

DOI: 10.24412/2074-5036-2022-4-58-63

УДК: 614.48:579.[842.11+861.2]

Ключевые слова: биоцид, кишечная палочка, стафилококк, дезинфекция, микробные биопленки

Key words: biocide, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, disinfection, microbial biofilms

¹Хлебалина А. С., ²Лунегов А. М.

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ОТЕЧЕСТВЕННОГО БИОЦИДА «АКВА-СТАБРОМ» В ОТНОШЕНИИ СТАФИЛОКОККА И КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ В СРАВНЕНИИ С ИМПОРТНЫМ АНАЛОГОМ NALCO STABREX® *EVALUATION OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE DOMESTIC BIOCIDES “AQUA- STABROM” AGAINST STAPHYLOCOCCUS AND E. COLI IN COMPARISON WITH THE IMPORT ANALOGUE NALCO STABREX®*

¹«Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства» – филиал Федерального научного центра «Всероссийский научно-технологический институт птицеводства» Российской академии наук.

Адрес: 198412, Россия, Санкт-Петербург, Ломоносов, ул. Черникова, д. 48.

“All-Russian Scientific Research Veterinary Institute of Poultry” — branch of the Federal Scientific Center

“All-Russian Scientific and Technological Institute of Poultry” of the Russian Academy of Sciences.

Address: 198412, Russia, St. Petersburg, Lomonosov, st. Chernikova, 48.

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Адрес: 196084, Россия, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education

“St. Petersburg State University of Veterinary Medicine”

Address: 196084, Russia, St. Petersburg, st. Chernigovskaya, 5

Хлебалина Алена Сергеевна, аспирант отдела фармакологии и токсикологии.

E-mail: sergeevna.science@gmail.com

Khlebalina Alena Sergeevna, Post-Graduate Student of the Department of Pharmacology and Toxicology.

E-mail: sergeevna.science@gmail.com

Лунегов Александр Михайлович, кандидат ветеринарных наук, доцент, заведующий кафедрой фармакологии и токсикологии. E-mail: a.m.lunegov@mail.ru

Lunegov Alexander Mikhailovich, PhD of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Pharmacology and Toxicology. E-mail: a.m.lunegov@mail.ru

Аннотация. В данной статье представлены результаты оценки биологической активности биоцидов в отношении стафилококка и кишечной палочки. Исследовали эффективность обеззараживающего действия тестовых образцов биоцидов «АКВА-СТАБРОМ» (ООО «Аква-Кемикал». Санкт-Петербург) в отношении микробных биопленок по сравнению с зарегистрированным аналогом NALCO STABREX® ST40 (производства Нидерландов). Результаты проведенных исследований подтверждают способность тестируемых биоцидов «АКВА-СТАБРОМ» и его зарубежного аналога, 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. В результате проведения тестовых испытаний биоцид «АКВА-СТАБРОМ» показал высокую эффективность (не уступающую импортному реагенту) при существенном снижении расхода биоцида.

Summary. This article presents the results of assessing the biological activity of biocides against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The effectiveness of the disinfecting effect of test samples of biocides “AQUA-STABROM” (LLC “Aqua-Chemical”, St. Petersburg) in relation to microbial biofilms was studied in comparison with the registered analogue NALCO STABREX® ST40 (manufactured in the Netherlands). The results of the studies confirm the ability of the tested biocides “AQUA-STABROM” and its foreign analogue, destroy the formed microbial biofilms of gram-positive (for example, *S. aureus*) and gram-negative (for example, *E. coli*) bacteria when exposed to their working solutions at concentrations of 0.0025 % (25 ppm), 0.005 % (50 ppm), 0.01 % (100 ppm) at exposures of 5 minutes, 60 minutes, 24 hours. As a result of test tests, the AQUA-STABROM biocide showed high efficiency (not inferior to the imported reagent) with a significant reduction in biocide consumption.

