

контрольного Ін-ту ветпрепаратів та кормових добавок. – Львів, 2012. – Вип. 13, № 3–4. – С. 195–201. 3. Лабораторна діагностика лістеріозу тварин [Текст] : метод. рек. / Т.О. Бондар [та ін.]. – К., 2007. – 32 с. 4. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення та підрахування *Listeria monocytogenes* [Текст]. Частина 1. Метод виявлення : ДСТУ ISO 11290-1:2003 (ISO 11290-1:2003) – Увед. вперше ; чинний від 2003-10-02. – К. : Держспоживстандарт України, 2005. – 18 с. – (Нац. стандарт України). 5. Parker, J.N. The Official Patient's Sourcebook on Listeriosis: A Revised and Updated Directory for the Internet Age [Text] / J.N. Parker, Ph. M. Parker. – San Diego: Printed in the United States of America, 2002. – 160 p. 6. Goldfine, H. *Listeria monocytogenes*: pathogenesis and host response [Text] / H. Goldfine, H. Chen. – New York : Springer science, 2007. – 287 p.

DEVELOPMENT AND TEST «KIT TEST- OF LISTERIA SPP. STRAINS FOR THE CAMP-TEST AND QUALITY CONTROL OF NUTRIENT MEDIA»

Kovtun V.A.

The State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms, Kyiv

The article presents the results of developing and testing of "Test-set of *Listeria spp.* strains for the camp-test and quality control of nutrient media" which found that the strains selected candidates according to their cultural, morphological, biochemical and hemolytic properties were suitable for use in the above set. The results served as the basis for the formation of regulatory documents and files on the "Test-set of *Listeria spp.* strains for the camp-test and quality control of nutrient media" and the conduct of its state registration in Ukraine.

УДК 619:831.004

ПРОТИВОВИРУСНЫЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

Красочко П.А., Красочко И.А., Станкуть А.Э.

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского», г. Минск, Республика Беларусь

Чижик С.А.

ГНУ «Институт тепло- и массообмена им. А.В. Лыкова НАН Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

Исследование в сфере нанотехнологий являются одним из самых перспективных направлений науки и техники. В настоящее время металлические нанопорошки и другие виды наноматериалов находят широкое применение во многих отраслях промышленности, включая производство электронной техники, пищевых продуктов и др. Считается, что удельный вес производства наноматериалов с каждым годом будет возрастать [2].

Высокая биологическая активность наночастиц *in vivo*, их активная роль в биокинетических процессах послужили поводом для изучения антибактериальных и противовирусных свойств наночастиц [3]. Имеются данные, что наночастицы серебра размером 25, 80 и 130 нм, а так же их агрегаты интенсивно поглощаются клетками печени, альвеолярными макрофагами и нейроэндокринными клетками крыс соответственно линий BRL3A, MAC и PC-12 [7]. Продемонстрирована высокая антибактериальная, направленная против золотистого стафилококка и кишечной палочки, активность коллоидных растворов наносеребра в составе перевязочного материала и других перевязочных материалов [8]. Доказано что наночастицы серебра обеззараживают более 100 видов опасных бактерий вирусов и грибов [5].

Современные исследования действия коллоидных ионов серебра показали, что они обладают выраженной способностью обезвреживать вирусы оспавакцины, некоторые штаммы вируса гриппа, энтеро- и аденовирусов. К тому же они оказывают положительный терапевтический эффект при лечении вирусного энтерита и чумы собак. При этом выявлено преимущество терапии коллоидным серебром по сравнению со стандартной терапией [4, 6].

Особый интерес представляют исследования противовирусных свойств наночастиц серебра по отношению к вирусам животных.

Цель нашей работы – исследовать противовирусные свойства наночастиц серебра *in vivo* касательно вируса болезни Ауески.

Материалы и методы исследований. Для исследования использовали эпизоотический штамм вируса болезни Ауески свиней КМИЭВ-106 (титр вируса 6,0 ТЦД 50/мл), выделенный в ноябре 2008 году в лаборатории диагностики РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского», а также наночастицы серебра в концентрации 5 мкг/мл на 2 % целлюлозе и 30 белых мышей массой 18–20 грамм.

