: Коцюмбас І.Я., Брезвин О.М., Веліченко О.Б. і співавт. Затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини України від 19.06.06. 2006. 34с.

129. Захаров П. Г. Терапевтическая эффективность гипохлорита натрия. Ветеринария. 2000. №11 С. 14-15.

130. Харитонов В.Н. Гипохлорит натрия. Свойства и применение. Сырье и упаковка. 2005. №2. С. 36-37.

131. Kohler A.T., Rodloff A.C., Labahn M., Reinhardt M., Truyen U., Speck S. (2018). Efficacy of sodium hypochlorite against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. The Journal of Hospital Infection 100:e40-ee6.

132. Жолобова И.С., Старков В.И. Использование гипохлорита натрия при лечении мелких домашних животных. Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2015. №107. С. 156-164.

133. Lene K. Vestby Live L. Wound care antiseptics-performance differences against *Staphylococcus aureus* in biofilm. Nesse Acta Veterinaria Scandinavica volume 57, Article number:22(2015).

134. Борисенко В.В. Применение гипохлорита натрия при лечении мелких домашних животных. Молодой ученый, 2016. №13 (117). С. 927-929.

135. Жолнерович М. Л. Антимикробное и детоксицирующее действие гипохлорита натрия при лечении операционных ран у свиней. Актуальн. пробл. вет. хирургии. Воронеж, 1999. С. 59-61.

136. Жолнерович М. Л. Применение раствора гипохлорита натрия при операциях у свиней. Актуальн. пробл. вет. хирургии. Воронеж, 1997. С. 24.

137. Володин В.А., Каверина Е.В. Использование гипохлорита натрия для лечения мастита у коров. Мат-лы Всерос. науч. и учебн.-метод. конф. по акушерству, гинекологии и биотехнике размножения животных. Воронеж, 1994. С. 218-219.

138. Степаненко М.В., Мингазов И.Д., Фархутдинов Р.Р. Коррекция гипохлоритом натрия неспецифической резистентности телят при бронхите. Современ. вопр. вет. медицины и биологии. Уфа, 2000. С. 282-283.

139. Гур'єв С.О., Танасієнко П.В., Матяш В.І., Василів В.В. Електрохімічна медична технологія лікування постраждалих з місцевими інфекційними ускладненнями політравми. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2016. №2 (т. 20). С. 421-424.

140. Захаров П.Г. Терапевтическая эффективность гипохлорита натрия. Ветеринария, 2000. №11. С.14-15.

141. Berber V.B., Gomes B.P. In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine againsts selected single-species biofilms. Int. Endod. J. 2006. V. 39 (11). P. 878-885.

142. Lineback C.B., Nkemngong C.A., Wu S.T. et al. Hydrogen peroxide and sodium hypochlorite disinfectants are more effective againsts *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aureginosa* biofilms than quaternary ammonium compounds. Antimicrob. Resist. Infect Control 7, 154 (2018). <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0447-5>.

143. Tiwary S., Rajak S., Mondal D.P., Biswas D. Sodium hypochlorite is more effective than 70% ethanol against biofilms of clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. Am J. Infect Control. 2018; 46:e37-42.

144. Кайдалов А. В. Использование растворов гипохлорита натрия в терапии мелких животных: Сб. науч. тр. С.-Петербур. гос. акад. вет. медицины. С - Петерб., 2000. № 132. С. 49-50.

145. Кушнир А.Т., Смирнов В.Н., Чуфарова Е.В. и др. Оценка эффективности электрохимически активированного раствора хлорида натрия при

дезинфекции объектов, контаминированных возбудителем высокопатогенного гриппа птиц. Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2009. №1. С. 36-42.

146. Ачох З.З., Авакимян В.А. Влияние натрия гипохлорита на антиоксидантную систему при лечении распространенного гнойного перитонита. Современные наукоемкие технологии. 2004.

147. Kamikado H., Ito A., Aoki F. Studies on the effect of sodium hypochlorite and electrolyzer oxidizing water on the viability of *Bacillus* spores and the factors affecting the sporicidal action. Sc. Bull. Fac. Agr. Kyushu Univ. 2004. Vol. 59. №1. P. 15-24.