Введение

На сегодняшний день одним из основных и эффективных ветеринарно-санитарных мероприятий по профилактике, обеззараживанию и уничтожению болезнетворных микроорганизмов, является дезинфекция животноводческих предприятий. Главная задача которой – это ликвидация и предупреждение процессов накопления, размножения и распространения возбудителей различных заболеваний путем прерывания эпизоотической цепи [4]. *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* вызывают зооантропонозные, инфекционные, бактериальные болезни у всех видов сельскохозяйственных животных и птиц, в том числе и у человека. *Staphylococcus aureus* очень устойчивы во внешней среде, особенно в воспалительном экссудате, выделенном животными и птицей. Долго сохраняют жизнеспособность на твердых питательных средах, терморезистентны, устойчивы к действию дезодорантов, полирезистентны к антибиотикам. Некоторые штаммы легко переносят пребывание в гипертоническом растворе NaCl (7,5 %). *Escherichia coli* тоже обладают устойчивостью в окружающей среде. На оборудовании сохраняются 3–4 месяца, в фекалиях при обычной влажности – 7–8 месяцев, при обработке помещений чувствительны к традиционным дезинфектантам (на основе хлора, едкого натра и др.) [1]. Учитывая огромное количество различных штаммов возбудителей и их медленно развивающуюся чувствительность к антисептикам и дезинфектантам, дезинфекция приобретает первостепенное значение для развития животноводческих комплексов [2, 3]. Принимая во внимание современные геополитические условия, крайне важно и актуально использование отечественных средств в области ветеринарии. Целью нашей работы стала оценка биологической активности отечественного биоцида «АКВА-СТАБРОМ» (ООО «Аква-Кемикал». Санкт-Петербург) в отношении микробных биопленок по сравнению с зарегистрированным аналогом NALCO STABREX® ST40 (производства Нидерландов).

Материалы и методы

В качестве материала исследований служили тестовые образцы биоцидов (далее дезинфектанты), № 1 – «АКВА-СТАБРОМ» и №2 – STABREX® ST40 Nalco), биопленки тест-штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 и *Escherichia coli* ATCC 25922. Биопленки тест-штаммов выращивали в течение 48 часов в 96-луночных полистироловых планшетах и на предметных стеклах. [5]. Выросшие биопленки подвергали воздействию дезинфицирующего средства в течение 5 минут, 60 минут и 24 часов. Концентрат средства разводили до получения рабочего раствора 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 исследований и обсуждение

Результаты оценки эффективности исследуемых дезинфектантов в отношении микробных биопленок представлены в таблице 1.

Полученные данные свидетельствуют о том, что тестируемый дезинфектант «АКВА-СТАБРОМ» 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. Дезинфектант «АКВА-СТАБРОМ» в концентрации

Результаты воздействия дезинфицирующих средств на микробные биопленки

Дезинфектант	Концентрация препарата, %	Время воздействия	Оптическая плотность (M ± t)	
			<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Контроль культуры	-	-	1,93±0,11	2,65±0,13
«АКВА-СТАБРОМ»	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
NALCO STABREX® ST40	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

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.

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 «АКВА-СТАБРОМ».

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 рис. 1–6.

На рис. 1 представлены результаты воздействия 0,01 %-ного 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 рис. 1Б и 1Г рост микроорганизмов отмечен сильнее, чем на рис. 1А и 1В при воздействии биоцида № 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.

На рис. 2 представлены результаты воздействия 0,005 %-ного 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

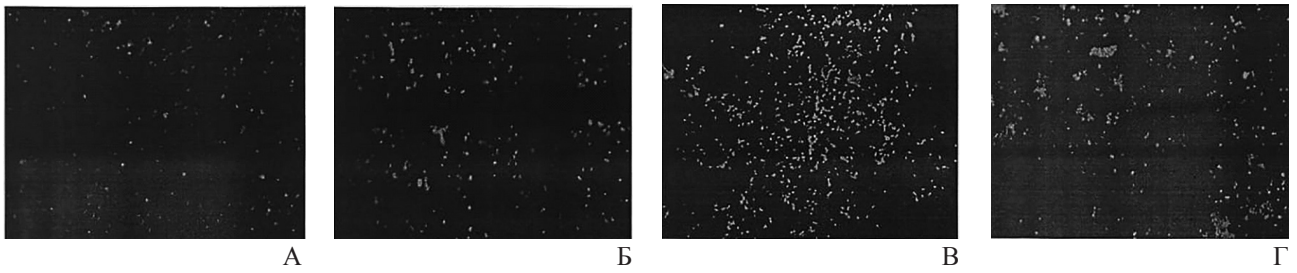


Рис. 1. Микробная биопленка *E. coli* после воздействия 0,01 %-ного раствора в течение 5 минут образца № 1 (А), образца № 2 (Б) и в течение 24 часов образца № 1 (В) и образца № 2 (Г).

