

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ  
И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА**

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ им. ПАСТЕРА»  
(ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера)  
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14; тел. 812-2332092; [pasteur@pasteurorg.ru](mailto:pasteur@pasteurorg.ru)**

**УТВЕРЖДАЮ**

Директор

ФБУН НИИ эпидемиологии  
и микробиологии имени Пастера  
академик РАН, д.м.н., профессор

А.А. Тотолян

«24» июля 2019 г.



**НАУЧНЫЙ ОТЧЕТ**

о результатах научно-исследовательских работ по оценке антимикробного действия опытного образца биоцида (дезинфицирующего средства) «АКВА-СТАБРОМ» (ООО «Аква-Кемикал», Санкт-Петербург) в отношении бактериальных биопленок с целью проверки эффективности рецептуры и технологии изготовления, а также возможности импортозамещения

Оценка антимикробного действия опытного образца биоцида «АКВА-СТАБРОМ» в отношении бактериальных биопленок (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) проведена с целью проверки эффективности рецептуры и технологии изготовления продукта компании «Аква-Кемикал» в сравнении с импортным аналогом STABREX® ST40 (компания Nalco, Нидерланды).

Исследования выполнены на основании Договора № 06/2019-24НИР от 22.04.2019 года.

Образцы биоцидов «АКВА-СТАБРОМ» и STABREX® ST40 (производство Нидерландов) представлены ООО «Аква-Кемикал» (Санкт-Петербург). Импортный аналог использован в качестве контрольного образца для сравнения эффективности биоцидов в равных условиях.

**Материалы и методы.**

Исследовали эффективность обеззараживающего действия тестовых образцов биоцидов (№1 – «АКВА-СТАБРОМ») в отношении микробных биопленок по сравнению с зарегистрированным аналогом (№2 - STABREX® ST40 Nalco).



Биопленки тест-штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 и *Escherichia coli* ATCC 25922 выращивали в течение 48 часов в 96-луночных полистироловых планшетах и на предметных стеклах [Учебное пособие «БИОПЛЕНКИ: Основные принципы организации и методы исследования», Марданова А.М., Кабанов Д.А, Рудакова Н.Л., Шарипова М.Р., Казань, 2016, 42 с.]. Выросшие биопленки подвергали воздействию дезинфицирующего средства (№1) и его аналога (№2 NaL), служившим контролем, в течение 5 минут, 60 минут и 24 часов. Концентраты обоих средств разводили до получения рабочих растворов 0,0025% (25 ppm), 0,005% (50 ppm), 0,01% (100 ppm). Контролем культуры приняты биопленки, на которые не воздействовали дезинфектантом.

Регистрацию результатов при воздействии в течение 5 минут, 60 минут и 24 часов осуществляли в планшетах с помощью спектрофотометра по величине оптической плотности по разнице значений длин волн 630 и 490 нанометров; на стеклах в течение 5 минут и 24 часов – с помощью люминесцентного микроскопа после обработки биопленки синим флуоресцентным красителем для окрашивания нуклеиновых кислот - 4',6-диамиидно-2-фенилиндолом (DAPI).

### Результаты.

Результаты оценки эффективности исследуемого дезинфицирующего средства по сравнению с аналогом в отношении микробных биопленок представлены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты воздействия дезинфицирующих средств на микробные биопленки

Препарат	Концентрация препарата, %	Время воздействия	Оптическая плотность (M ± m)	
			<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922
1	2	3	4	5
Контроль культуры	-	-	1,93 ± 0,11	2,65 ± 0,13
Дезинфектант №1	0,01%	5 минут	1,40 ± 0,06	1,58 ± 0,07
		60 минут	0,95 ± 0,03	1,11 ± 0,05
		24 часа	0,81 ± 0,03	0,92 ± 0,04
	0,005%	5 минут	1,73 ± 0,08	1,36 ± 0,06
		60 минут	1,31 ± 0,06	1,12 ± 0,05
		24 часа	1,01 ± 0,05	1,10 ± 0,05
	0,0025%	5 минут	1,96 ± 0,08	1,48 ± 0,07
		60 минут	1,66 ± 0,08	1,27 ± 0,06
		24 часа	1,15 ± 0,05	1,23 ± 0,05



1	2	3	4	5
Дезинфектант №2	0,01%	5 минут	1,62 ± 0,08	1,44 ± 0,07
		60 минут	1,33 ± 0,06	1,25 ± 0,06
		24 часа	1,08 ± 0,05	1,28 ± 0,06
	0,005%	5 минут	1,98 ± 0,08	1,89 ± 0,09
		60 минут	1,48 ± 0,07	1,67 ± 0,08
		24 часа	1,25 ± 0,06	1,31 ± 0,06
	0,0025%	5 минут	2,24 ± 0,11	2,22 ± 0,1
		60 минут	2,08 ± 0,1	1,94 ± 0,08
		24 часа	1,83 ± 0,07	1,65 ± 0,08

Примечание: во всех случаях отличия от контрольных показателей достоверны ( $P < 0,05$ ).

