



УКРАЇНА

(19) UA (11) 43033 (13) U  
(51) МПК (2009)  
C02F 1/46  
C02F 11/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ ЯЄЦЬ НЕМАТОД

1

(21) u200902811

(22) 26.03.2009

(24) 27.07.2009

(46) 27.07.2009, Бюл.№ 14, 2009 р.

(72) ВОЛОШИНА НАТАЛІЯ ОЛЕКСІЇВНА,  
КІЛОЧИЦЬКИЙ ПЕТРО ЯКОВИЧ, КАПЛУНЕНКО  
ВОЛОДИМИР ГЕОРГІЙОВИЧ, КОСІНОВ МИКОЛА  
ВАСИЛЬОВИЧ

(73) ВОЛОШИНА НАТАЛІЯ ОЛЕКСІЇВНА,  
КІЛОЧИЦЬКИЙ ПЕТРО ЯКОВИЧ, КАПЛУНЕНКО  
ВОЛОДИМИР ГЕОРГІЙОВИЧ, КОСІНОВ МИКОЛА  
ВАСИЛЬОВИЧ

2

(57) Спосіб діагностики життєздатності яєць гельмінтів, що включає дію на яйця гельмінтів хімічною речовиною, який **відрізняється** тим, що як хімічну сполуку використовують аніоноподібні наноаквахелати олова, в яких комплексоутворювачем виступають наночастинки металу з поверхневим електричним зарядом зі знаком "мінус", а в ролі лігандів - молекули води та лимонної кислоти, і проявляється у взаємодії яєць нематод з аніоноподібними наноаквахелатами олова завдяки селективній седиментації наночастинок на оболонці життєздатних яєць паразитів.

Корисна модель відноситься до санітарної паразитології і може бути використана у практиці лабораторної діагностики паразитарних інвазій при визначенні життєздатності яєць гельмінтів.

Існуючі способи та методи визначення життєздатності яєць гельмінтів, вилучених із різних об'єктів навколишнього середовища (грунт, вода, овочі тощо), включають ряд послідовних процесів: візуальну оцінку яєць, фарбування їх вітальними барвниками та лабораторного культивування. Інвазійну здатність паразитів встановлюють шляхом постановки біологічної проби.

Недоліками цих методів є те, що вони трудомісткі, громіздкі, потребують застосування коштовної апаратури та використання лабораторних тварин, а ефективність їх незадовільна. Тривалість встановлення життєздатності та інвазійності яєць аскарусів складає від 38 до 76 діб (культивування яєць до інвазійної стадії - від 30 до 60 діб плюс постановка біопроби - від 8 до 16 діб). До того ж, при постановці біологічної проби рекомендується використовувати від 3 до 5 білих мишей або інших лабораторних тварин.

Найбільш близьким до пропонованого нами є метод визначення життєздатності зрілих яєць гельмінтів, що полягає у фарбуванні яєць барвником, до складу якого входять: молочна кислота 40% - 15мл, метиленовий синій - 0,05г, натрій їдкий - 0,5г. При цьому життєздатні личинки барвника не сприймають, а мертві личинки забарвлюються у синій колір (Пішак В.П., Булик Р.Є., Захарчук

0.1. Лабораторна діагностика паразитарних інвазій. - Чернівці: Медуніверситет, 2007. - 284с.).

Цей метод можна вважати прототипом.

Недоліком наведеного методу є те, що його не можна застосувати для діагностики життєздатності незрілих яєць, оскільки їх оболонка інтенсивно забарвлюється, що не дозволяє в подальшому візуально визначити ступінь фарбування зародка всередині яйця.

В основі пропонованої корисної моделі покладена задача розробити ефективний альтернативний спосіб діагностики життєздатності збудників нематодозів тварин і людини, який би забезпечив точний та швидкий результат.

Запропонований спосіб, як і деякі існуючі способи визначення життєздатності яєць гельмінтів, полягає в дії на яйця нематод хімічної речовини, але, відповідно до цієї пропозиції, в якості хімічної сполуки використовуються аніоноподібні наноаквахелати олова, в яких комплексоутворювачем виступають наночастинки металу з поверхневим електричним зарядом зі знаком «мінус», а в ролі лігандів - молекули води та лимонної кислоти. Ефект проявляється через взаємодію яєць нематод з аніоноподібними наноаквахелатами олова завдяки селективній седиментації останніх на оболонці життєздатних яєць паразитів.

Запропонований метод дозволяє спростити процедуру встановлення життєздатності зародків паразитів та підвищити її ефективність.

У пропонованому способі електричне поле в середовищі, що містить яйця гельмінтів, створює-

(13) U

(11) 43033

(19) UA

ється за допомогою електричне заряджених наночастинок олова, які отримують способом ерозійно-вибухової нанотехнології (див. Патент України на корисну модель №23550. Спосіб ерозійно-вибухового диспергування металів. МПК B22F 9/14. Опубл. 25.05.2007. Бюл. №7.).

Отриманий таким чином хелатний комплекс олова має координаційне число більше 12 та поверхневий заряд не менше  $4 \cdot 10^{-18}$  Кл. При цьому сферична форма наночастинок дозволяє отримати рівномірний електричний заряд на їх поверхні, що створює передумови для щільного і рівномірного оточення наночастинки дисоційованими молекулами води, що є диполями із зарядами зі знаком «плюс», розміщеними на ядрах водню. В результаті, утворюється хелатний комплекс, стійкість якого забезпечується кулонівськими силами, що виникають між поверхнею зарядженої металеві наночастинки і диполями води. Стійкість хелатного комплексу не залежить від розмірів наночастинок, оскільки поверхневий електричний заряд, а, відповідно, і координаційне число сферичної наночастинки-комплексоутворювача пропорційні її розміру завдяки тому, що різні за розміром наночастинки набувають заряду в потоках електронів приблизно однієї щільності.

