Оценка эффективности новой формы эшерихиозной сыворотки, иммобилизированной на модифицированном диоксиде кремния

З. Х. Межиева✉, кандидат ветеринарных наук, главный специалист отдела бактериологии

А.В. Моторыгин, кандидат ветеринарных наук, заведующий научно-технологической лабораторией

Н.С. Абросимова, старший научный сотрудник научно-технологической лаборатории

А.Н. Панин, доктор ветеринарных наук, Академик РАН, Советник директора

ФГБУ «ВГНКИ» (Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов»)

123022, Москва, Звенигородское шоссе, 5

✉zarina@vgnki.ru

Резюме. В работе описаны результаты оценки эффективности новой формы препарата эшерихиозной сыворотки, иммобилизированной на модифицированном аминоэтоксисиланом диоксиде кремния. Преимущество новой формы заключается в увеличении специфической активности по сравнению с традиционной гипериммунной сывороткой в жидкой форме. В статье изложены сравнительные результаты постановки реакции агглютинации (РА) новой формы эшерихиозной сыворотки и гипериммунной сыворотки в жидкой форме, с энтеротоксигенными штаммами *Escherichia coli* продуцентами адгезивных антигенов K88, K99, 987P, F-41, полученных из коллекции ФГБУ «ВГНКИ». В качестве контрольного образца служил модифицированный аминоэтоксисиланом диоксид кремния без адсорбированных на его поверхности белков сыворотки. Достоверно установлено, что РА новой формы препарата протекает более активно и при этом отмечено формирование очень плотных адгезивных комплексов, чем у жидкой формы этой же сыворотки, что указывает на специфичность сорбции. Результаты серологической реакции подтверждены также исследованиями сравнительной эффективности новой формы антитоксической эшерихиозной сыворотки на белых мышах, которая также показала более высокую эффективность и стабильность по сравнению с гипериммунной сывороткой в жидкой форме.

Ключевые слова: эшерихиозная сыворотка, реакция агглютинации (РА), диоксид кремния, штамм, иммобилизация, модификатор, лабораторные мыши, токсичность.

Для цитирования: Оценка эффективности новой формы эшерихиозной сыворотки иммобилизированной на модифицированном диоксиде кремния / З. Х. Межиева, А. В. Моторыгин, Н. С. Абросимова и др. // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2025. № 2 (70). С. 146-153. doi:10.18286/1816-4501-2025-2-146-153

Evaluation of the Efficacy of a Novel Form of *Escherichia coli* Serum Immobilized on Modified Silicon Dioxide

Z. Kh. Mezhieva✉, **A. V. Motorygin**, **N. S. Abrosimova**, **A. N. Panin**

FGBU «VGNKI» (Federal State Budgetary Institution «The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality»)

123022, Moscow, Zvenigorodskoe highway, 5

✉zarina@vgnki.ru

Abstract. This paper describes the results of an efficacy evaluation of a novel form of *Escherichia coli* antiserum immobilized on aminoethoxysilane-modified silicon dioxide. The advantage of this new formulation lies in its increased specific activity compared to traditional liquid hyperimmune serum. The article presents comparative results of agglutination reactions (AR) using the novel *E. coli* antiserum and liquid hyperimmune serum against enterotoxigenic *E. coli* strains producing adhesive antigens K88, K99, 987P, and F41, obtained from the collection of FGBU "VGNKI." Aminoethoxysilane-modified silicon dioxide without adsorbed serum proteins served as a control. It was reliably established that the AR with the novel formulation proceeded more actively, exhibiting the formation of significantly denser adhesive complexes than with the liquid form of the same serum, indicating the specificity of the sorption. The serological reaction results were further corroborated by comparative efficacy studies in white mice, which also demonstrated higher efficacy and stability for the novel antitoxic *E. coli* serum compared to the liquid hyperimmune serum.

Keywords: escherichia serum, agglutination reaction (RA), silicon dioxide, strain, immobilization, modifier, laboratory mice, toxicity.

For citation: Evaluation of the Efficacy of a Novel Form of Escherichia coli Serum Immobilized on Modified Silicon Dioxide / Z. Kh. Mezhieva, A. V. Motorygin, N. S. Abrosimova, et al. // Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy. 2025;2(70): 146-153 doi:10.18286/1816-4501-2025-2-146-153

Исследования проводили в рамках гранта Российского научного фонда № 24-26-00202 «Обеспечение устойчивости специфического нейтрализующего комплекса, иммобилизованного на природном адсорбенте для лечения и профилактики эшерихиозов сельскохозяйственных животных» в рамках федерального проекта РНФ «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований малыми отдельными научными группами».

