

CYTOGENETIC CHARACTERISTICS OF THE SUBCULTURE CELLS FLK 50/100  
UNDER THE INFLUENCE OF NANOPARTICLES OF SILVER AND ZINC

Stegniy M.Y., Magats D.Y., Yurchenko O.N.

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkov

*The article describes the experimental study of the biological effects of nanoparticles on bioobjects, and estimation of their influence on genetic apparatus. The aim of the research was to determine the influence of nanoparticles of Silver and Zinc on cytogenetic indices of subculture cells FLK 50/100, which is used for production of leukemic antigen.*

*According to the results of cytogenetic investigations by the method of S.E. Mamaeva of the subline culture cells FLK 50/100 revealed the change of the dispersion of chromosomes regarding the control and reduction of modal class from 68 (control) to 54–56 (Zn 1:20). Cytological control of mitotic activity of cells FLK 50/100 showed a significant reduction under the influence of Zinc nanoparticles in two dilutions of the total concentrations and the effects of nanoparticles of Silver in dilution 1:20. At that time, under the influence of nanoparticles of Silver at a concentration of 1:100 noted significant growth of the MA on the first day, respectively, to the control, the percentage of pathological mitoses decreased to not less than two times on 3 and 4 day of action of nanoparticles.*

**Keywords:** nanoparticles, cell culture FLK (FETAL LAMB KIDNEY), MITOTIC ACTIVITY, cytogenetic parameters.

УДК 636.082.474:631.15:658.592.4:664.644.44:636.5

## ЩОДО РОЗРОБКИ ТА АВТОМАТИЗАЦІЇ МЕТОДІВ БІОКОНТРОЛЮ В ІНКУБАЦІЇ

Бреславець В.О.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, e-mail: admin@vet.kharkov.ua

Стегній О.О.

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків

*У статті наводяться дані щодо методів визначення ступеню розвитку зародків птиці та перспективи автоматизації процесів проведення біоконтролю в інкубації.*

*Основним приладом, який використовують при оцінці якості яєць та ступеню ембріонального розвитку зародків, є овоскоп. За допомогою нього проводять декілька переглядів яєць з метою вилучення незапліднених яєць та яєць з загиблими зародками. Однак особливо при третьому перегляді за допомогою овоскопа дуже важко розрізнити яйця з живими і загиблими зародками, так як усі вони мають темний колір. Тому існує нагальна необхідність створити прилад, який би міг автоматично на вивід переносити тільки яйця з живими зародками. Слід зазначити, що у світі існує декілька фізичних методів визначення якісних характеристик об'єктів, які застосовуються як у промисловості, так і в інших галузях господарювання людини (тепловізорний, імпульсного опромінення, термометричний, тонометричний, вимірювання артеріального тиску). Існують також прилади для визначення частоти серцевих скорочень (ЧСС) і вимірювання коливальних рухів. Із наведених вище методів є ще ціла низка інших, але вони занадто об'ємні, громіздкі та коштовні. Тому для розробки та автоматизації методів біоконтролю в інкубації необхідно підібрати із вищенаведених варіантів ті, які кращі та найбільш ефективні та на їх основі створити декілька дослідних зразків приладів, випробувавши їх дію в лабораторних умовах.*

**Ключові слова:** біологічний контроль в інкубації, фізичні методи визначення якісних характеристик об'єктів.

Біологічний контроль в інкубації полягає у систематичному спостереженні за якістю інкубаційних яєць та виводимістю молодняка, розвитком ембріонів та аналізу причин їх загибелі.

Біологічний контроль дає можливість корегувати режим інкубації, племінну роботу з птицею, умови її утримання та годівлі, а також контролювати ветеринарно-санітарний стан господарства.

Прийоми біоконтролю різноманітні. Їх умовно можна розподілити на три групи:

оцінка якості яєць на початку інкубації, контроль за розвитком зародків у період інкубації та за ростом і розвитком молодняка у першу декаду вирощування.

