

восприимчивость к болезням / А.И. Ятусевич, А.М.Сарока, М.С.Орда // Паразитарные системы и паразитоценозы животных: материалы V научно-практической конференции Международной ассоциации паразитологов. Витебск, 24–27 мая 2016 г./ Вит. гос. акад. вет. мед. – Витебск, 2016. – С. 215-217.

8. Ятусевич, А.И. Эндопаразитозы птиц в зоопарках Республики Беларусь/ А.И. Ятусевич, В.М. Мироненко, И.Ю. Воробьева //Ученые записки УО ВГАВМ. – 2011. – Т. 47. - № 2-1. – С. 234-236.

УДК 620.3:619

ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ НАНОРАЗМЕРНЫХ ЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ

Корочкин Р.Б., Гвоздев С.Н., Кондрашова М.В.

ВГАВМ, г. Витебск

Введение. Биопленки представляют собой универсальные, сложные, взаимозависимые сообщества поверхностно связанных микроорганизмов. Микроорганизмы в состоянии биопленок заключены в экзополисахаридную матрицу, образующуюся на любой твердой поверхности и в водных средах, а также внутри организма-хозяина. Экзополлимерные матрицы биопленок содержат значительное количество полисахаридов, белков, нуклеиновых кислот и липидов, которые отвечают за поддержание структурной целостности самой биопленки и обеспечивают среду для размножения бактериальных клеток. Неслучайно, подавление биопленкообразования рассматривается в качестве основной мишени для антибактериального фармакологического воздействия. Прямое ингибирующее воздействие наноразмерных частиц биоэлементов на способность микроорганизмов продуцировать биопленки предположено совсем недавно [2], однако многие стороны антибиопленковой активности остаются мало изученными.

Материалы и методы исследований. Исследования по оценке ингибирования биопленкообразования проводили по методике Toole G.A & Kolter R. [3]. В качестве тестируемого агента с предполагаемым антибиопленковым действием использовали коллоидный раствор наноразмерных частиц серебра со средним гидродинамическим диаметром частиц в пределах 3–16 нм. Средняя концентрация наночастиц серебра в коллоидном растворе составляла приблизительно 300 мг/л (мг л^{-1}) или 300 мкг/мл (мкг мл^{-1}). В опытах изучена антибиопленковая активность различных нисходящих концентраций наночастиц серебра: 100 мкг мл^{-1} , 75 мкг мл^{-1} , 50 мкг мл^{-1} , 25 мкг мл^{-1} и 10 мкг мл^{-1} . В качестве отрицательного контроля была использована дистиллированная вода. Для изучения ингибирующей активности на формирование биопленок были использованы: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ATCC BAA-2162, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 902.

Изучение ингибирования формирования биопленок проводили в 96-луночных планшетах, применяя модифицированный метод спектрофотометрического анализа биопленок (Toole G.A & Kolter R., 1998). Для этого 100 мкл полученной клеточной суспензии вышеназванных бактериальных культур добавляли в 96-луночный

планшет, затем добавляли уменьшающиеся объемы коллоидного раствора наночастиц серебра, достигая их различных нисходящих концентраций (100 мкг мл⁻¹, 75 мкг мл⁻¹, 50 мкг мл⁻¹, 25 мкг мл⁻¹ и 10 мкг мл⁻¹), и инкубировали смесь при 37°C в течение трех дней. По завершению инкубирования жидкий компонент бактериальной культуры удаляли пипетированием и добавляли 100 мкл 1%-ного по массе и объему раствора кристаллвиолета. После окрашивания при комнатной температуре в течение 30 минут краситель удаляли, лунки тщательно промывали, добавляли 95%-ный раствор этанола и выдерживали в течение 15 минут. Реакционную смесь считывали спектрофотометрически при 590 нм. Процент ингибирования биопленки рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{Процент ингибирования (\%)} = \frac{\text{ОП контроль} - \text{ОП наночастицы}}{\text{ОП контроль}} \times 100$$

ОП контроль – показатель оптической плотности биопленки в контрольной лунке;

ОП наночастицы – показатель оптической плотности биопленки в лунке с добавлением наночастиц.

