

При патологоанатомическом вскрытии мышей 5 и 6 групп видимых патологических изменений со стороны исследуемых органов и тканей нами не обнаружено.

В соответствии с классификацией веществ по степени опасности при оральном введении испытуемые медьсодержащие добавки можно отнести к IV классу опасности (малоопасные вещества).

Заключение. Изучаемые показатели дали возможность сделать достаточно обоснованные выводы о патологическом влиянии изучаемых кормовых медьсодержащих добавок на метаболические процессы, происходящие в организме лабораторных животных, а, следовательно, проецировать модель их влияния на организм сельскохозяйственных животных. Изученные нами кормовые добавки, содержащие различные формы меди, являются малотоксичными и могут быть использованы для изучения их влияния на продуктивные показатели различных видов сельскохозяйственных животных, в том числе и птиц.

Литература 1. Брыло, И. В. Токсикологическая оценка электрохимически активированного водного раствора на основе католита щелочного / И. В. Брыло, А. А. Белко, А. Л. Лях // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». - 2015. - Т. 51, вып. 2. - С. 10-12. 2. Капитонова, Е. А. Профилактика заболеваний птиц путем введения в рацион цыплят-бройлеров биологически активных веществ / Е. А. Капитонова // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я. П. Коваленко. - 2009. - Т. 75. - С. 329-331. 3. Капитонова, Е. А. Определение токсичности кормовой добавки адсорбента микотоксинов с пребиотиком на лабораторных животных / Е. А. Капитонова // Global science and innovations 2019: Central Asia : материалы VII Международной научно-практической конференции, Нур-Султан (Астана), 9–13 мая 2019 г. – Нур-Султан, 2019. – Т. VII. – С. 29–31. 4. Мехова, О. С. Криптоспоридиоз лабораторных мышей (методы диагностики) / О. С. Мехова // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2016. – № 1. – С. 38–41. 5. A feed additive based on lactobacilli with activity against campylobacter for meat-breeding chickens parent flock / A. B. Balykina [et. al.] // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. – 2020. – Т. 11, № 16. – С. 11A–16E. DOI: 10.14456/ITJEMAST.2020.314. 6. Evaluation lactic acid bacteria autostrains with anti-campylobacter jejuni activity on broiler chickens productivity / Y. E. Kuznetsov [et al.] // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. – 2020. – Т. 11, № 15. – С. 11A–15S. DOI:10.14456 / ITJEMAST.2020.307. 7. Obtaining Organic Poultry Breeding Products in Prevention of Micotoxicosis / E. A. Kapitonova [et. al.] // OnLine Journal of Biologicsl Sciences. – 2021. - № 21 (3). – P. 213-220. DOI: 10.3844/ojbsci.2021.213.220. 8. Results of using tripoli on zoohygienic indicators in the raising a parent herd of meat breed chickens / I. I. Kochish [et. al.] // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. – 2020. – Т. 11, № 15. – С. 11A–15U. DOI: 10.14456/ITJEMAST.2020.309.

Поступила в редакцию 03.10.2022.

УДК 620.3:619

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ В АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Красочко П.А., Корочкин Р.Б., Понаськов М.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Наночастицы металлов имеют доказанное антибактериальное действие. Данное свойство их коллоидных растворов достаточно хорошо изучено на основе конвенциональных микробиологических методов, основанных на определении подавления роста микроорганизмов на питательных средах. Антибактериальное действие химических препаратов оказывает прямой цитотоксический эффект, который должен проявляться очевидным изменением морфологии бактериальных клеток. Широко используемый метод световой микроскопии по объективным причинам не дает возможности оценивать цитотоксическое действие препаратов из-за невысокой разрешающей способности. В последнее время стали доступны методы исследования, основанные на атомно-силовой микроскопии. Благодаря простоте постановки, доступности и отсутствию необходимости длительной предварительной обработки образцов, присущей классической электронной микроскопии, атомно-силовая микроскопия находит все большее применение в цитологии и других областях биологии. Наночастицы металлов оказывают наиболее сильное антибактериальное воздействие, так как оно основано на прямом цитотоксическом эффекте, в связи с чем получение визуальной информации об изменении морфологии бактерий является очевидным доказательством их антибактериальной активности. В данной статье авторы изучили антибактериальное действие наночастиц серебра и меди на различные типы условно-патогенной микробиоты. Бактерицидные концентрации наночастиц оказывают визуальный цитотоксический эффект, выражающийся в уменьшении высоты контуров бактериальных клеток, лизисе бактерий, выходе цитоплазматической массы за пределы бактериальных клеток. **Ключевые слова:** наночастицы, серебро, медь, антибактериальное действие, атомно-силовая микроскопия, микроорганизмы.