Введение

Среди болезней молодняка животных в ранний постнатальный период наиболее часто регистрируют эшерихиоз – остро или подостро протекающую инфекционную болезнь, наносящую значительный экономический ущерб животноводству за счет высокой смертности, а также задержки роста и снижения продуктивности переболевших особей.

До недавнего времени в лечении эшерихиоза большое значение придавалось использованию антимикробных средств (антибиотиков, хинолонов и др.). Однако длительное и бессистемное их применение ведет к возникновению резистентных форм энтеропатогенных *Escherichia coli*, обусловленных присутствием плазмид резистентности, и как итог приводящих к снижению эффективности лечебно-профилактических мероприятий.

В качестве иммунотерапии при эшерихиозе применение средств целенаправленной активации иммунитета с помощью лечебно-профилактических иммунных сывороток до сих пор остается одним из методов борьбы с острыми кишечными инфекциями, несмотря на почти 100-летнюю историю их применения [1, 2]. Гипериммунные сыворотки являются уникальным лечебным и профилактическим средством в ветеринарии, поскольку обладают многосторонними функциональными свойствами при эшерихиозах животных [3, 4, 5].

На сегодняшний день для лечения эшерихиоза животных разработана сыворотка антиадгезивная антиоксическая против эшерихиоза сельскохозяйственных животных, которая получила широкое применение в хозяйствах РФ. Препарат содержит комплекс антител против соматических, белковых адгезивных и полисахаридных капсульных антигенов, термолабильного и термостабильного энтеротоксинов и веротоксинов [6]. Данная сыворотка явилась препаратом сравнения при разработке новой формы эшерихиозной сыворотки, иммобилизованной на модифицированном аминоэтоксисиланом диоксиде кремния.

При лечении острых форм кишечных инфекций применяемое парентеральное введение гипериммунной сыворотки является менее эффективным, поскольку антитела, циркулирующие в крови, обладают слабыми защитными свойствами, т.к. при остром течении болезни защищают преимущественно антитела, находящиеся в просвете кишечника, то есть, непосредственно в воротах инфекции.

Помимо указанного в инструкции по применению внутримышечного введения, разработчик также рекомендует применять препарат перорально в объеме 15 см³ для профилактики эшерихиоза в первые дни жизни.

Преимуществом данного метода является то, что специфический лечебный эффект, оказываемый сывороткой, возникает раньше, чем от внутримышечного введения, т.к. доставка препарата осуществляется напрямую в ворота инфекции.

Несмотря на обеспечение практически немедленной защиты от перорального применения гипериммунных сывороток, у данного метода существуют недостатки, связанные, прежде всего, с возможным развитием гиперчувствительных реакций, особенно при введении гетерологичным видам животных больших объемов препарата в лечебных дозах.

В настоящее время большое научное и практическое значение имеют разработки новых форм препаратов с модифицированными носителями для стабильности белковых структур, иммобилизованных на их поверхностях [7-11].

Таким образом, мобилизованный комплекс сыворотки и сама мобилизованная сыворотка на модифицированном диоксиде кремния может проявить значительную устойчивость в том числе к ферментным системам бактериальных клеток. Общеизвестно, что иммобилизованные белки, в том числе белки сыворотки устойчивы не только к температуре, изменению pH и действию агрессивных веществ, а также могут проявлять устойчивость к бактериальным ферментным системам. Существующие методы иммобилизации в значительной степени нивелируют недостатки белковых структур путем их физической локализации в определенной области пространства, что приводит к ограничению движения и специфическим структурным изменениям. Фиксация белков может им позволить стать более стабильными и устойчивыми к различным условиям окружающей среды с увеличенным сроком службы. Общеизвестны различные классификации методов иммобилизации. Ковалентное связывание, адсорбция, сшивание, инкапсуляция, ионная связь и аффинная связь являются обычными методами иммобилизации белков. В целом, указанные методы иммобилизации белков можно разделить на химические и физические методы. Эти методы вместе с характеристиками вспомогательных

материалов, например, гидрофиличность, низкая стоимость производства, биосовместимость и устойчивость к суровым физикохимическим условиям являются экономически целесообразными при получении иммобилизованных белков с оптимальной устойчивостью и увеличенной эффективностью [12].