Результаты исследования. Исследование подавления биопленкообразования использованных в опыте штаммов микроорганизмов четко выявило выраженное ингибирующее действие всех протестированных концентраций наночастиц. Результаты спектрофотометрии интенсивности биопленкообразования тестируемых бактериальных культур отражены в таблице 1.

Таблица 1. Показатели оптической плотности интенсивности биопленкообразования бактериальных культур (при 590 нм)

Концентрация наночастиц серебра (мкг/мл)	Виды бактериальных культур				
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 902	<i>Salmonella enterica</i> ATCC ВАА-2162	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
0	1,29	1,31	1,17	1,15	1,19
10	0,92	1,11	0,74	0,77	0,8
25	0,63	0,94	0,54	0,57	0,56
50	0,49	0,66	0,42	0,44	0,47
75	0,37	0,38	0,36	0,36	0,35
100	0,25	0,23	0,21	0,22	0,21

Результаты расчета процента ингибирования формирования биопленок представлены в таблице 2.

Наночастицы серебра с концентрацией 100 мкг/мл показывали максимальный эффект ингибирования биопленкообразования. В последующих нисходящих концентрациях наночастиц серебра отмечалось снижение антибиопленковой активности, однако в наименьшей концентрации (10 мкг мл⁻¹) подавление формирования биопленок всеми тестируемыми микроорганизмами сохранялось.

Сравнение показателей процентов ингибирования биопленкообразования всех тестовых штаммов микроорганизмов позволяет констатировать, что наивысшая концентрация наночастиц серебра (100 мкг мл⁻¹) в одинаковой степени нарушает способность бактерий к формированию биопленок (80,6–82,4%). В нашем опыте данное значение приблизительно соответствует диапазону концентраций

наночастиц серебра 25–50 мкг/мл.

При этом разведении наноразмерные частицы демонстрируют приблизительно одинаковую ингибирующую активность в отношении всех тестовых культур (50,4–53,8%), за исключением *Pseudomonas aeruginosa*, у которой биопленкообразование демонстрирует выраженную устойчивость к воздействию наночастиц серебра, что согласуется с результатами других авторов, которые установили выраженную способность синегнойной палочки к продукции биопленок [1, 2].

Таблица 2. Значения процента ингибиции биопленкообразования тестовых бактериальных культур

Концентрация наночастиц серебра (мкг/мл)	Виды бактериальных культур				
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 902	<i>Salmonella enterica</i> ATCC BAA-2162	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
0	0	0	0	0	0
10	28,6	15,2	36,7	33	32,7
25	51,1	28,2	53,8	50,4	52,9
50	62	49,6	64,1	61,7	50,8
75	71,3	70,9	69,2	68,7	70,5
100	80,6	82,4	82	80,8	82,3

Заключение. Наноразмерные частицы серебра обладают способностью ингибировать продукцию бактериальных биопленок во внешней среде в концентрациях более 10 мкг/мл. Коллоидные растворы наночастиц серебра демонстрируют выраженный дозозависимый эффект на биопленкообразование микроорганизмами с наибольшим процентом ингибиции в более высоких концентрациях наночастиц.

Литература.

1. Oliver, A. High frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection / A. Oliver // Science. – 2000. – Vol. 288. – P. 1251–1253.
2. Silver nanoparticles impede the biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis* / K. Kalishwaralal [et al.] // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2010. – Vol. 79. – P. 340–344.
3. Toole, G. A. Initiation of biofilm formation in *pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signaling pathways: a genetic analysis / G. A. Toole, R. Kolter // Molecular Microbiology. – 1998. – Vol. 28. – P. 449–461

УДК 619:615.33

ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА «НЕОМИЦИН ВБФ» ДЛЯ РЫБ

Кошнеров А. Г., Старовойтова С. Д., Закревская В. А.

ВГАВМ, г. Витебск

Введение. Аэромоноз карпов, как и другие инфекции бактериальной этиологии, наносит значительный ущерб рыбному хозяйству в условиях интенсификации промышленного рыбоводства [1, 2].