Полученные данные свидетельствуют о том, что тестируемый биоцид («АКВА-СТАБРОМ», №1) производства ООО «Аква-Кемикал» обладает способностью разрушать сформированные микробные биопленки в концентрации 0,01% при экспозиции 5 минут, 60 минут и 24 часа. Это же средство в концентрации 0,005% оказывает разрушающий эффект на биопленку грамотрицательного микроорганизма (*E. coli*) при экспозициях 5 минут, 60 минут и 24 часа, однако в отношении микробной биопленки грамположительного тест-штамма *S. aureus* данный рабочий раствор средства эффективен при экспозициях 60 минут и 24 часа. Дезинфицирующее средство №1 в концентрации 0,0025% разрушает биопленку *E. coli* в течение 5 минут, 60 минут и 24 часа, тогда как воздействие на биопленку *S. aureus* происходит только при 24 часовой экспозиции.

Биоцид №2 (аналог, NALCO STABREX® ST40 производства Нидерландов) оказывает разрушающий эффект на микробные биопленки в тех же режимах, но его действие менее выражено по сравнению с тестируемым средством №1.

Результаты оценки воздействия растворов дезинфицирующих средств на микробные биопленки, выращенные на предметных стеклах и оцениваемые с помощью люминесцентной микроскопии, при экспозициях 5 минут и 24 часа представлены на фото 1-6.