Krasochko P.A., Korachkin R.B., Ponaskov M.A.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*Metal nanoparticles have a proven antibacterial effect. This property of their colloidal solutions has been studied quite well on the basis of conventional microbiological methods based on the determination of the growth inhibition on nutrient media. The antibacterial action of chemicals has a direct cytotoxic effect, which should have an obvious effect on cell morphology. The widely used method of bright field microscopy for objective reasons does not make it possible to evaluate the cytotoxic effect of chemotherapeutic drugs due to the low resolution. Recently, research methods based on atomic force microscopy have become available. Due to the simplicity of performance, accessibility and the absence of the need for lengthy pre-treatment preparation of the classical electron microscopy, atomic force microscopy is increasingly being used in cytology and other areas of biology. Metal nanoparticles have the strongest antibacterial effect, as it is based on a direct cytotoxic effect. In this regard, obtaining visual information about changes in the morphology of bacteria under the action of nanoparticles is an obvious proof of their antibacterial activity. In this article, the authors studied the antibacterial effect of silver and copper nanoparticles on various types of opportunistic microbiota. Bactericidal concentrations of nanoparticles have a visual cytotoxic effect, which is expressed in a decrease in the height of the contours of bacterial cells, lysis of bacteria, a change in the structure of the surface of a bacterial cell, and the release of the cytoplasmic mass outside the bacterial cells. **Keywords:** nanoparticles, silver, copper, antibacterial effect, atomic force microscopy, microorganisms.*

Введение. В настоящее время бактериальная резистентность к основным антибиотикам, применяемым в клинической практике, достигает критического уровня, что создает значительную угрозу для здоровья животных и людей. Одна из недавних попыток изменить такой неблагоприятный сценарий заключается в повторном внедрении уже известных противомикробных химиопрепаратов путем манипулирования их размером до наноуровня, результатом чего стало появление в арсенале противомикробных веществ наночастиц, к которым микробные патогены не могут развить устойчивость по ряду причин.

Об антибактериальном действии наночастиц, в особенности таковых металлов, сообщалось многими исследованиями, в том числе собственными работами [1]. Хотя антибактериальное действие достаточно хорошо описано многими авторами, его механизм и влияние на прокариотические клетки еще полностью не выяснены. Фактически, мощная антибактериальная активность наночастиц металлов, обладающих широким спектром действия против морфологически и метаболически различных типов микроорганизмов, основана на многогранном механизме [6]. Было показано, что наночастицы металлов и биоэлементов могут нарушать метаболические процессы у бактерий, взаимодействовать с их ДНК, повышать проницаемость цитоплазматической мембраны и генерировать оксидативный стресс. Однако для окончательного признания наночастиц в качестве основного действующего вещества в создании терапевтических препаратов необходимо провести всемерную работу, чтобы раскрыть все механизмы их антибактериального действия [6, 8].

В большинстве случаев для изучения антибактериального действия химических и биологических препаратов используется традиционный культуральный метод исследования, в котором по оценке ингибции роста микроорганизмов на питательной среде доказывается антибактериальный эффект. Несмотря на простоту выполнения, такой метод оценки имеет свой главный недостаток: он не учитывает бактериостатический эффект, допускающий реверсию микроорганизмов в активную форму. Кроме того, нельзя забывать такой известный биологический феномен, как временная некультивируемость микроорганизма, которая проявляется отсутствием его роста на питательной среде из-за внешнего цитотоксического воздействия. По этой причине не всегда можно признать ингибцию бактериального роста эквивалентом достижения полного бактерицидного эффекта. В этой связи в микробиологию введен термин «живые некультивируемые бактерии» [9].

С момента своего изобретения в 1986 году атомно-силовая микроскопия (АСМ) все шире используется для исследования биосистем, таких как эукариотические клетки, бактерии и вирусы [13], потому что АСМ-изображения могут выявить структурные детали с беспрецедентным разрешением [3]. Атомно-силовая микроскопия может достигать молекулярного и даже атомного разрешения для некоторых материалов [2, 10]. Кроме того, дополнительная информация может быть получена посредством изучения трехмерных (3D) топографических изображений исследуемых объектов. Более того, атомно-силовые микроскопические изображения можно получать в жидкой среде, что делает этот метод более выгодным для визуализации живых объектов [5], что не доступно для электронной микроскопии. Кроме того, работа атомно-силового микроскопа намного проще, удобнее и дешевле, чем сканирующая и просвечивающая (трансмиссионная) электронная микроскопия, которые требуют сверхвысокого вакуума.

