

ВИЗНАЧЕННЯ ТОКСИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПРЕПАРАТУ «КОМБІЙОД»

Фотіна Тетяна Іванівна

доктор ветеринарних наук, професор
Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна
ORCID: 0000-0001-5079-2390
tif_ua@meta.ua

Вареник Людмила Володимирівна

аспірантка
Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна
ORCID: 0000-0002-7675-7216
lydmyla19@ukr.net

Боротьба зі стійкістю до антибіотиків сьогодні є світовим пріоритетом. Стійкість до антибіотиків значною мірою пов'язана з надмірним використанням антибіотиків і недостатньою обізнаністю про проблему. Стійкість до антибіотиків становить величезну загрозу людству. Враховуючи широке використання антибіотиків у сільському господарстві, є потреба у впровадженні та використанні екологічно-безпечних антимікробних засобів. Метою цього експерименту було дослідити токсичності препарату «Комбійод», як альтернативного антимікробного препарату. Метою роботи було дослідити гостру токсичність та нешкідливість препарату «Комбійод». Матеріали експерименту – розчин червоно-коричневого кольору зі слабким запахом йоду, 1 мл препарату містить: повідон-йод – 200 мг, натрію селеніт – 1,2 мг. Досліди проводили в умовах сертифікованого віварію Регіонального центру РЦ «ЕКОМЕДХІМ» Сумського державного університету та Сумського національного аграрного університету. Усі експериментальні дослідження на лабораторних тваринах виконувались відповідно до директиви 2010/63/ЄС. Параметри гострої токсичності при одноразовому введенні досліджували на 40 білих мишах масою 19,0 – 20,3 г та 40 білих щурах масою 185 – 205 г. Встановлення параметрів токсичності при тривалому пероральному введенні проводили на 18 щурах вагою $190 \pm 5,0$ г поділених рівнозначно на 3 групи, які підбиралися за принципом попередніх груп. За допомогою співвідношення масових коефіцієнтів нутроцив до маси тіла забитих щурів дослідної та контрольної груп встановлювали вплив препарату на стан внутрішніх органів. Визначення шкірно-резорбтивної дії проводили на білих мишах масою тіла 21-24 г. Місцеву подразнюючу дію визначали методом нашкірних аппликацій на 10 кролях масою тіла $2,75 \pm 0,25$ кг. Для дослідження шкідливої дії на слизову оболонку очей методом кон'юнктивальної проби було використано 6 дослідних груп кролів по 3 тварини в кожній. При пероральному введенні препарату «Комбійод» в дозах 4,024; 50; 100; 500; 1500; 2500 та 5000 мг/кг маси тіла змін в клінічному стані піддослідних тварин та загибелі не виникало. При тривалому пероральному введенні препарату протягом 30 днів в дозах 4,024 мг/кг та 2500 мг/кг маси тіла змін в клінічному статусі та поведінкових реакціях щурів не відмічалось. Негативного впливу на систему кровотворення препарат не чинить. Робочий розчин препарату у концентрації 0,002% не викликає алергічних реакцій. За результатами експерименту встановлено, що даний препарат відповідно до Міжнародного стандарту ГОСТ 12.1.007-76 можна віднести до IV класу токсичності (малотоксичні речовини), а за Міжнародною глобальною класифікацією Global Harmonized System, (GHS) до категорії 5.

Перспективою подальших досліджень у цьому напрямку є визначення дії препарату «Комбійод» на якість та безпеку продуктів птахівництва.

Key words: препарат «Комбійод», екологічно-безпечний препарат, токсичність, небезпечні сполуки, лабораторні тварини, повідон-йод, антибіотикорезистентність.

DOI <https://doi.org/10.32782/bsnau.vet.2023.4.19>

Вступ. Поява стійкості до антимікробних препаратів у мікроорганізмів є природним явищем, але резистентність до антимікробних препаратів була зумовлена безконтрольним використанням антимікробних препаратів у сфері охорони здоров'я, сільського господарства та навколишнього середовища (Larsson *et al.*, 2022). Для боротьби із загрозою для здоров'я людини та біозахисту від резистентності до антимікробних препаратів потрібне розуміння її механізмів і рушійних сил. На подальшу передачу впливають стандарти інфекційного контролю, санітарії, доступу до чистої води, доступу до антимікробних препаратів і діагностики гарантованої якості. Паралельно з відкриттям нових ліків необхідні широкі міждисциплінарні дослідження на цих п'яти рівнях, пов'язані

між секторами охорони здоров'я, сільського господарства та навколишнього середовища. Для забезпечення постійного всесвітнього доступу до ефективних протимікробних препаратів потрібні розумні комплексні підходи з урахуванням потенційних небажаних результатів (Bengtsson-Palme *et al.*, 2018).

Більшість класів протимікробних препаратів, які використовуються для лікування бактеріальних інфекцій у людей, також використовуються у тваринництві. Враховуючи важливі та взаємозалежні аспекти резистентності до антимікробних препаратів для людей, тварин і навколишнього середовища, логічно використовувати наступні підходи: вживати заходи для збереження постійної ефективності існуючих протимікробних препаратів шляхом

усунення їх неналежного використання та обмеження поширення інфекції (Karkman *et al.*, 2019; Khare *et al.*, 2021). Основними проблемами в секторах охорони здоров'я тварин і сільського господарства є масове лікування тварин протимікробними препаратами, які є критично важливими для людини, такими як цефалоспорини третього покоління та фторхінолони, а також довгострокове використання в кормах важливих з медичної точки зору протимікробних препаратів, таких як колістин, тетрацикліни та макроліди для стимуляції росту. Людям важливо запобігти інфекціям, скоротити надмірне призначення протимікробних препаратів, покращити санітарні умови, покращити гігієнічні умови та контроль за інфекціями. Забруднення від неадекватної обробки промислових, побутових і сільськогосподарських відходів розширює кількість резистом у навколишньому середовищі (Bigliardi *et al.*, 2017).