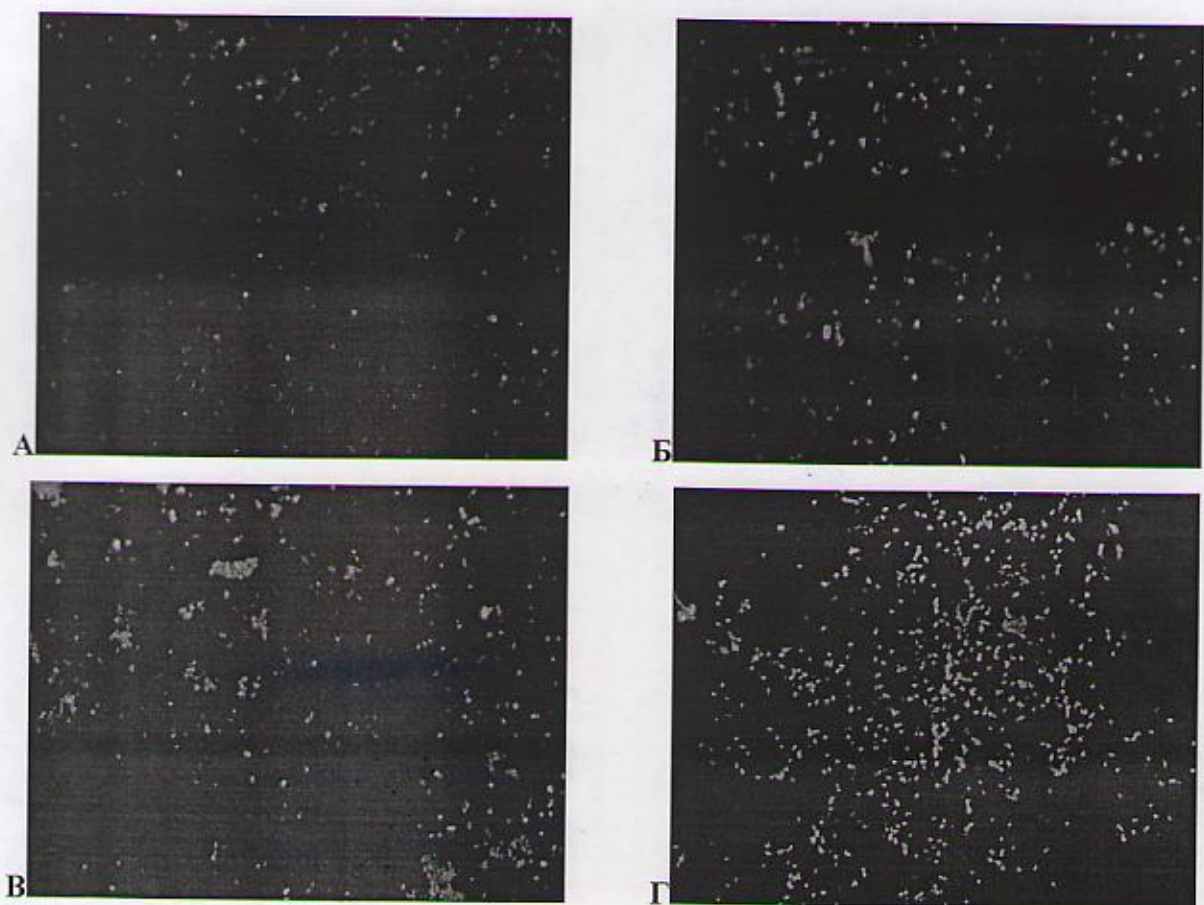


Фото 1. Микробная биопленка *E. coli* после воздействия 0,01% раствора в течение 5 минут образца №1 (А), образца №2 (Б) и в течение 24 часов образца №1 (В) и образца №2 (Г)

На фото 1 представлены результаты воздействия 0,01% раствора биоцида №1 «АКВА-СТАБРОМ» в течение 5 минут (А) и 24 часов (В), а также биоцида №2 NALCO STABREX® ST40 в течение 5 минут (Б) и 24 часов (Г) на микробную биопленку *E. coli*. Следует отметить, что действие биоцида №2 менее выражено по сравнению с исследуемым образцом №1. На фото 1Б и 1Г рост микробных биопленок отмечен сильнее, чем на фото 1А и 1В при воздействии препарата №1.

Кроме того, при экспозиции 24 часа во всех случаях наблюдали более заметный рост микробных биопленок по сравнению с экспозицией 5 минут. По-видимому, это связано с тем, что через сутки воздействия оба биоцида оказывают больше не бактерицидный, а бактериостатический эффект на тестируемые микроорганизмы.