Контроль за розвитком зародків дає змогу передбачити якісні та кількісні результати інкубації, виявити деякі недоліки інкубації яєць та своєчасно їх виправити.

До прижиттєвого контролю відносяться наступні прийоми: оцінка розвитку зародків при овоскопуванні яєць, а у разі необхідності і при розтинанні яєць; спостереження за підготовкою молодняка до виводу; облік терміну виводу та інкубаційного періоду; облік та аналіз результатів інкубації; встановлення віку та причин загибелі ембріонів; оцінка якості виведеного молодняка за екстер'єрно-інтер'єрними ознаками та біохімічними показниками.

Слід відмітити, що основним приладом, який використовують при оцінці якості яєць та ступеню ембріонального розвитку зародків, є овоскоп. За допомогою овоскопу характеристику якості інкубаційних яєць можна дати вже через 15–30 годин їх інкубування. Для цього яйця яєчних порід курей слід проовоскопувати через 15–18 годин, м'ясних – через 20 годин, індиків, качок, мускусних качок та гусей – через 24–30 годин. У доброякісних яєць бластодиск гарно розвинений і являє собою щільну рухому пляму діаметром 4 мм і більше. Слаборозвинені бластодиски непомітні. Непомітні вони також і у незапліднених яєць.

При першому перегляді (7–9 доба інкубації) за допомогою овоскопу відбирають незапліднені яйця та яйця з зародками, що загинули на ранній стадії розвитку («кров'яні кільця»). Розвиток зародків визначають звертаючи увагу на розвиток кровоносної системи, яка в цей час повинна бути добре розвинена. Нормально розвинений ембріон погано розпізнається, так як занурений у жовток, але гарно видно добре розвинену та наповнену кров'ю судинну систему жовткового мішка. При відсталому розвитку зародок знаходиться близько до шкаралупи, контури його можна розпізнати, а судини жовткового мішка розвинені слабо. Якщо зародок загинув, то кров збирається у крайовій венозній судині, а на жовтку можна побачити рожеве кільце або його частину («кров'яне кільце»). Іноді зародок може мати вигляд невеликої темної плями, що знаходиться на поверхні жовтка.

Яйця без наявного зародка вважаються незаплідненими чи такими, у яких ембріон загинув до початку закладання їх на інкубацію або у перші дні інкубації. Дійсну заплідненість можна встановити тільки методом розтину яєць.

При другому перегляді звертають увагу на розвиток алантоїсу, який повинен зімкнутися, охопивши весь вміст яйця. Це свідчить про те, що зародок добре розвивався у першу половину інкубації та підготовлений до подальшого розвитку. При відсталому розвитку алантоїс не повністю покриває вміст яйця. Його судинне поле, як правило, розвинуте слабо і блідого кольору. Чим більше відставання у розвитку, тим менше розмір алантоїса і більша площа неприкритого ним білка. Недорозвинення алантоїса призводить до того, що може не утворитися білковий мішок або утворитися надто пізно. У результаті цього білок повністю не використовується, що веде до погіршення живлення зародка та створює несприятливі умови для виведення молодняка. Якщо зародок у цей період помер, то судини алантоїса невидимі, білок мутний, контури зародка нечіткі.

При третьому перегляді яйця з живими зародками не просвічуються, за винятком пуги, яка займає майже 1/3 яйця. Межа повітряної камери хвиляста, видно рухому тінь голови та шиї молодняка, іноді дзьоба, розташованого біля шкаралупи. Відсутність просвіту в гострому кінці свідчить про те, що білок повністю використаний, тулуб зародка достатньо великий, з яйця випарувалась більша частина вологи.

При відсталому розвитку повітряна камера займає менше 1/3 частини яйця, воно просвічується в гострому кінці й поблизу повітряної камери.

Якщо гострий кінець не просвічується і при цьому не спостерігається вип'ячування шиї в повітряну камеру, то вивід з таких яєць може бути гарний, але з запізненням.