Молекули води розташовуються навколо наночастинки і створюють наногідратну оболонку. Ця оболонка оберігає наночастинки від агрегації та випадання в осад. Величина наногідратної оболонки залежить від поверхневого заряду наночастинки. Таким чином, стійкість аквахелату визначається двома чинниками: наявністю поверхневого заряду у наночастинок і наногідратною оболонкою навколо них. Така індивідуальна стійкість аквахелату забезпечує стабільність колоїдного розчину без будь-яких додаткових речовин - стабілізаторів.

Молекули води в наногідратних оболонках аквананокомплексів легко заміщаються (частково або повністю) молекулами карбонових кислот, білків або вуглеводів рослинного чи тваринного походження, утворюючи широкий спектр нових функціональних наноматеріалів.

Реалізація методу на практиці полягає в тому, що в середовище, де знаходяться яйця гельмінтів, вводять електричне заряджені наночастинки олова у складі водного колоїдного розчину. Наноаквахелати олова отримують шляхом диспергування олов'яних гранул імпульсами електричного струму у воді (див. Патент України на корисну модель №29281. Спосіб отримання аквахелату нанометалу. МПК C07F 19/00. Опубл. 10.01.2008. Бюл. №1.).

Між негативно зарядженими наночастинами та позитивно зарядженими оболонками яєць гельмінтів виникають кулонівські сили та проявляється ефект селективної седиментації наночастинок на поверхню лише життєздатних яєць.

\*Приклад. Для перевірки ефективності методу із застосуванням заявленої діючої речовини було проведено дослід.

У чашки Петрі поміщали життєздатні і нежиттєздатні яйця аскариди свині - *Ascaris suum* (Goeze, 1782) на різних стадіях ембріонального розвитку. Нежиттєздатні яйця аскариди отримували, піддаючи дії високої температури (+90°C у водняній бані) протягом 30хв. Їх стан перевіряли методом культивування у термостаті при температурі +28°C протягом 15 діб та наступним фарбуванням.

Суміш різноякісних яєць аскариди у кількості 100-130 штук вміщували у чашку Петрі, додавали 5см<sup>3</sup> дистильованої води та 2см<sup>3</sup> колоїду наноаквахелату олова (гідратовані і карботовані наночастинки олова із вмістом металу 100мг/дм<sup>3</sup> і слабо кислотою реакцією - рН 6,2-6,9). Зберігали при кімнатній температурі. Через 120хв. навколо життєздатних яєць формувалася шар із наночастинок, добре помітний при малому збільшенні мікроскопу (Фіг.1). Ефект селективної седиментації відмічали лише навколо живих яєць аскариди, незалежно від ступеню їх ембріонального розвитку. Пік седиментації наночастинок припадав на 25-46год. експерименту.

На 80-90год. експерименту яйця втрачали життєздатність, що проявлялося в очищенні їх поверхні від наночастинок. Всі яйця аскариди в кінці досліду виявились нежиттєздатними та неінвазивними, що було підтверджено шляхом експериментального зараження лабораторних мишей.

Цим експериментом вдалося підтвердити селективний характер взаємодії наноолова лише з життєздатними яйцями аскариди, що містили живих личинок (Фіг.2).

Висновок: проведені дослідження свідчать, що використовуючи аквахелати олова можна надійно діагностувати життєздатність яєць нематод на будь-якій стадії ембріонального розвитку і без застосування додаткових процедур (фарбування, підігрівання тощо). Для цього достатньо до яєць нематод, що містяться у водному середовищі додати наночастинки олова у концентрації 100мг/дм<sup>3</sup> (рН 6,7-6,9) із розрахунку 1:3 (1 частина нанорозчину на 3 частини суспензії яєць). Ефект селективної седиментації наночастинок на поверхню яєць нематоди проявляється вже через 2-46 годин. Життєздатність яєць нематод діагностується на 100%, незалежно від стадії ембріонального розвитку.

Виходячи з наведеного, запропонований спосіб можна вважати високоефективним, універсальним та рентабельним (у десятки разів заощаджує робочий час працівників лабораторій та пов'язані з цим енергетичні витрати; не вимагає кошовної апаратури), значно простішим і доступнішим у застосуванні порівняно з існуючими методами.

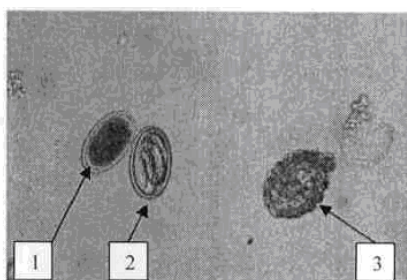
\*Фіг.1. Життєздатне яйце *Ascaris suum*, із седиментованими наночастинками олова

Фіг.2. Прояв селективності седиментації наночастинок олова:  
1 - нежиттєздатне яйце з плазматичною масою всередині;  
2 - нежиттєздатне яйце з личинкою;  
3 - життєздатне яйце з личинкою, вкрите наночастинками олова



Життєздатне яйце *Ascaris suum*, із седиментованими наночастинками олова

**Фіг.1**



Прояв селективності седиментації наночастинок олова: 1 - життєздатне яйце з плазматичною масою всередині; 2 - життєздатне яйце з личинкою; 3 - життєздатне яйце з личинкою, вкрите наночастинками олова

**Фіг.2**