148. Зон Г. А. Эффективность гипохлорита натрия при лечении дерматита, вызванного *Malassezia pachydermatis*. Материалы восьмого междунар. конгр. по пробл. вет. медицины мелких домашних животных. М., 2000. С. 296.

149. Жолобова И.С. Бицидное действие гипохлорита натрия. Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. М., 2004. Т.116. С. 78-80.

150. Егоров В.В., Смолякова Г.П., Сорокин Е.Л. и др.. Экспериментальное изучение эффективности применения гипохлорита натрия в комплексном лечении гнойных кератитов. Вестник офтальмологии, 2005. №6. Т. 121. С. 43-45.

151. Chapman J.S. (2003a) Biocide resistance mechanisms. Int. Biodet. Biodeg., 51: 133-138.

152. Kirk-Othmer. Dichlorine monoxide, HClO , hypochlorites. Encyclopedia of Chemical Technology. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2005. V. 8. P. 544.

153. Лукьянов А.С., Лукьянова Л.Л., Чернавская Н.М., Гилязов С.Ф. Биоэтика. Альтернативы экспериментам на животных. М.: МГУ, 1996. 253 с.

154. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, Страсбург, 18 березня 1986 року.

155. Червонская Г.П., Панкратов Г.П., Миронова Л.Л. [и др.] Этика медико-биологического эксперимента в доклинических исследованиях. Токсикологический вестник. 1998. №3. С. 2-8.
156. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів. За ред. проф. Коцюмбаса І.Я. Львів: Тріада плюс., 2006. 360 с.
157. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації. Н.В. Літвінова, М.А. Філоненко-Патрушева, С.Б. Французова, В.В. Храпак; За ред. О.В. Стефанова. К.: Авіцена, 2001. 527 с.
158. Маланин Л.П., Морозов Л.П., Селиванова А.С. Методические указания по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве. Ветеринарные препараты: Справочник. Под ред. А.Д. Третьякова. М.: Агропромиздат, 1988. С. 239-289.
159. Методика токсикологічного контролю нових ветеринарних препаратів. І.Я. Коцюмбас, І.П. Патерега, Д.О. Чура, О.Г. Малик. Ветеринарна медицина України, 2001. №2. С. 17-20.
160. Коваленко В.Н. Современные требования к доклиническим исследованиям при регистрации лекарственных средств. Вісник фармакології і фармації. 2006. №8. С.14-17.
161. Коваленко В.М., Стефанов О.В., Максимов Ю.М., Трахтенберг І.М. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів. Методичні рекомендації. Київ, 2001. 43 с.
162. Доклинические исследования лекарственных средств (методические рекомендации). Под редакцией чл.-корр. АМН Украины А.В. Стефанова. К.: Авиценна, 2002. 586 с.
163. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Арзамасцев Е.В., Бабаян Э.А., Белоусов Ю.Б. [и др.] под ред. Р.У. Хабриева. М.: Медицина, 2005. 832 с.

164. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. [и др.]. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. Киев: Вища школа, 1983. 383 с.

165. Штабский Б.М., Гжегоцкий М.И., Гжегоцкий М.Р. [и др.]. К методике определения среднесмертельных доз и концентраций химических веществ. Гигиена и санитария. 1980. №10. С.49-51.

166. Конкретные правила проведения доклинических испытаний лекарственных веществ в соответствии с требованиями системы «Джи-Эл-Пи» (належної лабораторної практики). М.: Медицина, 1992. 78 с.

167. Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайретдинова Г.А. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. Київ. 2002. 155 с.

168. Викторов А.П. [и соавт.]. Контроль за безопасностью лекарственных препаратов в мире и проблемы развития фармаконадзора в Украине. Провізор, 2002. №1. С.9-13.

169. Принципы и методы оценки токсичности химических веществ. Ч.1. Гигиенические критерии состояния окружающей среды. ВООЗ, Женева: Медицина, 1981, 312 с.

170. Пименова Л.М., Гервиз Г.Д. Определение гемоглобина крови гемоглобинцианидным методом с применением ацетонциангидрина. В кн.: Унифицированные методы клинических лабораторных исследований (под. ред. В.В. Меньшикова). М., 1975. С. 103-113.

171. Гаврилец Е.С., Демчук М.В. Определение количества эритроцитов в крови сельскохозяйственных животных фотоэлектроколориметрическим методом. Тез. докл. и сообщ. 22-й науч. конф. ЛЗВИ. Львов, 1966. С. 73-74.