В биологии АСМ дает уникальную информацию о свойствах изучаемых биологических объектов, так как позволяет проводить измерение их морфологических свойств, осуществлять оценку особенностей малоразмерных систем, визуализировать профиль поверхности клетки с нанометровым разрешением и получать высококачественные изображения [4].

Наночастицы металлов оказывают наиболее выраженное цитотоксическое воздействие по сравнению с антибиотиками. В механизме действия последних лежит лишь угнетение метаболизма и подавление роста бактерий, по сравнению с чем наночастицы металлов оказывают более разностороннее антибактериальное воздействие. В этой связи визуальные методы оценки морфологии микроорганизмов, основанные на изучении изменения морфологии бактерий, представляют очевидный научный интерес [12].

Из числа известных нановеществ наночастицы серебра проявляют самый выраженный биологический эффект [7]. Наночастицы меди оказывают чуть меньшее биологическое воздействие по причине того, что этот металл относится к числу биоэлементов по сравнению с серебром, который является благородным металлом, и его биологическая усвояемость значительно ниже.

Сравнение цитотоксического действия тестовых образцов коллоидных растворов наночастиц металлов разных групп (благородного металла серебра с наиболее выраженным цитотоксическим эффектом и биоэлемента меди с ожидаемым меньшим биологическим эффектом) позволяет дать оценку разной степени цитотоксического воздействия на клетку.

Целью исследований явилось изучение цитотоксического действия наночастиц серебра и меди на возбудители условно-патогенной микробиоты с использованием атомно-силовой микроскопии путем сравнительного изучения морфологических изменений различных видов прокариотических клеток.

Материалы и методы исследований. Подготовку образцов для АСМ проводили путем фиксации суспензий тестовых микроорганизмов на ровной подложке. В качестве таковой использовали слюду мусковит ($KAl_2(OH)_2AlSi_3O_{10}$), которая представляет собой слоистый минерал, состоящий из нескольких сверхтонких слоев толщиной (более 1 нм) и не проводящий электрический ток. Для получения подложки изготавливали тончайший слой слюды после прикладывания к ней клейкой ленты (скотча). Считается, что этот способ позволяет получать удовлетворительно ровную пленку чистой атомно-плоской поверхности с отрицательным зарядом.

Тестовыми микроорганизмами были 18-часовые культуры микроорганизмов: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella enterica subsp. enterica* ATCC BAA-2162, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 902. С помощью атомно-силовой микроскопии проводили морфологическую оценку состояния бактериальной клетки по ее целостности и структуре. Кроме того, морфологический анализ бактерий включал визуальную оценку композиции всей бактериальной популяции как в отсутствие внешнего цитотоксического агента, так и при действии коллоидов наночастиц в различных концентрациях.

На поверхность приготовленной подложки вносили тестовые образцы бактериальных культур. В отдельных сериях использовали культуры без воздействия коллоидным раствором наночастиц серебра и меди (контроли) и после таковой. Жидкую бактериальную суспензию на подложке наносили путем капельного осаждения. С этой целью образец (объем 5 мкл) пипетировали на поверхность слюдяной подложки. После этого проводили высушивание образца путем естественного испарения (30–60 минут). После нанесения биологического материала подготовленные подложки вносили непосредственно в атомно-силовой микроскоп, который был подключен через интерфейс с компьютером. Последний имел установленную рабочую версию программы визуализации. С ее помощью в микроскопе регулировали растровое движение зонда микроскопа по поверхности образца, посредством чего проводили сканирование изучаемого образца, в результате чего получали микрофотографий бактериальных клеток различного разрешения.

В качестве тестовых образцов использовали коллоидные растворы наночастиц серебра и меди различных концентраций. Конечные концентрации после добавления бактериальных суспензий составляли диапазон от 5 мкг/мл до 100 мкг/мл. В качестве контроля использовали изотонический раствор натрия хлорида (для бактериальных клеток он составляет 0,5%-ное значение).

