

**АКТИВНІСТЬ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ ВІДНОСНО ЯЄЦЬ
ПАРАЗИТИЧНИХ НЕМАТОД З РЯДУ ASCARIDIDA**

**Н.О. ВОЛОШИНА, доктор біологічних наук, доцент
Національний педагогічний університет імені М.П. Драгоманова**

Висвітлені результати досліджень овоцидної ефективності наночастинок металів. Встановлена здатність наночастинок аргенуму, купруму, цинку, магнію і комплексу «Шумерське срібло» згубно впливати на яйця паразитичних нематод тварин з ряду Ascaridida.

Ключові слова: гельмінти, яйця, наночастинки металів, дезінвазія.

Вступ

В умовах антропогенно трансформованого середовища однією з найбільш складних екологічних проблем сьогодення є зростання рівня біологічного забруднення, зокрема паразитарного. Значне поширення угруповань паразитичних зоогельмінтів створює екологічну проблему, яка полягає в інвазуванні хазяїв різних видів та інтенсифікації забруднення довкілля яйцями і личинками паразитів, поглиблює негативні епідеміологічні та епізоотологічні процеси і порушує безпечність середовища існування для людини і домашніх тварин [1, 2].

Існуючі на сьогоднішній день шляхи боротьби з найактуальнішими в соціальному аспекті паразитозами, базуються, переважно, на розірванні взаємозв'язку «паразит-хазяїн» та звільненні організму хазяїна від гельмінта. Водночас, їх пропагативні стадії (яйця і личинки) накопичується та зберігаються у довкіллі, формуючи осередки паразитарного забруднення і створюють високий ризик залучення людини і свійських тварин до структури паразитарної системи [3, 4].

Актуальним залишається питання пошуку ефективних і малотоксичних дезінфекційних засобів, які б володіли широким спектром бактерицидної, віроцидної, фунгіцидної дії та були б дієвими у боротьбі з інвазійними стадіями збудників гельмінтозів. Перспективним у цьому відношенні є вивчення властивостей продуктів нанотехнології, зокрема наночастинок металів, які знаходять застосування у діагностиці, лікуванні і профілактиці різних патологій людини та тварин [5].

Метою досліджень було вивчити активність гідратованих і цитратованих наночастинок аргентуму (Ag), купруму (Cu), цинку (Zn), магнію (Mg) та комплекс «Шумерське срібло» (Cu+Ag) відносно яєць *Ascaridida* різних видів домашніх тварин і порівняти їх овоцидну ефективність.

Матеріал і методи досліджень. Об'єктом дослідження слугували: яйця нематоди свиней – *Ascaris suum* (Goeze, 1782), коней - *Parascaris equorum* (Goese, 1782) та собак – *Toxocara canis* (Werner, 1782) і *Toxascaris leonina* (von Linstow, 1902). Матеріалом досліджень слугували гідратовані та цитратовані наночастинок Mg, Zn, Cu, Ag і комплексу «Шумерське срібло» із вмістом металів 50 мг/дм³, отримані з використанням ерозійно-вибухових технологій (ТУ У 24.6—35291116—003 : 2008) [6].

У першій серії експерименту у чашки Петрі вміщували суспензію об'ємом 2 см³ з неінвазійними яйцями *A. suum* (300-350 яєць). За видом досліджуваної речовини (гідратовані наночастинок Ag, Cu, Mg, Zn, Ag+Cu), було сформовано 5 дослідних груп, кожену з яких поділено на 3 підгрупи за терміном експозиції (30, 60 і 120 хв). Колоїд з вмістом наночастинок металів вносили до кожної з дослідних груп у об'єму 2 см³.

У другій серії експерименту яйця гельмінтів з ряду *Ascaridida* виділені з екскрементів тварин, спонтанно інвазованих паразитичними нематодами, культивували до інвазійної стадії у 2%-у розчині формаліну при температурі 25°C. Термін культивування яєць *T. canis* і *A. suum* складав 15 діб, а *T. leonina* та *P. equorum* – 7 діб, що пов'язано з особливостями індивідуальних циклів розвитку збудників геогельмінтозів.