Необхідні дії включають удосконалення регулювання та політики використання антимікробних препаратів, нагляду, управління, інфекційного контролю, санітарії, тваринництва та альтернативи протимікробним препаратам. Нещодавно ВООЗ опублікувала нові рекомендації щодо використання важливих з медичної точки зору протимікробних препаратів у тварин, які вирощують харчові продукти, рекомендуючи фермерам і харчовій промисловості припинити регулярне використання антимікробних препаратів для стимулювання росту та запобігання захворюванням у здорових тварин. Ці рекомендації спрямовані на те, щоб допомогти зберегти ефективність протимікробних препаратів, важливих для гуманної медицини, шляхом зменшення їх використання в тваринництві (Alam *et al.*, 2016)

Саме тому важливою є розробка та використання, нових, екологічно безпечних препаратів, які чинять антибактеріальну дію, проте не викликають резистентності. Одним із таких препаратів є «Комбійод».

До складу препарату «Комбійод» входить повідон-йод – комплекс йоду з полівінілпіролідом, який справляє бактерицидну дію на грампозитивних та грамнегативних бактерій, а також має віруліцидну, фунгіцидну, спорицидну, антипротозойну дію. Широкий спектр активності повідон-йоду, здатність проникати через біоплівки, відсутність відповідної резистентності, протизапальні властивості, низька цитотоксичність і хороша переносимість були названі важливими факторами, і в клінічній практиці не спостерігалось негативного впливу.

Наступним компонентом препарату є натрій селеніт, дослідження показують, що селеніт натрію демонструє сильний спектр активності проти *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* та *Klebsiella planticola* та ін.

Селеніт натрію є елементом, який, як повідомляється, має антиоксидантні властивості, а також потенційну протиракову активність (Thirunavukkarasu *et al.*, 2008). Селеніт натрію також відомий як динатрієва сіль селенистої кислоти, яка є безбарвною та водорозчинною твердою неорганічною сполукою, яка в основному використовується у виробництві безбарвного скла (Yang *et al.*, 2009). Селен був вперше визначений як важливий мікроелемент у ссавців у 1997 році, і було відомо, що він

необхідний для різноманітних функціональних Se-залежних білків (селенопротеїнів) у більшості живих організмів (Hesketh, 2008). Селен діє як доповнення для ферменту глутатіонпероксидази, який бере участь у нормальній проникності клітинних мембран, видаляючи H_2O_2 і запобігаючи виробленню пероксидів ліпідів (Flohe, *et al.*, 1973). Деякі сполуки селену мають каталітичні властивості, утворюючи активні форми кисню (АФК) через взаємодію з тіолами, такими як відновлений глутатіон, утворюючи аніон селеніду глутатіону, GSSe (Spallholz, 1994). АФК, включаючи супероксидний радикал, перекис водню та гідроксидний радикал, викликають клітинні пошкодження, такі як окислення ДНК, перекисне окислення ліпідів і окислення білка (Hora, *et al.*, 2020). Парадокс селену (Se) полягає в тому, що він одночасно необхідний і токсичний для живого організму. Чутливість і токсичність селену у хребетних викликають значний науковий інтерес до цього елемента. Таким чином, повідомляється про антибактеріальні властивості селеніту натрію проти вибраних грампозитивних і грамнегативних патогенних бактерій людини (Matsuzaki *et al.*, 2021).

У зв'язку з економічною кризою в Україні та розвитком антибіотикорезистентності є потреба у виробництві власних економічно обґрунтованих препаратів, які в свою чергу будуть ефективними та безпечними при використанні в присутності людей та тварин.

Мета роботи: дослідити токсичність препарату «Комбійод» та його нешкідливість.

Завдання дослідження: визначення гострої токсичності препарату «Комбійод» при пероральному введенні; дослідження гострої токсичності при тривалому пероральному введенні; визначення шкірно-резорбтивної та місцево-подразнюючої дії препарату «Комбійод».

Матеріали і методи досліджень.

Для визначення безпечності антимікробного препарату «Комбійод» проводили дослідження на трьох різних видах лабораторних тварин. Експеримент проводили в чотири етапи: визначали гостру токсичність при *reg os* надходженні та довготривалому пероральному введенні. Наступним етапом було вивчення шкірно – резорбтивної та місцевої подразнюючої дії.

По завершенню експерименту була виконана інтерпретація та порівняльний аналіз отриманих даних.

Матеріали для дослідження – розчин червоно-коричневого кольору зі слабким запахом йоду, 1 мл препарату містить: повідон-йод – 200 мг, натрію селеніт – 1,2 мг.

Важливою характеристикою антибактеріального засобу є його широка антимікробна дія та безпека при застосуванні в присутності людей і тварин.