Результаты исследований. В результате проведенных исследований были получены микрофотографии тестируемых микроорганизмов в химически нейтральной среде и после воздействия на них наночастиц серебра и меди. Разрешение полученных АСМ-микрофотографий (21–24 мкм) позволило оценить степень морфологических изменений бактериальных клеток после инкубации с коллоидными растворами наночастиц в различных концентрациях. Анализ микрофотографий позволил определить корреляцию степени морфологических изменений с бактериостатичностью/бактериоцидностью цитотоксического стресса, связанного с воздействием наночастиц. Несмотря на определенную степень субъективности такой визуальной оценки, полученные данные были объединены в таблицу 1.

Таблица 1 - Антибактериальное действие коллоидных растворов наночастиц металлов на тестовые микроорганизмы

Тестовый микроорганизм	Бактериоингибирующая концентрация наночастиц серебра, мкг/мл [1]	Раствор серебра, мкг/мл					Раствор меди, мкг/мл				
		5	12	25	50	100	5	12	25	50	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	14,2	–	–	±	+	+	–	–	±	+	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	13,1	–	–	+	+	+	–	–	±	+	+
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ATCC BAA-2162	8,65	–	–	+	+	+	–	–	±	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	7,1	–	–	+	+	+	–	–	±	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 902	13,1	–	–	+	±	+	–	–	±	±	±

Примечания: «–» — отсутствие цитотоксического действия; «±» — неполный цитотоксический эффект (морфологическая деструкция отдельных клеток); «+» — полный цитотоксический эффект (тотальная деструкция бактериальной популяции).

В качестве контроля использовали суспензии одноименных бактерий в изотоническом растворе. В качестве такового был выбран 0,5%-ный раствор натрия хлорида. Следует отметить, что бактерии гораздо более чувствительны к гипертоническому стрессу по сравнению с эукариотическими клетками по причине того, что они населяют разнообразные экологические ниши, в которых испытывают сильно вариативные физические и химические воздействия. Например, кишечная палочка способна выживать в более чем стократном диапазоне внешней осмолярности. Как результат, прокариотические клетки, имея клеточную стенку для механического сопротивления осмотическому давлению, развили особый осморегуляторный механизм, способствующий адаптации к меняющемуся осмотическому стрессу. В отдельных работах [11] было подробно изучено воздействие различных концентраций солей (натрия и калия хлорида) на выживаемость кишечной палочки. Оказалось, что физиологически нейтральной для микроорганизма является среда, соответствующая концентрации солей 0,5%; меньшие и нулевые концентрации солей оказывают ингибирующее воздействие на бактерию, а их повышение до значения 1,5% пропорционально увеличивает выживаемость микроорганизма и рост бактериальной популяции. На основании данного факта нами была выбрана физиологически нейтральная концентрация натрия хлорида (0,5%) для объективной оценки цитотоксического воздействия наночастиц.

Наличие объективных изменений в морфологии тестируемых микроорганизмов при действии наночастиц серебра и меди подтвердило принципиальную возможность применения АСМ в качестве инструментального метода оценки цитотоксического действия наноразмерных веществ на бактерии. Микрофотографии бактериальных культур позволили визуально оценивать различия в степени повреждающего воздействия наночастиц металлов на бактериальную клетку. Их анализ позволил заключить, что невысокие концентрации наночастиц металлов (до 25 мкг/мл) не оказывают существенного влияния на состояние морфологии тестируемых бактериальных клеток и не изменяют композицию и структуру всей бактериальной популяции, так как в этом случае состояние бактериальных клеток приблизительно соответствовало таковому контрольных образцов.

Следует отметить, что в наших ранних опытах [1] мы установили, что концентрации наночастиц серебра и меди приблизительно до значения 15 мкг/мл оказывают бактериостатический эффект на одноименные микроорганизмы (точные бактериостатические концентрации отражены в таблице). Атомно-силовая микроскопия бактериальных культур при действии наночастиц серебра и меди в бактериостатических концентрациях коррелировала с отсутствием визуального повреждающего воздействия внешнего эффектора (наночастиц). Вероятнее всего, при воздействии сублетальных концентраций наночастиц серебра и меди микроорганизмы переходят в жизнеспособное, но не культивируемое состояние (англ. *viable but non-culturable* — VBNC). Следует отметить, что мы не ставили перед собой цели изучения возможности реверсии микроорганизмов к культивируемому состоянию при снижении концентрации цитотоксического эффектора (наночастиц) при добавлении биологически нейтрального вещества, поэтому у нас нет возможности утверждать, какова степень бактериостатического воздействия коллоидных растворов наноразмерных частиц металлов в сублетальных концентрациях.

