

ВПЛИВ ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИНУ ГІДРОХЛОРИДУ НА ПЛАЗМАТИЧНУ МЕМБРАНУ ФІБРОБЛАСТІВ КУРЯЧИХ ЕМБРІОНІВ ТА НА ШТУЧНУ БІШАРОВУ ЛІПІДНУ МЕМБРАНУ

А. В. Лисиця¹

П. Ю. Кривошия¹

О. Я. Шатурський²

¹Інститут епізоотології УААН, Рівне

²Інститут біохімії ім. О. В. Паладіна НАН України, Київ

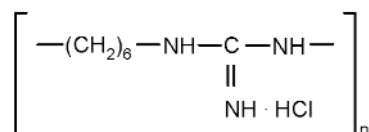
E-mail: olegshatursky@biochem.kiev.ua, lysyca@ukr.net

Розглянуто вплив різних концентрацій полігексаметиленгуанідину гідрохлориду на іонну провідність бішарової фосфоліпідної мембрани, що слугує за модель нативної мембрани мікроорганізмів. Визначено його мінімальну концентрацію, за якої провідність мембрани зазнає змін, — 0,2 мг/л. Також встановлено концентрацію, що не пошкоджує моношарову субкультуру фібробластів курячого ембріона та захищає її від ураження вірусом ринопневмонії коней. Отримані результати свідчать про незворотний характер взаємодії молекул полігексаметиленгуанідину гідрохлориду зі штучними ліпідними мембранами та плазматичними мембранами фібробластів.

Ключові слова: полігексаметиленгуанідину гідрохлорид, фосфоліпідні мембрани, фібробласти, герпесвірус.

Серед порівняно нових препаратів, які найбільш повно відповідають зростаючим вимогам щодо дезінфектантів, значну роль починають відігравати полімерні сполуки гуанідину або поліалкіленгуанідини (ПАГи). Ця група дезінфектантів за низкою параметрів істотно відрізняється від традиційних препаратів, які виготовляють на основі четвертинних амонієвих сполук (ЧАС), альдегідів, поверхнево-активних речовин (ПАР), похідних фенолу, хлорактивних сполук та ін. Завдяки полімерній природі біоцидна активність ПАГів вища, ніж у хлоргексидину біглюконату та низькомолекулярних катіонних ПАР, до того ж вони менш токсичні.

Одним з основних представників групи полімерних похідних гуанідину є полігексаметиленгуанідину гідрохлорид (ПГМГ), що належить до катіонних поліелектролітів. Його біоцидні властивості зумовлені наявністю гуанідинових груп [1].



За хімічною будовою ПГМГ — лінійний або розгалужений полімер, добре розчинний у воді; молекулярна маса, зазвичай, у межах 10 кДа. За зовнішнім виглядом це — прозора склоподібна маса. ПГМГ є основним компонентом нового дезінфектанту Епідез, розробленого в Інституті епізоотології УААН [2].

Схематично механізм біоцидної дії препарату може виглядати так. На першому етапі взаємодії з негативно зарядженою бактеріальною клітиною молекули полікатиона ПГМГ сорбуються на її поверхні та частково блокують дихання, живлення і транспортування метаболітів. Тейхоеві кислоти клітинної стінки (наприклад, у *B. subtilis* вони становлять до 60% маси клітини) виступають як поліаніон. Найімовірніше, клітинна стінка бактерій не є суттєвою перепоною для молекул ПГМГ, які, подолавши її, можуть електростатично зв'язуватися з плазматичною мембраною. При цьому ПГМГ взаємодіє із залишками сілової кислоти, карбоксильними групами амінокислот, протеїнами, кислими фосфоліпідами та полісахаридами цитоплазматичної мембрани. Гідрофобні взаємодії також беруть участь у цьому про-