Досліди проводили в умовах сертифікованого віварію Регіонального центру РЦ «ЕКОМЕДХІМ» Сумського державного університету та Сумського національного аграрного університету. Усі експериментальні дослідження на лабораторних тваринах виконувались відповідно до директиви 2010/63/ЄС (Wang *et al.*, 2021) зі змінами, внесеними Регламентом (ЄС) 2019/1010 та затверджені висновком комісії з питань етики та біоетики факультету ветеринарної медицини Сумського національного аграрного університету від 21.12.2021 року.

Визначення гострої токсичності препарату «Комбійод» при введенні per os.

Для дослідження гострої токсичності препарату «Комбійод» було сформовано 8 груп по 5 особин, різної статі, білих мишей, самки віргільні та невагітні масою 19,0 – 20,3 г та 8 груп по 5 особин, різної статі, білих щурів масою 185 – 205 г. Дослідні тварини утримувалися відповідно до санітарних норм і правил щодо утримання на віварії Регіонального центру з використанням спеціалізованих комбикормів.

Перед проведенням досліджень протягом 5 днів дослідні тварини пройшли акліматизацію. Безпосередньо перед початком дослідів тварин не годували: щурів – протягом ночі, білих мишей за 4 години до дослідів – відміна корму, тварин зважували. Антимікробний препарат «Комбійод» перед введенням per os розводили у питній воді рН якої 7,0 у пропорції 0,2 мл на 1 літр води (що відповідно до інструкції, дорівнює дозуванню 0,02 мл препарату на 1 кг маси тіла), розмішували ретельно та швидко вводили за допомогою зонду з канюлею із розрахунку (в перерахунку на його сухий залишок) 4,024; 50; 100; 500; 1500; 2500 та 5000 мг/кг маси тіла, контрольній групі вводили питну воду тим же шляхом що і дослідній.

При виборі дози під час вивчення гострої токсичності за умов перорального введення граничним стало введення максимальної дози IV класу токсичності – 5000 мг/кг.

Годування дослідних тварин було здійснено через 3 години після введення досліджуваного препарату. Зазначені дози вводили 5 білим мишам та п'ятьом щурам.

Спостереження за дослідними тваринами вели впродовж 14 діб після введення досліджуваного препарату. Щодня при спостереженні за дослідними тваринами здійснювалася реєстрація інтегральних показників, а саме: загальний стан дослідних тварин, реакція а зовнішні подразники, поведінкові реакції, стан шкіри та видимих слизових оболонок, температура тіла, серцевий ритм та частоту дихання.

Визначення токсичності препарату «Комбійод» при тривалому per os введенні. Визначення токсичності препарату при пероральному тривалому введенні проводили з використанням трьох груп білих щурів, відібраних за аналогічним принципом, по 6 щурів у кожній групі, вагою $190 \pm 5,0$ г, яких утримували у тих самих умовах, що й під час визначення гострої токсичності препарату. Перед пероральним введенням препарат розчиняли у воді в пропорції 0,2 мл на 1 літр води і вводили перорально щурам дослідної групи в дозі 4,024 мг/кг та 2500 мг/кг маси тіла щодня протягом 30 днів. Щурам третьої групи (контрольної) перорально давали рівну кількість повідон йоду розведеного у воді у кількості 4 мг/кг маси тіла.

Протягом усього експерименту стежили за загальним станом щурів, поведінкою, кількістю споживаного тваринами корму та води. Індекс маси тіла щурів реєстрували перед початком дослідів, а також на 10 і 31 добу після початку експерименту.

Через добу після останнього введення препарату у щурів відбирали кров з метою визначити гематологічні показники, а також досліджували стан внутрішніх органів піддослідних тварин (шлунок, кишечник, печінка, легені, нирки, серце, селезінка). Дію досліджуваного препарату на стан внутрішніх органів оцінювали шляхом порівняння їх відносних масових коефіцієнтів (Wang *et al.*, 2020).

Визначення шкірно-резорбтивної та місцевої подразнюючої дії препарату «Комбійод». Ефект дермального всмоктування досліджуваного препарату досліджували на білих нелінійних мишах масою тіла 21-24 г. Піддослідних, клінічно здорових тварин перед проведенням експерименту утримували 14 діб в ізоляції в клініці факультету ветеринарної медицини в умовах віварію. По завершенню карантинування мишей було розділено на дві групи: експериментальну та контрольну по 6 тварин у кожній. Дві третини хвостів мишей дослідної групи обробляли 0,002 % розчином препарату, а контрольної групи фізіологічним розчином. Експозиція тривала 2 години, щодня, протягом 5 діб. Наприкінці експерименту проводили оцінку здатності препарату проникати через шкіру. Враховували клінічну картину отруєння мишей та дію препарату на центральну нервову систему. Окрім того було використано метод «плавання» для оцінки продуктивності мишей. Фіксували час, протягом якого тварина змогла протриматися на поверхні води (Gavaric *et al.*, 2015).

