

СПОРОЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ НОВОГО ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНОГО БИОЦИДНОГО ПРЕПАРАТА

Николаенко Н.Н.¹, Аржаков В.Н.¹, Аржаков П.В.², Копылов Г.М.¹, Кулинич Е.Н.¹

¹ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет имени П. А. Столыпина», Омск, Россия (644122, Омск, ул. Октябрьская, 92), e-mail: pnniko@mail.ru

²ГНУ «Всероссийский НИИ бруцеллеза и туберкулеза животных» Россельхозакадемии, Омск, Россия (644001 г. Омск ул. Лермонтова, 93)

Авторами проведены экспериментальные исследования, которые подтвердили теоретические выводы и продемонстрировали высокую спороцидную активность нового биоцидного препарата. Для изучения спороцидного действия биоцидной композиции использовали трансмиссионную электронную микроскопию. Основным первичным механизмом повреждения споровых клеток после применения нового биоцидного препарата является деструкция клеточной мембраны, которая проявляется фрагментацией и разрывом цитоплазматической мембраны, следующие за этим вторичные повреждения: разрушение цитоплазмы и нуклеоида способствуют деструктивно-дистрофическим изменениям в кортексе и сердцевине споровых клеток, что приводит к дальнейшей гибели (лизису) микробных клеток. В результате проведенных исследований можно сделать вывод о том, что основой механизма биоцидного действия препарата в отношении споровых форм является мембраноатакующее действие, активные вещества, входящие в состав препарата, обладают дистрофически-деструктивным действием в отношении составных компонентов клеточной стенки споровых форм бактерий.

Ключевые слова: спороцидный, биоцидный препарат, дезинфекция высокого уровня.

SPORECIDAL ACTION OF THE NEW MULTIFUNCTIONAL BIOCIDAL PREPARATION

Nikolaenko N.N.¹, Arzhakov V.N.¹, Arzhakov P.V.², Kopylov G.M.¹, Kulinich E.N.¹

¹FGBOU VPO "Omsk State Agrarian University, PA Stolypin, "Omsk, Russia (644122, Omsk, ul. October, 92), e-mail: pnniko@mail.ru

²GNU "All-Russian Research Institute of Animal brucellosis and tuberculosis," Agricultural, Omsk, Russia (Omsk 644 001 Lermontov Str., 93)

Authors carried out pilot studies which confirmed theoretical conclusions and showed high sporecidal activity of a new biocidal preparation. For studying of sporecidal action of biocidal composition used transmission electronic microscopy. The main primary mechanism of damage of sporous cages of bacteria after application of a new biocidal preparation is the destruction of a cellular membrane which is shown by fragmentation and a rupture of the cytoplasmatic membrane, secondary damages following it: destruction of cytoplasm and nucleotide promote destructively – to dystrophic changes in thick layer of a cover disputes and a core of sporous cages that leads to further death (destruction) microbic cages. As a result of the carried-out researches it is possible to draw a conclusion, on that a basis of the mechanism of biocidal action of a preparation in the relation of sporous forms, destructive action on a cellular membrane, active substances a part of a preparation is possess dystrophic-destructive action concerning compound components of a cellular wall of sporous forms of bacteria.

Key words: sporecidal, a biocidal preparation, disinfection of high level.

Введение. Особенности химического состава спор приводят к тому, что такие биоцидные агенты как фенолы, хлоргексидин, четвертичные аммониевые соединения, органические кислоты и эфиры, обладая высокой бактерицидной активностью, не являются спороцидными, а соединения активного хлора (наряду с глутаровым альдегидом, формальдегидом, пероксидными соединениями) обладают и бактерицидной, и спороцидной активностью. При этом минимальные концентрации активного хлора, альдегидов, пероксидов, необходимые для уничтожения спор, выше концентраций, необходимых для обеззараживания не спорообразующих бактерий, время экспозиции, необходимое для уничтожения спор, также выше времени, обеспечивающего бактерицидный эффект для не спорообразующих бактерий,

повышение концентрации препаратов экономически невыгодно и экологически небезопасно [2, 3].

Современное дезинфицирующее средство, как правило, представляет собой композицию на основе сбалансированной формулы, включающей одно или несколько активно действующих веществ в соотношениях, позволяющих добиться максимального синергизма или потенцирования эффекта в отношении наиболее устойчивых микроорганизмов, а также функциональных добавок, целенаправленно изменяющих их свойства. Обязательным условием для дезинфицирующего средства, используемого для дезинфекции высокого уровня (ДВУ), является его спороцидное действие, т.е. другими словами, это средства, используемые в той же концентрации, при той же температуре и кратности применения, что и при стерилизации, но при сокращенном времени экспозиции [1, 2, 3].

Цель исследований – изучить спороцидное действие нового полифункционального биоцидного препарата.