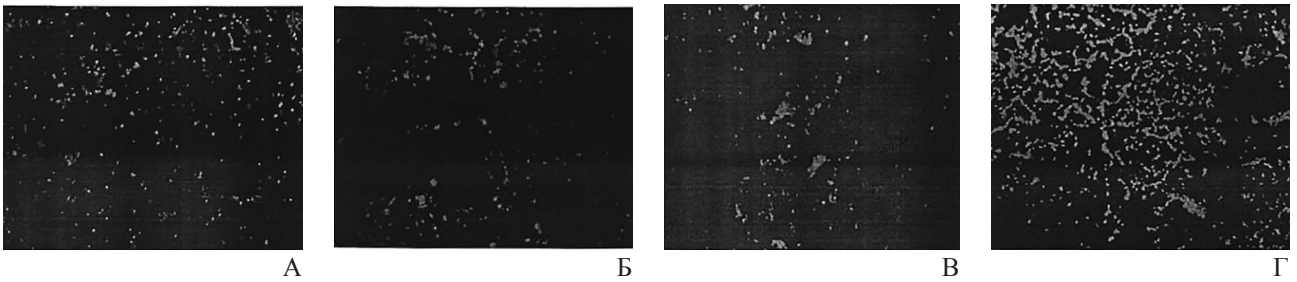


Рис. 2. Микробная биопленка *E. coli* после воздействия 0,005 %-ного раствора в течение 5 минут образца № 1 (А), образца № 2 (Б) и в течение 24 часов образца № 1 (В) и образца № 2 (Г).

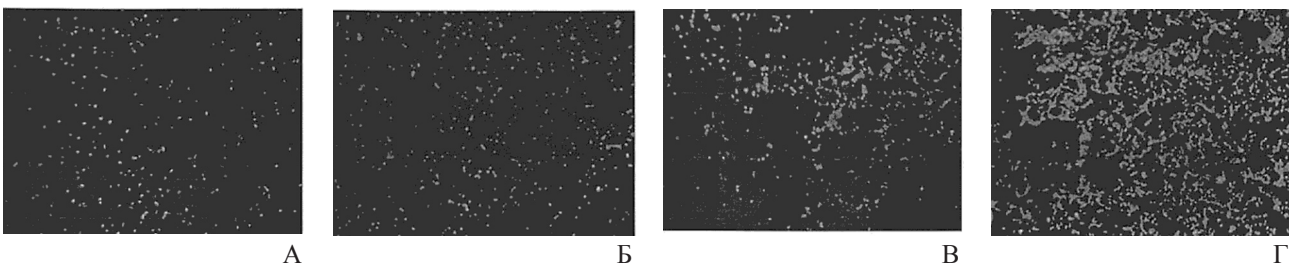


Рис. 3. Микробная биопленка *E. coli* после воздействия 0,00025 %-ного раствора в течение 5 минут образца № 1 (А), образца № 2 (Б) и в течение 24 часов образца № 1 (В) и образца № 2 (Г).