Методом нашкірної аплікації визначали місцеву подразнюючу дію препарату на 10 кроликах масою тіла $2,75 \pm 0,25$ кг, що дозволило встановити початок розвитку неалергічного контактного дерматиту в залежності від дозування досліджуваного препарату. За дві доби до початку експерименту на спині піддослідних тварин симетрично було вистрижено волоссяний покрив розміром 7x8 см з обох боків від хребта, залишивши ділянки шириною 2 см посередині. Зліва наносили 0,002% розчин препарату «Комбійод» з розрахунку 0,02 мл на 1 кг маси тіла, а на правий бік фізіологічний розчин в такій же кількості. З метою запобігання злизування тваринами нанесених розчинів впродовж 4 годин експозиції кролям одягали ветеринарні комірці. По завершенню експерименту препарат змивали водою. Перший тест було проведено через 10 діб за шкалою оцінки шкірних проб. Зміни у функціональному стані шкіри запального характеру (набряк та еритема) встановлювали за умов природнього або наближеного до нього штучного освітлення відповідно через 1, 24, 48 та 72 години після закінчення витримки препарату згідно з класифікацією A. Mayda і K. Chrusaielska наведеною в таблиці 1 (Myszka *et al.*, 2016).

В разі отримання негативного результату – експеримент продовжували і кількість аплікацій доводили до 20. Функціональний стан шкіри в ділянці аплікацій оцінювали в бальній системі для кожної тварини, враховуючи еритему та набряк з певним інтервалом часу підсумовували та ділили на загальну суму спостережень. Визначений загальний індекс подразнення зіставляли із показниками наведеними в таблиці 2, та відповідно фіксували отримані результати у звіт (Ferreira *et al.*, 2017).

**Оцінка шкідливої дії нових речовин на шкіру кролів відповідно до бальної системи
(за Majda і Chrusaielska) за 8-бальною системою**

Реакція	Оцінка, бал
Еритема:	
відсутня	0
слабка (ледь помітна)	1
помірно виражена	2
виражена	3
різко виражена (темно-червона) з утворенням струпа	4
Набряк:	
відсутній	0
слабкий (злегка помітний)	1
помірний (виступає над поверхнею шкіри не більше ніж на 1 мм)	2
виражений (виступає над поверхнею шкіри і має чіткі межі)	3
різко виражений (виступає над поверхнею шкіри більш ніж на 1 мм)	4
Максимально можлива кількість балів	8

Таблиця 2

Ступінь відповідної реакції на подразнення у кролів

Відповідна реакція	Кількість балів
Незначна	від 0 до 0,4
Слаба	від 0,5 до 1,9
Помірна	від 2,0 до 4,9
Виражена	від 5,0 до 8,0

Для визначення шкідливої дії препарату на слизову оболонку очей у кролів було сформовано 6 дослідних груп по 3 тварини в кожній. Перед початком експерименту тварини пройшли 14-денне карантинування та огляд очей на відсутність ушкоджень. Дослідним групам тварин вводили в кон'юнктивальний мішок правого ока по дві краплі розчину препарату «Комбійод» в концентрації: 0,002%, 0,05%, 0,1%, 0,5%, 1,0%, 3%, після введення на 30 секунд притискали носослізний канал, з метою запобігання витікання розчину. Ліве око слугувало контрольним, в нього вводили дистильовану воду в аналогічних об'ємах (Benhalima *et al.*, 2019).

Візуальну оцінку стану слизової ока та кон'юнктиви, а саме прояви подразнень (гіперемія, набряк, наявність виділень) та ступінь їх вираженості проводили через 1, 24,48,72 години та до 14 діб після внесення розчину препарату відповідно до бальної системи наведеної у таблиці 3.

Результати та обговорення

Результати визначення гострої токсичності препарату «Комбійод» при введенні per os.

Неправильне, надмірне використання лікарських засобів може призвести до негативних наслідків та становить потенційну загрозу для людей та тварин. Хімічні агенти, що використовуються як висококонцентровані, аерозольні або розпилені засоби, можна легко вдихнути або поглинути шкірою. Підвищена частота застосування і тривалість дії засобів може спричинити шкідливий вплив на здоров'я людей і тварин. Надмірне використання лікарських засобів може призвести до їх збагачення, біоаккумуляції та біозбільшення, що призведе до токсичності, мутацій, поширення генів стійко-

сті до антибіотиків і появи стійких до антибіотиків бактерій. Отримані результати експерименту вказують на те, що за умови одноразового перорального введення препарату «Комбійод» у відповідних дозах (зазначені в таблиці 4) токсичного впливу на організм дослідних тварин не спричиняє.

В результаті експерименту встановили, що введення препарату «Комбійод» в дозах 4,024; 50; 100; 500; 1500; 2500 та 5000 мг/кг маси тіла змін в клінічному стані піддослідних тварин не викликало. Інтосикації та загибель тварин – відсутні, що вказує на низьку токсичність препарату, тому обчислення середньосмертельної дози (ЛД₅₀) досліджуваного препарату не проводили.

Таким чином, з вищенаведених даних, робимо висновок, що максимальна доза препарату при одноразовому введенні per os (ЛД₀) є більшою за 5000 мг/кг маси тіла, а середньосмертельна доза (ЛД₅₀) перевищує 5000 мг/кг маси тіла. Отже, відповідно до Міжнародного стандарту ГОСТ 12.1.007-76 препарат «Комбійод» відноситься до IV класу токсичності (малотоксичні речовини).

Результати визначення токсичності препарату «Комбійод» при тривалому per os введенні.

При тривалому пероральному введенні препарату протягом 30 діб в дозах 4,024 мг/кг та 2500 мг/кг маси тіла змін в клінічному статусі та поведінці щурів не спостерігалось. Побічних або небажаних ефектів препарату не засвідчено. Піддослідні тварини адекватно реагували на звукові та тактильні подразники, охоче споживали корм та воду, активність та рухливість не змінилася. Також, при контролях на 10 та 30-ту добу змін (росту та відносного збільшення) маси тіла щурів відповідно до маси щурів з контрольної групи (Таблиця 5).