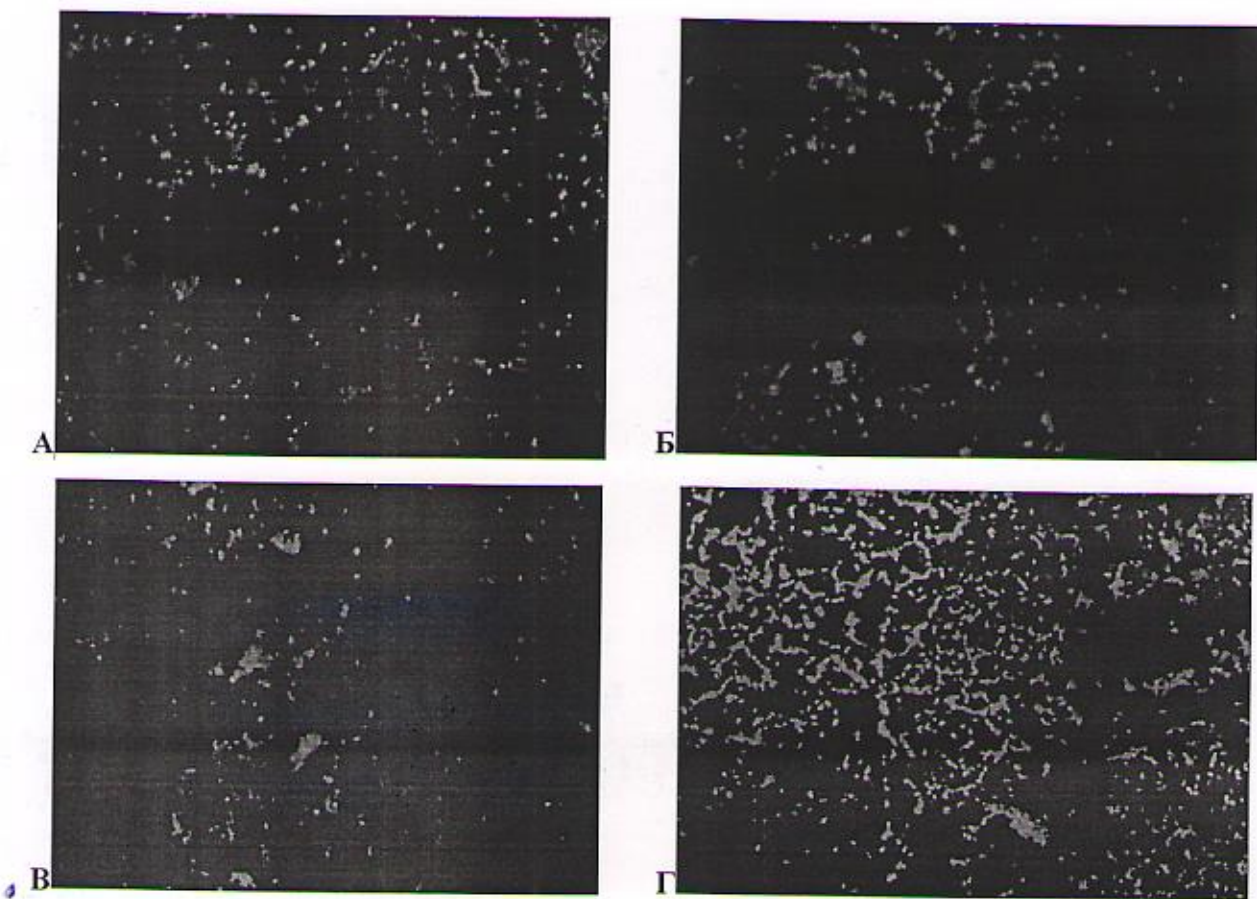


Фото 2. Микробная биопленка *E. coli* после воздействия 0,005% раствора в течение 5 минут образца №1 (А), образца №2 (Б) и в течение 24 часов образца №1 (В) и образца №2 (Г)

На фото 2 представлены результаты воздействия 0,005% раствора биоцида №1 «АКВА-СТАБРОМ» в течение 5 минут (А) и 24 часов (В), а также биоцида №2 NALCO STABREX® ST40 в течение 5 минут (Б) и 24 часов (Г). Следует отметить, что действие биоцида №2 менее выражено по сравнению с исследуемым образцом №1. На фото 2Б и 2Г рост микробных биопленок отмечен сильнее, чем на фото 2А и 2В при воздействии препарата №1.

Кроме того, при данной концентрации 0,005% биоцид №1 при экспозиции 24 часа оказывал бактерицидный эффект на уровне своего действия при экспозиции 5 минут. Однако биоцид №2 в концентрации 0,005% при экспозиции 24 часа не проявил выраженного бактерицидного действия на микробную биопленку *E. coli*.