Увеличение концентрации наночастиц серебра и меди выше 25 мкг/мл оказывало очевидный цитотоксический эффект на все тестируемые микроорганизмы, что проявлялось существенным изменением их морфологии. Следует отметить, что все тестовые образцы демонстрировали сравни-

мые морфологические изменения, поэтому у нас нет оснований утверждать о существенных различиях у всех тестируемых микроорганизмов (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Streptococcus agalactiae* ATCC 13813, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603) к цитотоксическому действию наночастиц по результатам АСМ. Так, после воздействия наночастиц в концентрации 25 мкг/мл на бактериальную популяцию в ней оставались различимы контуры клеток, отмечалось лишь частичное изменение самой структуры микробного консорциума. На пространственных 3D изображениях также было заметно уменьшение высоты сканируемых объектов (клеток) при сравнении с микрофотографиями одноименных бактерий в контроле, что было свидетельством начала лизиса бактериальных клеток и потери клетками цитоплазматической массы (сравните левые и правые микрофотографии на рисунке 1).

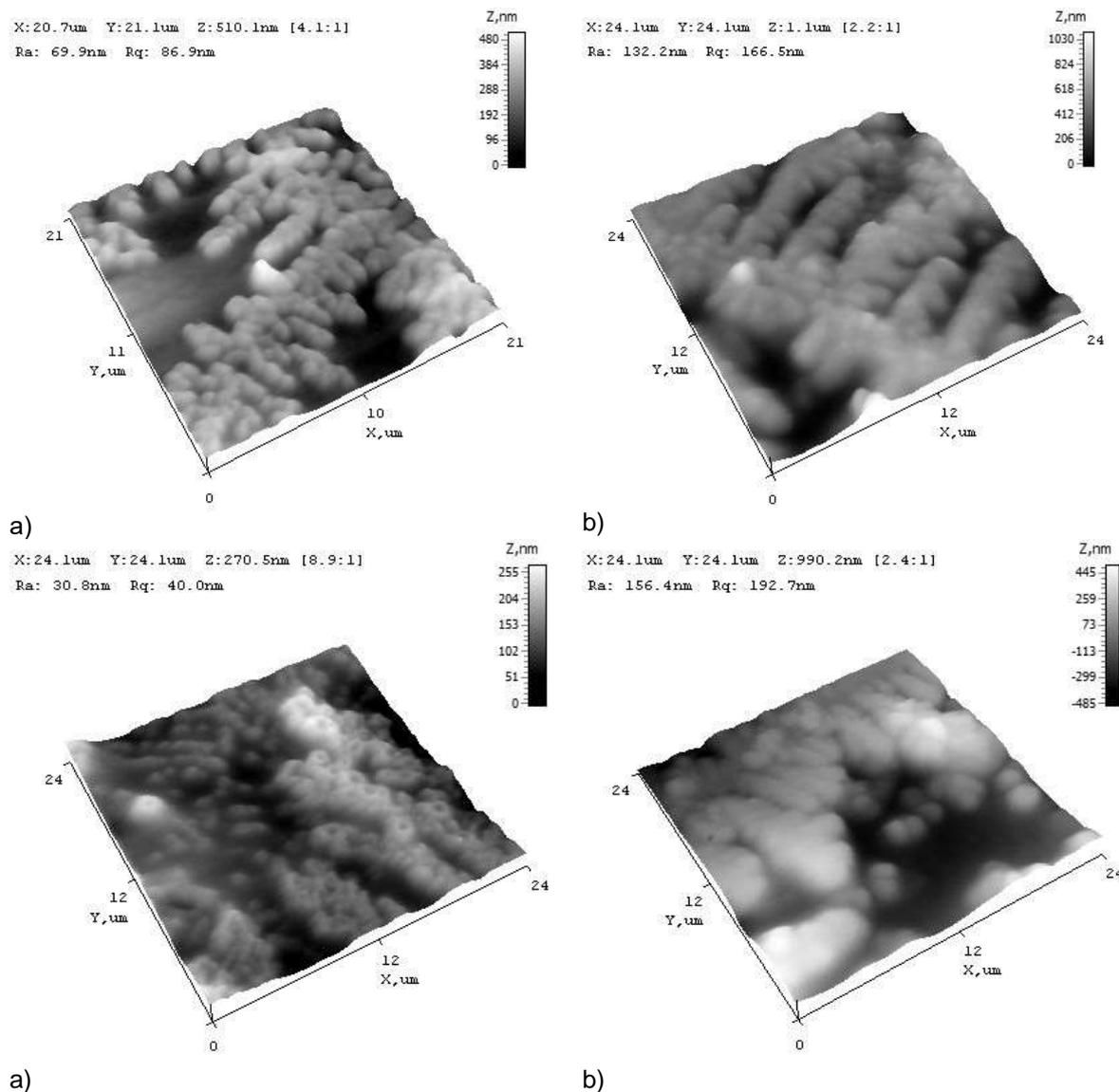


Рисунок 1 - Атомно-силовая микроскопия *Escherichia coli* ATCC 25922 (вверху) и *Streptococcus agalactiae* ATCC 13813 (внизу): а – контроль; б) – неполный цитотоксический эффект после обработки субцитолитическими концентрациями наночастиц

Воздействие наночастиц серебра и меди в концентрации 50 мкг/мл приводило к усилению цитолитического эффекта как на уровне единичных клеток, так и всей бактериальной популяции (рисунок 2). При этом отмечалось существенное разрушение ее структуры, контуры бактериальных клеток становились более размытыми, межклеточное пространство было заполнено цитоплазматической массой вследствие лизиса бактерий, фактически отсутствовали участки нулевого уровня (подложка). Следует отметить, что объективных различий в структуре клеточной популяции после воздействия наночастиц серебра и меди не отмечалось.