цесі, оскільки молекула ПГМГ містить неполярні гексаметиленові ділянки, здатні до взаємодії з алкільними ланцюгами жирних кислот фосфоліпідів мембран. Первинна електростатична взаємодія негативно заряджених груп на клітинній мембрані з молекулою полімеру призводить до переорієнтації молекули і взаємодії її заряджених гуанідинових груп з полярними голівками зовнішнього ліпідного шару мембрани. Макромолекула полімеру кооперативно зв'язується з великою кількістю молекул мембранних фосфоліпідів і спричиняє нейтралізацію їхнього негативного заряду. Комплекс, що утворюється, зумовлює зміни електростатичних та гідрофобних взаємодій алкільних ланцюгів жирних кислот фосфоліпідів, які стабілізували мембрану. Наслідком сорбції є порушення бар'єрних і транспортувальних функцій мембрани, а подальше можливе проникнення до її неполярної частини гідрофобних гексаметиленових фрагментів молекули ПГМГ впливає на ван-дер-ваальсові взаємодії між молекулами ліпідів. Таким чином, сорбція й інкорпорація молекул ПГМГ спричиняють спочатку зміну проникності, а потім і цілісності мембрани, яка деформується та фрагментується. Окрім того, ПГМГ може неспецифічно впливати на роботу окремих ензиматичних систем і, можливо, інгібувати деякі ензими, що розташовані у цитоплазматичній мембрані [3]. Адже, як відомо, цитоплазматична мембрана прокаріотів є біохімічно активною оболонкою бактерій, з нею пов'язана майже вся цитохромна активність клітини, до 90% активності дегідрогеназ, фосфатази, рибонуклеази, 5'-нуклеотидази, ензимів фосфорилування. Комплекс зазначених вище факторів і призводить до порушення цілісності мембрани, її ензиматичних, бар'єрних і транспортувальних функцій та, як наслідок, — до розладу метаболізму та загибелі клітини [1, 2, 4].

В експериментах російських дослідників з вивчення впливу ПГМГ на водорості *Chlorella pyrenoidosa* було встановлено, що додавання препарату в середовище інкубації спричинювало зміни проникності плазматичних мембран за концентрації 50 мг/л (або $5 \cdot 10^{-3} \%$) і часткове руйнування клітин при 100 мг/л (або $1 \cdot 10^{-2} \%$) [5]. А визначення впливу ПГМГ на фотосинтетичну активність *Chlorella* показало, що навіть короточасна інкубація водорості в середовищі з ПГМГ призводить до інгібування фотосинтетичної активності й може зменшувати продуктивність клітин [5]. Так, під час корот-

котривалої дії низьких концентрацій ПГМГ гідрохлориду (0,001–0,1 мг/л або 10^{-7} – $10^{-5} \%$) у клітинах водорості *Chlorella pyrenoidosa* змінювалася швидкість транспортування електронів на акцепторній ділянці фотосистеми II (ФС II) і підсилювалась енергізація тилакоїдних мембран. За концентрацій ПГМГ, більших ніж 0,1 мг/л ($>10^{-5} \%$) відбувалось різке інгібування фотосинтезу, а добова інкубація *Chlorella* в розчинах з такою концентрацією зумовлювала незворотну деструкцію ФС II і, ймовірно, всього фотосинтетичного апарату [5].

Вивчення впливу полімерних похідних гуанідину на фракційний і жирнокислотний склад мембранних і нейтральних ліпідів пліснявого гриба *Aspergillus niger* [6] показало, що за певних низьких концентрацій (близько $1 \cdot 10^{-5} \%$) ПГМГ може діяти на грибок навіть стимулююче. При цьому в клітинах *Aspergillus* зростає рівень загальних ліпідів, зокрема мембранних (полярних). Подальше збільшення концентрації ПГМГ призводить до сповільнення росту, збільшується частка фракції нейтральних (резервних або запасних) ліпідів. Підвищення концентрації ПГМГ (до 10^{-3} – $10^{-1} \%$) діє згубно на мікроорганізм, перед загибеллю грибка змінюється жирнокислотний склад його ліпідів, у міцелії утворюються ліпіди з більшою кількістю насичених жирних кислот і з меншим значенням йодного числа.

Дослідження гриба *Cunninghamella japonica* також виявили, що у відповідь на стрес, викликаний дією дезінфектанту, починають функціонувати такі механізми біохімічної адаптації, як зміна ненасиченості жирних кислот мембранних ліпідів, довжини їхніх алкільних ланцюгів, модифікації фракційного складу клітинних ліпідів [6].

Отже, полігуанідинові дезінфектанти є мембраноактивними сполуками, у випадку з пліснявими грибами вони істотно впливають на фракційний і жирнокислотний склад як загальних, так і, передусім, мембранних ліпідів. Проте тонкі механізми дії ПАГів на мембрани й досі залишаються нез'ясованими.