В этой связи наиболее эффективным методом профилактики и ликвидации эшерихиоза молодняка животных может явиться разработка специфического препарата, состоящего из модифицированного носителя стабилизирующего сыворотку и таким образом увеличивающего активность антител к адгезивным антигенам *E.coli*: K88, K99, 987P, F-41, а также к термолabileльному и термостабильному энтеротоксинам эшерихий. Однако, нам не удалось найти какие-либо научные публикации по данному вопросу в открытой печати, в связи с чем исследования в этом направлении составят новизну работы [13].

Цель исследований – изучение эффективности новой формы препарата – модифицированного диоксида кремния аминоэтоксисилоном с иммобилизованными антителами к специфическим адгезивным антигенам *E.coli* K88, K99, 987P, F-41 и термолabileльным и термостабильным анатоксинам эшерихий, позволяющий доставить указанные антитела к воротам инфекции, то есть в просвет кишечника и преодолевать специфическую систему защиты эшерихий.

Материалы и методы

Исследования проводили в отделе бактериологии и научно-технологической лаборатории ФГБУ «ВГНКИ», а также в виварном комплексе научно-экспериментальной базы «Манихино».

В работе использовали лечебно-профилактическую сыворотку производства ФКП «Армавирская биофабрика» - «Сыворотка антиадгезивная антитоксическая против эшерихиоза сельскохозяйственных животных».

Штаммы *Escherichia coli* были получены из «Всероссийской коллекции штаммов микроорганизмов» ФГБУ «ВГНКИ»: *E. coli* № 2005 (O141:K99:H), *E. coli* № 397-37/14 (O9:K103:987P), *E. coli* № ТП-85 (O115:K88ac:H), *E. coli* № 398-37/14 (O101:F41).

Объектом исследования служил диоксид кремния модифицированный аминоэтоксисилоном с иммобилизованной на нем антитоксической сывороткой (опытный препарат).

В качестве лабораторной модели для определения антитоксической эффективности сыворотки (жидкой и иммобилизованной) были приобретены лабораторные, аутбредные белые мыши в количестве 160 голов, масса животных составляла 18...20 г. Из указанного количества животных было сформировано восемь групп, каждая из которых состояла из 20-ти белых мышей. Учитывая, что испытания проводились по 4-м штаммам на каждый штамм использовалось пять голов животных.

Анализ морфологических, культурально-биохимических, молекулярно-генетических и антигенных свойств штаммов *Escherichia coli* проводили с помощью общепринятых микробиологических методов исследования, описанных в фундаментальных трудах различными учеными и широко используемым в современной бактериологии («*Методы общей бактериологии*», т. 3. Герхардт. М.: Мир, 1983. 536 с., Биргер М. О. *Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования*. М.: Медицина, 1967. 464 с. и др.), а именно: изучение микроскопических, культуральных, ферментативных, гемолитических свойств штаммов на соответствие паспортным данным; чашечный метод Коха (КОЕ/мл), реакция агглютинации (для сравнительной активности сывороток – жидкой и иммобилизованной).

Все манипуляции с животными проводили согласно Руководству по содержанию и уходу за лабораторными животными (ГОСТ 33216-2014), а эвтаназию белых мышей осуществляли в газовой камере (CO₂ 70 %, 30 минут), в соответствии с рекомендациями по гуманной эвтаназии (*AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition*. Schaumburg, IL: American Veterinary Medical Association. 2020. 121. ISBN 978-1-882691-54-8).

Методы статистической обработки материала (экспериментальных данных) проводили по общепринятым методикам, используя коэффициент корреляции Пирсона, t-критерий Стьюдента, двойную корреляцию.

Расчет результатов проводили, используя пакет прикладных программ Statistica 6.0.

Результаты

Начальный этап проведения исследований заключался в подготовке сыворотки, которая являлась препаратом сравнения и сухих форм, а именно опытного препарата (диоксид кремния с мобилизатором с адсорбированной сывороткой) и контрольного (диоксид кремния с мобилизатором без адсорбированной сыворотки) образца, не содержащего белков сыворотки, надосадов от которых использовали в реакции агглютинации (РА). Для этого делали разведения до следующих титров: 1:25, 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600 и 1:3200 табл. 1).