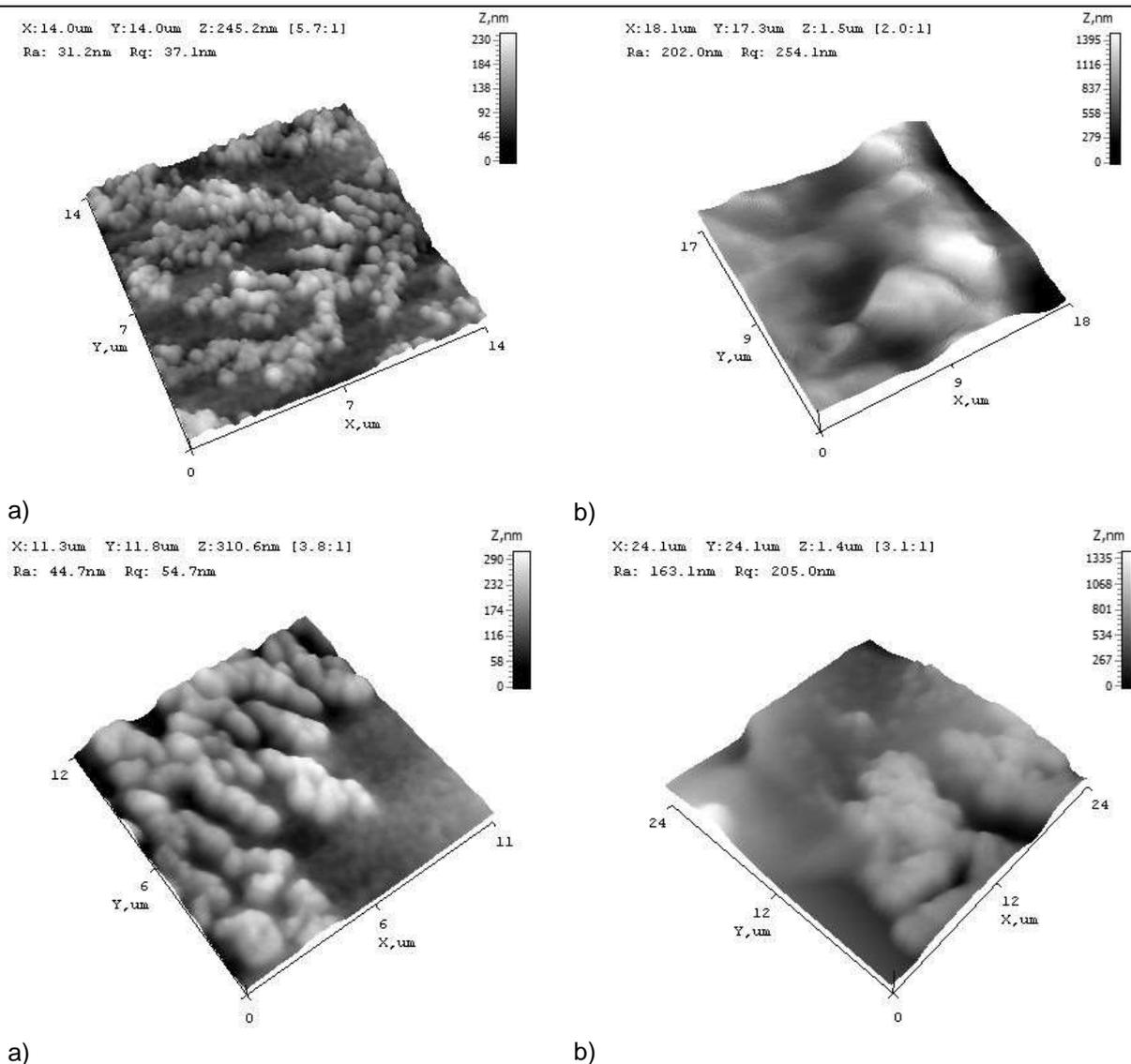


Рисунок 2 - Атомно-силовая микроскопия *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 и *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603: а) – контроль; б) – полный цитотоксический эффект после обработки цитолитическими концентрациями наночастиц

Следует отметить, что в ранних опытах [1] нами было установлено, что высокие концентрации наночастиц металлов (выше 25 мкг/мл) соответствуют сильному бактериоингибирующему действию по результатам культурального метода, поэтому неслучайно резкое нарастание цитолитического эффекта при действии тестовых образцов коллоидных растворов наночастиц высоких концентраций.

Заключение. Проведенные исследования по изучению цитотоксического действия наночастиц на прокариотические клетки с помощью АСМ позволяют сделать следующие выводы:

1. Атомно-силовая микроскопия — удобный инструментальный метод визуальной оценки морфологии бактериальных клеток и структуры бактериальной популяции, не требует наличия особых реактивов, но зависит от наличия специального оборудования (атомно-силового микроскопа).

2. Коллоидные растворы наночастиц серебра и меди обладают выраженными антибактериальными свойствами к тестируемому микроорганизму, однако их бактериостатические концентрации не приводят к изменениям морфологии клеток и структуры самой бактериальной популяции.

3. Бактерицидные концентрации наночастиц серебра и меди оказывают визуальный цитотоксический эффект, который проявляется в уменьшении высоты контуров бактериальных клеток, лизисе бактерий, выходе цитоплазматической массы за пределы бактериальных клеток, при этом существенных различий в их цитотоксическом действии на морфологию бактериальных клеток по результатам АСМ не выявляется.

4. Атомно-силовая микроскопия может быть использована на модели прокариотической клетки для последующей оценки цитотоксического действия наночастиц металлов.