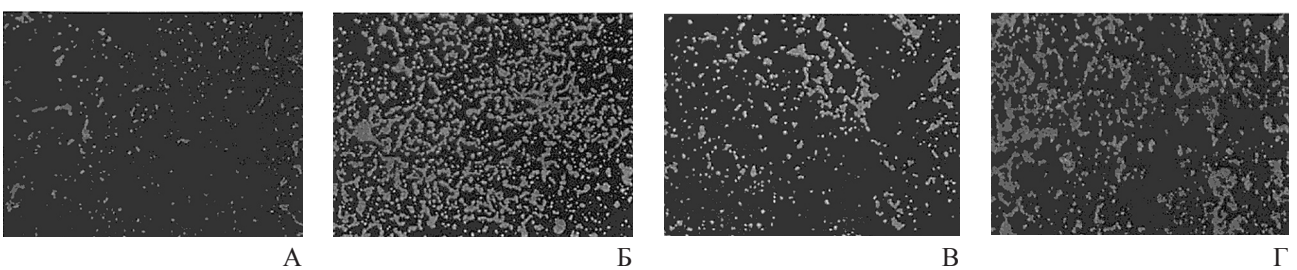


Рис. 4. Микробная биопленка *S. aureus* после воздействия 0,01 %-ного раствора в течение 5 минут образца № 1 (А), образца № 2 (Б) и в течение 24 часов образца № 1 (В) и образца № 2 (Г).

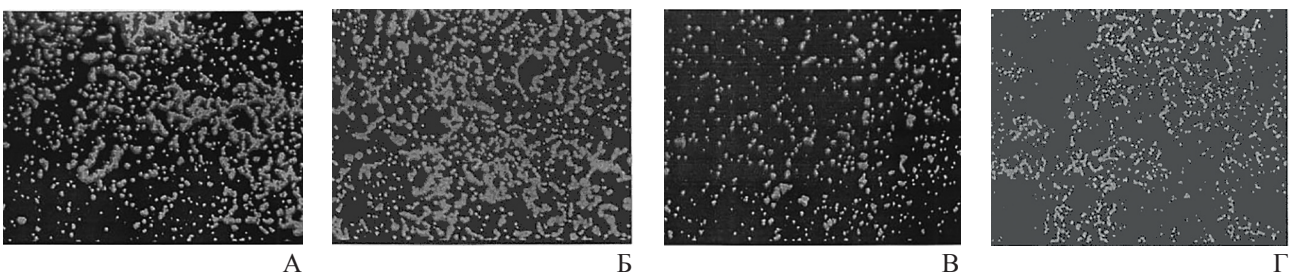


Рис. 5. Микробная биопленка *S. aureus* после воздействия 0,005 %-ного раствора в течение 5 минут образца № 1 (А), образца № 2 (Б) и в течение 24 часов образца № 1 (В) и образца № 2 (Г).

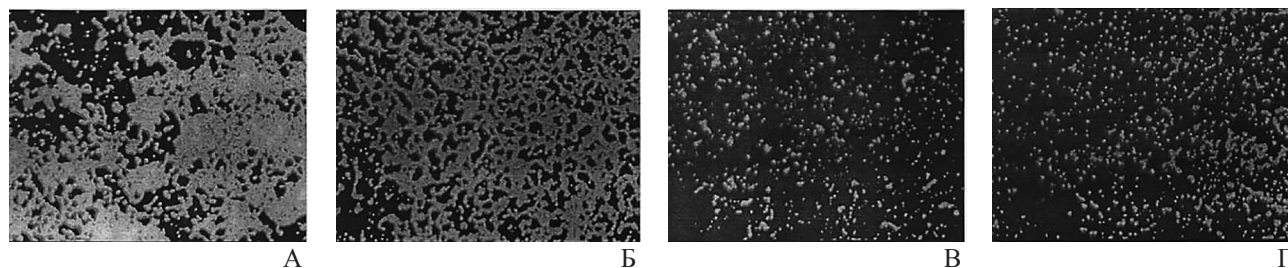


Рис. 6. Микробная биопленка *S. aureus* после воздействия 0,00025 %-ного раствора в течение 5 минут образца № 1 (А), образца № 2 (Б) и в течение 24 часов образца № 1 (В) и образца № 2 (Г).

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*.

На рис. 3 представлены результаты воздействия 0,00025 %-ного 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 биоцида № 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*.

На рис. 4 представлены результаты воздействия 0,01 %-ного 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 биоцида оказывали меньший разрушающий эффект на биопленку в течение 24 часов, но действие биоцида № 2 отмечено наименее выражено на микробную биопленку *S. aureus*.