Учитывая результаты РА, выяснили, что в опытном препарате, в отличие от сыворотки жидкой, образуются очень плотные агглютинаты – «зонты», которые при встряхивании поднимаются в виде не разбивающихся хлопьев, а также, чем выше титры разведения опытного препарата, тем лучше просматриваются зонты, а надосадов при встряхивании остается прозрачным (особенно это наблюдается при просматривании реакции с разведением 1:1600 и 1:3200), что может говорить о том, что в пробирке с данным разведением не остается свободного, т.е. не связавшегося с бактериальными клетками, адсорбента. При встряхивании пробирок с разведениями до 1:1600 судить о прочности поднимающихся

хлопьев опытного препарата довольно сложно из-за сильного помутнения содержимого пробирки в связи с большой концентрацией не связавшихся частиц адсорбента. При этом необходимо отметить, что на дне пробирок образуются четкие зонты на +++/++++ креста. Мы предполагаем, что большое количество несвязавшихся (свободных) частиц

опытного препарата мешает визуализации течения реакции и придает надосадке мутность при встряхивании. Полученные результаты свидетельствуют о том, что активность опытного препарата может быть выше при большем разведении в сравнении с жидкой формой сыворотки.

Таблица 1. Учет пробирочной реакции агглютинации (РА)

Наименование штамма E.coli		Разведение								
		неразведенный надосадок	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
987P	Контроль	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	Опытный препарат	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
	Сыворотка (жидкая)	не информативно	++++	++++	+++	+++	+++	++	++	+
K99	Контроль	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	Опытный препарат	++	++++	++++	+++ / ++++	+++	+++	+++	+++	+++
	Сыворотка (жидкая)	не информативно	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+
F41	Контроль	++	+	+	+	+	+	-	-	-
	Опытный препарат	++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++
	Сыворотка (жидкая)	не информативно	++++	++++	++++	+++	++	+	+	+
K88	Контроль	++	++	+	+	+	+	-	-	-
	Опытный препарат	++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+++
	Сыворотка (жидкая)	не информативно	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	++

Примечание: контроль - это сорбент с модификатором без сыворотки;

-- отсутствие реакции агглютинации;

+ - наличие следов агглютинации на фоне мутной жидкости, при этом отсутствие реакции агглютинации;

++ - слабая мелко- зернистая агглютинация на фоне мутной жидкости (положительная реакция агглютинации);

+++ - крупно- или мелкозернистая агглютинация при легкой опалесценции жидкости (явная реакция агглютинации);

++++ - крупно- или мелкозернистая агглютинация при полном просветлении жидкости.

Результаты эксперимента позволили судить о целесообразности испытаний на лабораторных животных.

Для этого сформировали восемь групп опытных лабораторных животных (Табл. 2).

Группы 1, 3, 5, 7 - животные данных групп получали опытный препарат, сыворотку и контрольный образец с профилактической целью, т.е. до заражения контрольными штаммами E.coli.

Группы 2, 4, 6, 8 получали опытный препарат, сыворотку и контрольный образец с целью определения лечебного эффекта, т.е. после заражения контрольными штаммами E.coli.

В каждой экспериментальной группе использовалось по 20 белых мышей, т.е. для каждого штамма из каждой группы по 5 белых мышей. Всего в опыте было использовано 160 голов белых мышей.

Животные опытной и контрольных групп получали препарат непосредственно в желудок при помощи иглы, предназначенной для кормления. Таким же образом вводилась суточная культура контрольных штаммов.

Объем, вводимый в желудок (препаратов - опытного и контрольных) для каждой белой мыши составлял 0,5 см³. Объем заражающего материала также составлял 0,5 мл, а содержание микробных клеток - 500 млн/мл, что соответствует 250 млн микробных клеток в 0,5 мл вводимого объема.

Использование физиологического раствора при прямом заражении лабораторных животных обусловлено соответствием концентрации солей в нем плазме крови, что обеспечивает изотоничность данного раствора и, соответственно, способность поддерживать постоянство осмотического давления в живом организме. Микроорганизмы, помещенные в физиологический раствор, сохраняют свою форму и возможность нормально функционировать.

Результаты определения профилактического и лечебного эффектов у различных групп (опытной и контрольных) белых мышей в группах 1-8 отражены в таблице 3.

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (биологические науки)