Оцінка шкідливої дії нових речовин на слизові оболонки очей кролів

Гіперемія кон'юнктиви та рогівки	
1. Судини ін'єковані	1 бал
2. Окремі судини погано видно	2 бали
3. Дифузне глибоке почервоніння	3 бали
Набряк повік	
1. Слабкий набряк	1 бал
2. Виражений набряк з частковим виверненням повік	2 бали
3. У результаті набряку око закрите наполовину	3 бали
4. У результаті набряку око закрите більше, ніж наполовину	4 бали
Виділення	
1. Мінімальна кількість виділень в кутику ока	1 бал
2. Кількість виділень зволожує повіки	2 бали
3. Кількість виділень зволожує повіки та шкіру навколо	3 бали

Таблиця 4

Результати визначення гострої токсичності препарату «Комбійод»

Доза введеного препарату, мг/кг маси тіла	Загибель тварин (загинуло / загальна кількість в досліді)	
	Білі миші	Білі щури
0(Контрольна група)	0/5	0/5
4,025	0/5	0/5
50	0/5	0/5
100	0/5	0/5
500	0/5	0/5
1500	0/5	0/5
2500	0/5	0/5
5000	0/5	0/5

Таблиця 5

Зміни маси тіла щурів при тривалому пероральному введенні препарату «Комбійод»

Група тварин та дозування	Термін експерименту		
	до початку введення, г	10 доба експерименту, г	30 доба експерименту, г
Контрольна група	187,81±2,31	223,80±4,31	288,89±3,46
Отримували препарат per os в дозі 4,024 мг/кг	190,01±1,10	224,30±2,92	289,01±3,23
Отримували препарат per os в дозі 2500 мг/кг	189,10±1,86	225,10±2,37	288,92±2,87

Явних патологічних змін у внутрішніх органах і тканинах щурів дослідної групи не виявлено. Крім того, не було зафіксовано істотних змін при порівнянні відносних масових коефіцієнтів внутрішніх органів дослідних і контрольних щурів (таблиця 6).

При аналізі гематологічних показників відповідно до таблиці 7 можна стверджувати що препарат у встановлених дозах не чинить негативного впливу на червоні та білі клітини крові. Значної різниці у показниках в порівнянні з контрольною групою тварин не спостерігається та відповідає їх фізіологічній нормі що свідчить про відсутність токсичної дії препарату.

Отже, за результатами даного експерименту можна зробити висновок що тривале пероральне введення препарату «Комбійод» у дозі 4,024 мг/кг

та 2500 мг/кг маси тіла не чинить негативний вплив на організм білих щурів за тими параметрами які досліджувалися.

Результати визначення шкірно-резорбтивної та місцевої подразнюючої дії препарату «Комбійод».

При занурюванні хвостів мишей у 0,002 % робочий розчин спостерігається незначне скошлатення, що можна пов'язати зі стресом, який відчували тварини одразу після контакту, проте протягом 30 хвилин дана ознака зникала. При проведенні щоденного огляду візуальних змін шкірного покриву не встановлено. Загибелі або проявів токсичних явищ не фіксувалося. Даний висновок зроблено на підставі огляду тварин та визначених параметрів наведених в таблиці 8.

Співвідношення масових коефіцієнтів внутрішніх органів до маси тіла забитих щурів дослідної та контрольної груп через 30 діб з початку введення препарату «Комбійод»

Нутроці	Група тварин та дозування		
	контрольна група	щурі що отримували препарат per os в дозі 4,024 мг/кг	щурі що отримували препарат per os в дозі 2500 мг/кг
печінка	5,33±0,70	5,21±0,11	5,22±0,08
нирка права	0,81±0,04	0,78±0,12	0,78±0,11
нирка ліва	0,79±0,08	0,78±0,09	0,77±0,07
селезінка	0,55±0,26	0,58±0,12	0,57±0,12
серце	0,43±0,05	0,42±0,08	0,42±0,05
легені	0,99±0,14	0,97±0,14	0,98±0,12

Таблиця 7

Морфологічні показники крові білих щурів на 30 добу після введення препарату «Комбійод»

Показники	Групи тварин та дозування			Референтні значення	
	щурі отримували препарат в дозі 4,024 мг/кг	щурі отримували препарат в дозі 2500 мг/кг	контрольна група		
Гемоглобін, г/л	115,20±6,03	123,18±6,15	121,11±7,56	108,5-133,0	
Еритроцити, Т/л	7,04±0,72	7,06±0,67	7,06±0,74	6,50-8,25	
Тромбоцити, 10 ⁹ /л	540,6±15,8	535,7±18,1	533,6±16,3	520,0-590,0	
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	8,45±0,98	8,44±0,96	8,50±0,76	8,6-12,0	
Лейкоцитарна формула, %	Нейтрофіли	28,00±2,58	27,05±2,43	27,30±1,68	25,00-35,00
	Моноцити	1,21±0,33	1,10±0,32	1,20±0,20	1,00-5,00
	Еозинофіли	0,47±0,21	0,51±0,18	0,51±0,14	0,30-0,50
	Лімфоцити	73,50±1,66	73,57±2,33	74,50±3,01	71,00-77,00

Таблиця 8

Дані стану піддослідних тварин після аплікації на шкіру хвоста 0,002% розчину препарату