Наночастицы серебра готовили следующим образом. В стеклянную емкость наливали 30 мл ПЭГ 200. В эту же емкость добавляли 1,5 мл 0,05 нормального водного раствора $AgNO_3$. Полученный раствор выдерживался в течение 10 мин. Затем в него добавляли 0,75 мл водного раствора гидразина концентрации 0,05 н. В результате окислительно-восстановительной реакции образовывался коричнево-серый коллоидный раствор серебра. Полученный раствор помещали в центрифугу на 15 мин (4000 об/мин). В результате центрифугирования раствор расслаивался. В осадке были сконцентрированы коллоидные частицы серебра. В прозрачной части – побочные продукты реакции восстановления. Прозрачный слой отделялся от осадка декантацией. К очищенному таким образом осадку добавлялось 20 мл ПЭГ 200. На полученную композицию воздействовали ультразвуком в течение 10 минут до образования однородного коллоидного раствора. Операцию центрифугирования /диспергирования повторяли 3 раза.

Измерение размеров наночастиц выполнялось в лаборатории нанопроцессов и технологий «Института тепло- и массообмена имени А.В. Лыкова НАН Беларуси» при помощи атомно-силового микроскопа (АСМ) – NT-206 в контактном режиме. При этом использовались кремниевые зонды («MikroMasch» Со. Эстония) NSC11 с константой жесткости 3 Н/м.

Закрепление частиц на подложке выполняли при помощи специальной методики подготовки образцов, которая заключалась в гидрофилизации подложки и последующем осаждении наночастиц из суспензии L-B-L способом. Для осуществления гидрофилизации кремниевую подложку помещали в раствор, состоящий из 2 мл раствора аммиака, 2 мл пероксида водорода и 10 мл воды и выдерживали в течение 15 мин при 75 °С. Затем промывали дистиллированной водой и высушивали. Подложку выдерживали в коллоидном растворе наночастиц в течение 5–10 мин., затем промывали дистиллированной водой и высушивали на воздухе [1].

С целью изучения противовирусных свойств наночастиц серебра было сформировано 6 групп мышей по 5 голов: 1 группа – мышей вначале обрабатывали наночастицами серебра в дозе 0,3 мл в течение 2 дней, а затем заражали вирусом болезни Ауески в дозе 0,2 мл; 2 группа – вначале животных заражали вирусом болезни Ауески в дозе 0,2 мл, затем обрабатывали наночастицами серебра в течение 2 дней в дозе 0,3 мл; 3 группа – заражали вирусом болезни Ауески в дозе 0,2 мл; 4 группа – контроль наночастиц серебра; 5 группа – контроль (интактные животные). За животными производили наблюдение в течение 14 дней.

Результаты исследований. После получения наночастиц серебра проведено их изучение методом атомно-силовой микроскопии [1].

Розділ 9. Біотехнологія

На рисунке представлены изображения наночастиц серебра. Частицы распределены равномерно по поверхности подложки, встречаются отдельные агрегаты из наночастиц. Методом АСМ проведена оценка размера этих частиц. Установлено, что средний размер образованных частиц составляет $120,3 \pm 3,5$ нм.