На рис. 5 представлены результаты воздействия 0,005 %-ного раствора биоцида № 1

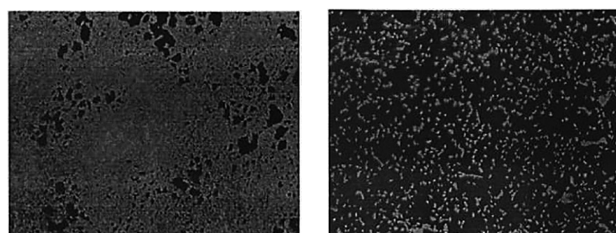


Рис. 7–8. Представлены фото контрольных биопленок *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 и *Escherichia coli* ATCC 25922.

«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).

На рис. 6 представлены результаты воздействия 0,00025 %-ного 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*.

Заключение

Результаты проведенных исследований подтверждают способность тестируемых дезинфектантов № 1 – «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.

В результате проведения тестовых испытаний биоцид «АКВА-СТАБРОМ» показал высокую эффективность (не уступающую импортному реагенту) при существенном снижении расхода биоцида.

Список литературы

1. Бакулин В. А. Болезни птиц / В. А. Бакулин. СПб., 2006. 687 с.

2. Барышев В. А. Современный подход преодоления антибиотикорезистентности / В. А. Барышев, О. С. Глушкова, А. М. Лунегов // Аграрная наука – сельскому хозяйству: сборник статей: в 3 книгах, Барнаул, 07–08 февраля 2017 года / Алтайский государственный аграрный университет. Барнаул: Алтайский государственный аграрный университет, 2017. С. 241–243.

3. Кобзев Е. Н. Формирование устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам и пути решения проблемы / Е. Н. Кобзев [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2014. Т. 19. № 6. С. 48–54.

4. Осипова В. Л. Дезинфекция: учебное пособие для медицинских училищ и колледжей / В. Л. Осипова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021. 136 с.

5. Учебное пособие «Биопленки: Основные принципы организации и методы исследования» / А. М. Марданова, Д. А. Кабанов, П. Л. Рудакова, М. Р. Шарипова. Казань, 2016. 42 с.

DOI: 10.24412/2074-5036-2022-4-63-66

УДК 638.15:615.777/779

Ключевые слова: *Bacillus thuringiensis*, восковая моль, личинки, инсектицидная активность.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, wax moth, larvae, insecticidal activity

Шульга И. С., Желябовская Д. А., Остякова М. Е., Лаврушина Л. А., Горбачева И. Е.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ И УСЛОВИЙ ХРАНЕНИЯ БИОПРЕПАРАТА ПРОТИВ ВОСКОВОЙ МОЛИ НА ЕГО ИНСЕКТИЦИДНУЮ АКТИВНОСТЬ

EVALUATION OF THE EFFECT OF DURATION AND STORAGE CONDITIONS OF A BIOLOGICAL PREPARATION AGAINST WAX MOTH ON ITS INSECTICIDAL ACTIVITY

ФГБНУ «Дальневосточный зональный научно-исследовательский ветеринарный институт»,
Адрес: 675005, Россия, г. Благовещенск, ул. Северная, д. 112
Federal State Budgetary Scientific Institution Far East Zonal Research Veterinary Institute,
Address: 675005, Russia, Blagoveshchensk, Severnaya St., 112

Шульга Ирина Станиславовна, кандидат биологических наук, заведующая отделом микробиологии, вирусологии и иммунологии. E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru
Shulga Irina Stanislavovna, PhD of Biological Sciences, Head of Department Microbiology, Virology and Immunology.
E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

Желябовская Дина Анатольевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела микробиологии, вирусологии и иммунологии. E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru
Zhelyabovskaya Dina Anatolyevna, PhD of Biological Sciences, Senior Researcher of department microbiology, virology and immunology. E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

Остякова Марина Евгеньевна, доктор биологических наук, доцент, директор. E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru
Ostyakova Marina Evgenievna, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Director.
E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

Лаврушина Любовь Анатольевна, научный сотрудник отдела микробиологии, вирусологии и иммунологии. E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru
Lavrushina Lyubov Anatolyevna, Researcher of Department of Microbiology, Virology and Immunology.
E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

Горбачёва Инна Евгеньевна, младший научный сотрудник отдела микробиологии, вирусологии и иммунологии. E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru
Gorbacheva Inna Evgenievna, Junior Researcher, Department of Microbiology, Virology and Immunology.
E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru