

Як, видно з даних таблиці 2, кращі результати отримані в 1-й дослідній групі при застосуванні препарату гінобіотик. У цій групі ефективність профілактики була на 18,8 % вищою в порівнянні з контрольною групою. Крім того, спостерігаючи в подальшому за показниками відтворення репродуктивної функції у корів, відмічали, що порівняно з тваринами контрольної групи достовірно зменшився ($P < 0,05$) термін завершення інволюції статевих органів (на 8,7 доби) та термін прояву першої статевої охоти (на 17,5 доби). Порівняно з тваринами контрольної групи, у корів 1-ї групи тривалість сервіс-періоду і днів неплідності була меншою на 23,2 доби ($P < 0,01$). До того ж, запліднилося у 1-й групі в 1-шу охоту – 73,3 %, в другу – 13,3 % і в третю – 6,7 %, тобто заплідненість по групі становила 93,3 %, а індекс осіменіння становив $1,3 \pm 0,2$.

Аналіз результатів дослідження показав, що у корів 2-ї дослідної групи ефективність профілактики була на 6,3 % вищою у порівнянні з контролем, а термін завершення інволюції статевих органів та термін прояву першої статевої охоти меншим на 6,3 і 13,5 доби, відповідно. Тривалість сервіс-періоду і днів неплідності на одну тварину скоротилася на 15,5 днів. Заплідненість у тварин цієї групи становила 84,6 %, з них в першу охоту запліднилося – 61,5 %, в другу – 7,7 % і в третю – 15,4 %, індекс осіменіння становив $1,5 \pm 0,2$.

Проведені випробування показали, що застосування препаратів гінобіотик і утракур з метою профілактики післяродової патології, у порівнянні з використанням метромаску, дозволяє скоротити тривалість неплідності на 12,2–19,9 днів, знизити індекс осіменіння на 0,2–0,3 і домогтися збільшення тільності від першого осіменіння на 23,3–11,5 %.

Висновки. 1. Патологія другої та третьої стадії родів – затяжні роди з кволюю родовою діяльністю, патологією виведення плода, затриманням посліду призводить до ризику виникнення патології репродуктивних органів у післяродовому періоді, найчастіше у вигляді субінволюції матки та гострого метриту.

2. Встановлено, що застосування внутрішньоматкових введень препарату гінобіотик у складі комплексної схеми профілактики післяродової патології забезпечило найвищу профілактичну ефективність цього заходу.

Список літератури

1. Яблонський, В.А. Відтворювальна здатність корів в умовах кризового стану господарства [Текст] / В.А. Яблонський, В.Й. Любецький, С.К. Юхимчук // *Наук. вісн. НАУ.* – 2000. – № 22. – С. 75–78.
2. Яблонський, В.А. Проблеми відтворення тварин [Текст] / В.А. Яблонський // *Вет. медицина України.* – 2007. – № 3. – С. 42–43.
3. Еремін, С.П. Методи ранньої діагностики патології органів розмноження у корів [Текст] / С.П. Еремін // *Ветеринарія.* – 2004. – № 4. – С. 38–41.
4. Зверева, Г.В. Основні принципи лікування корів при симптоматичній неплідності [Текст] / Г.В. Зверева // *Наук. вісн. НАУ.* – 2000. – № 22. – С. 28–30.
5. Хомин, С.П. Етіопатогенез і значення акушерської патології в етіології неплідності корів [Текст] / С.П. Хомин // *Наук. вісн. Львів. держ. акад. вет. медицини ім. С.З. Гжицького.* – 2002. – Т. 4, № 5. – С. 222–225.
6. Рекомендації з профілактики неплідності худоби [Текст] / Г.В. Зверева [та ін.]. – К., 2001. – 19 с.
7. Великанов, В.И. Профілактика бесплодия коров [Текст] / В.И. Великанов, А.Д. Ярушин, А.И. Молев // *Вет. консультант.* – 2003. – № 16. – С. 22–23.
8. Ордін, Ю.М. Поширення субінволюції та ендометриту залежно від перебігу родів у корів [Текст] / Ю.М. Ордін, Г.Г. Харута, Б.П. Івасенко // *Наук. вісн. НАУ.* – 2000. – № 22. – С. 41.
9. Шарпа, Г.С. Відтворювальна здатність абердин-ангуських корів [Текст] / Г.С. Шарпа // *Розведення і генетика тварин.* – 1999. – Вип. 41. – С. 279–280.
10. Сірацький, І. Профілактика захворювань репродуктивних органів у корів [Текст] / І. Сірацький, М. Семенченко // *Тваринництво України.* – 2008. – № 6. – С. 29–30.
11. Завірюха, В.І. Патологія органів розмноження та стимуляція продуктивності корів [Текст] / В.І. Завірюха, Б.М. Куртяк. – Львів : ТеРус, 1999. – 148 с.

EFFECTIVENESS OF UTERINE DRUGS FOR THE PREVENTION OF POSTPARTUM PATHOLOGY IN COWS

Lozova L.V., Borodynia V.I., Fedorov, T.V.

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv

The results of studies to determine the effectiveness of use at the integrated prevention of postpartum pathology in cows with the risk of pathology development, preparations for intrauterine use are presented in the paper. The most effective was the prevention scheme, which included drug ginobiotik.

УДК 579.842.1/2 +579.61:616.34-002

ПРОТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ХІТОЗАНУ ТА ІОНІВ СРІБЛА У СКЛАДІ ГІДРОКСИАПАТИТНИХ ПОКРИТТІВ НА МЕТАЛЕВИХ ІМПЛАНТАТАХ

Кучма І.Ю., Суходуб Л.Б., Мельник А.Л., Парусов А.В., Черняєва Т.А.

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМНУ», м. Харків

Розробка біокompatибельних матеріалів медичного призначення є одним з актуальних науково-практичних напрямів сьогодення. Особливу групу біоматеріалів складають імплантати, що використовуються в ортопедії, травматології та стоматології. Для забезпечення остеоінтеграції з кістковими тканинами на поверхню металевих імплантатів наносять біоактивні покриття, серед яких кальцій-фосфатні, у т.ч. на основі гідроксиапатиту – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_3(\text{OH})_2$, є найбільш перспективними, оскільки ГА є основною мінеральною складовою природної кістки [1]. Однак при цьому подібні покриття в фізіологічних умовах сприяють адгезії та проліферації не тільки клітин-компонентів утвореної нової кістки, а і патогенних мікроорганізмів [2–4]. Для зменшення ризику розвитку імплантат-асоційованих інфекцій в кальцій-фосфатні покриття доцільно додавати протимікробні препарати. Факти, що синтетичні протимікробні засоби можуть бути цитотоксичними та гальмувати формування нової кісткової тканини на ранній стадії, а також мультirezистентність ряду патогенних мікроорганізмів до антибіотиків, спонукали нас ввести до складу композитного покриття на титанових платинах природний біополімер-хітозан та іони срібла. Хітозан за своєю хімічною структурою – полісахарид (рис. 1), похідне хітину, одним з природних джерел якого є панцири ракоподібних.

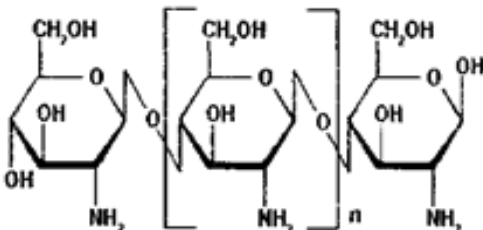


Рис. 1 Хімічна структура хітозану

Завдяки наявності в полімерному ланцюзі аміногруп, які у водно-кислотних середовищах при значенні $\text{pH} < 6,5$ протонуються, утворюючи NH_3^+ групи, молекули хітозану набувають позитивного заряду, що сприяє їх локалізації біля негативно заряджених поверхонь, утворенню хелатів з іонами металів [5]. Протимікробні властивості як розчинів хітозану, так і іонів срібла [6–8] описані в літературі.