Метою роботи було визначити, в яких концентраціях полігексаметиленгуанідину гідрохлорид здатен взаємодіяти з ліпідним бішаром штучної мембрани і призводити до формування в ньому іонпровідних отворів, а також з'ясувати, чи має взаємодія полімеру з ліпідним бішаром зворотний характер. Окрім того, необхідно було встановити характер взаємодії ПГМГ з нативною мембраною фібробластів курячого ембріона та

можливість використання ПГМГ для оброблення евкаріотичних клітин з метою захисту їх від ураження вірусом ринопневмонії коней, що належить до групи герпесвірусів.

Матеріали і методи

Об'єкти досліджень. Штучна пласка бішарова ліпідна мембрана (БЛМ) [7]. Субкультура фібробластів курячого ембріона, не перещеплювана, не трансформована.

Культуру фібробластів курячого ембріона та культуру вірусу ринопневмонії коней отримували за загально визнаною методикою [8].

БЛМ слугувала аналогом плазматичних мембран мікроорганізмів. Вивчали, зокрема, вплив на іонну провідність БЛМ різних концентрацій ПГМГ.

Мембрану формували за спеціальною методикою [7] з розчину фосфатидилхоліну (ФХ) (Харківський завод біопрепаратів «Біолек») та холестеролу (Calbiochem, Німеччина) в *n*-гептані на отворі діаметром 0,6 мм в тefлоновому стаканчику, розміщеному в скляній комірці.

Співвідношення ФХ:холестерол у розчині становило 2:1 при загальній концентрації ліпідів 20 мг/мл. Формування ліпідного бішару спостерігали візуально у відбитому світлі за допомогою бінокулярного мікроскопа. Розчин, який оточує мембрану, містив 10 мМ трис-НCl (Sigma, США) та задану кількість хлоридів металів кваліфікації «х.ч.».

Для вимірів провідності мембрани використовували хлор-срібні електроди, занурені в розчин 2 М хлористого калію з агаровими містками, розміщеними з різних боків мембрани. Електричний потенціал зовні тefлонового стаканчика (цис-сторона) задавали відносно потенціалу внутрішнього об'єму (транс-сторона), який приймали рівним 0 мВ. Вихідний мембранний потенціал в експерименті становив 50 мВ. Водно-сольовий розчин, який оточує мембрану, переміщували за допомогою магнітної мішалки. Усі експерименти проводили при температурі 22–24 °С.

До цис-сторони (зовні) додавали розчини ПГМГ («Терміт», Україна) у буфері в певних концентраціях. Спостерігали за зміною в часі інтенсивності трансмембранного іонного струму, що спричинював зміну електричного потенціалу мембрани. За відсутності каналформувальних елементів (наприклад, антибіотиків) провідність БЛМ залишається незмінною, додавання досліджуваних речовин у певних концентраціях може зумовлювати зростання трансмемб-

ранного струму і зміну потенціалу. Таким чином, можна визначити здатність досліджуваних препаратів формувати іонпровідні отвори в пласкій БЛМ, тобто змінювати її електропровідність.

ПГМГ розчиняли в 0,9% -му NaCl (фізрозчин), одержуючи вихідну концентрацію діючої речовини. Вона становила від $10^{-6}\%$ до $10^{-8}\%$, або від 10 мкг/л до 10 мг/л. Виходячи з того, що середня молекулярна маса полімеру, який брали для випробувань, становить близько 10 кДа, молярна концентрація препарату, відповідно, була в межах 10^{-11} – 10^{-8} . У дослідях з фібробластами концентрацію препарату від $10^{-7}\%$ до $10^{-4}\%$ отримували, змішуючи вихідні розчини ПГМГ із сольовим збалансованим середовищем Хенкса (рН 7,4) у співвідношенні 1:9. При цьому властивості середовища істотно не змінювались, у контролі брали суміш фізрозчину й розчину Хенкса у тих самих пропорціях. Кислотність контролювали з використанням іономіру типу И-130, рН встановлювали в межах 7,35–7,45.

Для визначення можливості зв'язування молекул ПГМГ з плазматичною мембраною фібробластів до сформованого моношару клітин додавали 1–2 мл робочих розчинів ПГМГ різної концентрації в сольовому розчині Хенкса. Через 10 хв препарат зливали, промивали моношар фізрозчином і заливали вірусний матеріал у розчині Хенкса.