Якщо гострий кінець яйця просвічується, зародок невеликий і спостерігається вип'ячування шиї в повітряну камеру, то в цьому разі вивід буде передчасний. Білок у таких яйцях залишається невикористаним. Частіше всього це трапляється у разі перегрівання яєць і супроводжується підвищеною смертністю зародків.

При третьому перегляді (19–30 доба інкубації в період перенесення на вивід) яйця з живими зародками різних видів птиці розподіляють на 4 категорії: I – добрий розвиток; II – добрий розвиток, але з деяким відставанням; III – передчасний початок виводу; IV – відсталий розвиток. Яйця з загиблими зародками вилучають із лотків. Однак при третьому перегляді за допомогою овоскопа дуже важко розрізнити яйця з живими і загиблими зародками, так як усі вони мають темний колір. Тому існує нагальна необхідність створити прилад, який би міг автоматично на вивід переносити тільки яйця з живими зародками. Це значно скоротило б витрати ручної праці на проведення міражів та зменшило б мікробіологічну забрудненість інкубаційних і, особливо, вивідних шаф і виведеного молодняка. Однак розробка та створення автоматичних пристроїв щодо вилучення яєць з загиблими зародками потребує спочатку визначення надійного методу, а у подальшому переходу уже до створення точного, швидкого та недорогого дослідного зразка приладу.

Слід зазначити, що у світі існує декілька фізичних методів визначення якісних характеристик об'єктів, які застосовуються як у промисловості, так і в інших галузях господарювання людини. Розглянемо деякі із них.

**«Тепловізорний метод»** – інформативний, який охоплює поле зору об'єкта (у даному випадку лоток з яйцями). Однак для автоматизації процесу слід мати **коштовну** систему розпізнавання об'єкту, а також існує складність у визначенні місцезнаходження, наприклад, зародка у яйці.

**«Метод імпульсного опромінення»** достатньо швидкодіючий, але дуже коштовний. Необхідна система сканування яйця в лотку одним датчиком, оскільки паралельна система для одночасного контролю всіх яєць потребує відповідного збільшення кількості коштовних датчиків.

**«Термометричний метод»** є, на наш погляд, найбільш оптимальним у плані вартості при допустимому зниженні швидкості визначення. Відносно низка ціна цифрових датчиків температури (біля 10–12 грн. за штуку), можливість підключення їх улюбій кількості фактично безпосередньо до комп'ютера (через узгоджувач вартістю 250–300 грн.) дозволяє розробляти систему паралельного

запису інформації з усього лотка (150 і більше яєць). Можливий і інший формат розміщення датчиків у залежності від форми лотка. Основне навантаження лягає на програмне забезпечення, яке повинно визначати температуру поверхні яйця, що і визначає «живий – неживий» зародок. Програмно виконується сортування яєць з чітким визначенням місця знаходження доброякісних яєць. Це дає можливість зменшити витрати вакцинного матеріалу на вакцинацію незапліднених яєць і яєць із завмерлими зародками. Така система дозволить в період третього перегляду яєць або при проведенні *in ovo* вакцинації переносити на вивід яйця тільки з живими зародками, що значно знижує бактеріальну забрудненість вивідної шафи, виведеного молодняка і відпрацьованого повітря, яке вилучається з приміщень. Особливо це важливо на великих інкубаторіях птахофабрик, у тому числі і в районних інкубаторних станціях, які знаходяться поблизу житлових будинків, а також тваринницьких і птахівничих ферм.

**Тонотричні методи.** В останні десятиліття з'явилася велика кількість нових приладів для вимірювання *тиску*.

На відміну від широко використаних у даний час тонометрів *внутрішньоочного тиску* Гольдмана, Маклакова, Шіотца, вимірювання тонометром нового типу проводиться транспальпально в області склери без безпосереднього контакту з рогівкою, тому не вимагає застосування анестезії, виключає ризик інфікування, допускає тонометри при патології рогівки, забезпечує проведення досліджень у будь-яких умовах з отриманням цифрового результату.

Принцип дії заснований на цифровій обробці функції руху рухомого штока приладу в результаті його вільного падіння та взаємодії з пружною поверхнею очного яблука в області склери через віко. За принципом вимірювання прилад відноситься до тонометрів імпресійного типу.