Метою роботи було дослідження протимікробної активності хітозану та срібла у складі композитних покриттів на основі ГА відносно *E. coli* ATCC 25922.

Матеріали та методи досліджень. Предметом дослідження стали композитні матеріали на основі ГА з різним вмістом хітозану та іонів срібла, які у вигляді покриттів були нанесені на титанові пластини методом термічної депозиції [9–11], а також музейний штам *E. coli* ATCC 25922 (ДУ «ІМІ ПАНУ»), рекомендований для вивчення антибактеріальних властивостей досліджуваних препаратів.

Для приготування вихідної композиції використано хітозан з молекулярною масою 200 кДа та ступенем деацетилювання 87 % (Haidebei Marine Bio, Ltd, Jinan, China), розчин оцтової кислоти з концентрацією 1,0 мас. %, розчини солей CaCl_2 (10 ммоль/л) та Na_2HPO_4 (6 ммоль/л), а також розчин іонів срібла з концентрацією 1 мг/л, (електроліз з розчинним срібним анодом). Суспензія мікроорганізмів відповідала 0,5 одиницям оптичної щільності за шкалою Mc Farland, приготовлена з використанням приладу Densi-La-Meter (виробник PLIVA-Lachema, Чехія, довжина хвилі 540 нм) згідно інструкції до приладу та методики [12, 13].

Дослідження протимікробної дії хітозану та іонів срібла у складі покриттів на основі ГА проведено спектрофотометричним методом на приладі СФ-56 при довжині хвилі 540 нм. В основі методу лежить вимір світлопоглинаючих властивостей клітинних культур. Оптичну щільність бактеріальної культури визначали за ефектом світлорозсіювання, яке є пропорційним концентрації клітин в середовищі [14]. Всього проведено 3 серії вимірів по кожному зразку та обчислено середнє арифметичне значення.

Результати досліджень. Досліджували 3 типи зразків, а саме: покриття з ГА на титановій пластині без додавання протимікробного засобу (контроль); покриття з ГА з додаванням іонів срібла Ag^+ трьохкомпонентне покриття, що включало плівку хітозану (5 г/л хітозану в 1,0 мас. % розчині оцтової кислоти), на яку нанесено ГА з Ag^+ . Уміст срібла в одному грамі маси покриттів становив 4,75 мг та 4,19 мг відповідно (дані отримано методом атомно-адсорбційної спектрометрії на приладі КАС-120.1). Експериментальні зразки були занурені в пробірки з фізіологічним розчином (0,9 мас. % NaCl), кислотність якого доведено до значення $\text{pH}=6$ додаванням кількох крапель соляної кислоти. До розчину додано 0.1 мл суспензії *E. coli* на 1 мл розчину. Значення pH обране так, щоб не досягало ізоелектричної точки хітозану, яка коливається від 6,5 до 7,5: після вказаного відбувається депротонування полімеру та перехід до нерозчинного стану. Пробірки з експериментальними пластинами тримали в термошафі за температури 37 °С. Виміри оптичної щільності суспензії проводили кожні 2, 4, 24, 48 годин. Основні результати дослідження відображені на діаграмі (рис. 2). Мікробне навантаження на початку експерименту для всіх зразків відповідало оптичній щільності мікробної культури $0,12 \pm 0,005$.

