

УДК 619 : 618. 11–(075.8)

КОБИЛЮХ І.Б.*, email: terdosvet@meta.ua

Тернопільська дослідна станція Інституту ветеринарної медицини НААН України

СТРАВСЬКИЙ Я.С., д-р. вет. наук, email: terdosvet@meta.ua,

Тернопільська дослідна станція Інституту ветеринарної медицини НААН України

РЕЗНІЧЕНКО Л.С., канд. біол. наук, email: Reznichenko L S @mail.ru

Інститут біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України

ВПЛИВ СУПОЗИТОРІЇВ ІЗ ВМІСТОМ НАНОЧАСТИНОК ФЕРУМУ НА ГУМОРАЛЬНУ ЛАНКУ ІМУННОЇ СИТЕМИ ОРГАНІЗМУ КОРІВ

Експериментальну субстанцію із вмістом наночастинок Феруму було введено у супозиторії на поліетиленоксидній основі. Виготовлені супозиторії вводилися коровам внутрішньоматково після відходження посліду. Встановлено, що після застосування коровам супозиторіїв з наночастинками Феруму в їх організмі підвищується вміст сироваткових імуноглобулінів класу А в 3,9 рази ($p \leq 0,01$), а вміст імуноглобулінів класу М в 2,8 рази ($p \leq 0,001$). В цей же час знижується вміст імуноглобулінів класу G в 4 рази ($p \leq 0,001$). Після застосування коровам супозиторіїв із вмістом наночастинок Феруму тривалість сервіс-періоду скорочується на 14 діб ($p \leq 0,05$), а індекс осіменіння зменшується на 0,2 одиниці у порівнянні з коровами контрольної групи.

Ключові слова: *корова, отел, супозиторії, наночастинки Феруму, імуноглобуліни, сервіс-період, індекс осіменіння.*

Вступ. Стрімкий розвиток нанотехнологій призвів до їх широкого застосування в різних галузях науки і техніки. Використання наночастинок обумовлене, в основному, їх фізико-хімічними властивостями, представленими об'єктами розміром 1–100 нм.

Встановлено, що наночастинки деяких металів (золото, срібло) можуть легко проходити плазматичні мембрани клітин [1, 2], інші (Al_2O_3 , TiO_2 і Fe_2O_4), навпаки, накопичуються на їх поверхні [3, 4], а деякі з них володіють бактеріо- і цитотоксичною дією [2, 3].

Застосування комплексних сполук-наноаквахелати в лікувальній практиці є альтернативою використання антибіотиків у терапії продуктивних тварин, що попереджує ризик виникнення резистенції до антибіотиків у споживачів тваринницької продукції [5].

На відміну від антибіотиків і фторхінолонів у 91% випадків збудники маститу корів були чутливими до комплексу наноаквахелатів металів [6]. При лікуванні корів, хворих на мастит, наноаквахелатами металів перехід запалення у субклінічну форму відмічали тільки у 14,8% випадків, а застосування їх з профілактичною метою попереджувало розвитку маститу в 93–95% випадків [6]. При затриманні посліду знижувало захворюваність корів ендометритом на

* Здобувач

30%, тривалість інволюції матки скорочувалася на 4,6 доби, а сервіс-період на 15,2 доби [6, 7].

Отже, розробка лікувальних та профілактичних засобів, де наночастинки металів володіють широким спектром дії, високою біологічною активністю та низькою токсичністю є актуальною.

Мета роботи: створення супозиторіїв із вмістом наночастинок Феруму та дослідження їх впливу на стан гуморальної ланки імунної системи організму корів і перебіг у них післяродового періоду.

Матеріали і методи досліджень: Дослідження проведено на коровах української молочної чорно-рябої породи належних ТОВ «Агропродсервіс-інвест» Тернопільської області, а також в лабораторії ветеринарного акушерства та гінекології Тернопільської дослідної станції ІВМ НААН.