Для покращення контакту з біологічним об'єктом матеріал був модифікований за методом Каплуненка-Косінова шляхом стабілізації лимонною кислотою та 3%-им водним розчином перекису водню (H_2O_2). За видом цитратованих наночастинок металу, які використовували в якості дослідної речовини було сформовано 5 дослідних груп, у кожному з яких по 4 дослідні та 1 контрольних підгрупи (за видом паразитичних нематод). У чашку Петрі було вміщено суспензію об'ємом 2 см^3 з вмістом яєць паразиту та аналогічний об'єм колоїду з наночастинками одного з п'яти металів у концентрації 50 мг/дм^3 . Термін експозиції складав 120 хв.

У першій та другій серіях експерименту контролем слугували яйця *A. suum*, які не контактували з наночастинками металів.

Після відповідної експозиції з наночастинками металів культуру яєць відмивали двічі у дистильованій воді з використанням центрифуги при 5 тис. об./хв протягом 5 хв та контролювали їх життєздатність загальноприйнятими методами [7].

Оцінку ефективності наночастинок визначали за співвідношенням нежиттєздатних яєць, які загинули після контакту з хімічною речовиною, до їх загальної кількості перед проведенням досліду, виражену у відсотках.

Дослідження проводили на базі акредитованої лабораторії військової частини А 3466 (центр ветеринарного забезпечення Збройних Сил України).

Результати дослідження. На основі експериментальних досліджень встановлено дезінвазійну ефективність гідратованих і цитратованих наночастинок металів відносно найпоширеніших та найстійкіших геогельмінтів тварин з ряду *Ascaridida*.

За результатами першої серії експерименту встановлено, що овоцидний ефект гідратованих наночастинок металів посилювався зі збільшенням експозиції. Порівняно з контролем реєстрували високий ступінь статистичної вірогідності в усіх дослідних групах ($p < 0,001$), а порівняно з стартовими показниками – вірогідність різниці показників сягала від $p < 0,1$ до $p < 0,001$, залежно від виду наночастинок металів.

Як відмічено в таблиці вміст життєздатних яєць у дослідних групах виявився доволі високим – від 31,2 до 66,2%.

Овоцидна активності наночастинок металів $M \pm m$, $n = 5$

Дослідні групи	Експозиція, хв.	Життєздатні яйця <i>A. suum</i> , %
Ag	30	66,2±1,76
	60	58,6±1,32**
	120	50,4±1,36***
Контроль		97,3±1,19
p, відносно контролю		p<0,001
Cu	30	64,1±1,72
	60	53,7±1,36***
	120	46,9±0,96***
Контроль		94,9±1,17
p, відносно контролю		p<0,001
Ag+Cu	30	48,1±0,72
	60	42,5±0,45***
	120	31,2±0,72***
Контроль		96,1±1,0
p, відносно контролю		p<0,001
Mg	30	55,4±1,08
	60	51,9±0,96*
	120	48,7±1,52**
Контроль		92,3±1,72
p, відносно контролю		p<0,001
Zn	30	57,1±0,45
	60	50,6±0,79***
	120	45,4±0,32***
Контроль		97,5±1,17
p, відносно контролю		p<0,001

Примітка. Вірогідність різниці: * – $p < 0,1$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$

порівняно з показником за стартової експозиції

Максимально ефективним виявилось поєднане застосування аргентуму і купруму у нанорозмірі, після контакту з якими реєстрували найменшу частку життєздатних яєць *A. suum* (в середньому 40,6%), а найвищий показник – при обробці наночастинками аргентуму (58,4%).

Важливо відмітити, що протягом спостережень відсоток деформованих яєць *A. suum* вірогідно ($p < 0,001$) збільшувався з подовженням терміну культивування, що свідчить про загибель зародка гельмінта.

На десятий день культивування ступінь деформації яєць аскариди у дослідних групах складала: 9,7% при контакті з наночастинками цинку, 10,8% – магнію, 7,2% – купруму та 6,4% – комплексу «Шумерське срібло». На 20-у добу експерименту після 120-и хвилинної експозиції з наночастинками аргентуму було виявлено лише 4,2% деформованих зародків паразита. У контрольних групах жодних візуальних змін у зовнішньому вигляді зародків не реєстрували, а починаючи з 20-ї доби культивування всередині яєць формувалися рухливі личинки. Частка нежиттєздатних яєць *A. suum* знаходились у межах від 2,5 до 7,7%.

У другій серії експерименту ефективність усіх п'яти досліджуваних наночастинок металів відносно збудників аскаридозів різних видів тварин виявилася доволі високою: від 87,6 до 100%. Більшість з них проявили ефективність, що перевищує 90%-й бар'єр і вважається задовільною характеристикою овоцидного засобу (рис.).