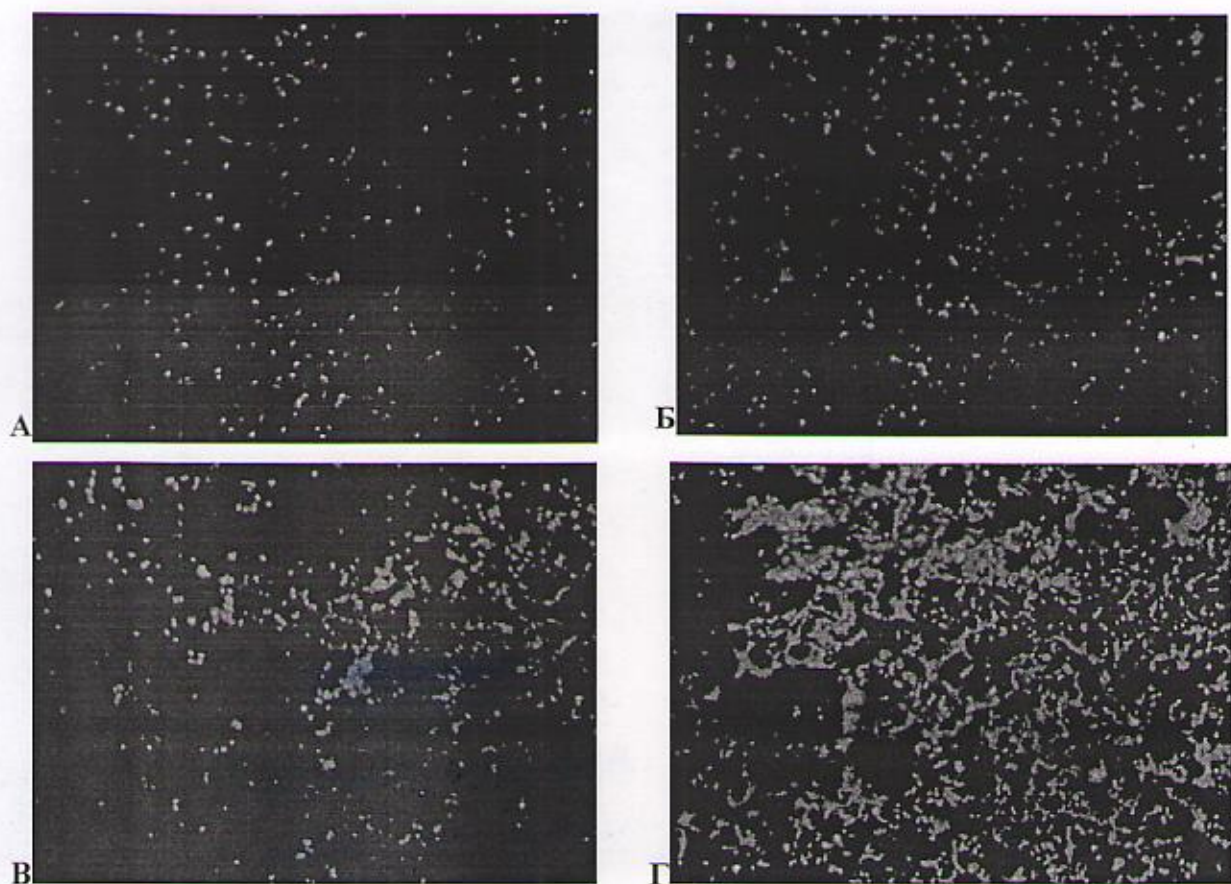


Фото 3. Микробная биопленка *E. coli* после воздействия 0,00025% раствора в течение 5 минут образца №1 (А), образца №2 (Б) и в течение 24 часов образца №1 (В) и образца №2 (Г)

На фото 3 представлены результаты воздействия 0,00025% раствора биоцида №1 «АКВА-СТАБРОМ» в течение 5 минут (А) и 24 часов (В), а также биоцида №2 NALCO STABREX® ST40 в течение 5 минут (Б) и 24 часов (Г). Следует отметить, что действие биоцида №2 менее выражено по сравнению с исследуемым образцом №1. На фото 3Б и 3Г рост микробных биопленок отмечен сильнее, чем на фото 3А и 3В при воздействии препарата №1.

Кроме того, при данной концентрации 0,00025% биоцид №1 при экспозиции 24 часа оказывал выраженный бактерицидный эффект по сравнению с биоцидом №2, который в этих же условиях не проявил бактерицидного действия на микробную биопленку *E. coli*.



