ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ НА МОДЕЛИ ESCHERICHIA COLI

Аржаков В. Н. , Николаенко Н. Н. , Аржаков П. В. , Копылов Г. М. , Лапиков А. А. , Михайловская А. С. , Алексеев С. С. , Шевченко Е. В.

 1 ФГБОУ ВПО Омский государственный аграрный университет имени П. А. Столыпина 2 ГНУ Всероссийский НИИ бруцеллеза и туберкулеза животных Россельхозакадемии

Коллективом авторов проведены экспериментальные исследования по оценки бактерицидного действия новых биоцидных препаратов на примере Е. coli по результатам проведенных исследований все препараты оказывали губительное действие на Е. coli, бактерицидным действием в 0,5 %-ной концентрации обладали: ОМДЕЗ-1, ОМДЕЗ-2, СКАТ-ЭД-1, МУК-ДМ и Дезостерил при экспозиции 15 минут, обеззараживающее действие препарата МД-АВИА проявилось в 1 %-ной концентрации при 15 минутном воздействии. Губительное действие при использовании 1%-ной концентрации и 5 минутной экспозиции проявлялось у ОМДЕЗ-1 и МУК-ДМ. Данные электронной микроскопии показывают, что основой механизма биоцидного действия всех препаратов в отношении Е. coli является мембраноатакующее действие, активные вещества входящие в состав препарата обладают дистрофически-деструктивным действием в отношении составных компонентов клеточной стенки бактерий.

Ключевые слова: бактерицидный, Escherichia coli, дезинфекция, обеззараживание.

STUDY OF BACTERICIDAL ACTION OF NEW DISINFECTANT PREPARATIONS ON MODEL ESCHERICHIA COLI

Arzhakov V. N.¹, Nikolaenko N. N.¹, Arzhakov P. V.², Lapikov A. A.¹, Mihailovska A. S.¹, Alekseev S. S.¹, Shevchenko E. V.¹

The collective of authors leads experimental researches on assessments of bactericidal action new disinfectant preparations on example E. coli by results of the lead researches all preparations had pernicious an effect on E. coli, bactericidal action in 0,5 % concentration possessed: OMDEZ-1, OMDEZ-2, SKAT-ED-1, MUK-DM and Dezosteril at an exposition of 15 minutes, disinfecting action of preparation MD-AVIA was showed in 1 % concentration at 15 minute influence. Pernicious action at use of 1 % concentration and 5 minute expositions was shown at OMDEZ-1 and MUK-DM. Data of electronic microscopy show, that a basis of the mechanism disinfectant actions of all preparations in attitude E. coli is destruction of a cellular wall, active substances a part of a preparation possess dystrophic-destructive action concerning compound components of a cellular wall of bacteria.

Keywords: bactericidal, Escherichia coli, disinfection, disinfecting.

Введение. Дезинфекция является одним из важнейших направлений в комплексе мероприятий по борьбе с заразными болезнями. В силу ряда обстоятельств в настоящее время дезинфекционные мероприятия приобретают все более высокую значимость в профилактике и ликвидации инфекций. К числу подобных обстоятельств следует отнести, прежде всего, недостаточность финансирования и связанную с этим сложность поддержания санитарно-гигиенического и противоэпидемического режимов [1,2,3].

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

²GNU "All-Russian Research Institute of Animal brucellosis and tuberculosis," Agricultural, Omsk, Russia (Omsk 644001 Lermontov Str., 93)

Следует сказать и об изменении в микробном фоне как следствии адаптации к применяемым препаратам. Все более часто выявляются штаммы микроорганизмов, устойчивые к традиционно используемым дезинфектантам [3,4,5].

В условиях рыночных отношений, в непростых условиях социально-экономических преобразований роль дезинфектологии как одного из путей обеспечения безопасности и здоровья человека возрастает многократно. Не вызывает сомнений, что и в XXI веке инфекционные болезни в России будут сохранять свою высокую социально-экономическую значимость, нанося ущерб здоровью людей и животных, дезорганизуя жизнь отдельных регионов страны, а в конечном счете нанося реальный экономический ущерб и регионам, и государству в целом [1,2,3,4,5].

В связи с вышеизложенным разработка новых высокоэффективных, экологически безвредных и дешевых дезинфицирующих композиций, является одним из наиболее актуальных аспектов биологической безопасности [6].

Цель исследований – изучить бактерицидное действие новых дезинфицирующих препаратов на модели Escherichia coli.

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. 1987 г.

В исследованиях использовали следующие материалы:

- тест-культуру микроорганизмов: E. coli шт K-12.
- моюще-дезинфицирующие препараты: «ОМДЕЗ-1», «ОМДЕЗ-2», «СКАТ-ЭД-1», «МД-АВИА», «МУК-ДМ» и дезинфицирующий препарат «Дезостерил», представляющие собой: сбалансированный комплекс, в состав которых входят в качестве действующих веществ различные группы химических соединений, обладающих бактерицидными свойствами, а также поверхностно-активные вещества (ПАВ) в качестве моющего компонента, в опытах использовались (0,5; 1 %-ные) концентрации и 5, 10 и 15 минутные экспозиции.

