

УДК 57.085.1; 616-008.99

## ОСОБЛИВОСТІ ОВОЦИДНОЇ ДІЇ НАНОЧАСТОК ОЛОВА НА ЯЙЦЯ *ASCARIS SUUM* (GOEZE, 1782) *IN VIVO*

Н. Волошина\*, П. Кілочичський\*, А. Мазуркевич\*\*

\*Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64, Київ 01601, Україна

\*\*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Потехіна, 16, Київ 03041, Україна

Вивчено овоцидну дію наночастинок олова на збудник *Ascaris suum* в експерименті *in vivo* на лабораторних мишах. Встановлено, що наноаквахелати олова володіють вираженою овоцидною дією на яйця аскарусів свиней, яка проявляється лише за межами організму тварини.

*Ключові слова:* наноаквахелати олова, яйця, *Ascaris suum*, овоцидна дія, налипання, лабораторні миші.

В останні десятиріччя господарська діяльність людини спричинила негативний вплив, а подекуди й необоротні зміни у біоценозах більшості регіонів планети Земля. Зокрема, недостатня увага до паразитарного забруднення довкілля сприяла значному поширенню інвазійних хвороб людини і тварин. На актуальність цих питань вказують численні наукові публікації вітчизняних і зарубіжних дослідників [2].

Стійкість збудників інвазійних хвороб до впливу факторів довкілля, надвисока плодючість паразитів і швидкий розвиток резистентності до дезінфікуючих засобів ускладнюють вирішення санітарно-епідемічних проблем. Тому пошук ефективних і водночас екологічно безпечних засобів, які б мали чітко виражені овоцидні властивості, є перспективним і практично доцільним напрямом наукових розробок [4, 5].

Наночастки металів дедалі частіше знаходять застосування у біологічній і медичній практиках. На сьогодні отримані результати щодо овоцидної ефективності хімічних сполук нанорозмірної структури при дії на збудників найпоширеніших інвазійних хвороб тварин [3, 9].

У зв'язку з цим раніше нами була проведена серія лабораторних (*in vitro*) експериментів щодо з'ясування взаємодії між наноаквахелатами олова і тест-об'єктом – свинячою аскаридою *Ascaris suum* (Goeze, 1782) [5].

Мета роботи – дослідити овоцидний вплив наночастинок олова на інвазійні яйця аскариди *A. suum*, локалізовані в організмі піддослідних тварин.

У роботі використана лабораторна культура яєць свинячої аскариди *A. suum*. Як експериментальна речовина слугували гідратовані та карботовані наночастки олова з вмістом металів 100 мг/дм<sup>3</sup> та слабкислою реакцією (рН 6,7–6,9) (ТУ У 24.6-35291116-003:2008) [8].

Дослідження проведені на базі акредитованої лабораторії військової частини А 3466 (центр ветеринарного забезпечення Збройних Сил України), у науково-дослідних лабораторіях остеосинтезу та нанотехнологій ветеринарної хірургії, а також фізіології, патофізіології та імунології тварин Національного університету біоресурсів і природокористування України.

Статевозрілих самок аскарид вилучали з тонкої кишки тварин під час забою свиней на Дарницькому м'ясокомбінаті м. Київ. Шляхом розтину статевозрілих самок *A. suum* були отримані життєздатні яйця для формування чистої культури.

При культивуванні з метою отримання інвазійних зародків нематоди водну суспензію яєць аскариди вміщували у чашки Петрі, додаючи 2% розчин формаліну. Культивували в термостаті при температурі 28°C протягом 20 діб. Щоденно контролювали рівень вологи та проводили аерацію яєць. Перед використанням яєць у дослідах їх двічі промивали в дистильованій воді шляхом центрифугування при 800 об/хв протягом 5 хв.