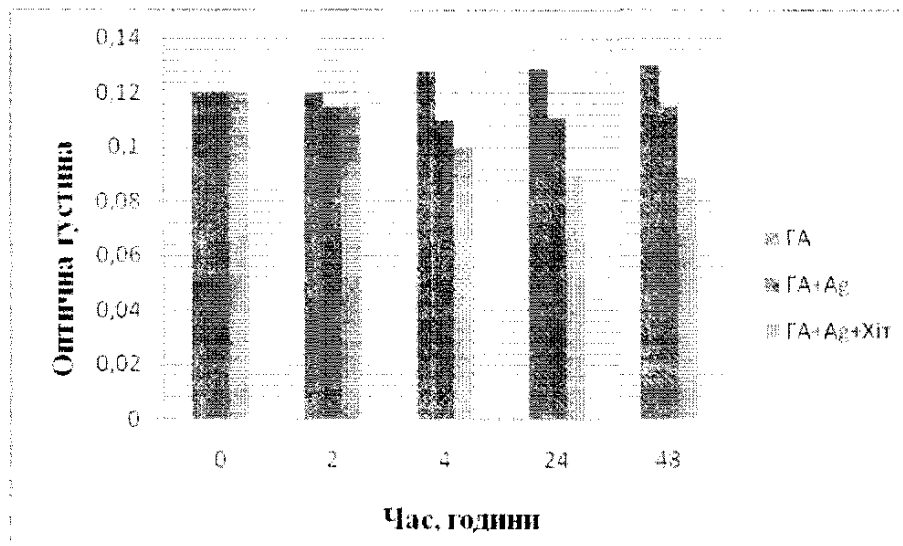


Рис. 2. Динаміка зміни оптичної щільності суспензій культури *E. coli* ATCC 25922 під впливом зразків з вмістом хітозану та іонів срібла

Протягом 48 годин найбільше зростання оптичної щільності, а, значить, і кількості мікроорганізмів спостерігалось у пробірці, що містила зразок, покритий ГА. Поверхня цього біологічно активного зразку виявилась найбільш благодатною для розмноження мікроорганізмів, що підтверджує необхідність додавання до складу покриття протимікробних засобів.

Відомо, що протимікробна активність срібла обумовлена вільними іонами Ag^+ [8, 9]. У нашому випадку результати експерименту свідчать, що вільні іони Ag^+ присутні в фізіологічному розчині та проявляють найбільшу бактеріостатичну дію в культуральній суспензії через 4 години експозиції. Очевидно, це пов'язано з досягненням максимуму дифузії іонів срібла в оточуюче середовище. У подальшому, хоча і продовжується ріст мікроорганізмів, але інтенсивність його менша ніж у контрольному зразку. Більш виражена протимікробна дія трьохкомпонентного композитного покриття, що складається з плівки хітозану, ГА та срібла є результатом утворення хелатного комплексу «хітозан – Ag^+ ». Відомо, що хелатні комплекси хітозану з рядом металів проявляють більшу протимікробну активність порівняно з лігандом [15].

Висновки. Досліджено протимікробну активність хітозану та іонів срібла у складі композитних покриттів на основі ГА, отриманих методом термічної депозиції щодо *E. coli* ATCC 25922. Доведено, що біоактивне покриття на основі ГА призводить до розмноження кишкової палички, що обумовлює доцільність додавання до складу покриття протимікробних компонентів.

Методом спектрофотометричного вимірювання оптичної щільності культуральної суспензії показано, що у фізіологічному розчині, при значенні $\text{pH}=6$, за температури 37 °С досліджувані зразки проявляють бактеріостатичну дію протягом 48 годин за рахунок іонів срібла та хітозану. Однак, в умовах організму іони срібла інтенсивно зв'язуються з протеїнами, тому для досягнення антибактеріального ефекту їх концентрація повинна бути досить високою, що тягне за собою вірогідність токсичної дії великих концентрацій срібла в локальному об'ємі [9]. Очевидним є факт, що оптимальну концентрацію протимікробних компонентів необхідно уточнювати в дослідженнях *in vivo*.