У дослідях використовували середню цитопатичну концентрацію вірусу ринопневмонії коней (*Equine herpesvirus type 1*), титр ЦПД (цитопатична дія) 10^{-2} / 0,5 мл.

Проби термостатували при 37 °С, спостереження проводили протягом 3–6 діб. Стан моношару клітин і бляшкоутворення оцінювали візуально, застосовуючи лабораторний бінокулярний мікроскоп (збільшення $\times 70$), клітини, в разі необхідності, забарвлювали гематоксилін-еозином за загально визнаною методикою [8].

Результати та обговорення

Вивчення впливу різних концентрацій біологічно активного полімеру ПГМГ на іонну провідність БЛМ показало, що в концентраціях починаючи з $2 \cdot 10^{-5}\%$ і вище він здатен взаємодіяти з ліпідним бішаром штучної мембрани (табл. 1). При цьому в БЛМ виникають іонпровідні отвори унаслідок зростання трансмембранного струму 100 мМ NaCl, і досить швидко відбувається розрив мембрани.

Видалення ПГМГ з водно-сольового розчину, що оточує мембрану (перфузія, відмивання), не призводило до зменшення її

провідності, це може свідчити про порівняно швидкий і незворотний характер взаємодії препарату з ліпідним бішаром.

Основним чинником фізичної природи, що зумовлює міцне зв'язування адсорбованої на БЛМ молекули ПГМГ, може бути електростатична взаємодія полікатиона дезінфектанту з негативно зарядженими фосфатними групами ліпідів. Комплекс, що утворився, стабілізується гідрофобними взаємодіями між алкільними ланцюгами жирних кислот фосфоліпідів і гексаметиленовими ділянками молекули ПГМГ.

Таблиця 1. Вплив різних концентрацій ПГМГ на стан БЛМ

Концентрація ПГМГ в цискомірці БЛМ, %	Ефект
$2 \cdot 10^{-1}$	Зростання трансмембранного струму через 1,2 хв, розрив БЛМ
$2 \cdot 10^{-2}$	Зростання трансмембранного струму через 1,2 хв, розрив БЛМ
$2 \cdot 10^{-3}$	Зростання трансмембранного струму через 1,6 хв, розрив БЛМ
$2 \cdot 10^{-4}$	Зростання трансмембранного струму через 6,6 хв, розрив БЛМ
$2 \cdot 10^{-5}$	Зростання трансмембранного струму через 7–10 хв, розрив БЛМ
$2 \cdot 10^{-6}$	Незмінність провідності БЛМ протягом 30 хв і довше, цілісність БЛМ, що не виключає можливості зв'язування ПГМГ з поверхнею ліпідного бішару

Таким чином, одним з головних механізмів біоцидної дії ПГМГ може бути пошкодження ліпідного бішару нативних мембран прокариотів, виникнення в плазматичній мембрані іонпровідних отворів.

Досліди з обробленням сформованого моношару клітин первинної субкультури фібробластів курячого ембріона розчинами ПГМГ показали, що в певних концентраціях цей біоцид може навіть захистити клітини від ураження вірусом ринопневмонії коней (*Equine herpesvirus type 1*). Узагальнені результати експериментів наведено в табл. 2.

У контролі № 1 замість ПГМГ брали суміш фізрозчину і сольового розчину Хенкса у тих самих пропорціях; після промивання чистим фізрозчином додавали вірусний матеріал (перевірений на ЦПД) у розчині Хенкса. У контролі № 2 після оброблення клітин робочими розчинами ПГМГ (концент-

Таблиця 2. Вірусопротекторний ефект ПГМГ

Концентрація ПГМГ у зразку, %	Стан моношару фібробластів
10^{-4}	Протягом двох діб спостережень моношар без змін, вірус не пошкоджує клітини
10^{-5}	Протягом двох діб спостережень моношар без змін, вірус не пошкоджує клітини
10^{-6}	Моношар почав пошкоджуватися упродовж перших 24 год, спостерігаються ділянки зі зруйнованих клітин; протягом наступної доби — повна деструкція моношару, вірус не інактивовано повністю
10^{-7}	Моношар почав пошкоджуватися вже протягом перших 5–7 годин, спостерігаються ділянки зруйнованих клітин; упродовж наступної доби — повна деструкція, вірус не інактивовано
Контроль № 1	Бляшкоутворення, моношар клітин уражений вірусом, зруйнований протягом двох діб інкубування
Контроль № 2 (усереднений за 4 зразками з різною концентрацією ПГМГ)	Моношар у нормі, протягом 6 діб без змін