Синтез наночасток Феруму було здійснено методом хімічної конденсації у водному середовищі за оригінальним протоколом, розробленим в Інституті біоколодної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України. Розмір і форму наночастинок Феруму визначали методом трансмісійної електронної мікроскопії (трансмісійний електронний мікроскоп JEM-1230, JEOI LTD) Японія. Субстанцію наночастинок Феруму у дозі 900 мкг на супозиторій (10 ± 2) було введено у супозиторії на основі поліетиленоксиду – 400 і 1500. Дослідження супозиторіїв із вмістом наночастинок Феруму проведено відповідно до методики доклінічних досліджень ветеринарних лікарських засобів (Львів, 2006) [8].

На наступному етапі роботи було проведено клінічне дослідження розроблених нами супозиторіїв із наночастинками Феруму. Для цього було сформовано дослідну і контрольну групи корів ($n=10$). Коровам дослідної групи внутрішньоматково, після відходження посліду (через 7–8 годин після отелення), вводили два супозиторії із наночастинками Fe, а коровам контрольної групи препарати не застосовували.

Визначення у сироватці крові вмісту імуноглобулінів класів А, М, G проводили методом дискретного осадження [9].

У корів дослідної та контрольної групи стежили за перебігом післяродового періоду, визначали тривалість сервіс-періоду і індекс осіменіння [10].

Отримані результати опрацьовано статистично з використанням програм Microsoft Excel і Statistika 99 Edition, дані вважалися вірогідними при $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ та $p \leq 0,001$ [11].

Результати досліджень та їх обговорення. Визначення розміру і форми синтезованих наночастинок Феруму, проведене методом трансмісійної електронної мікроскопії, засвідчило, що синтезовані наночастинки мали сферичну форму та середній розмір 40 нм.

Відлік післяродового періоду починається з моменту відходження посліду тому в цей час важливо приділяти достатньо уваги за перебігом інволюції статевої системи. На 7–8 добу післяродового періоду у корів контрольної групи виділялися густі лохії світло-коричневого кольору, без

запаху, однорідної консистенції. При ректальному дослідженні матка скорочувалась, а її збільшений ріг, у якому був плід, після масажу переміщався в тазову частину. На 14 добу після отелу лохії за кольором і консистенцією були як білок яйця.

У корів контрольної групи на 14 добу після родів лохії були темно-коричневого, а в деяких корів буро-червоного кольору напіврідкої консистенції з домішками крові і тканин із специфічним запахом. При ректальному обстеженні встановлено, що роги матки в 1–2 рази більші як у корів дослідної групи та на дві третини опущенні в черевну порожнину.

З даних таблиці 1 видно, що після внутрішньоматкового застосування супозиторіїв з наночастинками Феруму в організмі корів підвищується вміст сироваткового імуноглобуліну А в 2,4 рази ($p \leq 0,01$), а вміст імуноглобулінів класу М в 1,9 рази ($p \leq 0,01$). В цей же час знижується вміст імуноглобулінів класу G в 2,6 рази ($p \leq 0,001$).

Таблиця 1

Вміст імуноглобулінів у крові корів до і після застосування супозиторіїв із вмістом наночастинок Феруму, $n = 10$, $M \pm m$

Показники		Групи корів	
		Контрольна	Дослідна
Імуноглобуліни, г/л	А	$0,07 \pm 0,01$	$0,21 \pm 0,01$
		$0,08 \pm 0,01$	$0,52 \pm 0,02^{**}$
	М	$1,06 \pm 0,04$	$1,08 \pm 0,11$
		$1,07 \pm 0,05$	$2,08 \pm 0,10^{**}$
	G	$4,83 \pm 0,08$	$10,52 \pm 1,16$
		$5,01 \pm 0,09$	$4,04 \pm 0,01^{***}$

Примітка: у чисельнику показник до введення, у знаменнику – після введення: ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$ порівняно до введення.