Литература. 1. Изучение антибактериальных свойств коллоидных растворов наночастиц серебра и меди / П. А. Красочко [и др.] // Ветеринарный журнал Беларуси. – 2019. – № 1. – С. 41–44. 2. Никиян, А. Н. Успехи и перспективы развития атомно-силовой микроскопии в микробиологии / А. Н. Никиян, Е. Б. Татлыбаева // Вестник ОГУ. – 2014. – № 6 (167). – С. 112–119. 3. Парфенов, В. А. Атомно-силовая микроскопия и ее применения в науке, технике и реставрации / В. А. Парфенов, И. А. Юдин // Известия СПбГЭТУ. Приборостроение и информационно-измерительные технологии. – 2015. – № 9. – С. 61–70. 4. Исследование параметров биологических объектов методом атомно-силовой микроскопии / В. В. Поляков, М. В. Рубашкина, В. А. Смирнов, В. В. Полякова // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 4. – С. 10–15. 5. Стародубцева, М. Н. Атомно-силовая микроскопия клеток как метод изучения патогенеза и основа для разработки методов диагностики заболеваний / М. Н. Стародубцева // Проблемы здоровья и экологии. – 2017. – № 5. – С. 99–106. 6. Структура, свойства и токсичность структура, свойства и токсичность наночастиц оксидов серебра и меди наночастиц оксидов серебра и меди / И. Н. Андрусишина [и др.] // Биотехнология. – 2011. – Т. 4, № 6. – С. 51–59. 7. Antimicrobial activity of stable silver nanoparticles of a certain size / I. P. Mukha [et al.] // Applied Biochemistry and Microbiology. - 2013. - Vol. 49. - P. 199–206. 8. Beddoes, C. M. Understanding nanoparticle cellular entry: A physicochemical perspective / Ch. M. Beddoes, C. P. Casec, W. H. Briscoe // Advances in Colloid and Interface Science. – 2015. – Vol. 218. – P. 48–68. 9. Current Perspectives on Viable but Non-Culturable (VBNC) Pathogenic Bacteria / T. Ramamurthy [et al.] // Frontiers in public health. – 2014. – Vol. 2. – 9 p. 10. Dufrêne, Y. F. Atomic Force Microscopy in Microbiology: New Structural and Functional Insights into the Microbial Cell Surface / Y. F. Dufrêne // ASM Journals mBio. – 2014. – Vol. 5, № 4. – 14 p. 11. Effects of NaCl Concentrations on Growth Patterns, Phenotypes Associated With Virulence, and Energy Metabolism in Escherichia coli BW25113 / Fen Li [et al.] // Frontiers in microbiology. – 2021. – Vol. 12. – 19 p. 12. Lippincott-Schwartz, J. Bridging structure and process in developmental biology through new imaging technologies / J. Lippincott-Schwartz // Developmental Cell. - 2011. – Vol. 21 (1). – P. 5–10. 13. Silver Nanoparticles as Potential Antibacterial Agents/ F. Gianluigi [et al.] // Molecules. – 2015. – Vol. 20. – P. 8856–8874.

Поступила в редакцию 17.10.2022.

УДК 619:616.98:578.83.31-076-084. : 636:612.017.11/.12

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К КОНСТРУИРОВАНИЮ ВАКЦИН ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ВИРУСНЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ И ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ ТЕЛЯТ