Для исследования бактерицидного действия препаратов использовали кусочки обезжиренного батиста, размером 0.5-1.0 см, стерилизованного в автоклаве. Нужное для исследования количество стерильного батиста помещали в стерильную чашку Петри и заливали 10-20 мл 2-x миллиардной бактериальной суспензии.

Импрегнировали бактериальной суспензией не менее 3-х тест-объектов. После внесения тест – объектов (с культурой) в дезинфицирующие растворы и экспозиции (5,10,15

мин), проводили промывку "носителей" в стерильной дистиллированной воде. Далее производили посев на питательную среду (МПА), с последующей инкубацией в термостате. В качестве контроля бактерицидного действия изучаемого препарата использовали стерильную дистиллированную воду.

Для изучения бактерицидного действия биоцидных композиций использовали трансмиссионную электронную микроскопию. Для этого образцы фиксировали в 4 %-ном растворе параформальдегида при +4 °C 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

Бактерицидным действием в 0,5 %-ной концентрации обладали: ОМДЕЗ-1, ОМДЕЗ-2, СКАТ-ЭД-1, МУК-ДМ и Дезостерил при экспозиции 15 минут, обеззараживающее действие препарата МД-АВИА проявлялось в 1 %-ной концентрации при 15 минутном воздействии. Губительное действие при использовании 1 %-ной концентрации и 5 минутной экспозиции проявлялось у ОМДЕЗ-1 и МУК-ДМ (таблица).

При изучении электроннограмм в контроле Е. coli шт. К-12 морфологический анализ определил нормальную морфологию микробной клетки. Сохранены и отчетливо выявляются поверхностные мембраны клеток — волнистая клеточная стенка (черная стрелка), более светлая зона с тонкими осмиофильными нитями ДНК-нуклеоид (белая стрелка), зернистое содержимое цитоплазмы (белая фигурная стрелка) (рис № 1).

Таблица. Бактерицидное действие препаратов

Препарат	Концентрация препарата в %.	Экспозиция в (мин).		
		5	10	15
1	2	3	4	5
ОМДЕЗ-1	0,5	+	+	-

	1	-	-	-
ОМДЕЗ-2	0,5	+	+	-
	1	+	-	-
СКАТ-ЭД-1	0,5	+	+	-
	1	+	-	-
МД-АВИА	0,5	+	+	+
	1	+	+	-
МУК-ДМ	0,5	+	+	-
	1	-	-	-
Дезостерил	0,5	+	+	-
	1	+	-	-
Контроль H ₂ O		+		

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

При воздействии препарата ОМДЕЗ-1 на кишечную палочку электронномикроскопическое исследование показало, что наружная мембрана клеточной стенки отходила от протопласта, контуры ее были размыты; во внешней среде отмечали наличие осмиофильного вещества (черная стрелка), которое являлось продуктом утечки содержимого клеток. Цитоплазматическая мембрана не проявлялась. Наблюдались остатки лизированных клеток (белые стрелки) и клетки в состоянии дистрофии (серые стрелки) (рис. № 2).

При изучении ультраструктуры кишечной палочки после воздействия препарата ОМДЕЗ-2 на электроннограмме выявлялись лизированные клетки (белые стрелки) и клетки в состоянии дистрофии (черные стрелки) (рис. № 3), после воздействия на кишечную палочку препарата СКАТ-ЭД-1 наблюдались лизированные клетки с вытекшим клеточным содержимым (рис. № 4).

При воздействии препарата МД-АВИА на кишечную палочку наблюдался лизис клеток (черные стрелки) и дистрофия отдельных клеток: сегрегация цитоплазмы и выход клеточного содержимого наружу (белые стрелки) (рис. № 5).

При исследовании ультраструктуры кишечной палочки после воздействия препарата МУК-ДМ практически все бактериальные клетки находились в состоянии дистрофических изменений: наружная мембрана клеточной стенки отходила от протопласта, контуры волнистой структуры клеточной стенки не просматривались, цитоплазматическая мембрана не проявлялась, наблюдались: вакуолизация, сегрегация и резкое уплотнение отдельных зон

цитоплазмы (черные стрелки). Все эти деструктивно-дегенеративные изменения приводили к дальнейшему лизису кишечной палочки (белые стрелки) (рис. № 6).

Изучение ультраструктуры кишечной палочки после воздействия препарата Дезостерил показало, что все клетки находились в состоянии тотального лизиса: наблюдались: сегрегация цитоплазмы и выход клеточного содержимого наружу (рис. № 7).