Таким чином, транспальпальна тонометрія, володіючи точністю та достовірністю показань, має ряд переваг у порівнянні з іншими методами вимірювання офтальмотонуса: портативність, зручність у застосуванні, простота методики без використання анестезії та додаткових офтальмологічних приладів, можливість навчання хворого або членів його сім'ї. У зв'язку з цим стає зрозумілою перспектива широкого застосування його в офтальмологічній практиці, особливо при масових оглядах, з мінімальною затратою часу дослідження без втрати інформативності. Однак слід зазначити, що правильність вимірювання ВГД тонометром ТГДц залежить від точності дотримання методики тонометрії.

З'явився ще один новий прилад для вимірювання офтальмотонуса- індикатор внутрішньоочного тиску ІГД-02 «ПРА» за принципом роботи, способу вимірювання та конструктивного пристрою ідентичний тонометр ТГДц-01 «ПРА», але калібрується за тонометром Маклакова (цифрове значення тонометричного тиску при навантаженні 10 г). Ця версія транспальпального тонометра може бути більш зручною у практиці офтальмологів Росії та СНД.

**Вимірювання артеріального тиску.** Артеріальний тиск, який виникає в артеріях під час максимального підвищення пульсової хвилі після систоли шлуночків, називається систолічним. Тиск, який підтримується в артеріях під час діастолі внаслідок зниження його тону, називається діастолічним. Різниця між систолічним і діастолічним тиском складає пульсовий тиск. Нормальні цифри артеріального тиску знаходяться у межах від 21,3/9 до 18,3/12 кПа (від 100/60 до 140/90 мм рт. ст.).

Вимірювання артеріального тиску можна виконувати за допомогою ртутних, мембранних або електронних сфігмометрів. Для вимірювання вибирають тихе приміщення. При цьому уважно прислухаються до звуків у навушниках. У той час, коли з'являється пульсація, відмічають систолічний артеріальний тиск, зникнення пульсації відповідає діастолічному тиску. Вимірювання повторюють ще 2 рази з проміжками 2–3 хв і беруть найменші цифри з трьох вимірювань.

**Визначення частоти серцевих скорочень.** Ритмічні коливання (поштовхи) стінки артеріальних судин спричинені підвищенням тиску в аорті під час скорочення серця називають артеріальним пульсом. Пульс можна визначити у місцях, де великі артерії підходять близько до поверхні тіла, наприклад на внутрішньому боці зап'ястка, на скронях, по боках шиї. Кожне коливання відповідає скороченню серця. Тому за пульсом можна визначити частоту серцевих скорочень за одну хвилину.

**Аналогові пристрої для вимірювання Частоти Серцевих Скорочень (ЧСС)** застосовуються в моніторингових комплексах для контролю поточної ЧСС і подачі сигналу тривоги у разі виходу її за встановлені межі. Найбільш прості вимірювачі ЧСС засновані на перетворенні частота напруга. Імпульси, що поступають від якого-небудь джерела, запускають. На виході фільтру нижніх частот виділяється середня за період напруга, яка подається на магнітоелектричний вимірювальний прилад. Прилад можна проградувати в ударах за хвилину. Існують аналогові вимірювачі, в яких ЧСС визначається по формулі. Величину - отримують у вигляді еквівалентної напруги інтегратора, а – за допомогою пристроїв вибірки-зберігання.

Схема управління, що трактується імпульсами ДП, формує імпульси обнулення інтегратора і запису в ПВЗ. У комірку ПВЗ2 записується середнє значення вмісту комірок ПВЗ1 і ПВЗ3, оскільки їх вихідна напруга передається на вхід ПВЗ2 через резистори з рівними опорами. Вміст ПВЗ2 переписується в ПВЗ3.

В кінці першого періоду імпульси на всіх входах запису з'являються одночасно, тому у всі елементи пам'яті записується напруга, еквівалентна. В кінці другого періоду і далі імпульси на входи запису ПВЗ1 і ПВЗ3 поступають одночасно, а на вхід запису ПВЗ2 - з деяким запізненням.