рація препарату становила від 10^{-7} % до 10^{-4} %) та промивання фізрозчином замість вірусного матеріалу до моношару додавали чистий розчин Хенкса. Таким чином, короткочасна 10-хвилинна обробка моношару фібробластів препаратом з концентрацією ПГМГ 10^{-5} – 10^{-4} % надійно захистила клітини від ураження вірусом ринопневмонії коней. Оскільки препарат діяв і після промивання моношару фізрозчином, можна припустити, що молекули ПГМГ міцно зв'язалися з плазматичними мембранами клітин і забезпечили вірусопротекторний ефект. При цьому сам вірус залишався неушкодженим і не сорбувався на поверхню клітин. Після перенесення цього вірусвмісного розчину Хенкса на необроблений препаратом моношар клітин останній швидко вражався вірусом і гинув протягом першої доби інкубування (як і в контролі). Можливо, в даному разі

відбувається блокування молекулами ПГМГ специфічних рецепторів на поверхні клітини, вірус їх не розпізнає і не може адсорбуватися. Ще однією з причин може бути загальне зменшення або перерозподіл електричного потенціалу на поверхні клітини, спричинені як зміною іонної провідності мембрани, так і позитивним зарядом самої молекули ПГМГ. Вище вже зазначалося, що навіть короткотривала дія низьких концентрацій ПГМГ гідрохлориду (0,001–0,1 мг/л або 10^{-7} – 10^{-5} %) на *Chlorella pyrenoidosa* змінювала швидкість транспортування електронів на акцепторній ділянці ФС II і впливала на електричний потенціал мембран тилакоїдів [5].

Концентрація ПГМГ 10^{-4} %, яка за попередніми нашими дослідженнями є цитотичною для фібробластів, а також достатня для формування іонпровідних отворів у штучних БЛМ, за такий короткий час дії не призвела до скільки-небудь помітних змін стану клітин моношару. Концентрації ПГМГ 10^{-7} – 10^{-5} % можна вважати практично нетоксичними для сформованого моношару фібробластів, принаймні вони не впливають суттєво на тривалість життя клітин моношару.

Варто зазначити, що в інших наших експериментах концентрація ПГМГ 10^{-6} % дещо послаблювала, але не інактивувала повністю вірус у культурі. Оброблений таким препаратом вірус при перенесенні на моношар

вразив клітини та спричинював їх загибель, проте бляшкоутворення і деструкція моношару відбувалися повільніше. Мінімальна концентрація ПГМГ, за якої повністю інактивується вірус ринопневмонії коней (для титру ЦПД 10^{-2} / 0,5 мл та інкубації при 37 °С протягом 1 год) була визначена нами на рівні 10^{-5} %.

Таким чином, у штучних бішарових ліпідних мембранах ПГМГ, що є основним компонентом нового дезінфектанту Епідез, формує іонпровідні отвори, починаючи з концентрацій 0,2 мг/л (або $2 \cdot 10^{-5}$ %) і вище, при цьому ПГМГ незворотно зв'язується з фосфоліпідами мембрани. Аналогічно, зв'язуючись із плазматичною мембраною мікроорганізму, ПГМГ призводить до порушення провідних та інших функцій мембрани, спричинює її деструкцію і згодом загибель клітини.