Список літератури

1. Ducheyne, P. Structural analysis of hydroxyapatite coatings on titanium / P. Ducheyne, W. Van Raemdonck, J. C. Heughebaert, Heughebaert M. // *Biomaterials*. - 1986. - V. 7. - P. 97-103.
2. Covtun, A. Chlorhexidine-loaded calcium phosphate nanoparticles for dental maintenance treatment: combination of mineralizing and antibacterial effects / A. Covtun, D. Kozlova, K. Ganesan, C. Biewald, N. Seipold, P. Gaengler, W. H. Arnold, M. Epple // *RSC Advances*. - 2012. - V. 2. - P. 870-875.
3. Hendriks J. Van 1 Iorn J. Van Der Mei II., Busscher II. // *Biomaterials*. - 2004. - V. 25. - P. 545-556.
4. Ley Song Antibacterial hydroxyapatite/chitosan complex coatings with superior osteoblastic cell respons / Ley Song, Lu Gan, Yan-Feng Xiao, Yao Wu, Zhong-Wei Gu // *Materials Letters*. - V. 65. - 2011. - P. 974-977.
5. Kraevska B. Application of Chitin and Chitosan-based materials for enzyme immobilization: a review / Kraevska B. // *Enzyme and Microbial Technol.* - 2004. - Y. 35. - P. 126-139.
6. Noda I. Development of novel thermal sprayed antibacterial coating and evaluation of release properties of silver ions / I. Noda, F. Miyaji, Y. Ando, H. Miyamoto, T. Shimazaki, Y. Yonekura, et al. // *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* - 2009. - V. 89B. - P. 456-465.
7. Marcos Diaz Synthesis and Antimicrobial Activity of Silver- Hydroxyapatite Nanocomposite / Marcos Diaz, Flora Barba, Miriam Miranda, Francisco Guitian, Ramon Torrecillas, and Jose S. Moya // *Journal of Nanomaterials*. - Article ID 498505. - 2009. - P. 1-6.
8. Noda I. Next Generation Antibacterial Hydroxy apatite Coating: Antibacterial Activity of Ag Ions in Serum / I. Noda, F. Miyaji, Y. Ando, H. Miyamoto, T. Shimazaki et al. // *Bioceramics Development and Application*. - 2011. - V. I. - P. 3.
9. Sukhodub I. B. Improved Thermal Substrates Method with cooling System for on Titanium Substrate - I. B. Sukhodub, C. Moseke, L. F. Sukhodub, V. V. Pilipenko, B. Sulkio-Cleff // *Annual Report. Material Science. Institute of Nuclear Physic, Vilgelm University, Germany*. - 2003. - P. 86-88.
10. Яновская А.А. Получение хитозан-гидроксиапатитных покрытий для медицинских имплантатов / [А.А. Яновская, В.Н. Кузнецов, С.Н. Данильченко, Л.Ф. Суходуб] // *Біофізичний Вісник Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна*. — 2011. — Вип. 26, № 1. — С. 88—98.
11. Яновська Г.О. Покрытия для биомедицинского назначения на основе гидроксиапатита, хитозана та срібла / [Г.О. Яновська, В.М. Кузнецов, О.С. Станіславов, В.Ю. Ілляшенко] // *Хімія, фізика та технологія поверхні*. — 2012. — Т. 3, № 3. — С. 346—351.
12. Бактеріологічний контроль поживних середовищ: інформаційний лист МОЗ України. - Київ, 2000. - № 05.4.1/1670.
13. Стандартизація приготування мікробних суспензій: інформаційний лист МОЗ України. - Київ, 2006. - № 163.
14. Determination of density and numbers of cells in cell cultures [electronic resource] // Access Mode: <http://www.avantes.ru/methods/5.php>.
15. Warra A.A. Transition metal complexes and their application in drugs and cosmetics - A Review / J. C hem. Ph arm. Res. - V. 3 (4). - 2011. - P. 951-958.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CHITOSAN AND SILVER IONS IN THE HYDROXYAPATITE COATINGS ON METALLIC IMPLANTS

Kuchma I. Yu., Sukhodub L. B., Melnik A. L., Parusov A. V., Chernyaeva T. A.

SI «Institute of Microbiology and Immunology I. I. Metchnikov NAMS of Ukraine», Kharkiv

Hydroxyapatite (HA) coatings improve the process of the osteointegration of metallic implants in bone tissues. To reduce the risk of implant-associated infections into the HA based coatings, obtained by the thermal deposition method, were included chitosan and silver ions as antimicrobial components. Spectrophotometric method was used for the measurement of the optical density of the culture suspension (540 nm wavelength) to investigate the antimicrobial activity of the samples to the microorganism E. coli ATCC 25922. It is shown that in terms of physiological solution, at pH = 6 and a temperature of 37°C samples exhibit a bacteriostatic action within 48 hours by Chitosan and silver ions.