172. Карпуть И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных. Минск: Ураджай, 1986. 183 с.

173. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. Довідник за редакцією В.В. Влізла. Львів: Сполом, 2012. 764 с.
174. Делекторская Л.Н., Сентебаев Н.А., Салуэнья А.И. О унификации методов определения белка в сыворотке крови. Лабораторное дело. 1971. №8. С. 483-487.
175. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. [и др.]. Лабораторные методы исследования в клинике. Под ред. В.В. Меньшикова. М.: Медицина, 1987. 368 с.
176. Капетанаки К.Г. К методике определения активности трансаминаз (аминотрансфераз) в сыворотке крови. Лаб. дело. 1962. №1. С. 19-23.
177. Хазанов А.И. Функциональные пробы в диагностике заболеваний печени. М.: Медицина, 1968. 404 с.
178. Гижларян М.С. Новые данные к применению гексеналовой пробы в токсикологическом эксперименте. Гигиена труда и профессионального заболевания. 1976. №10. С. 49-50.
179. Методические указания по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияние на репродуктивную функцию. Под ред. А.П. Дыбан. М., 1986. 62 с.
180. Бариляк І.П., Неумержицька А.Д., Бишовець Т.Ф., Даниленко В.С. Вивчення гонадотоксичної дії нових лікарських засобів та їх впливу на репродуктивну функцію тварин. Методичні рекомендації. К., 2000. 24 с.
181. Методические рекомендации по оценке аллергенных свойств фармакологических средств. Под ред. О.Г. Алексеевой. М.: Медицина, 1988. С.19.
182. Головко А.Н., Ушкалов В.А. Микробиологические и вирусологические методы исследования в ветеринарной медицине. Справочное пособие. 2007. С. 511.

183. Методи визначення бактеріостатичної та бактерицидної концентрації антибактеріальних препаратів методом серійних розведень. Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок; редкол.: М.В. Косенко [та ін.]. Київ, 2003. 8 с.

184. Зон Г.А., Ващик Є.В. Модифікований метод визначення бактерицидних властивостей дезінфікуючих засобів. Ветеринарна медицина, 2014. Вип. 99. С. 53-57.

185. Яйця інкубаційні. Технологія передінкубаційного оброблення. Основні параметри: ДСТУ 4655:2006. [Чинний від 2007-07-01]. К.: Держспоживстандарт України, 2007. 6 с. (Національний стандарт України)

186. Нестеров В.В. Дезинфекция инкубационных яиц и стимуляция эмбрионального развития кур путем использования экологически чистых препаратов: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. вет. наук. (03.00.07) «Мікробіологія». М., 2000. 16 с.

187. Определитель бактерий Берджи. В 2-х томах. Ред. Д. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Д. Стейли, С. Уильямса. М.: Мир, 1997. 432 с.

188. Зон Г.А., Скрипка М.В., Івановська Л.Б. Паталого-анатомічний розтин тварин. Донецьк, 2009. 189 с.

189. Морозова Н.С. Визначення чутливості і стійкості мікроорганізмів до дезінфікуючих засобів: метод. рекомендації. Київ: Знання, 2008. 12с.

190. Коцюмбас І.Я., Бісюк І.Ю., Горжеєв В.М., Малик О.Г. [та інш.]. Клінічні дослідження ветеринарних препаратів та кормових добавок. Л.: ТОВ Видавничий дім «Сам», 2013. 252 с.

191. Руководство по клиническим испытаниям лекарственных веществ. Под. ред. О.В. Стефанова, В.И. Мальцева, Т.К. Ефимцевой. К.: Авиценна, 2001. 426 с.