Таблица 2. Принцип формирования групп белых мышей

Группа 1 (профилактический эффект)		
мыши получали опытный препарат в течение 3-х дней до заражения	заражение ⇒	штамм E. coli 987P штамм E. coli K99 штамм E. coli F41 штамм E. coli K88
Группа 2 (лечебный эффект)		
штамм E. coli 987P штамм E. coli K99 штамм E. coli F41 штамм E. coli K88	⇒	мыши получали опытный препарат в течение 3-х дней после заражения
Группа 3 (профилактический эффект)		
мыши получали сыворотку жидкую в течение 3-х дней до заражения	заражение ⇒	штамм E. coli 987P штамм E. coli K99 штамм E. coli F41 штамм E. coli K88
Группа 4 (лечебный эффект)		
штамм E. coli 987P штамм E. coli K99 штамм E. coli F41 штамм E. coli K88	⇒	мыши, получали сыворотку в течение 3-х дней после заражения
Группа 5 (профилактический эффект)		
мыши получали диоксид кремния+модификатор в течение 3-х дней до заражения	заражение ⇒	штамм E. coli 987P штамм E. coli K99 штамм E. coli F41 штамм E. coli K88
Группа 6 (лечебный эффект)		
штамм E. coli 987P штамм E. coli K99 штамм E. coli F41 штамм E. coli K88	⇒	мыши получали диоксид кремния + модификатор в течение 3-х дней после заражения
Группа 7 (профилактический эффект)		
мыши получали физиологический раствор в течение 3-х дней до заражения	заражение ⇒	штамм E. coli 987P штамм E. coli K99 штамм E. coli F41 штамм E. coli K88
Группа 8 (лечебный эффект)		
штамм E. coli 987P штамм E. coli K99 штамм E. coli F41 штамм E. coli K88	⇒	мыши получали физиологический раствор в течение 3-х дней после заражения (при условии выживания)

Таблица 3. Результаты заражения белых мышей в группах 1-8

№ группы		Штаммы Escherichia coli			
		987P	K99	F41	K88
1	Опытный препарат	2 / 5	1 / 5	1 / 5	2 / 5
2		3 / 5	3 / 5	2 / 5	1 / 5
3	Сыворотка жидкая	2 / 5	1 / 5	1 / 5	1 / 5
4		2 / 5	2 / 5	1 / 5	2 / 5
5	Контроль	3 / 5	3 / 5	3 / 5	2 / 5
6		3 / 5	3 / 5	3 / 5	3 / 5
7	Контроль (физ. р-р)	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
8		5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

Примечание: числитель - количество павших белых мышей; знаменатель - общее количество белых мышей.

Необходимо отметить, что после введения в желудок белым мышам из групп 1 и 5 часть животных в течение 10...20 минут после введения были вялыми и малоподвижными, после чего состояние мышей восстанавливалось, на второй день в группе 1 пала одна мышь. При введении сыворотки мышам из группы 3 у двух мышей наблюдались признаки анафилактического шока, одна из которых пала в течение 1...2 минут после введения сыворотки, а у одной мыши на третий день введения наблюдался отек головы и части тела, но при этом мышь была активна. Поведение мышей из группы 7 было

естественным, и никаких признаков вялости не наблюдалось.

Данные, представленные в таблице, свидетельствуют, что при пероральном введении 24-х часовой суспензии культур *E.coli* белым мышам опытный препарат (группы 1 и 2), по своим профилактическим и лечебным свойствам незначительно уступает жидкой сыворотке (группа 3 и 4). Принимая во внимание, что с дозой 0,5 мл в желудок каждой белой мыши с исследуемым образцом вводится адсорбированной на диоксиде кремния сыворотки в количестве в 10 раз меньшем, чем животным из групп 3 и 4, получавших жидкую сыворотку, полученные

данные свидетельствуют о высокой профилактической и лечебной эффективности опытного препарата.

В контрольных группах 5 и 6, в которой белые мыши получали диоксид кремния с модификатором без адсорбированной на поверхности сыворотки, после перорального введения 24-х часовой суспензии культур *E.coli* выжили только 9 из 20-ти белых мышей (группа 5), 8 из 20-ти белых мышей (группа 6), что свидетельствует о частичной профилактической и лечебной эффективности.

В контрольных группах 5 и 6 мыши, которые получали физиологический раствор до и после заражения 24-х часовой суспензией культур *E.coli*, как и ожидалось, пали все белые мыши.

Обсуждение

Разработка новых схем комплексного лечения болезней желудочно-кишечного тракта молодняка животных имеет большое научное и практическое значение, а использование энтеросорбентов является неотъемлемой частью для решения этой проблемы.

Применение энтеросорбентов – одно из перспективных направлений в профилактике и лечении желудочно-кишечных болезней различной этиологии. Их использование позволяет исключить или снизить интенсивность другой медикаментозной терапии, в том числе антибиотикотерапии. В настоящее время энтеросорбция широко используется в ветеринарии для лечения животных при отравлениях, а также при иных острых и хронических заболеваниях, сопровождающихся развитием эндотоксикоза, нарушением пищеварения, изменением иммунного статуса и обмена веществ [14].