Материалы и методы

При проведении исследований использовались методики:

Методические указания о порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики; утв. ГУВ МСХ СССР 27.12.87 г.

В исследованиях использовали следующие материалы:

- тест-культуру микроорганизмов: *B. subtilis* шт. 1с (pBMB5)
- биоцидную композицию, представляющую собой сбалансированный комплекс, в состав которого входят в качестве действующих веществ различные группы химических соединений, обладающие бактерицидными свойствами, а также поверхностно-активные вещества (ПАВ), в опытах использовались (1; 2; 3; 4 %-ые) концентрации и 30, 60, 90 и 120 минутные экспозиции. Для исследования спороцидного действия препарата использовали кусочки обезжиренного батиста, размером 0,5–1,0 см, стерилизованного в автоклаве. Нужно для исследования количество стерильного батиста помещали в стерильную чашку Петри и заливали 10–20 мл 2-х миллиардной бактериальной суспензии.

Тест-культуру, используемую для импрегнации батистовых тест-объектов, предварительно пассажировали (четырекратно) на соответствующих питательных средах. Импрегнировали бактериальной суспензией не менее 3-х тест-объектов. После внесения тест-объектов (с культурой) в дезинфицирующий раствор и экспозиции (30, 60, 90, 120 мин) проводили промывку «носителей» в стерильной дистиллированной воде. Далее производили посев на питательную среду (МПА), с последующей инкубацией в термостате. В качестве контроля спороцидного действия изучаемого препарата использовали стерильную дистиллированную воду.

Для изучения спороцидного действия биоцидной композиции использовали трансмиссионную электронную микроскопию. Для этого образцы фиксировали в 4 %-ом растворе параформальдегида при +4° С в течение 48 ч. Бактериальную взвесь центрифугировали в течение 20 мин при 6000 об/мин. Тест-образцы разрезали на две части, которые складывали стопкой. Затем тест-образцы и полученный после центрифугирования осадок дофиксировали 1 %-ным раствором осмиевой кислоты, обезвоживали по стандартной методике в растворах этилового спирта возрастающей концентрации и ацетоне и заливали в смесь эпон-аралдит. Ультратонкие срезы готовили на микротоме Райхерт-Янг (Австрия). Срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Исследовали в электронном микроскопе JEM 1400 (Jeol, Япония), фотосъемку проводили с помощью встроенной цифровой камеры Jeol и цифровой камеры бокового ввода Veleta (SIS, Германия).

Результаты исследований и их обсуждение

Спороцидное действие биоцидного препарата отмечено в 4 %-ой концентрации и 90 минутной экспозиции (таблица).

Таблица. Спороцидное действие биоцидной композиции

Микроорганизмы	Концентрация препарата в %	Экспозиция в (мин)			
		30	60	90	120
Bacillus subtilis шт. 1с (pBMB5)	1	+	+	+	+
	2	+	+	+	+
	3	+	+	+	+
	4	+	+	-	-
Контроль H ₂ O		+			

Примечание: «+» – четкий рост; «-» – нет роста

При изучении электронограмм в контроле *B. subtilis* шт. 1с (pBMB5) морфологический анализ определил нормальную морфологию микробной клетки. Сохранены и отчетливо выявляются поверхностные мембраны клеток, нуклеоиды, зернистое содержимое цитоплазмы (рисунок 1).



Рисунок 1. *B. subtilis*. Контроль.
Нормальная морфология бактериальной клетки

После 90 минутного воздействия 4 % рабочего раствора препарата на субмикроскопическую структуру *B. subtilis* микробные клетки находятся на разной стадии лизирования. Спороплазма клеток набухшая, зона кортекса отеснена на периферию, наблюдается повышенная электронно-оптическая плотность, повреждаются экзоспориум и споровые оболочки. Наблюдается фрагментация цитоплазматической мембраны и клеточной оболочки, деструкция цитоплазмы и нуклеоида (рисунок 2), после воздействия 4 %-ого рабочего раствора препарата и экспозиции 120 минут наблюдается массовый лизис спорных клеток (рисунок 3).

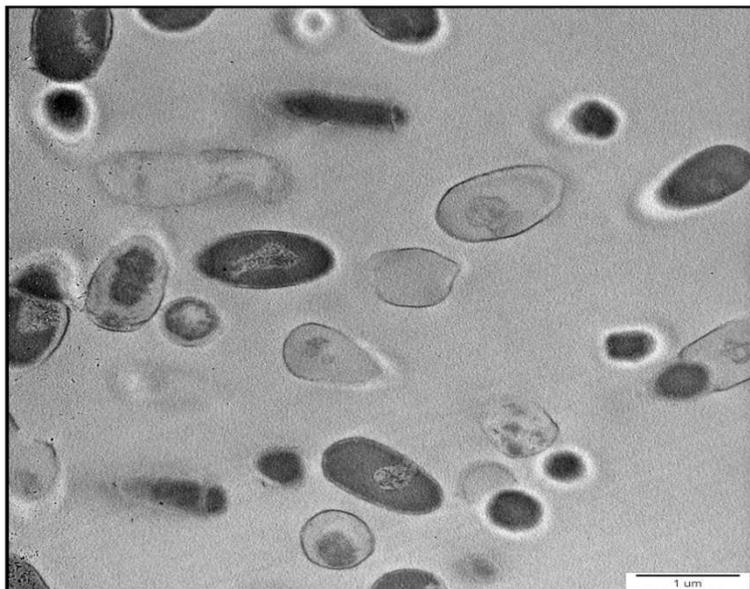


Рисунок 2. *B. subtilis* лизис микробных клеток,

разрывы цитоплазматической мембраны

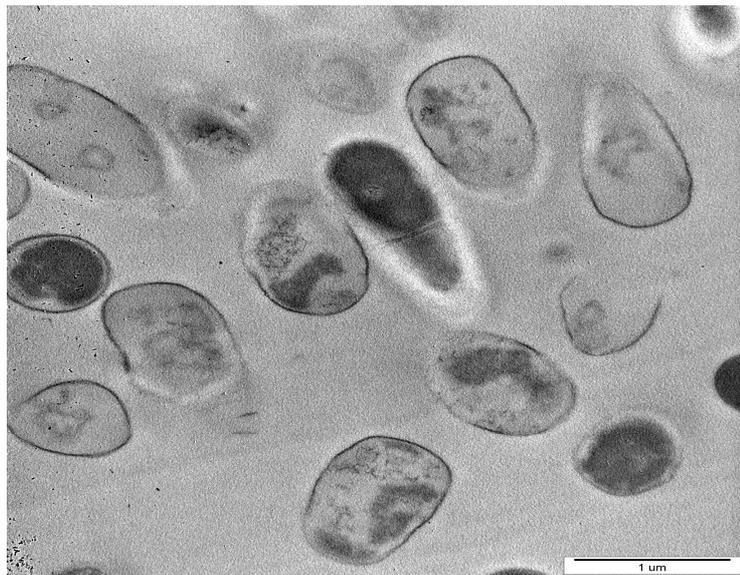


Рисунок 3. *B. subtilis* массовый лизис микробных клеток

Основным первичным механизмом повреждения спорных клеток после применения нового биоцидного препарата является деструкция клеточной мембраны, которая проявляется фрагментацией и разрывом цитоплазматической мембраны, следующие за этим вторичные повреждения: разрушение цитоплазмы и нуклеоида способствуют деструктивно-дистрофическим изменениям в кортексе и сердцевине спорных клеток, что приводит к дальнейшей гибели (лизису) микробных клеток.

Выводы

1. Новый полифункциональный биоцидный препарат обладает спороцидным действием в 4 %-ой концентрации и 90 минутной экспозиции.
2. Основой механизма биоцидного действия препарата в отношении спорных форм является мембраноатакующее действие.

Список литературы

1. Боченин, Ю. И. Лаборатория по изучению аэрозолей, достижения и перспективы научных исследований // Сб. науч. тр. ВНИИВСГЭ. М., 2005. № 117. – С. 48-54.
2. Маневич, Б. В. Совмещенная мойка и дезинфекция оборудования / Б. В. Маневич,

Ж. И. Кузина // Переработка молока: специализированный журнал / Учредитель ЗАО «Отраслевые ведомости». – М., 2010.– № 11 – С. 38-40.

3. Смирнов, А. М. Современные проблемы обеспечения ветеринарно-санитарных качеств животноводческой продукции / А. М. Смирнов // Пути совершенствования научного обеспечения агропромышленного комплекса Северо-Восточной России в рыночных условиях. – М., 1996. – С. 228- 233.

4. Kemp, G. K. Acidified sodium chlorite antimicrobial treatment of broiler carcasses / G. K. Kemp, M. L. Aldrich, A. L. Waldroup // Food Prot. – 2000. – № 63. – P. 1087-1092.

5. Holley, R. A. Microbial profiles of commercial, vacuum-packaged, fresh pork of normal or short storage life / R. A. Holley, M. D. Peirson, J. Lam, K. B. Tan // Intern. J. of Food Microbiology. – 2004. – № 97. – P. 53-62.

6. Holah, J. T. Special need for disinfectant in food-handling establishments / J. T. Holah // Revue Scientific et Technique Office International des Epizootics. – 1995. – № 14. – P. 95-104.

Рецензенты:

Плешакова Валентина Ивановна, доктор ветеринарных наук, зав. кафедрой ветеринарной микробиологии, вирусологии и иммунологии ИВМ ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П. А. Столыпина, г. Омск.

Бажин Михаил Аристоклевиич, доктор ветеринарных наук, профессор Всероссийского НИИ бруцеллеза и туберкулеза животных, г. Омск.