192. VICH (2000). – VICH GL9 Good clinical practices/
www.vichsec.org/pdf/2000/G109.

193. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL. К.: «Морион», 2001. 408 с.
194. Ойвин И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований. Патологическая физиология и экспериментальные исследования. Терапия. 1960. №4. С. 76-79.
195. Солтис М.П., Гунчак В.М. До вивчення токсикологічних параметрів препарату «Вітосепт» за умов гострої токсичності. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З.Гжицького, 2018, Т.20, №88, С.115-119.
196. Солтис М.П. Морфологічні та біохімічні показники крові щурів за довготривалої дії препарату «Вітосепт». Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З.Гжицького. Серія: Ветеринарні науки, 2019. Т.21. №94. С. 109-114.
197. Soltys M. P., Rudyk H. V., Gunchak V. M., Gutyi B. V. Embryotoxic and teratogenic effects of Vitosept on white rats. Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety. Volume 5, Issue 4, 2019. P. 22-26.
198. Солтис М. П., Гунчак В. М., Рудик Г.В., Васів Р. О. Динаміка морфологічних і біохімічних показників у крові білих мишей за дії препарату «Вітосепт». Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З.Гжицького. Серія: Ветеринарні науки, 2020. Т. 22, №99. С. 167-172.
199. Soltys M.P , Gunchak V.M , Rudyk G.V , Gutiy B.V , Brezvin O.M , Vasiv R.O. **To assess the biocidal action of the drug based on sodium hypochlorite.** Colloguim journal №30 (82), 2020 (Warszawa, Polska). P. 11-17.
200. Солтис М.П. Ефективність препарату «Вітосепт» за передінкубаційної обробки яєць. Науково-технічний бюлетень ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин. Львів, 2019. Вип. 20, №2. С. 324-330.
201. Гаврилюк О. І. Конкуренція на вітчизняному ринку ветеринарних препаратів. Актуальні проблеми економіки. 2005. №8. С. 46-55.

202. Бушуєва І.В. Передумови та формування концепції економічного розвитку галузі ветеринарної фармації в Україні. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2013. №2 (12). С. 70-73.
203. Калинюк Т. Г., Макогонська О.О., Коцюмбас І.Я. Ветеринарна фармація на сучасному етапі. Вісник фармації, 1999. Т.2, №20. С.170-172.
204. Сидоренко С.В. Механизмы резистентности микроорганизмов. Практ. руководство по антиинфекционной химиотерапии. 2007. №2. С. 19-60.
205. Гаврилова И.А., Титов Л.П. Результаты исследования устойчивости к дезинфектантам различных химических групп клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*. Санитарный врач. 2015. №7. С.30-35.
206. Gilbert P., McBain A.J. Potential impact of increased use of biocides in consumer products on prevalence of antibiotic resistance. Clin. Microbiol. Rev. 2003. №16. P. 189-208.
207. Пономаренко М.С., Клименко І.В., Білоус М.В. Критерії комплексної оцінки науково обгрунтованого вибору сучасних антисептичних та дезінфекційних засобів на фармацевтичних підприємствах та в медичній практиці [Текст]. Фармацевтичний журнал. 2010. №5. С. 47-51.
208. Солдатенков А.Т., Колядина Н.М., Шендрик И.В. Основы органической химии лекарственных веществ. Изд. 2-е, исп. и доп. М.: Мир, 2003. 192 с.
209. Попков В.А., Дугачева Г.М. Криоскопический метод определения чистоты лекарственных веществ. М.: Медицина, 1999. 168 с.
210. Тихонов О.І., Ярних Т.Г. Сучасний стан і перспективи екстемпорального приготування ліків в умовах аптек. Фармацевтичний журнал. 2004. №5. С.40-46.
211. Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків. За ред. проф. І.М. Перцева. Нова книга: Вінниця. 2007. 728 с.