Энтеросорбенты – лекарственные средства различной природы, осуществляющие связывание экзо- и эндогенных токсинов в желудочно-кишечном тракте путем адсорбции, ионообмена, комплексобразования. Преимущество сорбентов по отношению к другим препаратам фармакологических групп является их опосредованность, то есть действуют на саму причину – токсин, оказывая при этом ослабление аллергических и воспалительных реакций в организме. Они отличаются структурой, лекарственной формой, технологией получения и по виду взаимодействия между сорбирующим материалом (сорбентом) и связанным веществом (сорбатом).

Адсорбция на поверхности сорбента специфических антител даёт возможность получать на базе обычных сорбентов – иммуносорбенты направленного действия и может служить основой для адресной доставки активного компонента препаратов, а также для создания препарата пролонгированного действия [15-17].

К преимуществам иммуносорбентов относятся:

- локальная доставка специфических антител в очаг инфекции, в отличие от инъекционного метода

- введения, позволяет достигнуть их большей местной концентрации;

- пероральное введение препарата в отличие от инъекционного не приводит к развитию анафилактических реакций, оказывает более щадящее воздействие на иммунную систему, безопасно и удобна на практике;

- требования по чистоте и стерильности для получаемых сывороток менее строгие, чем для инъекционных форм. В качестве источника антител могут быть использованы гетерологичные гипериммунные сыворотки из крови животных;

- сочетанное действие иммуносорбции и энтеросорбции приводит к синергическому усилению терапевтического эффекта. Эвакуация сорбированных антигенов и токсинов естественным путем снижает нагрузку на органы детоксикации (печень, почки, иммунную систему);

- универсальность технологии получения пероральных иммуносорбентов позволяет путем варьирования типа антител получать по единой схеме препараты для лечения различных кишечных инфекций.

- пероральные иммуносорбенты хорошо сочетаются с традиционными методами лечения кишечных инфекций и дополняют их.

В этой связи наиболее эффективным методом профилактики и ликвидации эшерихиоза молодняка животных может явиться разработка специфического препарата, состоящего из модифицированного носителя, стабилизирующего сыворотку и таким образом увеличивающего активность антител к адгезивным антигенам *E.coli* K88, K99, 987P, F-41 и к термолабильному и термостабильному энтеротоксинам эшерихий.

Система комплемента является элементарной для распознавания бактерий, опсонизации их для обработки фагоцитами или уничтожения их путем прямого лизиса. Однако успешные бактериальные патогены, в свою очередь, разработали гениальные стратегии для преодоления этой части иммунной системы. Основное внимание современных исследований уделяется бактериальным белкам, либо поверхностным, либо выделяемым, которые блокируют активацию комплемента. В научном сообществе обсуждается основной молекулярный механизм действия защиты бактерий от системы комплемента и возможная роль в патофизиологии бактериальных инфекций [17].

Мобилизованный комплекс сыворотки и сама мобилизованная сыворотка на модифицированном диоксиде кремния может проявить значительную устойчивость, в том числе к ферментным системам бактериальных клеток. Общеизвестно, что иммобилизованные белки, в том числе белки сыворотки устойчивы не только к температуре, изменению pH и действию агрессивных веществ, а также могут проявлять устойчивость к бактериальным ферментным системам. Существующие методы иммобилизации в

значительной степени нивелируют недостатки белковых структур путем их физической локализации в определенной области пространства, что приводит к ограничению движения и специфическим структурным изменениям. Фиксация белков может им позволить стать более стабильными и устойчивыми к различным условиям окружающей среды с увеличенным сроком службы. Общеизвестны различные классификации методов иммобилизации. Ковалентное связывание, адсорбция, сшивание, инкапсуляция, ионная связь и аффинная связь являются обычными методами иммобилизации белков. В целом эти методы иммобилизации белков можно разделить на химические и физические методы. Эти методы вместе с характеристиками вспомогательных материалов, например, гидрофиличность, низкая стоимость производства, биосовместимость и устойчивость к суровым физикохимическим условиям являются экономически целесообразными при получении иммобилизованных белков с оптимальной устойчивостью и увеличенной эффективностью [18, 19].

В представленной работе описаны проведенные исследования формы препарата эшерихиозной

сыворотки, иммобилизованной на модифицированном аминоэтоксисиланом диоксиде кремния.

Проведенными исследованиями доказано, что непосредственная доставка специфических антител в очаг инфекции позволяет достигнуть их большей эффективности и может быть включена в схему профилактики и лечения.

Заключение

1. В результате реакции агглютинации установлено, что новая форма препарата формирует более плотные зонты, что свидетельствует о надежном комплексе антиген-антитело, который не разбивается при встряхивании пробирки.

2. Количество реакций гиперчувствительности у новой формы препарата значительно меньше, чем у жидкой сыворотки.

3. Дозировка опытного препарата для достижения профилактического и лечебного эффектов при эшерихиозах крупного рогатого скота может быть значительно меньше, чем у жидкой сыворотки, что свидетельствует о экономической эффективности и целесообразности дальнейших исследований в данном направлении.

Литература

1. Бернгоф Ф.Н. Реакция иммунитета. В кн.: Руководство по микробиологии и эпидемиологии. М.: 1937. С. 323-538.
2. Новгородская Э.М., Кривоносова К.И., Семенова О.В. и др. Итоги широкого применения адсорбированных сывороток для диагностики колиэнтерита // Тр. ЛНИИЭМ / Ленингр. н.-и. ин-та эксперим. Медицины. 1964, т.27. С. 311-322.
3. Повышение эффективности гипериммунной сыворотки путем совершенствования антигенов. Абдусаттаров А., Саъдинов П.О., Гаипова М.Э. // IBAST ISSN: 2750-3402. 2023. Vol.3, No. 4.P. 800-809.
4. Иванов О. В., Костерин Д. Ю., Мельникова Л. Э. Получение и использование гипериммунной сыворотки против ассоциативных болезней молодняка с лечебно-профилактической целью // Зоотехния и ветеринария. 2019. № 1 (45). С. 56-59.
5. Разработка теоретических подходов для получения и применения гипериммунных сывороток животных / В. В. Максимович, Г. Э. Дремач, Ю. А. Шашкова и др. // Ученые записки УО ВГАВМ. 2019. Т. 55. Вып. 3. С. 7-10
6. Сусский Е.В., Пирожков М.К. Оптимизация и стандартизация условий производства антиадгезивной антитоксической сыворотки против эшерихиоза сельскохозяйственных животных // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии, 2012. № 2 (18) С. 60-64.
7. Rooijackers SH, van Strijp JA. Bacterial complement evasion / Mol Immunol 2007. Vol. 44 (1-3). P. 23-32
8. Peraro M.D., van der Goot F.G. Pore-forming toxins: ancient, but never really out of fashion // Nat Rev Microbiol. 2016. Vol. 14. P. 77-92.
9. Manikkath J. Nanoparticle-mediated active and passive drug targeting in oral squamous cell carcinoma: current trends and advances // Nanomedicine. 2023/ Vol. 18. P. 2061-2080.
10. Precision engineering of targeted nanocarriers / M. B. Deci, M. Liu, Q. T. Dinh, et al. // Wires Nanomed Nanobiotechnol. 2018. Vol. 10. P. e1511.
11. Bazban-Shotorbani S et al. Revisiting structure-property relationship of pH-responsive polymers for drug delivery applications. J Controlled Release. 2017; 253:46-63.
12. Pooya M. Naghshbandi, Moghimi H. Chapter Eighteen - Stabilization of phytase on multi-walled carbon nanotubes via covalent immobilization // Methods in Enzymology. 2020. Vol. 630. P. 431-451.
13. Rooijackers S.H., van Strijp J.A. Bacterial complement evasion. Mol Immunol. 2007. Vol.44 (1-3). P. 23-32
14. Artificial intelligence in preventive and managed healthcare / S. Shenoy, G. Sanap, D. Paul, et al. // In: Tekade RK, ed. Biopharmaceutics and pharmacokinetics considerations. Amsterdam: Elsevier/ 2021. P. 675-697.
15. In silico methods for the prediction of drug toxicity / K. Rajpoot, N. Desai, H. Koppiseti, et al. // In: Tekade RK, ed. Pharmacokinetics and toxicokinetic considerations. Amsterdam: Elsevier. 2022. P. 357-383.
16. Surface functionalization – the way for advanced applications of smart materials // K. Wieszczycka, K. Staszak, M. J. Wozniak-Budych // Coord Chem Rev. 2021. Vol. 436. P. 213846.

17. Nguyen Precision engineering of targeted nanocarriers // M. B. Deci, M. Liu, Q. T. et al. // *Wires Nanomed Nanobiotechnol.* 2018. Vol.10. P. e1511.
18. Bazban-Shotorbani S. Revisiting structure-property relationship of pH- responsive polymers for drug delivery applications // *J Controlled Release.* 2017. Vol. 253. P. 46–63.
19. The morphology and surface charge-dependent cellular uptake efficiency of upconversion nanostructures revealed by single-particle optical microscopy / D. Zhang, L. Wei, M. Zhong et al. // *J. Chem Sci.* 2018. Vol. 9. P. 5260–5269.

References

1. Bernhoff F.N. The immune system reaction. // In: *Handbook of Microbiology and Epidemiology.* Moscow: 1937, P. 323-538.
2. Novgorodskaya E.M., Krivonosova K.I., Semenova O.V. et al. The results of the widespread use of adsorbed sera for the diagnosis of colienteritis // *Tr. LNIEM / Leningrad Scientific Research Institute of Experimental Medicine.* 1964, Vol. 27. P. 311-322.
3. Increasing the effectiveness of hyperimmune serum by improving antigens. / Abdusattarov A., Sadinov P.O., Gaipova M.E. // *IBAST ISSN: 2750-3402.* 2023, Vol. 3, Issue 4. P. 800-809.
4. Obtaining and using hyperimmune serum against associative diseases of young animals for therapeutic and preventive purposes. / Ivanov O.V., Kosterin D.Yu., Melnikova L.E. // *Animal science and veterinary medicine.* No. 1 (45) March 2019. P. 56-59.
5. Development of theoretical approaches for the production and use of hyperimmune animal serums. / Maksimovich V.V., Dremach G.E., Shashkova Yu.A., Gaisenok S.L., Gaisenok E.L. // *Scientific notes of the Higher School of Economics.* 2019. Vol. 55, Issue 3.
6. Optimization and standardization of production conditions for anti-adhesive antitoxic serum against escherichiosis of farm animals. // Sussky E.V., Pirozhkov M.K. / *Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy,* 2012 No. 2, P. 60-64.
7. Rooijackers SH, van Strijp JA. Bacterial complement evasion / *Mol Immunol* 2007. Vol. 44 (1–3). P. 23–32
8. Peraro M.D., van der Goot F.G. Pore-forming toxins: ancient, but never really out of fashion // *Nat Rev Microbiol.* 2016. Vol. 14. P. 77–92.
9. Manikkath J. Nanoparticle-mediated active and passive drug targeting in oral squamous cell carcinoma: current trends and advances // *Nanomedicine.* 2023/ Vol. 18. P. 2061–2080.
10. Precision engineering of targeted nanocarriers / M. B. Deci, M. Liu, Q. T. Dinh, et al. // *Wires Nanomed Nanobiotechnol.* 2018. Vol. 10. P. e1511.
11. Bazban-Shotorbani S et al. Revisiting structure-property relationship of pH- responsive polymers for drug delivery applications. *J Controlled Release.* 2017. Vol. 253. P. 46–63.
12. Pooya M. Naghshbandi, Moghimi H. Chapter Eighteen - Stabilization of phytase on multi-walled carbon nanotubes via covalent immobilization // *Methods in Enzymology.* 2020. Vol. 630. P. 431-451.
13. Rooijackers S.H., van Strijp JA. Bacterial complement evasion. *Mol Immunol.* 2007. Vol.44 (1–3). P. 23–32
14. Artificial intelligence in preventive and managed healthcare / S. Shenoy, G. Sanap, D. Paul, et al. // In: Tekade RK, ed. *Biopharmaceutics and pharmacokinetics considerations.* Amsterdam: Elsevier/ 2021. P. 675–697.
15. In silico methods for the prediction of drug toxicity / K. Rajpoot, N. Desai, H. Koppiseti, et al. // In: Tekade RK, ed. *Pharmacokinetics and toxicokinetic considerations.* Amsterdam: Elsevier. 2022. P. 357–383.
16. Surface functionalization – the way for advanced applications of smart materials // K. Wieszczycka, K. Staszak, M. J. Wozniak-Budych // *Coord Chem Rev.* 2021. Vol. 436. P. 213846.
17. Nguyen Precision engineering of targeted nanocarriers // M. B. Deci, M. Liu, Q. T. et al. // *Wires Nanomed Nanobiotechnol.* 2018. Vol.10. P. e1511.
18. Bazban-Shotorbani S. Revisiting structure-property relationship of pH- responsive polymers for drug delivery applications // *J Controlled Release.* 2017. Vol. 253. P. 46–63.
19. The morphology and surface charge-dependent cellular uptake efficiency of upconversion nanostructures revealed by single-particle optical microscopy / D. Zhang, L. Wei, M. Zhong et al. // *J. Chem Sci.* 2018. Vol. 9. P. 5260–5269.