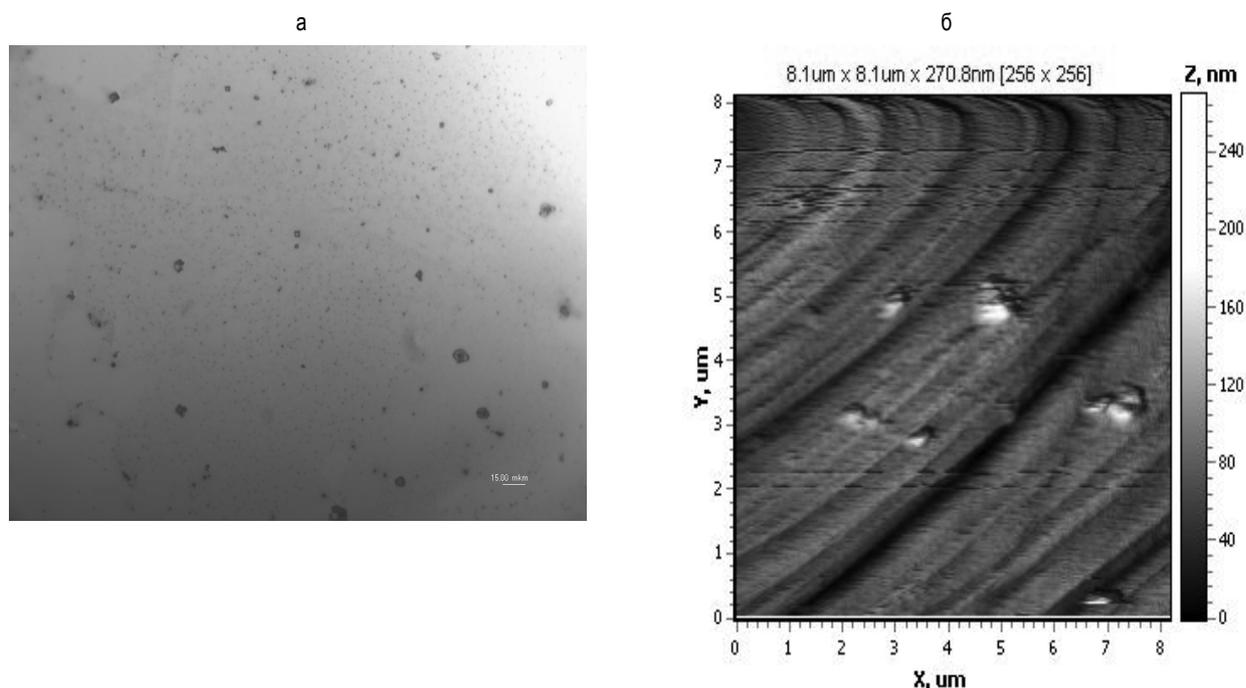


Рис. Оптические и АСМ изображения, а – оптическое изображение кремневой подложки с частицами серебра, увеличение 400 крат; б – топография поверхности, область сканирования 5,1x5,1 мкм

Следующим этапом исследований было изучение противовирусных свойств наночастиц серебра.

После подкожного введения наночастиц серебра у 20–40 % мышей как опытных, так и контрольной групп отмечалось незначительное уплотнение на месте инъекции, которое проходило на 2–3 дни.

После подкожного введения мышам вируса болезни Ауески первые клинические признаки были отмечены на 3–4 день после заражения, гибель – на пятый день.

В таблице 1 приведены результаты изучения противовирусных свойств наночастиц серебра.

Таблица 1 – Результаты изучения противовирусных свойств наночастиц серебра

Дни опыта	1 группа (наночастицы серебра двукратно и вирус болезни Ауески, однократно)	2 группа (вирус болезни Ауески однократно и наночастицы серебра, двукратно)	3 группа (вирус болезни Ауески, однократно)	4 группа (наночастицы серебра, двукратно)	5 группа (контроль)
1	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
2	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
3	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
4	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
6	0/5	1/4	2/3	0/5	0/5
7	0/5	1/4	2/3	0/5	0/5
8	0/5	3/2	3/2	0/5	0/5
9	0/5	3/2	3/2	0/5	0/5
10	0/5	3/2	3/2	0/5	0/5
11	0/5	3/2	5/0	0/5	0/5
12	0/5	3/2	5/0	0/5	0/5
13	0/5	3/2	5/0	0/5	0/5
14	0/5	3/2	5/0	0/5	0/5

Примечание: числитель – пало животных, знаменатель – выжило

Из таблицы видно, что после заражения мышей вирусом болезни Ауески их гибель отмечена была на пятый день – пало 2 мыши, живых осталось 3, но к 11 дню все зараженные мыши пали.

Полученные результаты исследований по изучению профилактического действия наночастиц серебра (первоначально обработанные наночастицами, а затем зараженные вирусом) показали, что на протяжении опыта все мыши оставались живы, т.е. наночастицы обладают профилактическим эффектом.

При изучении лечебного действия наночастиц серебра установлено, что при первоначальном заражении животных с последующей обработкой наночастицами только 40 % животных осталось живыми, а 60 % – погибли.

Из числа обработанных наночастицами серебра мышей на протяжении опыта не погибло ни одно животное. Контрольные животные на протяжении опыта также оставались живы.

Таким образом, наночастицы серебра являются безвредным препаратом, обладают высоким 100 % профилактическим эффектом, но лечебный эффект составляет только 40 %.

Выводы:

1. Первоначальная обработка животных наночастицами серебра, а затем заражение их вирусом болезни Ауески позволяет предотвратить гибель животных и обеспечить 100 % профилактический противовирусный эффект.

2. Первоначальное заражение животных вирусом болезни Ауески, а затем обработка наночастицами серебра позволяет обеспечить сохранность 40 % животных.