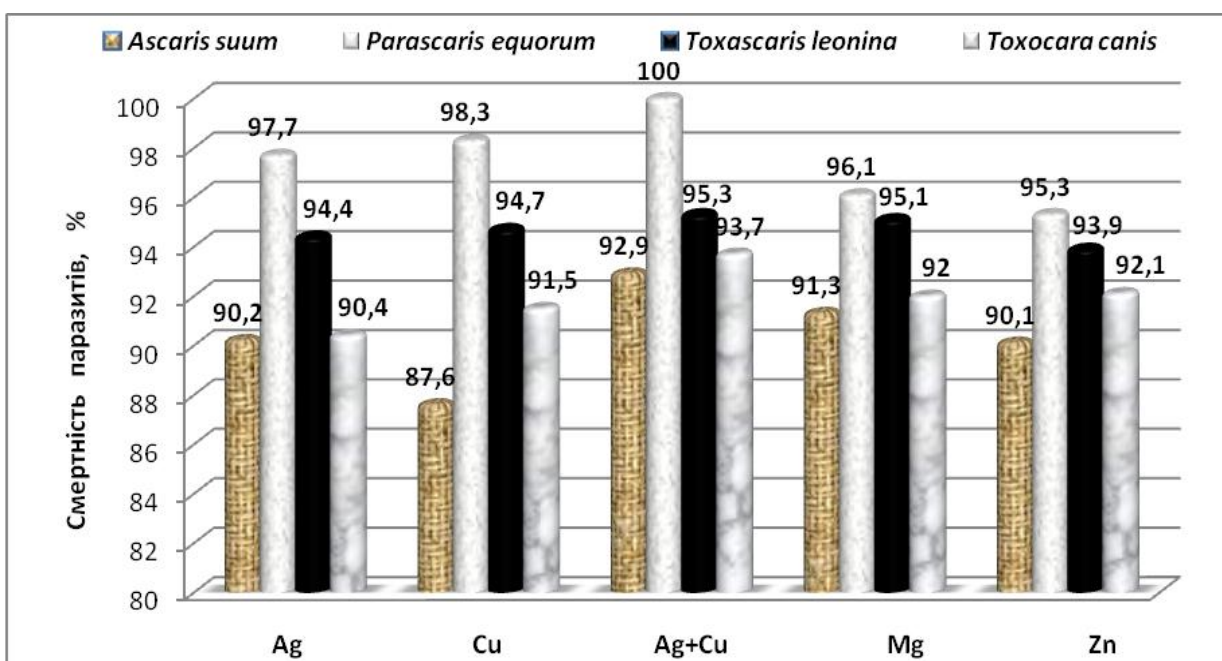


Рис. Дезінвазійна ефективність наночастинок металів за дії на яйця нематод з ряду Ascidida (концентрація – 50 мг/дм³, експозиція – 120 хв)

Найвищу активність реєстрували при контакті яєць нематод з комплексом «Шумерське срібло», ефективність якого сягала від 92,9 до 100%. Цей колоїд містив наночастинки металів-синергістів аргентуму і купруму у вигляді срібно-мідних агломератів, чим, на нашу думку, може бути обумовлений отриманий результат. Їх сумісна овоцидна дія виявилася значно вищою, ніж при використанні кожного металу окремо.

Загалом середній показник овоцидної дії цитратованих наночастинок аргентуму на збудники аскаридозів тварин складав 93,2%, купруму – 93,0%, «Шумерського срібла» – 95,5%, магнію – 93,6% та цинку – 92,8%.

Встановлено, що ступінь прояву знезаражуючої дії металів у нанорозмірному стані залежить від виду збудника. Так, найвища овоцидна активність (в середньому 97,5%) проявилась при контакті наночастинок металів з яйцями *P. equorum*. Дещо нижчою виявилася активність усіх наночастинок металу проти яєць *T. leonina* і *T. canis* (94,7 та 91,9%, відповідно). Найстійкішими серед видів з ряду *Ascaridida* виявилися *A. suum* (90,4%). Максимальний показник втрати їх яйцями життєздатності реєстрували після контакту колоїду з вмістом наночастинок купруму (87,6%), а найвищу дезінвазійну ефективність реєстрували при застосуванні композиції «Шумерське срібло» та магнію – 92,9 і 91,3%, відповідно. На нашу думку, ступінь прояву овоцидного ефекту металів у нанорозмірному стані прямо пов'язаний з особливостями будови системи захисних оболонок яєць аскаридів різних видів.