Параметри		Група	
		контрольна	дослідна
Маса тіла, г	до дії	20,10±0,72	21,0±0,12
	після дії	21,40±0,82	21,1±0,93
СПП, ум. один.		4,41±0,43	4,51±0,31
Кров	Гемоглобін, г/л	8,40±0,60	9,10±0,89
	Лейкоцити, 10 ⁹ /л	8,71±0,39	8,30±0,80
	Еритроцити, 10 ¹² /л	8,92±0,58	8,68±0,46
Працездатність, хв.		28,70±0,75	28,21±0,95

Отримані результати даного експерименту вказують на те, що ризики контактного дерматиту та подразнення слизових оболонок при використанні даного препарату виключені. Отже засіб є безпечним і може застосовуватися в присутності людей та тварин. Поява подібних препаратів на ринку є важливою, адже використання екологічно безпечних засобів має впроваджуватись у виробничі системи, як альтернатива «агресивних» засобів дезінфекції.

Результати експерименту щодо визначення місцевої подразнюючої дії 0,002% розчину препарату «Комбійод» на шкірі кролів наведено в таблиці 9.

Оскільки дані компоненти є природними, то можна стверджувати про екологічну безпечність даного препарату та відповідно його нешкідливу місцеву подразнюючу дію.

Отже при нашкірному нанесенні розчин препарату «Комбійод» не викликав загибелі та появу токсичних явищ, то відповідно до УГС (GHS), він відноситься до 5 категорії.

Таблиця 9

Результати визначення місцевої подразнюючої дії 0,002% розчину препарату «Комбійод» на шкірі кролів

Номер тварини	Маса, кг	К-сть препарату, мл	Індекс сумарного подразника, бал.
1	2,75	2,75	0,30
2	2,81	2,81	0,34
3	2,77	2,77	0,25
4	3,01	3,01	0,27
5	2,99	2,99	0,26
6	2,87	2,87	0,35
7	2,93	2,93	0,34
8	3,01	3,01	0,41
9	2,78	2,78	0,38
10	3,01	3,01	0,41
Середнє в групі	2,81±0,37	2,81±0,37	0,31±0,02

Таблиця 10

Оцінка шкідливої дії препарату «Комбійод» на слизову оболонку очей кролів

Концентрація розчину	№ тварини	Критерій оцінювання	Доба дослідження													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0,002%	1	гіперемія кон'юнктиви і рогівки набряк повік виділення	1 00	0 10	0 00	0 01	0 00	0 00	1 00	0 00	0 10	0 00	0 00	0 01	0 00	
	2	гіперемія кон'юнктиви і рогівки набряк повік виділення	0 00	0 00	0 10	1 00	0 01	0 00	0 00	0 00	0 10	0 00	0 00	1 01	0 00	
	3	гіперемія кон'юнктиви і рогівки набряк повік виділення	0 00	1 10	0 00	0 01	0 00	0 00	0 10	0 00	0 00	1 00	0 00	0 01	0 00	
3%	1	гіперемія кон'юнктиви і рогівки набряк повік виділення	2 11	1 11	2 21	3 22	3 22	2 22	2 32	2 32	2 33	3 43	3 43	2 32	1 22	
	2	гіперемія кон'юнктиви і рогівки набряк повік виділення	2 11	1 11	2 21	2 22	3 22	2 22	2 32	2 32	2 33	2 43	3 33	2 32	1 22	
	3	гіперемія кон'юнктиви і рогівки набряк повік виділення	2 11	1 21	2 21	3 32	3 22	2 22	2 32	2 32	2 33	3 43	3 43	2 32	1 22	

Після введення препарату одразу у піддослідних тварин спостерігались тривожність, кролі розчухували очі, що пояснюється реакцією на введення розчину. Розчин препарату в концентрації 3% викликав ознаки запалення: гіперемію, виділення з очей та набряк повік. Відповідно до результатів наведених в таблиці 10 можна зробити висновок, що дана концентрація препарату чинить шкідливу дію на слизову оболонку ока. Проте досліджуючи дію робочого розчину у концентрації 0,002% при введенні в кон'юнктивальний мішок ока кроля ознаки запалення були відсутні, ефекту подразнюючої дії не спостерігалось.

Обговорення. Препарат «Комбійод» містить в своєму складі повідон-йод та натрію селеніт. PVP-I – це

водорозчинний йодофор (або агент, що вивільняє йод), який складається з комплексу між йодом і полімерним носієм, полівінілпіролідом У водному розчині виникає динамічна рівновага між вільним йодом (I_2), активним бактерицидним агентом, і PVP-I-комплексом. Існує хороша кореляція між концентрацією вільного йоду та мікробіцидною активністю PVP-I. Будучи маленькою молекулою, йод швидко проникає всередину мікроорганізмів і окислює білки, нуклеотиди та жирні кислоти, що зрештою призводить до загибелі клітин. PVP-I має широкий антимікробний спектр з активністю проти грам-позитивних і грамнегативних бактерій, включаючи резистентні до антибіотиків і антисептиків штами, гриби та

найпростіші. Він також активний проти широкого кола вірусів з оболонкою та без оболонки, а також деяких бактеріальних спор із збільшеним часом впливу. Крім того, було доведено, що PVP-I має активність проти зрілих бактеріальних і грибових біоплівки *in vitro* та *ex vivo* (Aiken et al., 2015).