212. Перцев І.М., Шевченко Л.Д., Чаговець Р.К. Практикум з аптечної технології ліків. Під ред. І.М. Перцева. НФаУ-Золотые страницы: Х., 2003. 288с.
213. Фармацевтична енциклопедія. 2-ге вид. переробл. і доповн. Ред. Черних В.П. Моріон: К., 2016. 1632 с.
214. Жунгиету Г.И., Граник В.Г. Основные принципы конструирования лекарств. Кишинев, 2000. 350 с.
215. Технология изготовления лекарственных форм. Под ред. Э.М. Аванесьянца. Феникс: Ростов на Дону, 2002. 448 с.
216. Горицький В.М., Сметаніна К.І. Сучасний підхід до оптимізації технології олеогелів ранозагоювальної дії. Медична гідрологія та реабілітація, 2012. 10.2. С. 103-106.
217. Державна Фармакопея України. Доповнена 1, 2, 3. РІГЕР, 2001, 2004, 2009. 520 с.
218. European Pharmacopoeia. 5th Ed. Rochville: United States Pharmacopoeial Convention. Inc. 2008. P. 2524.
219. Сметаніна К.І. Основи стандартизації та сертифікації лікарських засобів. Навчальний посібник. Вінниця: Нова книга, 2010. 376 с.
220. Коцюмбас І.Я. Методи визначення нешкідливості засобів захисту тварин та кормових добавок. Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини імені С.З. Гжицького. 1999. Вип. II. С. 82-87.
221. Коцюмбас І.Я. Нешкідливість ветеринарних лікарських засобів (основні методичні підходи). Ветеринарна медицина. Міжвідомчий темат. наук. зб. Харків: ІЕКВМ, 2000. №78 (II). С. 12-14.
222. Безопасность лекарств. Руководство по фармаконадзору. Под. ред. А.П. Викторова, В.И. Мальцева, Ю.Б. Белоусова. К.: МОРИОН, 2007. 240 с.
223. Технічні умови на препарат «Вітосепт». ТУ У 21.2-02070758-001:2020. Брезвин О.М., Гунчак В.М., Солтис М.П., Рудик Г.В., Курилас Л.В.
224. Закон України «Про ветеринарну медицину», 2006.

225. Коцюмбас І.Я., Малик О.Г., Патерега І.П., Тішин О.Л., Смуk В.А. Розробка, апробація та впровадження системи токсикологічного контролю ветеринарних препаратів. Ветеринарна медицина України. 2002. №7 С. 30-33.
226. Стефанова О.В., Мальцева В.И., Ефимцева Т.К. Руководство по клиническим испытаниям лекарственных веществ. К.: Авицена, 2001. 426 с.
227. Ангельські С., Якубовські З., Домінічак М.Г. Клінічна біохімія. Львів.: Наутілус, 1998. 451 с.
228. Кукеc В.Г., Грачев С.В., Сычев Д.А., Раменская Г.В. Метаболизм лекарственных средств. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 304 с.
229. Базарнова М.А., Гетте З.П., Кальнова Л.И. [и др.]. Руководство по клинической лабораторной диагностике. Ч.3. Клиническая биохимия: учебное пособие. Под ред. М.А. Базарновой и В.Т. Морозовой. К.: Вища школа, 1990. 318с.
230. Уланова И.П., Позднякова Г.И. Сравнительная оценка методов определения функции печени в эксперименте. Токсикология новых промышленных химических веществ. М.: Медицина, 1967. Вип. 9. С. 43-50.
231. Хазанов А.И. Функциональные пробы в диагностике заболеваний печени. М.: Медицина, 1968. 404 с.
232. Бонашевская Т.И. Морфологическая характеристика процессов адаптации печени к воздействию некоторых химических веществ. Гигиена и санитария. 1977. №4. С. 45.
233. Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Оникиенко Ф.И. Проблема нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы). М.: Медицина, 1991. 208 с.
234. Мартинишин В.П. Фармако-токсикологічна характеристика та лікувальна ефективність препарату на основі S-похідної 1,2,4-тріазолу за дерматомікозів у собак. Дисертація на здобуття науково-освітнього ступеня доктора філософії, 211 – ветеринарна медицина, Львів, 2020. 183 с.

234. Уланова И.П., Позднякова Г.И. Сравнительная оценка методов определения функции печени в эксперименте. Токсикология новых промышленных химических веществ. М.: Медицина, 1967. Вып. 9. С.43-50.

ДОДАТКИ

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних

1. **Солтис М.П.**, Гунчак В.М. До вивчення токсикологічних параметрів препарату «Вітосепт» за умов гострої токсичності. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З.Гжицького, 2018. Т.20, №88. С.115-119. doi:10.32718/nvlvet8821. *(Дисертантка виконала експериментальні дослідження, проаналізувала отримані результати, підготувала статтю до друку).*

2. **Солтис М.П.** Морфологічні та біохімічні показники крові щурів за довготривалої дії препарату «Вітосепт». Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З.Гжицького. Серія: Ветеринарні науки, 2019. Т.21. №94. С. 109-114. doi:10.32718/nvlvet9420.