Красочко П.А., Красочко И.А., Красочко П.П., Понаськов М.А., Яромчик Я.П., Машеро В.А., Шапулатова З.Ж.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Цель исследования - провести анализ разработки унифицированных технологий изготовления и применения моно- и ассоциированных живых и инактивированных культуральных вирус-вакцин для профилактики инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной, рота- и коронавирусной инфекций крупного рогатого скота. В процессе разработки вакцин выделены следующие этапы: подбор, селекционирование и определение антигенной активности вакцинных штаммов вирусов крупного рогатого скота для конструирования вакцин; отработка режимов культивирования вирусов для широкомасштабного накопления большого количества вирусного материала; отработка методов лиофильного высушивания вирусов для изготовления живых вакцин; отработка оптимальных методов инактивации вирусов для конструирования инактивированных вакцин; подбор оптимальных адъювантов для конструирования инактивированных вакцин; отработка оптимальных доз и соотношений компонентов при конструировании ассоциированных живых и инактивированных вирус-вакцин; изучение антигенной активности живых и инактивированных штаммов вирусов на лабораторных и сельскохозяйственных животных; изучение иммунологической перестройки организма телят после иммунизации живыми и инактивированными вирус-вакцинами крупного рогатого скота; определение иммуногенности живых и инактивированных культуральных вирус-вакцин против вирусных инфекций крупного рогатого скота на лабораторных животных; изучение профилактической эффективности живых и инактивированных культуральных вирус-вакцин вирусных инфекций крупного рогатого скота при респираторных и желудочно-кишечных болезнях телят, заболеваниях репродуктивных органов коров. **Ключевые слова:** вакцины, технология, штаммы, вирусы, адъюванты, эффективность.

CURRENT APPROACHES TO DESIGNING VACCINES FOR PREVENTING VI-RUSSIAN RESPIRATORY AND GASTROINTESTINAL INFECTIONS OF CALVES

Krasochko P.A., Krasochko I.A., Krasochko P.P., Ponaskov M.A., Yaromchik Y.P., Mashero V.A., Shapulatova Z.J.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

The purpose of the study is to analyze the development of unified technologies for the manufacture and use of mono- and associated live and inactivated culture virus vaccines for the prevention of infectious rhinotracheitis, viral diarrhea, parainfluenza-3, respiratory syncytial, rota- and coronavirus infections in cattle. The following stages are identified in the vaccine development process: selection, selection, and determination of the antigenic activity of vaccine strains of bovine viruses for vaccine design; development of virus culture modes for large-scale accumulation of a large