Список литературы

1. Атомно-силовой микроскоп NT-206 [Текст] : рук. по эксплуатации. – Гомель : ОДО «Микротестмашины», 2004. – 66 с. 2. Баранов, В.И. [Текст] / В.И. Баранов // Успехи теорет. и клин. медицины. – 2007. – Вып. 7, т. 2. – С. 121–125. 3. Баранов, В.И. [Текст] / В.И. Баранов, Е.А. Сапонова, В.Ф. Лавров // Успехи теорет. и клин. медицины : материалы науч. исследований. – 2007. – Вып. 7, т. 2. – С. 178–183. 4. Брызгунов, В.С. Сравнительная оценка бактерицидных свойств серебряной воды и антибиотиков на чистых культурах микробов и их ассоциациях [Текст] / В.С. Брызгунов, В.Н. Липин, В.Р. Матросова // Науч. тр. Казан. мед. ин-та. – 1964. – Т. 14. – С. 121–122. 5. Наносеребро: технологии получения, фармакологические свойства, показания к применению [Текст] / И.С. Чекман [и др.] // Препараты и технологии. – 2008. – № 5(51). – С. 32–40. 6. Inactivation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Aeromonas hydrophila* by silver in tap water [Text] / N. Silvestry-Rodriguez [et al.] // Environmental Science and Health. – 2007. – Vol. 42(11). – P. 1579–1584. 7. Assessment of metal nanoparticle agglomeration, uptake, and interaction using high-illuminating system [Text] / J.A. Skebo [et al.] // Int. J. Toksikol. – 2007. – Vol. 26, №2. – P. 135–141. 8. Sung Hoon Jeong. Antibacterial properties of padded PP/PE nonwovens incorporating nano-sized silver colloids [Text] / Sung Hoon Jeong, Yun Hwan Hwang, Sung Chul Yi // J. Materials Sci. – 2005. – Vol. 40, № 20. – P. 5413–5418.

ANTIVIRAL PROPERTIES OF A PREPARATION ON THE BASIS OF SILVER NANOPARTICLES

Krasochko P.A., Krasochko I.A., Stankut A.E.

RUE "Institute of Experimental Veterinary Medicine named after S.N. Vysheski", Minsk, Republic of Belarus

Chizhik S.A.

SSI "Institute of Heat and Mass Transfer named after A.V. Likov National Academy of Sciences of Belarus", Minsk, Republic of Belarus

The results of study antiviral properties of nanoparticles of silver are given. It is established that nanoparticles of silver are the harmless preparation, possessing in high 100% preventive effect, and 40% medical efficiency.

УДК 616:98:579.843.115-078.73

ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА НАБОРОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ХЛАМИДИОЗА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В РСК И РДСК В СООТВЕТСТВИИ С ТРЕБОВАНИЯМИ ГОСТ Р 52249-2009

Люлькова Л.С., Скотникова Т.А., Еремец Н.К., Малышева М.А., Еремец В.И., Самуйленко А.Я.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности РАСХН, г. Щелково, Российская Федерация

Приоритетной задачей по реализации государственной экономической политики в области продовольственной безопасности Российской Федерации, направленной на обеспечение населения продуктами питания, является развитие отечественного животноводства. Однако наряду с развитием животноводства отмечается рост заболевания животных инфекционными заболеваниями. Многообразие симптомов проявления вирусных и бактериальных инфекций, а часто их ассоциация, затрудняют постановку диагноза, поэтому этиологический диагноз должен основываться на результатах лабораторных исследований, включая серологические методы. Для успешного лечения и своевременной профилактики инфекционных заболеваний необходим ранний и точный диагноз, что возможно при использовании чувствительных и специфических методов.

В настоящее время биотехнология характеризуется разработкой диагностических тест-систем, основанных на применении современных методов фракционирования, очистки и концентрирования вирусных и бактериальных антигенов; получения высокоактивных специфических сывороток. Таким образом, совершенствование технологии производства, улучшение качества и стандартизация диагностических наборов (тест-систем) является одной из важнейших задач.

Для сельскохозяйственных животных традиционными остаются серологические методы диагностики хламидиоза (РГА, РА, РДП, РСК и РДСК, ИФА и др.). Все эти реакции используются в практике, и каждая имеет свои недостатки и преимущества. В настоящее время основным, официально узаконенным, методом диагностики хламидиозов является РСК.

Национальными стандартами ГОСТ Р 52249-2004 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств» и ГОСТ Р 52537-2006 «Производство лекарственных средств. Система обеспечения качества. Общие требования» предусмотрено, что производство лекарственных средств, в том числе диагностических препаратов, должно гарантировать качество выпускаемого биопрепарата, т.е. его активность, специфичность, стабильность. Совершенствование технологии производства и методов обеспечения качества диагностических препаратов является надежным способом повышения их конкурентоспособности. На уровне производства диагностических препаратов центральным элементом системы обеспечения качества являются Правила (ГОСТ Р 52249-2004), выполнение которых позволяет изготавливать продукцию безопасную, эффективную и стабильного качества [1]. Однако, чтобы деятельность предприятия стала успешной на рынке, необходимо разработать систему менеджмента качества (СМК) на основе требований стандартов ИСО 9000 (ГОСТ Р 9001-2008), внедрение которой приводит к снижению управленческих ошибок [2, 3]. Сочетание этих двух подходов в процессе производства и реализации продукции позволяет повысить эффективность и результативность СМК, а также привлекательность продукции для потребителя.