3. **Soltys M. P.**, Rudyk H. V., Gunchak V. M., Gutyi B. V. Embryotoxic and teratogenic effects of Vitosept on white rats. Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety. Volume 5, Issue 4, 2019. P. 22-26. doi 10.36016/JVMBBS-2019-5-4-6. *(Дисертантка виконала експериментальні дослідження, провела статистичну обробку отриманих результатів, підготувала статтю до друку).*

4. **Солтис М. П.**, Гунчак В. М., Рудик Г.В., Васів Р. О. Динаміка морфологічних і біохімічних показників у крові білих мишей за дії препарату «Вітосепт». Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З.Гжицького. Серія: Ветеринарні науки, 2020. Т. 22, №99. С. 167-172. doi:10.32718/nvlvet9925.

Статті у наукових фахових виданнях України, включених до переліку ВАК України

5. **Солтис М.П.** Ефективність препарату «Вітосепт» за передінкубаційної обробки яєць. Науково-технічний бюлетень ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин. Львів, 2019. Вип. 20, №2. С. 324-330. doi:10.36359/scivp.2019-20-2.42.

Статті у періодичних наукових виданнях держав Європейського Союзу.

6. **Soltys M.P** , Gunchak V.M , Rudyk G.V, Gutiy B.V , Brezvin O.M , Vasiv R.O. To assess the biocidal action of the drug based on sodium hypochlorite. Colloguium journal №30 (82), 2020 (Warszawa, Polska). P. 11-17. *(Дисертантка виконала експериментальну частину роботи, провела обробку та аналіз цифрових даних, підготувала статтю до друку).*

Патент України на корисну модель

7. Гунчак В.М., **Солтис М.П.**, Гутий Б.В. (Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького). Спосіб передінкубаційної обробки яєць. Патент України на корисну модель №144831; опубл. 26.10. 2020, бюл. №20. *(Дисертантка провела дослідження, отримала нові дані та брала участь в оформленні документів на патент).*

Технічні умови на препарат

8. Технічні умови на препарат «Вітосепт» ТУ У 21.2-02070758-001:2020. Брезвин О.М., Гунчак В.М., **Солтис М.П.**, Рудик Г.В., Курилас Л.В. *(Дисертантка виконала експериментальну частину роботи та брала участь у розробці технічних умов).*

АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

1. Конференція «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактики у ветеринарній медицині» (Львів, 29-30 жовтня 2018 р.);

2.VII-а Міжнародна науково-практична конференція «Ветеринарні препарати: розробка, контроль якості та застосування» (ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок, Львів, 4-6 жовтня 2017 р.);

3.VIII-а Міжнародна науково-практична конференція «Ветеринарні препарати: розробка, контроль якості та застосування» (ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок, Львів, і 1-4 жовтня 2019р.);

4. Міжнародна наукова конференція «Львівсько-Вроцлавська ветеринарна школа» (м. Львів, 14-15 листопада 2019 р.)

«Затверджую»

Перший проректор Львівського національного
університету ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С.З. Гжицького



доцент І.Б. Турко

10 лютого 2021 р.

Картка впровадження

Про впровадження результатів дисертаційної роботи аспірантки (денна форма навчання) кафедри фармакології та токсикології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького Солтис Марії Петрівни на тему: «Фармако-токсикологічна характеристика та антибактеріальна дія препарату на основі гіпохлориту натрію».

Дисертанткою відповідно до вимог проведено доклінічні дослідження (лабораторні щури, білі миші) і клінічні випробування препарату «Вітосепт» (собаки). З'ясовано параметри його токсичності (гостра, підгостра, хронічна), фармакологічні властивості (шкірно-резорбтивна, алергенна дія, бактерицидність, фунгіцидність і спороцидність) та антисептичну ефективність за лікування інфікованих ран у собак. Встановлено біоцидну дію гіпохлоритвмісного препарату за передінкубаційної обробки яєць курей.

За результатами досліджень розроблено ефективну схему лікування собак із ранами різної етіології, оформлено один деклараційний патент України на копісну модель та технічні умови на новостворений препарат «Вітосепт».

Проведені дослідження відображають основні положення дисертаційної роботи та можуть бути використані в наукових дослідженнях і навчальному процесі за вивчення дисциплін: «Ветеринарна фармакологія», «Хірургія», «Мікробіологія» тощо.

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри фармакології та токсикології (протокол №1 від 10 лютого 2021 р.).

Завідувач кафедри, професор


В.М. Гунчак

«Затверджую»

Проректор з науково-педагогічної

та навчальної роботи, професор

Жмайлов В.М.



23 лютого 2021 р.

Акт впровадження.

Даним актом стверджую, що результати дисертаційної роботи Солтис Марії Петрівни на тему: «Фармако-токсикологічна та антибактеріальна дія препарату на основі гіпохлориту натрію», що подана на здобуття освітньо-наукового ступеня «доктор філософії» з напрямку 21 – Ветеринарна медицина, спеціальності 211 – Ветеринарна медицина впроваджено у навчальний процес при викладанні дисципліни «Ветеринарна фармакологія».

Дані щодо застосування антисептичного препарату «Вітосепт» за лікування собак з ранами різної етіології та можливе застосування цього гіпохлоритвмісного дезінфікуючого засобу за передінкубаційної обробки яєць курей будуть використані при підготовці здобувачів вищої освіти за ступенем «Магістр», спеціальності «Ветеринарна медицина» у Сумському національному аграрному університеті МОН України.

Розглянуто, схвалено та затверджено на засіданні кафедри терапії, фармакології, клінічної діагностики та хімії (протокол № 10 від 23 лютого 2021 р.).

**Зав. кафедри терапії, фармакології,
клінічної діагностики та хімії,
доктор ветеринарних наук, професор**

Л.Г. Улько

ФОП Льо́да М.І.
Ветеринарна амбулаторія «Ветдок»
м. Львів, Львівська обл.
вул. Шевченка 80-Б

Акт

проведення випробувань з вивчення лікувальної ефективності
препарату «Вітосепт» за лікування собак з інфікованими ранами.

Нами, лікарями ветеринарної амбулаторії «Ветдок» (м. Львів, вул. Шевченка 80-Б) Льо́да Михайлом Івановичем, Коцовським Романом Дем'яновичем, Солтис Марією Петрівною впродовж червня-грудня 2020 року було проведено дослідження щодо з'ясування протимікробної дії антисептичного засобу «Вітосепт» у собак за лікування в них інфікованих ран різного генезису. Встановлено, що за запропонованої схеми лікування рваних, різаних, кусаних і комбінованих ран, а саме промивання їх гіпохлоритвмісним препаратом «Вітосепт» та за накладання 8-10 шарової бинтової пов'язки, змоченої ним впродовж 2-3 діб забезпечує ефективну протимікробну та раноочишувальну дію, сприяє розвитку в ранах грануляційної тканини та її епітилізації. Повне загоєння різаних ран на тлі дії Вітосепту, стає на 17 ± 1 , рваних – $18 \pm 0,9$, комбінованих – на 19 ± 1 доби.

Висновок. Досліджуваний антисептичний засіб «Вітосепт» може бути використаний в якості основного препарату за лікування собак з наявними в них інфікованими ранами.

Льо́да М.І.

Коцовський Р.Д.

Солтис М.П.



19 грудня 2020 року

ФОП «Маслиган А.Г.»
Приватний ветеринарний кабінет
м. Миколаїв, Львівської обл.
вул. Д. Галицького, 1

Акт
на проведення перевірки лікувальної ефективності
гіпохлоритвмісного препарату «Вітосепт»

Нами, лікарями ветеринарної медицини Мартинишиним Володимиром Петровичом, Заставнюк-Ястремською Ганною Федорівною та Яж Марією Ярославівною з метою виробничої перевірки апробовано антисептичну дію новоствореного препарату на основі натрію гіпохлориту. Вітосепт використано в якості основного засобу за лікування собак з інфікованими ранами.

Для дослідження в період з 1 липня по 31 грудня 2020 року в клініці було підібрано 20 собак з ранами різної етіології (рвані, різані, кусані, комбіновані).

Аналіз ефективності препарату «Вітосепт» проводили за оцінкою загоєння інфікованих ран у собак.

Висновок. Встановлено, що препарат «Вітосепт» за лікування собак з інфікованими ранами забезпечує ефективну протимікробну та раноочищувальну дію, сприяє розвитку в рані грануляційної тканини та її епітелізації. Повне одужання тварин настає на 15-21 доби.

Мартинишин В.П.
Заставнюк-Ястремська Г.Ф.
Яж М.Я.

26.12.2020 р.