УДК 619:577.1:57.08:543.066:615.372:636.085

РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ОТРИМАННЯ КОМПОНЕНТІВ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ ЗЕАРАЛЕНОНУ В КОРМАХ І ПРОДУКТАХ ТВАРИННИЦТВА З ВИКОРИСТАННЯМ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ

Михайлова С.А., Попова О.М., Стегній Б.Т., Куцан О.Т., Коваленко Л.В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

У сучасному сільському господарстві проблеми, пов'язані з розповсюдженням і накопиченням біотичних і ксенобіотичних контамінантів кормів і продуктів тваринного походження, актуальні та потребують особливої уваги. Контамінація мікотоксинами об'єктів довкілля викликає накопичення їх у кормах для сільськогосподарських тварин. Згодовування недоброякісних кормів призводить до зниження резистентності організму тварин, до різноманітних захворювань, зниження продуктивності, погіршення якості продукції тваринництва [1, 2].

Основними продуцентами зеараленону є фітопатоген зернових культур *Fusarium graminearum* і *Fusarium tricinctum*. Зеараленон володіє сильною естрогенною та тератогенною дією, акумулюється у тканинах тварин. Наявність зеараленону в кормах вказує на можливу наявність інших, неідентифікованих мікотоксинів [3].

Зеараленон у кормах і продуктах тваринництва визначають методами: високоефективна тонкошарова рідинна хроматографія, імуноферментний аналіз (ІФА). Популярність ІФА пояснюється наявністю таких характеристик, як безпечність, універсальність, висока чутливість та специфічність, відтворюваність, простота проведення аналізу [3, 4, 5, 6].

Вітчизняні тест-системи ІФА для визначення мікотоксинів не розроблені, що й послугувало приводом для початку наших розробок.

Мета роботи. Розробити методику отримання компонентів ІФА: кон'югованого антигену зеараленону з бичачим сироватковим альбуміном (БСА), антитіл (АТ) до кон'югованого зеараленону з БСА, кон'югату (АТ проти зеараленону з БСА) з пероксидазою хрому.

Матеріали та методи. При виконанні досліджень використовували сухий стандарт зеараленону, бичачий сироватковий альбумін (БСА), глютаровий альдегід, 0,1 М та 0,01 М фосфатно-сольовий буфер (ФСБ), 0,1 М боратний буфер, ДЕАЕ-сефадек А-50, періодат натрію, сульфат амонію, оцтовий буфер з рН 4,0, карбонатно-бікарбонатний буфер (КББ) з рН 9,5, боргідрід натрію, пероксидазу хрому, колонки хроматографічні розміром 2,5430 см та 1430 см.

Для отримання антитіл проводили імунізацію самців кролів породи шиншилла, вагою не менше 2,5 кг. По закінченні досліду кролів було евтаназовано з дотриманням основних принципів біоетики, після легкого медикаментозного наркозу, шляхом тотального знекровлення.

Дослідження проводили за допомогою методів: імунохімічних (кон'югація антигену зеараленону з бичачим сироватковим альбуміном і кон'югація антитіл з пероксидазою хрому, іонообмінна хроматографія), імунологічних (реакція дифузної преципітації, імунізація кролів кон'югованим антигеном мікотоксину) та біохімічних (визначення загального білка за Бредфордом). Кон'югацію отриманих антитіл із пероксидазою хрому здійснювали періодатним методом за Nakane, 1987 [5, 6].

Дослідження проводили в лабораторії клінічної біохімії та імунохімії ННЦ «ІЕКВМ».

Результати досліджень. Оскільки зеараленон має низьку молекулярну масу та не викликає утворення антитіл при парентеральному введенні до організму тварин, необхідно було провести кон'югацію його з бичачим сироватковим альбуміном [6, 7]. Для цього сухий зеараленон розчиняли в ацетоні у співвідношенні 1:2. БСА розчиняли у 0,1М КББ у співвідношенні 1:5. Розчини