ПГМГ здатен також взаємодіяти з плазматичними мембранами еукариотів, для яких є характерною наявність значної кількості холестеролу. Досліди з фібробластами курячого ембріона показали, що препарат, який за тривалої дії є токсичним для клітин починаючи з концентрацій $2 \cdot 10^{-4}$ % і вище, в концентраціях $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ % за короткий час адсорбується на поверхні клітин і захищає їх від ураження герпесвірусом ринопневмонії коней.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гембицкий П. А. Полимерный биоцидный препарат полигексаметиленгуанидин. — Запорожье: Полиграф, 1998. — 44 с.
2. Мандигра М. С., Степаняк І. В., Лисиця А. В. та ін. Використання полігексаметиленгуанидину для дезінфекції // Агр. вісн. Причорномор'я: Зб. наук. праць. Вип. 42. — Одеса: СМІЛ, 2008. — Ч. 2. — С. 69–73.
3. Мандигра М. С., Лисиця А. В., Андрущук І. Л. та ін. Біохімічні аспекти біоцидної дії полімерних похідних гуанідину // Вісн. Білоцерківського держ. агр. ун-ту: Зб. наук. праць. — Біла Церква, 2009. — Вип. 60. — Ч. 1. — С. 81–85.
4. www.iet.biocide.ru 28.01.2009.
5. Константиновская С. В. Исследование действия биоцидов (на примере ПГМГ) на эколого-функциональное состояние водоросли *Chlorella pyrenoidosa*: автореф. дис. канд. биол. наук: спец. 03.00.16. «Экология» / С. В. Константиновская. — М., 2006. — 20 с.
6. Кузнецова Л. С. О механизме действия полигуанидиновых дезинфектантов // Мясн. инд. — 2001. — № 4. — С. 16–19.
7. Shamoo A. E., Goldstein D. A. Isolation of ionophores from ion transport system and their role in energy transduction // Biochem. Biophys. Acta. — 1977. — V. 472. — P. 13–53.
8. Гирін В. М., Порохницький В. Г., Вороненко С. Г. та ін. Посібник з медичної вірусології / За ред. В. М. Гиріна. — К.: Здоров'я, 1995. — С. 48–51.

**ВЛИЯНИЕ
ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИНА
ГИДРОХЛОРИДА НА ПЛАЗМАТИЧЕСКУЮ
МЕМБРАНУ ФИБРОБЛАСТОВ КУРИНЫХ
ЭМБРИОНОВ И НА ИСКУССТВЕННУЮ
ДВУХСЛОЙНУЮ ЛИПИДНУЮ
МЕМБРАНУ**

*А. В. Лисица¹
П. Ю. Кривошея¹
О. Я. Шатурский²*

¹Институт эпизоотологии УААН, Ровно

E-mail: lysycya@ukr.net

²Институт биохимии им. А. В. Палладина
НАН Украины, Киев

E-mail: olegshatursky@biochem.kiev.ua

В работе представлены результаты изучения влияния разных концентраций полигексаметиленгуанидина гидрохлорида на ионную проводимость бислойной фосфолипидной мембраны, служащей моделью нативной мембраны микроорганизмов. Определена его минимальная концентрация, которая способна изменять проводимость мембраны, — 0,2 мг/л. Также определена концентрация полигексаметиленгуанидина гидрохлорида, не повреждающая монослойную культуру фибробластов куриного эмбриона и защищающая клетки от проникновения герпесвируса ринопневмонии лошадей. Полученные результаты свидетельствуют о необратимом характере взаимодействия молекул препарата с липидным бислоем и плазматическими мембранами фибробластов.

Ключевые слова: полигексаметилегуанидина гидрохлорид, фосфолипидные мембраны, фибробласты, герпесвирус.

**INFLUENCE
OF POLYHEXAMETHYLENEGUANIDINE
HYDROCHLORIDE ON THE CHICKEN
EMBRYOS FIBROBLASTS PLASMATIC
MEMBRANE AND ARTIFICIAL BYLAYER
LIPID MEMBRANE**

*A. V. Lysytsya¹
P. Y. Kryvoshya¹
O. Ya. Shatursky²*

¹Epizootology Institute of Ukrainian Academy
of the Agrarian Sciences, Rivne

E-mail: lysycya@ukr.net

²Palladin Institute of Biochemistry, Ukrainian
National Academy of Sciences, Kyiv

E-mail: olegshatursky@biochem.kiev.ua

Results influence of different polyhexamethyleneguanidine hydrochloride concentrations influence on ion conductivity through a double layer phospholipid membrane used as a model of microorganism native membrane are given. The polyhexamethyleneguanidine hydrochloride effect on a bilayer membrane was specific with a threshold established to be 0.2 mg/l. The nondamaging polyhexamethyleneguanidine hydrochloride concentration that protects from contracting horse retinopneumoniae herpesvirus has also been found for monolayer fibroblast culture of chicken embryo. The results obtained prove irreversible character of polyhexamethyleneguanidine hydrochloride binding to a lipid bilayer and fibroblast cells plasma membranes.

Key words: polyhexamethyleneguanidine hydrochloride, phospholipid membrane, fibroblasts, herpesvirus.