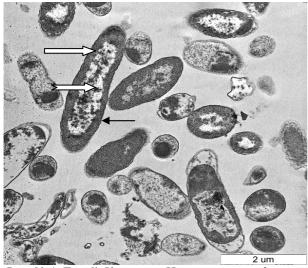


Рис. № 1. Е. coli. Контроль. Нормальная морфология бактериальной клетки

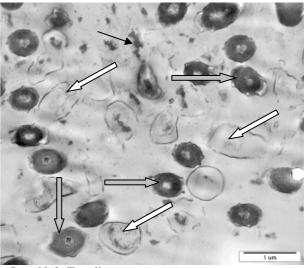


Рис. № 2. Е. coli после воздействия препарата ОМДЕЗ-1 в 0,5 %-ной концентрации и 15 мин. экспозиции

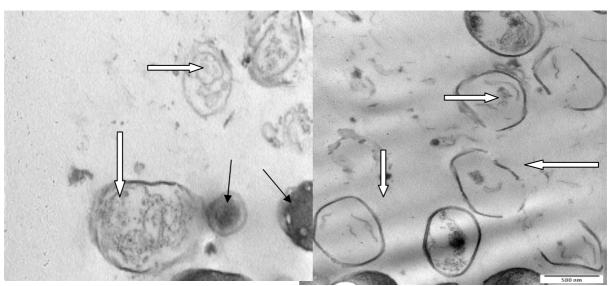


Рис. № 3. Е. coli после воздействия препарата ОМДЕЗ-2 в 0,5 %-ной концентрации и 15 мин экспозиции

Рис. № 4. Е. coli после воздействия препарата СКАТ-ЭД-1 в 0,5 %-ной концентрации и 15 мин экспозиции

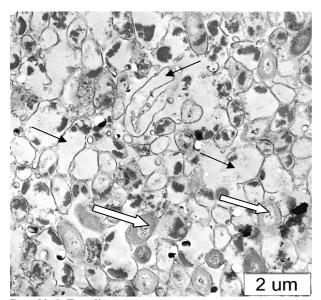


Рис. № 5. Е. coli после воздействия препарата МД-АВИА в 1 %-ной концентрации и 15 мин экспозиции

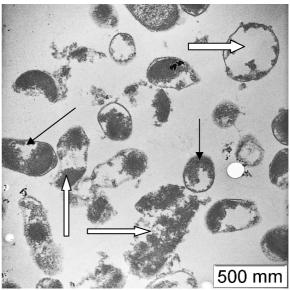


Рис № 6. Е. соlі после воздействия препарата МУК ДМ в 0,5 %-ной концентрации и 15 мин экспозиции

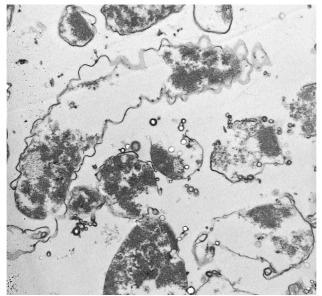


Рис. № 7. E. coli после воздействия препарата Дезостерил в 0,5 %-ной концентрации и 15 мин экспозиции

Заключение

По результатам проведенных исследований все препараты оказывали губительное действие на Е. coli, данные электронной микроскопии показывают, что основой механизма биоцидного действия всех препаратов в отношении Е. coli является мембраноатакующее действие, активные вещества, входящие в состав препарата обладают дистрофически-деструктивным действием в отношении составных компонентов клеточной стенки бактерий.

В дальнейшем будет продолжено изучение бактерицидного действия исследуемых препаратов на моделях других микроорганизмов.

Список литературы

- 1. 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.
- 2. Пономарёв А. П. Электронная микроскопия нанобактерий и других представителей макро-и наномира: Монография / А. П. Пономарёв. Владимир: ИП Журавлева, 2011. 180 с.
- 3. Смирнов, А. М. Современные проблемы обеспечения вете-ринарно-санитарных качеств животноводческой продукции / А. М. Смирнов // Пути совершенствования научного обеспечения агропро мышленного комплекса Северо-Восточной России в рыночных условиях. М., 1996. С. 228 233.
- 4. Шандала М. Г. Дезинфектологические аспекты борьбы с инфекционными заболеваниями / М.Г. Шандала // Матер. 8-го съезда Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов, и паразитологов. М., 2002. Т. 4. С. 67-68.
- 5. Шестопалов Н. В. Место и роль дезинфекционной службы в обеспечении санитарноэпидемиологического благополучия населения / Н. В. Шестопалов // Актуальные проблемы дезинфектологии в профилактике инфекционных и паразитных заболеваний. – М., 2002. – C.16-21.
- 6. Ушакова В. Н. Мойка и дезинфекция: пищевая промышленность, торговля, общественное питание: [соврем. моющие и очищающие средства, проф. уборочный инвентарь, орг. процесса] / Ушакова В. Н. СПб.: Профессия, 2007. 285 с.

Рецензенты:

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

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