Селеніт натрію є мікроелементом, необхідним для багатьох фізіологічних функцій в організмі. Він бере участь у різних біологічних процесах; він діє як кофактор для антиоксидантних ферментів, які захищають від вільних радикалів, і, як повідомляється, обмежує опосередковане металом окисне пошкодження ДНК.

Висновки. Встановлено що препарат «Комбійод» в дозах 4,024; 50; 100; 500; 1500; 2500 та 5000 мг/кг маси тіла не викликав загибелі піддослідних тварин. Отже середньосмертельна доза (LD_{50}) перевищує 5000 мг/кг маси тіла і даний препарат відповідно до Міжнародного

стандарту ГОСТ 12.1.007-76 можна віднести до IV класу токсичності (малотоксичні речовини), а за Міжнародною глобальною класифікацією Global Harmonized System, (GHS) до категорії 5.

При тривалому пероральному введенні препарату у дозах 4,024 мг/кг та 2500 мг/кг маси тіла впливу на червоні та білі кров'яні тільця або зміни у фізіологічному стані тварин відсутні, що вказує на безпечність даного препарату.

Робочий розчин препарату у концентрації 0,002% не призводить до появи алергічних реакцій, не викликає подразнюючої, дермонекротичної та резорбтивної та не чинить шкідливої дії на шкіру та слизову оболонку ока у лабораторних тварин.

Перспективи досліджень. Визначити дію препарату «Комбійод» на якість та безпечність продукції птахівництва.

Бібліографічні посилання:

1. Larsson, D. G. J., & Flach, C. F. (2022). Antibiotic resistance in the environment. *Nature reviews. Microbiology*, 20(5), 257–269. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>
2. Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., & Larsson, D. G. J. (2018). Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS microbiology reviews*, 42(1), fux053. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux053>
3. Karkman, A., Pärnänen, K., & Larsson, D. G. J. (2019). Fecal pollution can explain antibiotic resistance gene abundances in anthropogenically impacted environments. *Nature communications*, 10(1), 80. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07992-3>
4. Khare, T., Anand, U., Dey, A., Assaraf, Y. G., Chen, Z. S., Liu, Z., & Kumar, V. (2021). Exploring Phytochemicals for Combating Antibiotic Resistance in Microbial Pathogens. *Frontiers in pharmacology*, 12, 720726. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.720726>
5. Bigliardi, P. L., Alsagoff, S. A. L., El-Kafrawi, H. Y., Pyon, J. K., Wa, C. T. C., & Villa, M. A. (2017). Povidone iodine in wound healing: A review of current concepts and practices. *International journal of surgery (London, England)*, 44, 260–268. <https://doi.org/10.1016/j.ijsu.2017.06.073>
6. Alam, M. F., Safhi, M. M., Moni, S. S., & Jabeen, A. (2016). In Vitro Antibacterial Spectrum of Sodium Selenite against Selected Human Pathogenic Bacterial Strains. *Scientifica*, 2016, 9176273. <https://doi.org/10.1155/2016/9176273>
7. Thirunavukkarasu, C., Premkumar, K., Sheriff, A. K., & Sakthisekaran, D. (2008). Sodium selenite enhances glutathione peroxidase activity and DNA strand breaks in hepatoma induced by N-nitrosodiethylamine and promoted by phenobarbital. *Molecular and cellular biochemistry*, 310(1-2), 129–139. <https://doi.org/10.1007/s11010-007-9673-5>
8. Yang, Y., Huang, F., Ren, Y., Xing, L., Wu, Y., Li, Z., Pan, H., & Xu, C. (2009). The anticancer effects of sodium selenite and selenomethionine on human colorectal carcinoma cell lines in nude mice. *Oncology research*, 18(1), 1–8. <https://doi.org/10.3727/096504009789745647>
9. Hesketh J. (2008). Nutrigenomics and selenium: gene expression patterns, physiological targets, and genetics. *Annual review of nutrition*, 28, 157–177. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.28.061807.155446>
10. Flohe, L., Günzler, W. A., & Schock, H. H. (1973). Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. *FEBS letters*, 32(1), 132–134. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(73\)80755-0](https://doi.org/10.1016/0014-5793(73)80755-0)
11. Spallholz J. E. (1994). On the nature of selenium toxicity and carcinostatic activity. *Free radical biology & medicine*, 17(1), 45–64. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(94\)90007-8](https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)90007-8)
12. Hora, P.I., Pati, S.G., McNamara, P.J., & Arnold, W.A. (2020). Increased use of quaternary ammonium compounds during the SARS-CoV-2 pandemic and beyond: Consideration of environmental implications. *Environmental Science & Technology Letters*, 7(9), 622-631. doi: 10.1021/acs.estlett.0c00437
13. Matsuzaki, S., Azuma, K., Lin, X., Kuragano, M., Uwai, K., Yamanaka, S., & Tokuraku, K. (2021). Farm use of calcium hydroxide as an effective barrier against pathogens. *Scientific Reports*, 11(1), article number 7941. doi: 10.1038/s41598-021-86796-w.
14. Wang Y., Wang X., Zhang H. Fotina, H., & Jiang, J. (2021). Preparation and characterization of monoclonal antibodies with high affinity and broad class specificity against zearalenone and its major metabolites. *Toxins*, 13(6), article number 383. doi: 10.3390/toxins13060383
15. Zheng, G., Filippelli, G.M., & Salamova, A. (2020). Increased indoor exposure to commonly used disinfectants during the COVID-19 pandemic. *Environmental Science & Technology Letters*, 7(10), 760-765. doi: 10.1021/acs.estlett.0c00587.
16. Wang, J., Shen, J., Ye, D., Yan, X., Zhang, Y., Yang, W., Li, X., Wang, J., Zhang, L., & Pan, L. (2020). Disinfection technology of hospital wastes and wastewater: Suggestions for disinfection strategy during coronavirus Disease 2019 (COVID-19) pandemic in China. *Environmental Pollution*, 262, article number 114665. doi: 10.1016/j.envpol.2020.114665.
17. Gavaric, N., Mozina, S.S., Kladar, N., & Bozin, B. (2015). Chemical profile, antioxidant and antibacterial activity of thyme and oregano essential oils, thymol and carvacrol and their possible synergism. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(4), 1013-1021. doi: 10.1080/0972060X.2014.971069