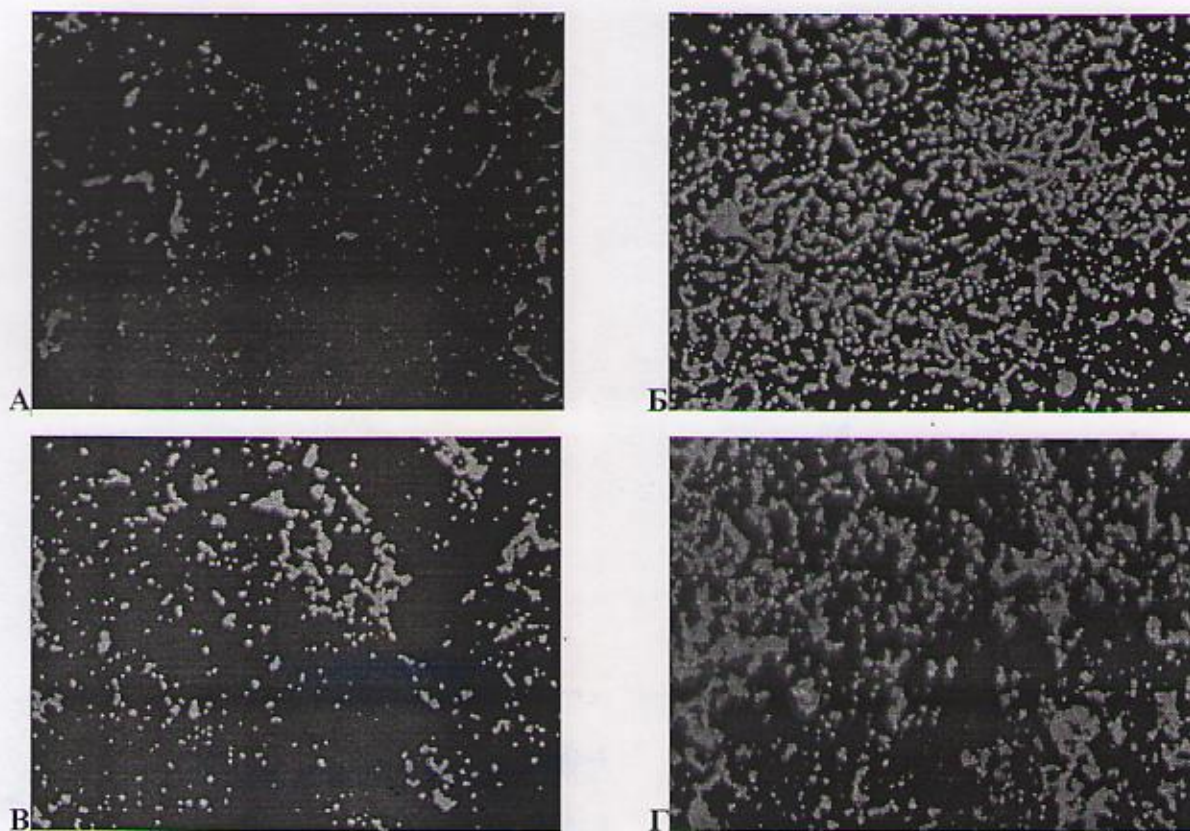


Фото 4. Микробная биопленка *S. aureus* после воздействия 0,01% раствора в течение 5 минут образца №1 (А), образца №2 (Б) и в течение 24 часов образца №1 (В) и образца №2 (Г)

На фото 4 представлены результаты воздействия 0,01% раствора биоцида №1 «АКВА-СТАБРОМ» в течение 5 минут (А) и 24 часов (В), а также биоцида №2 NALCO STABREX® ST40 в течение 5 минут (Б) и 24 часов (Г) на микробную биопленку *S. aureus*. Образец биоцида №1 при экспозиции 5 минут (4А) оказывал более выраженный эффект по сравнению с аналогом биоцидом №2 (4Б).

Оба препарата оказывали меньший разрушающий эффект на биопленку в течение 24 часов, но действие биоцида №2 отмечено наименее выражено на микробную биопленку *S. aureus*.



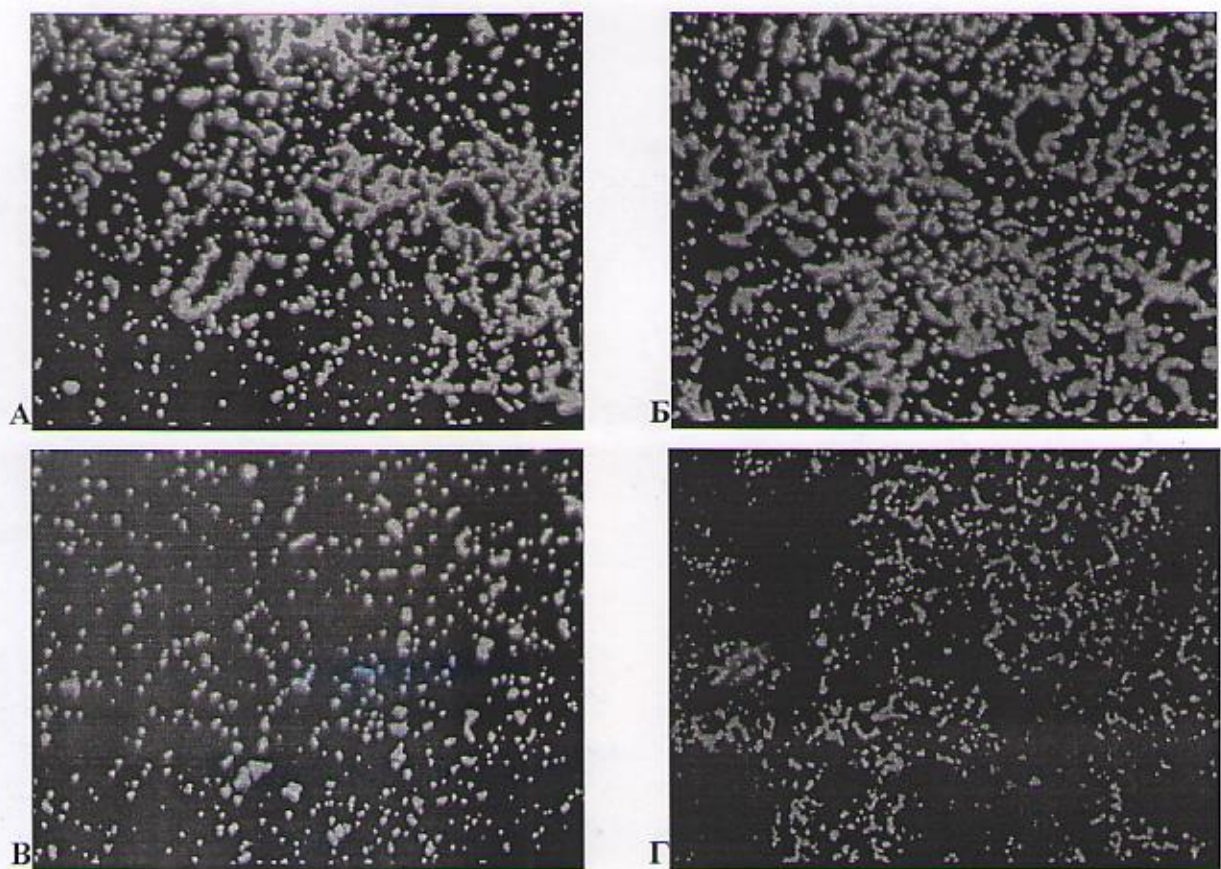


Фото 5. Микробная биопленка *S. aureus* после воздействия 0,005% раствора в течение 5 минут образца №1 (А), образца №2 (Б) и в течение 24 часов образца №1 (В) и образца №2 (Г)

На фото 5 представлены результаты воздействия 0,005% раствора биоцида №1 «АКВА-СТАБРОМ» в течение 5 минут (А) и 24 часов (В), а также биоцида №2 NALCO STABREX® ST40 в течение 5 минут (Б) и 24 часов (Г) на микробную биопленку *S. aureus*. В данном случае следует отметить, что оба образца биоцидов оказывали более выраженный разрушающий эффект в течение 24 часов (5В и 5Г) по сравнению с их воздействием на стафилококковую биопленку при 5 минутной экспозиции (5А и 5Б).



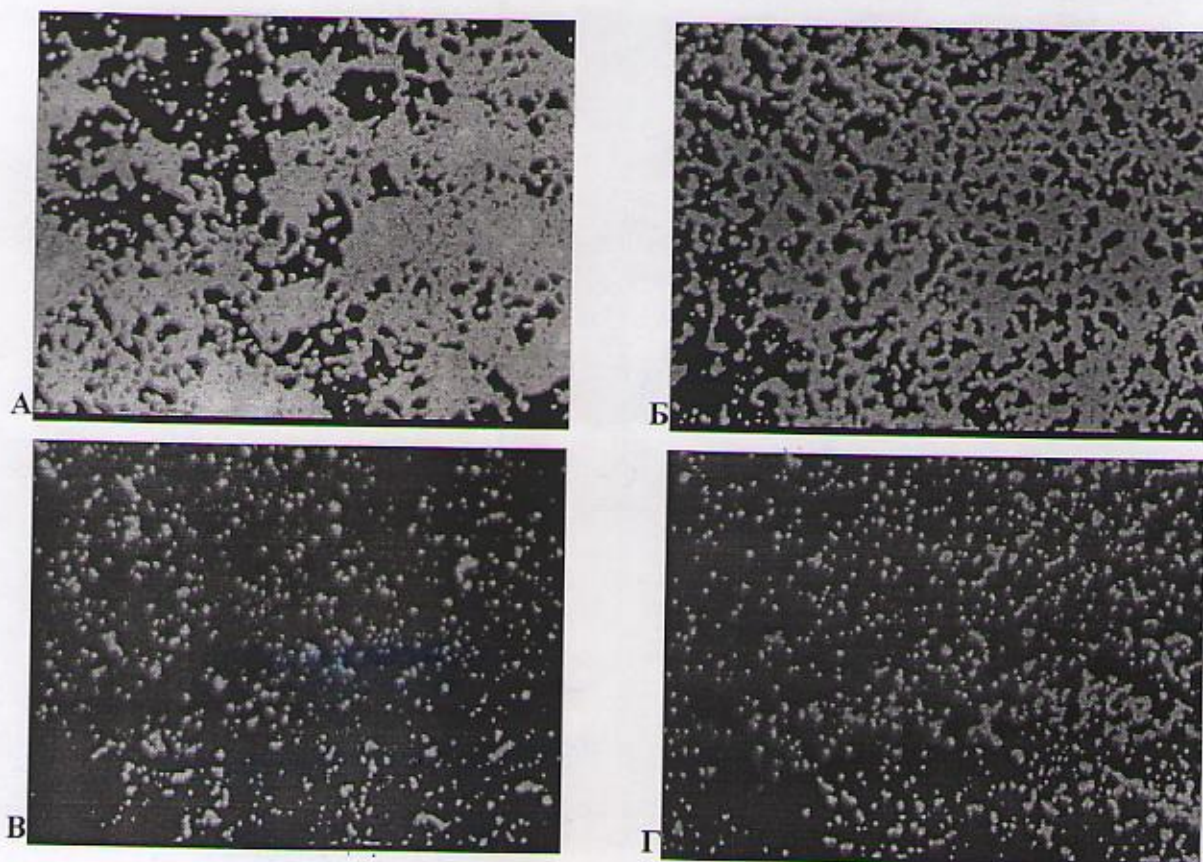


Фото 6. Микробная биопленка *S. aureus* после воздействия 0,00025% раствора в течение 5 минут образца №1 (А), образца №2 (Б) и в течение 24 часов образца №1 (В) и образца №2 (Г)

На фото 6 представлены результаты воздействия 0,00025% раствора биоцида №1 «АКВА-СТАБРОМ» в течение 5 минут (А) и 24 часов (В), а также биоцида №2 NALCO STABREX® ST40 в течение 5 минут (Б) и 24 часов (Г) на микробную биопленку *S. aureus*. В данном случае разрушающий эффект отмечен также при экспозиции 24 часа, при этом он более выражен у биоцида №1 (6В). При экспозиции 5 минут оба биоцида практически не оказывали бактерицидного воздействия на микробную биопленку *S. aureus*.

На фото 7-8 представлены фото контрольных биопленок *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 и *Escherichia coli* ATCC 25922.





Фото 7. Микробная биопленка *Escherichia coli* ATCC 25922, 48 часов

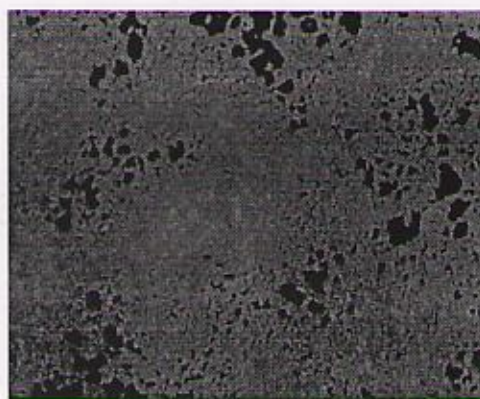


Фото 8. Микробная биопленка *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, 48 часов

### **Заклучение.**

Результаты проведенных исследований подтверждают способность тестируемых препаратов – биоцида №1 (дезинфицирующего средства) «АКВА-СТАБРОМ» (ООО «Аква-Кемикал», Санкт-Петербург) и его зарубежного аналога №2 (NALCO STABREX® ST40 производства Нидерландов) разрушать сформированные микробные биопленки грамположительных (на примере *S. aureus*) и грамотрицательных (на примере *E. coli*) бактерий при воздействии их рабочих растворов в концентрациях 0,0025% (25 ppm), 0,005% (50 ppm), 0,01% (100 ppm) при экспозициях 5 минут, 60 минут, 24 часа.

Средство №2 NALCO STA•BR•EX ST70 (Нидерланды) обеспечивает эффективный и действенный контроль за ростом микроорганизмов и связанных с ними отложений в промышленных градирнях, прамоточных системах охлаждения и пастеризаторах.

Биоцид №1 (дезинфицирующее средство) «АКВА-СТАБРОМ» (ООО «Аква-Кемикал», Санкт-Петербург) используется в различных отраслях промышленности для обеспечения эффективного и действительного контроля за ростом микроорганизмов и связанных с ним отложений (биообрастаний) в промышленных градирнях, а именно в прамоточных системах охлаждения, пастеризаторах и т.д.; в качестве биоцида в охлаждающих системах металлообрабатывающего оборудования (контурах охлаждающих жидкостей-эмульсий); применяется, как правило, одновременно с ингибиторами коррозии стали и цветных металлов; пригоден для промышленного применения, не допускается применения биоцида в быту и для контакта с пищевыми продуктами.



Возможно использование образца №1 «АКВА-СТАБРОМ» (ООО «Аква-Кемикал», Санкт-Петербург) в качестве промышленного биоцида для снижения уровня контаминирования различных объектов и водных сред (растворов), для чего целесообразно провести более широкие исследования эффективности препарата в отношении санитарно-показательных микроорганизмов и их биопленок при различных экспозициях.

Руководитель ИЛЦ  
ФБУН НИИ эпидемиологии  
и микробиологии имени Пастера,  
ведущий научный сотрудник, д.б.н.



А.Г. Афиногорова

Заведующая лабораторией  
медицинской бактериологии  
ФБУН НИИ эпидемиологии  
и микробиологии имени Пастера,  
ведущий научный сотрудник, д.м.н.



Л.А. Краева