Отримані нами дані дають підставу стверджувати, що після внутрішньоматкового введення супозиторіїв з наночастинками Феруму в організмі корів активно відбувається секреція імуноглобулінів класу А, які забезпечують місцевий імунітет та запобігають розвитку статевих інфекцій у післятотельний період. Підвищення вмісту імуноглобулінів класу М свідчить про активацію комплементарної системи організму корів після введення супозиторіїв, а зниження вмісту імуноглобулінів класу G про активацію процесу поглинання та перетравлення антигенів фагоцитами. В цей же час у корів контрольної групи вміст імуноглобулінів після закінчення дослідів суттєво не відрізнявся порівняно із показниками до дослідів.

З даних наведених в таблиці 2 видно, що після застосування коровам супозиторіїв із наночастинками Феруму тривалість сервіс-періоду скоротилась на 14 діб ($p \leq 0,05$), а індекс осіменіння зменшився на 0,2 одиниці у порівнянні з коровами контрольної групи.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Застосування коровам, після відходження посліду, супозиторіїв із вмістом наночастинок Феруму сприяє підвищенню вмісту імуноглобулінів класу А і класу М, знижує

вміст імуноглобулінів класу G, запобігає розвитку субінволюції матки та створює передумови до відновлення відтворної функції після родів.

Перспектива подальших досліджень полягає у вивченні впливу супозиторіїв на перебіг тільності у корів та стан білкового жирового та вуглеводного обміну.

Таблиця 2

Відтворна функція корів після застосування супозиторіїв із вмістом наночастинок Феруму, n = 10, M ± m

Групи корів	Сервіс-період (діб)	Індекс осіменіння
Контрольна	102,3±5,6	1,8
Дослідна	88,2±3,2*	1,6

Примітка: * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Connor E.E. Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity / E.E. Connor, J. Mwamuka, A. Gole, C.J. Murphy, M.D. Wyatt // Small. – 2005. – № 1. – P. 325–327.
2. Morones J.R. The bactericidal effect of silver nanoparticles / J.R. Morones, J.L. Elechiguerra, A. Camacho, K. Holt, J.B. Kouri, J.T. Ramirez, M.J. Yacaman // Nanotechnology. – 2005. – № 16 (10). – P. 2346–2353.
3. Lin W. Cytotoxicity and cell membrane depolarization induced by aluminum oxide nanoparticles in human lung epithelial cells A549 / W. Lin, I. Stayton, Yu-W. Huang, X.-D. Zhou, Y. Ma // Toxicological & Environmental Chemistry. September-October 2008. – Vol. 90, № 5. – P. 983–996.
4. Ankamwar B. Biocompatibility of Fe₃O₄nanoparticles evaluated by in vitro cytotoxicity assays using normal, glia and breast cancer cells / B. Ankamwar, T.C. Lai, J.H. Huang, R.S. Liu, M. Hsiao, C.H. Chen, Y.K. Hwu // Nanotechnology. – 2010. – № 21(7). – P. 75–102.
5. Нанотехнології у ветеринарній медицині / В.Б. Борисевич, Б.В. Борисевич, В.Г. Каплуненко та ін. – К.: ТОВ Наноматеріали і нанотехнології, 2009. – 232 с.
6. Наноматеріали и нанотехнологии в ветеринарной практике / В.Б. Борисевич, В.Г. Каплуненко, Н.В. Косинов [и др.] под ред. В. Б. Борисевича, В.Г. Каплуненко. – К.: Авіцена, 2012. – 512 с.
7. Жихарев И.В. Нанотехнологии в мире и Украине: проблемы и перспективы / И.В. Жихарев, В.И. Ляшенко // Економічний вісник Донбасу. – 2007. – № 1. – С. 117–145.
8. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / [І.Я. Коцюмбас, О.Г. Малик, І. П. Петерега [та інші]]. – Львів: Тріада плюс, 2006. – 360 с.
9. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / [Кондрахин И.П., Архипов А.В., Левченко В.И. и др.]: под ред. И.П. Кондрахина. – М.: КолосС, 2004. – 520 с.
10. Методика акушерской и гинекологической диспансеризации коров и телок / [Зверева Г.В., Хомин С.П., Олескив В.Н. и др.]. – Львов: Львовский зовет ин-т, 1989. – 39 с.
11. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин– М.: Высшая школа, 1990. – 351 с.

ВЛИЯНИЕ СУППОЗИТОРИЕВ С СОДЕРЖАНИЕМ НАНОЧАСТИЦ ФЕРУМА НА ГУМОРАЛЬНОЕ ЗВЕНО ИММУННОЙ СИТЕМЫ ОРГАНИЗМА КОРОВ / Кобылюх И.Б., Стравський Я.С., Резниченко Л.С.

Создано експериментальную субстанцию с содержанием наночастиц ферума, которую ввели в состав суппозиториев на полиэтиленоксидной основе. Установлено, что после введения коровам в матку суппозиториев с содержанием наночастиц ферума в их организме повышается в 3,9 раза ($p \leq 0,01$) количество секреторных иммуноглобулинов

класа А, иммуноглобулинов класа М в 2,8 раза ($p \leq 0,001$), а количество иммуноглобулинов класа G снижается в 4 раза ($p \leq 0,001$). Применения коровам суппозиториев с содержанием наночастиц ферума профилактует развитие субинволюции матки, что положительно влияет на течение послеродового периода и способствует сокращению сервис-периода на 14 ($p \leq 0,05$) суток, а индекса осеменения на 0,2 единицы в сравнении с коровами контрольной группы.

Ключевые слова: корова, отел, суппозитории с наночастицами Ферума, иммуноглобулины, сервис-период, индекс осеменения.

INFLUENCE OF SUPPOSITORIES WITH CONTENT OF Fe NANOPARTICLES ON IMMUNOLOGICAL SYSTEM OF ORGANISM OF COWS / Kobylukh I.B., Stravsky Y.S., Reznichenko L.M.

Introduction. The rapid development of nanotechnology has led to their widespread use in various fields of science and technology. The use of nanoparticles caused, mainly, their physical and chemical properties represented by objects of the 1–100 nm size.

Applying of complex metal nanoparticles compounds in medical practice is an alternative of antibiotics use in the farm animal's treatment that is preventing the risk of antibiotic resistance in consumers of livestock products. Thus, the development of means where metal nanoparticles have a wide spectrum of action, high biological activity and low toxicity is important.

The goal of the work. Construct suppositories containing copper nanoparticles and examine their impact of immunological system and postnatal period.

Materials and methods. Experiment was conducted in LLC "Agroprodservice invest" of Ternopil oblast in dairy cattle of Ukrainian black and white breed. Biochemical studies conducted in the laboratory of veterinary obstetrics and gynecology of Ternopil Research Station of the Institute of Veterinary Medicine the of NAAS.

Research of cow's blood for the content of immunoproteins A, M, G was conducted at the beginning and the end of postnatal period, after suppositories containing copper nanoparticles application.

Results of research and discussion. After intrauterine application of suppositories with Fe nanoparticles in cow's organism content of secretory immunoglobulin A increased in 3.9 times ($p \leq 0,01$), the content of immunoglobulin M increased in times 2.8 ($p \leq 0,001$) and the content of immunoglobulin G reduced in 4 times ($p \leq 0,001$).

Our data give reason to suggest that in the cow's organism the immunoglobulin A is actively produced by endometrium and provided the local immunity and prevent the development of genital infections in the postnatal period. Increase of immunoglobulin M after suppositories application indicate the activation of the complementary system of the cow's organism and reduction of immunoglobulin G activation process indicate the absorption and digestion of antigens by phagocytes.

After application of suppositories containing nanoparticles of Fe in cows the duration of the service period reduced by 14 days ($p \leq 0,05$) and insemination index decreased by 0.2 units compared to control group.

Conclusions and prospects for further research. After intrauterine application of suppositories with Fe nanoparticles in the body of cows increased the content of immunoglobulin A in 3.9 times ($p \leq 0,01$), the content of immunoglobulin M 2.8 in times ($p \leq 0,001$) and reduced the content of immunoglobulin G 4 in times ($p \leq 0,001$).

The use of suppositories with Fe nanoparticles prevent the development of a uterus involution and reduce the length of service period on 14 days ($p \leq 0,05$) and insemination index 0.2 units.

Keywords: postnatal period, suppositories copper nanoparticles, immunoproteins A, M, G, service-shortened period, insemination index.

REFERENCES

1. Connor, E.E., Mwamuka, J, Gole, A., & Murphy, C.J. (2005). Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity. *Small*, 1, 325-327.
2. Morones, J.R, Elechiguerra, J.L, Camacho, A., Holt, K., et al. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16 (10), 2346-2353.
3. Lin, W., Stayton, I., Huang, Yu-W., Zhou, X.-D. & Ma, Y. (2008). Cytotoxicity and cell membrane depolarization induced by aluminum oxide nanoparticles in human lung epithelial cells A549. *Toxicological & Environmental Chemistry*. Vol.90, 5, 983-996.
4. Ankamwar, B., Lai, T. C., Huang, J. H., Liu, R. S., et al. (2010). Biocompatibility of Fe₃O₄ nanoparticles evaluated by in vitro cytotoxicity assays using normal, glia and breast cancer cells. *Nanotechnology*, Vol 21(7), 75-102.
5. Borysevych, V.B., Borysevych, B.V., & Kamplunenko, V.H. (2009). *Nanotekhnolohiia u veterynarnii medytsyni [Nanotechnology in veterinary medicine]*. TOV Nanomaterialy i nanotekhnolohii [in Ukrainian].
6. Borysevych, V.B., Borysevych, B.V., & Kamplunenko, V.H. (2012) *Nanomaterialu i nanotekhnolohiia u veterynarnii praknitsi [Nanomaterials and nanotechnologies in veterinary practice]*. Kiev: Avicena [in Ukrainian].
7. Gixarev, IV. & Lachenko V.I. (2007). Nanotekhnolohii v mire i Ukraini problem i perspetivu – Nanotechnologies in the world and in Ukraine: problems and prospects. *Ekonomichnu visnuk Donbasu – Economic Bulletin of Donbas*, Vol 1, 117-145 [in Ukrainian].
8. Kocumbas, I.Y., Malik, O.H., Petereha, I.P., et al. (2006). *Doklinihni doslidsena veterunarnux likarskux zasobiv [Preclinical studies of veterinary medicines]*. Lviv: Triada plus [in Ukrainian].
9. Kondraxon, I.P., Arxipov, A.V. & Levchenko V.I. (2004). *Metodu veterinarnoi klinicheskoi laboratornoi diagnostiki [Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics]*. Moskov: Kolos S [in Russian].
10. Zvereva, H.V., Chomin, S.P. & Oleskiv, V.N. (1989). *Metodika akucherskoi I ginekologicheskoi dispanserizacii korov i tolok [Methods of obstetrical and gynecological examination of cows and heifers]*. Lvov: Lvovskii zoovet inst. [in Ukrainian].
11. Lakin, H.F. (1990). *Biometria [Biometrics]*. Moskow: Vuszai chkola [in Russian].

УДК 619.22.28:614.48:615.9:636.065

КОВАЛЕНКО В.Л., д-р вет. наук, ст. наук. сп., e-mail: kovalenkodoktor@gmail.com

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів

ЗАГРЕБЕЛЬНИЙ О.В., лікар вет. мед. e-mail: kvl_c@mail.ru

Державний НДІ з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи

СИНИЦІН В.А., д-р вет. наук, ст. наук. сп.

Державний центр інноваційних біотехнологій

ВИЗНАЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ БАКТЕРИЦИДНИХ ЗАСОБІВ НА М'ЯСОПЕРЕРОБНИХ ПІДПРИЄМСТВАХ

Наведено порівняльний аналіз ефективності дезінфекції бактерицидними засобами, залежно від ступеня забруднення поверхні приміщення м'ясопереробного підприємства та