18. Myszka, K., Schmidt, M. T., Majcher, M., Juzwa, W., Olkowicz, M., & Czaczyk, K. (2016). Inhibition of quorum sensing-related biofilm of *Pseudomonas fluorescens* KM121 by *Thymus vulgare* essential oil and its major bioactive compounds. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 114, 252-259. doi: 10.1016/j.ibiod.2016.07.006.
19. Ferreira, G., Rosalen, P.L., Peixoto, L.R., Pérez, A., Carlo, F., Castellano, L., Lima, J.M., Freires, I.A., Lima, E.O., & Castro, R.D. (2017). Antibiofilm Activity and Mechanism of Action of the Disinfectant Chloramine T on *Candida* spp., and Its Toxicity against Human Cells. *Molecules*, 22(9), article number 1527. doi: 10.3390/molecules22091527.
20. Benhalima, L., Amri, S., Bensouilah, M., & Ouzrout, R. (2019). Antibacterial effect of copper sulfate against multi-drug resistant nosocomial pathogens isolated from clinical samples. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 35(5), 1322-1328. doi: 10.12669/pjms.35.5.336.
21. Portier, E., Bertaux, J., Labanowski, J., & Hechard, Y. (2016). Iron Availability Modulates the Persistence of *Legionella pneumophila* in Complex Biofilms. *Microbes and Environments*, 31(4), 387-394. doi: 10.1264/jsme2.ME16010.
22. Aiken, S.S., Cooper, J.J., Florance, H., Robinson, M.T., & Michell, S. (2015). Local release of antibiotics for surgical site infection management using high-purity calcium sulfate: An in vitro elution study. *Surgical Infections*, 16(1), 54-61. doi: 10.1089/sur.2013.162.

Fotina T.I., Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Varenyk L.V., graduate student, Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Determination of toxic properties of the drug "Combioid"

Fighting antibiotic resistance is a global priority today. Antibiotic resistance is largely due to the overuse of antibiotics and lack of awareness of the problem. Antibiotic resistance poses a huge threat to humanity. Given the widespread use of antibiotics in agriculture, there is a need to introduce and use environmentally friendly antimicrobial agents. The aim of this experiment was to investigate the toxicity of Combioid as an alternative antimicrobial agent. The aim of the work was to investigate the acute toxicity and harmlessness of the drug "Combioid". Materials of the experiment – red-brown solution with a faint odor of iodine, 1 ml of the drug contains: povidone-iodine – 200 mg, sodium selenite – 1.2 mg. The experiments were carried out in the certified vivarium of the Regional Center RC "ECOMEDCHEM" of Sumy State University and Sumy National Agrarian University. All experimental studies on laboratory animals were performed in accordance with Directive 2010/63/EU. The parameters of acute toxicity at a single administration were studied in 40 white mice weighing 19.0-20.3 g and 40 white rats weighing 185-205 g. Establishment of toxicity parameters for prolonged oral administration was performed on 18 rats weighing 190±5.0 g, divided equally into 3 groups, which were selected according to the principle of the previous groups. The effect of the drug on the state of internal organs was determined using the ratio of mass coefficients of viscera to body weight of the killed rats of the experimental and control groups. The skin-resorptive effect was determined on white mice weighing 21-24 g. The local irritant effect was determined by the method of cutaneous applications on 10 rabbits weighing 2.75±0.25 kg. To study the harmful effect on the ocular mucosa by the conjunctival test, 6 experimental groups of rabbits, 3 animals each, were used. When Combioid was administered orally at doses of 4, 024, 50, 100, 500, 1500, 2500 and 5000 mg/kg body weight, no changes in the clinical condition of the experimental animals and no deaths occurred. With prolonged oral administration of the drug for 30 days at doses of 4.024 mg/kg and 2500 mg/kg body weight, no changes in the clinical status and behavioral reactions of rats were observed. The drug has no negative effect on the hematopoietic system. The working solution of the drug at a concentration of 0.002% does not cause allergic reactions. According to the results of the experiment, it was found that this drug, in accordance with the International Standard GOST 12.1.007-76, can be classified as class IV toxicity (low-toxic substances), and according to the Global Harmonized System (GHS), it is classified as category 5.

The prospect of further research in this direction is to determine the effect of the drug "Combioid" on the quality and safety of poultry products.

Key words: drug "Combioid", environmentally safe drug, toxicity, hazardous compounds, laboratory animals, povidone-iodine, antibiotic resistance.