Для перетворення періоду в ЧСС необхідно отримати аналоговий еквівалент. Таку операцію виконують за допомогою аналогових дільників безперервного або імпульсного типу на основі перетворювачів «напруга-частота». Вихідна напруга ПВ32, подається на один з входів дільника, а на другій вхід його подається опорна напруга, що відіграє роль масштабного коефіцієнта.

**Прилади для вимірювання коливальних рухів.** В існуючих найбільш розповсюджених стробоскопічних частотомірах застосовують комплекти з 12 вимірювальних дисків, швидкість яких налаштована на рівномірно - темперовану музикальну шкалу. Особливе пристосування дозволяє плавно виміряти швидкість обертів усіх дисків одночасно в межах  $\pm 3\%$ , що відповідає зміні висоти звуків в межах  $\pm$  половини півтону. Показник на шкалі приладу дає можливість, в момент досягнення унісону з досліджуваним звуком, зразу прочитати висоту останнього відносно близького, нормального темперованого звуку, з точністю до 0,01 півтону.

Прилад дуже чутливий, не потребує від оператора спеціального тренування слуху, і не видає ніяких звуків, до яких міг би підлаштовуватися виконавець.

Отримані на ньому музикальні (логарифмічні) одиниці висоти звуків можуть бути, при потребі, переведені в відповідні частоти коливань (герци), за допомоги спеціальних таблиць.

Найбільш виразно биття можна почути при кількості їх, рівному 4–5 в одну секунду. При кількості биттів не більше 2–15 в одну секунду їх можна ще підрахувати. При більшій кількості їх можна тільки чути, підрахувати ж неможливо. Якщо кількість биття стає більш 30 в одну секунду, то вони починають зливатися, їх безпосередня чутність зникає, і залишається неприємне відчуття «хриплості» або «шорсткості» звучання. При подальшому збільшенні кількості биття зникає і шорсткість. Найбільш неприємне, draжливе враження биття створюють на межі переходу їх в хриплість і шорсткість, тобто при кількості биттів, рівному 30–60 в одну секунду.

Окрім наведених вище методів існує ще ціла низка інших, але вони занадто об'ємні, громіздкі та коштовні. Виходячи із наведеного матеріалу можна зробити висновок, що для розробки та автоматизації методів біоконтролю в інкубації необхідно підібрати із вищенаведених варіантів кращі та найбільш ефективні методи і на їх основі створити декілька дослідних зразків приладів та випробувати їх дію в лабораторних умовах.

#### ON THE QUESTION TO DEVELOPMENT OF AUTOMATIC METHODS OF BIOCONTROL IN THE INCUBATION

**Breslavets V.A.**

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv

**Stegniy A.A.**

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv

*The article provides data related to poultry embryonic development stage determination methodology and perspectives on the automation of incubation bio-control processes.*

*The basic device used in evaluating the quality of eggs and embryonic development stage is an Ovoscope. With it, a few attempts normally have to be made to remove unfertilized eggs and eggs with dead embryos.*

*A typical problem encountered using an Ovoscope is that it is very difficult to distinguish between eggs with live and dead fetuses, especially in the third viewing, as they all have a dark color.*

*With respect to this difficulty, there was a necessity to create a device that could automatically and reliable transfer only eggs with living embryos.*

*It should be noted that there are several physical methods in the world for determining the quality characteristics of objects, which are used both in industry and in other sectors of the economy ie. infrared imager, pulsed irradiation, thermometric, tonographic and blood pressure measurement. There are also devices for heart rate (HR) determining and measuring the vibrational motions.*

*In addition to these methods there are several others, but they are typically too volumetric, bulky and expensive.*

*We consider that the development and automation of bio-control methods in the incubation stage is therefore necessary by choosing the most effective methods from the aforementioned options, and create several prototype devices based on them, subjecting them to laboratory tests.*

**Keywords:** Egg incubation, biological control, physical methods for determining the quality