У контрольному варіанті життєздатність яєць нематод складала: для *A. suum* – 98,3%, *T. canis* – 100%, *T. leonina* – 99,1% і *P. equorum* – 97,7%.

Отже, встановлено що гідратовані та цитратовані наночастинки аргентуму, купруму, комплексу «Шумерське срібло», магнію та цинку проявляють виражену овоцидну дію проти інвазійних яєць аскаридів: *A. suum*, *T. canis*, *T. leonina* і *P. equorum*. Втрата ними життєздатності сягала в середньому 93,6%, що дозволяє говорити про перспективність подальших

досліджень дезінвазійної ефективності наночастинок металів і доцільність розробки на їх основі засобів для контролю паразитарної ситуації і мінімізації рівня паразитарного забруднення довкілля.

Висновок

Експериментально доведено здатність наночастинок металів: аргентуму, купруму, цинку, магнію і комплексу «Шумерське срібло» у концентрації 50 мг/дм³ та за експозиції 120 хв згубно впливати на яйця геогельмінтів з ряду *Ascaridida*. Прояв дезінвазійної дії залежить від виду збудника, експозиції, концентрації та виду металу у нанорозмірному стані, з яким контактує інвазійний елемент. Найстійкішими проти дії наночастинок металів виявилися яйця нематоди *A. suum*. Найвищу овоцидну активність проявив комплекс «Шумерське срібло», середній показник якого склав 95,5%.

Список літератури

1. Ройтман В. А. Паразитизм как форма симбиотических отношений / В. А. Ройтман, С. А. Беэр. — М.: РАН, 2008. — 310 с. — (Монография).
2. Бодня Е. И. Проблема паразитарных болезней в современных условиях / Е. И. Бодня // Сучасні інфекції. — 2009. — № 1. — С. 4—11.
3. Визначення нематоцидних властивостей дезінфікуючих препаратів вітчизняного виробництва / Довгій Ю.Ю., Фещенко Д.В., Сергієнко О.І. [та ін.] // Науково-технічний бюлетень інституту біології тварин та ДНДКІВКД. — 2008. — Вип. 9, № 4. — С. 248—252.
4. Черепанов А. А. Профилактика социально опасных болезней в системе экологических мероприятий / А. А. Черепанов, Н. Л. Новиков // Тр. Всерос. ин-та гельминтологии. — 2003. — Т. 39. — С. 268—287.
5. Наноматеріали в біології. Основи нановетеринарії: посібник / [В.Б. Борисевич, В.Г. Каплуненко, М.В. Косінов, та ін]; за ред. В.Б. Борисевича, В.Г. Каплуненко. — К.: ВД «Авіцена», 2010. — 416 с.

6. Пат. 29854 Україна, МПК А61N 1/40, ВО1J 13/00, НО1J 19/00 Спосіб отримання негативно заряджених наночасток «Ерозійно-вибухова технологія отримання негативно заряджених наночасток» / Каплуненко В.Г., Косинов М.В.; заявник та патентоволодар Каплуненко В.Г., Косинов М.В.; Заявл. 13.06.2007; опубл. 25.01.08, Бюл. № 2.
7. Романенко Н. А. Санитарная паразитология : руководство для врачей / Романенко Н. А., Падченко И. К., Чебышев Н. В. – М.: Медицина, 2000. – 342 с.

Активность наночастиц металлов относительно яиц паразитических нематод одряда Ascaridida

Н.А. Волошина

Освещены материалы исследований овоцидной эффективности наночастиц металлов. Установлена способность наночастиц серебра, меди, цинка, магния и комплекса «Шумерское серебро» губительно воздействовать на яйца паразитических нематод из отряда Ascaridida.

Ключевые слова: *гельминты, яйца, наночастицы металлов, дезинвазия.*

Activity nanoparticles of metals concerning eggs nematodes of group Ascaridida

N.O.Voloshyna

Materials of researches of ovocycle efficiency of nanoparticles of metals. Ability nanoparticles of silver, copper, zinc is established, magnesium and a complex «Sumer silver» to show pernicious action on eggs of parasitic nematodes group Ascaridida.

Key words: *helminthes, eggs, nanoparticles of metal, desinvazion.*