Життєздатність яєць перевіряли, проглядаючи препарати під мікроскопом, попередньо підігріваючи їх над полум'ям спиртівки до температури 37°C та фарбуючи вітальною фарбою, до складу якої входить метиленовий синій (живі тканини редукують фарбу у безколірну лейкобазу, а мертві – забарвлюються у синій колір).

Інвазійну здатність культивованих яєць контролювали шляхом постановки біологічних проб на лабораторних мишах лінії CBA-57 Black. Для цього яйця аскариди із розвиненою всередині личинкою в концентрації 250–300 шт./см<sup>3</sup> ізотонічного розчину хлориду натрію вводили за допомогою шприца з напаяною на кінці голки оливою *peg os* лабораторним мишам масою 8–10 г. На 8-му добу після експериментального зараження тварин забивали та проводили патолого-анатомічний розтин. Відбирали легені та печінку, подрібнювали їх ножицями і досліджували за методом Бермана на наявність мігруючих личинок аскарид [1].

При штучному зараженні дослідних груп тварин суспензію інвазійних яєць *A. suum* попередньо обробляли наночастками олова. Для цього у дві чашки Петрі вносили по 2500–3000 яєць, додавали 10 см<sup>3</sup> дистильованої води та 5 см<sup>3</sup> колоїду наноаквахелату олова. Витримували при кімнатній температурі: одну чашку Петрі – 1 добу, другу – 4 доби.

Після експозиції (з метою очищення) вміст чашок Петрі переносили у центрифужні пробірки та центрифугували при 800 об/хв протягом 5 хв. Надосадову рідину обережно відбирали піпеткою, а решту, об'ємом 10<sup>3</sup> см, використовували для зараження лабораторних мишей (у дозі 1 см<sup>3</sup> на одну тварину).

Контрольну групу лабораторних мишей заражали суспензією інвазійних яєць аскариди в ізотонічному розчині хлориду натрію.

У процесі попередніх досліджень овоцидних властивостей аніоноподібних висококоординаційних аквахелатів металів нами було виявлено ефект «селективної седиментації» наночасток на поверхню оболонки лише життєздатних яєць аскариди свиней (рис. 1). Найчіткіше виражений результат (при візуальному контролі) було отримано при застосуванні наноолова [5].

Отримані *in vitro* результати дали змогу ствердно говорити про можливість практичного застосування наночасток олова як ефективного дезінвазійного засобу.

Розвиток аскаридозу свиней починається з потрапляння інвазійного яйця нематоди у шлунково-кишковий тракт хазяїна, подальшого виходу личинки із яйця та проникнення її у систему кровообігу. На цьому етапі важливим фактором, що визначає можливість розвитку патологічного процесу, є життєздатність інвазійного елемента. Можна припустити, що результати досліджень, проведених нами *in vitro*, кардинально відрізняються від процесів, які відбуваються всередині організму хазяїна (*in vivo*).

Для перевірки отриманих нами попередніх результатів досліджень і з'ясування особливостей взаємодії наночасток з яйцями нематод в організмі лабораторних тварин, ми сформували дві дослідні й одну контрольну групи мишей по 10 осіб у кожній.

Мишам із контрольної групи згодовували по 1 см<sup>3</sup> суспензії життєздатних інвазійних яєць *A. suum* у концентрації 250–300 шт./см<sup>3</sup> в ізотонічному розчині хлориду натрію.

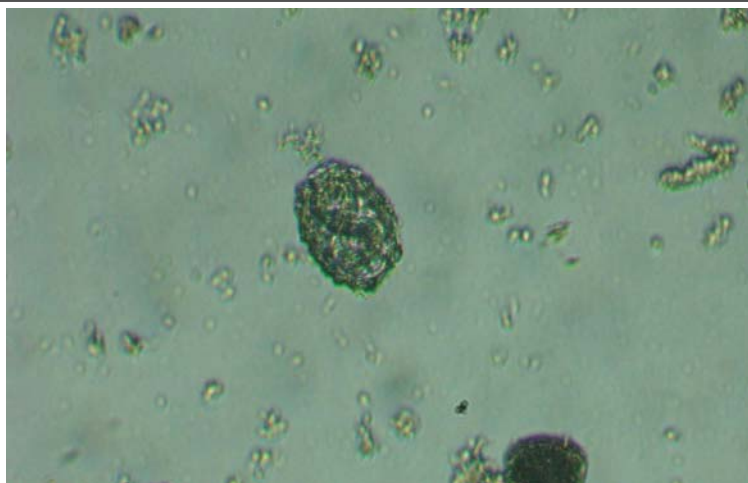


Рис. 1. Інвазійне яйце *Ascaris suum* (з личинкою всередині), оточене седиментованими наночастками олова.

Першу дослідну групу мишей заражали в тій же концентрації інвазійним матеріалом, який контактував із наночастками олова протягом 24 год (життєздатні яйця, вкриті седиментованими наночастками).

Тваринам другої дослідної групи вводили *per os* інвазійні яйця в аналогічній дозі, оброблені нанооловом при експозиції 90 год (яйця, позбавлені наночасток олова внаслідок «самоочищення»).

На восьму добу після зараження мишей із дослідних і контрольної груп забивали, розтинали та досліджували їхню печінку та легені на наявність мігруючих личинок аскариди. І в контрольній, і в дослідних групах природна смертність тварин була відсутня.

Мігруючі личинки було виявлено у внутрішніх органах тварин контрольної та першої дослідної групи (рис.2). У другій дослідній групі ознак зараження та розвитку інвазії не відзначено.

Дослідження внутрішніх органів тварин контрольної групи підтвердило інвазійність досліджуваних нами яєць нематод. Після постановки біологічної проби у 100% випадків було виявлено мігруючі личинки *A. suum* у легенях і печінці мишей.



Рис. 2. Личинка *Ascaris suum*, виділена з легень штучно інвазованих лабораторних мишей.

У другій дослідній групі яйця *A. suum*, піддані протягом 90 год впливові аніоно-подібними висококоординаційними аквахелатами наноолова, виявилися нежиттєздатними і не спричинили інвазії лабораторних мишей.

Що стосується тварин першої дослідної групи, то результат розвитку інвазійного процесу у 100% випадків виявився неочікуваним. Причини цього ми вбачаємо в тому, що перш ніж потрапити у тонку кишку, яйця нематоди транзитом проходить шлунок тварини, де міститься шлунковий сік (суміш, яка включає соляну кислоту і пепсин з рН 1,5–2,0) [6].

Яйця нематоди, вкриті наночастками олова, потрапивши у шлунок лабораторної тварини зазнають дії шлункового соку. Ймовірно, що вплив більш сильної (порівняно з лимонною) соляної кислоти спричиняв передчасне очищення поверхні яєць унаслідок дезінтеграції наночастинок. У результаті личинки нематоди всередині яйця лишалися живими та здатними до зараження хазяїв.

Підтвердження своїм припущенням ми знайшли у літературі. Так, при дослідженнях властивостей наночастинок міді було встановлено, що додавання до нанорозчину цих частинок соляної кислоти та зміна показника рН до 2,5 призводить до повного розпаду наночастинок і переходу їх у йонну форму [7].

Порушення ефекту «селективної седиментації» наночастинок олова на поверхню яєць нематоди свиней було підтверджено і нашими дослідженнями *in vitro*, при внесенні до оброблених наночастками яєць аскариди розчину соляної кислоти та зміни показника рН до 2,0.

Ефективне застосування наноаквахелатів олова для знешкодження збудників паразитарних хвороб можливе лише за умови суворого дотримання встановлених режимів. Оптимальний термін експозиції для ефективного знезараження яєць *Ascaris suum* наночастками олова становить не менше 90 годин.

Овоцидна дія наноаквахелатів олова проявляється лише за межами організму тварини. Соляна кислота, що входить до складу шлункового соку, провокує процеси дезінтеграції наночастинок і очищення від них поверхні інвазійних яєць аскариди, що призводить у кінцевому результаті до втрати препаратом овоцидного ефекту.

1. Астафьев Б. А. Экспериментальные модели паразитозов в биологии и медицине. М.: Наука, 1989. 279 с.
2. Березовський А. В. Екологічні проблеми сучасної паразитології (аналітичний огляд) // Наук. вісн. НАУ. 2006. Т. 98. С. 19–28.
3. Борисевич В. Б., Борисевич Б. В., Хомин Н. М. та ін. Здобутки нанотехнології в лікуванні та профілактиці хвороб тварин (впровадження інноваційних технологій): Навч. і практ. посібник. К., 2009. 185 с.
4. Волошина Н. О. Ветеринарний санітарно-паразитологічний моніторинг території тваринницьких господарств // Зб. наук. пр. Луган. нац. аграр. ун-ту. 2007. С. 87–91.
5. Волошина Н. О. Поширення збудників паразитарних хвороб тварин у доквіллі // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: Зб. наук. пр. Вип. 16 (41). Ч. 2. Т. 1. С. 62–65.
6. Дубинская Т. К. Кислотопродукция желудка и методы ее определения: Уч. пособие. М.: РМАПО, 2004. 28 с.
7. Коликов В. А. Пролонгированная микробная устойчивость воды, обработанной импульсными электрическими разрядами // Журн. технической физики. 2007. Т. 77. Вып. 2. С. 118–125.

8. Пат. України на корисну модель №29854. Висококоординаційний аніоноподібний аквананокомплекс / *Каплуненко В.Г., Косинов М.В.*; опубл. 25.01.08, Бюл. №2.
9. Пат. 35335 Україна, МПК А 61 L 2/16. Спосіб знешкодження у довкіллі збудника аскарозу свиней / *Волошина Н. О., Каплуненко В. Г., Косинов М. В.*; власник Національний аграрний університет. – № 200805146; заявл. 21.04.08 ; опубл. 10.09.08. Бюл. № 17.

#### FEATURES DESINVASION OF ACTION NANOPASTS OF TIN ON EGGS OF *ASCARIS SUUM* (GOEZE, 1782) *IN VIVO*

**N. Voloshyna\*, P. Kilochytskij\*, A. Mazurkevich\*\***

*\*Taras Shevchenko National University of Kyiv  
64, Volodymyrska St., Kyiv 01033, Ukraine*

*\*\*National University of Bioresources and Application of the Nature of Ukraine  
16, Potekhyna St., Kyiv 03041, Ukraine*

It is studied desinvasion action nanopasts of tin on activator *Ascaris suum* in experiment *in vivo* on laboratory mice. It is established that nanopasts tin possess expressed desinvasion effect on eggs *ascaris* pigs which is shown only outside of an organism of animals.

*Key words:* nanopasts of tin, egg, *Ascaris suum*, desinvasion action, sticking, laboratory mice.

#### ОСОБЕННОСТИ ОВОЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ ОЛОВА НА ЯЙЦА *ASCARIS SUUM* (GOEZE, 1782) *IN VIVO*

**Н. Волошина\*, П. Кілочицький\*, А. Мазуркевич\*\***

*\* Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко  
ул. Владимирская, 64, Киев 01601, Украина*

*\*\*Национальный университет биоресурсов и природоиспользования Украины  
ул. Потехина, 16, Киев 03041, Украина*

Изучено овоцидное действие наночастиц олова на возбудитель *Ascaris suum* в эксперименте *in vivo* на лабораторных мышях. Установлено, что наноаквахелаты олова обладают выраженным овоцидным эффектом на яйца аскарид свиней, который проявляется только за пределами организма животных.

*Ключевые слова:* наноаквахелаты олова, яйца, *Ascaris suum*, овоцидное действие, прилипание, лабораторные мыши.

Стаття надійшла до редколегії 23.04.09

Прийнята до друку 18.05.09