

11. Lizvinskii Iu. Sochetannaia korona- i parvovirusnaia infektsiia u shchenkov – potentsialnaia opasnost dlia pitomnikov / Iu. Lizvinskii, N. Guseva // Rossiiskii veterinarnyi zhurnal. Melkie domashnie i dikiye zhivotnye. – 2015. – No. 6. – S. 49-51.

12. Nikonenko T.B. Mikrobiotsenozы pri virusnykh kishhechnykh infektsiiakh sobak v usloviakh Pribaikalia / T.B. Nikonenko, P.I. Baryshnikov, N.A. Novikov // Vestnik Altaiskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2021. – No. 1. – S. 83-88.

13. Nikonenko T.B. Assotsiativnoe techenie virusnykh respiratornykh infektsii sobak v usloviakh Pribaikalia / T.B. Nikonenko, P.I. Baryshnikov, G.A. Fedorova, L.V. Tkachenko // Vestnik Altaiskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2022. – No. 2. – S. 65-70.

14. Baryshnikov P.I. Laboratornaia diagnostika bakterialnykh boleznei zhivotnykh / P.I. Baryshnikov. – Sankt-Peterburg: Lan, 2019. – 712 s.



УДК 619:616.775.26

DOI: 10.53083/1996-4277-2022-217-11-90-94

Е.В. Нефедова, Н.Н. Шкиль

E.V. Nefedova, N.N. Schkiel

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА И ДЕЗИНФЕКТАНТОВ НА БАКТЕРИЦИДНУЮ АКТИВНОСТЬ ОТНОСИТЕЛЬНО *S. ENTERITIDIS*

EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES AND DISINFECTANTS ON BACTERICIDAL ACTIVITY AGAINST *S. ENTERITIDIS*

Ключевые слова: наночастицы серебра, *S. enteritidis*, антибиотики, антибиотикорезистентность, AgNPs.

Дезинфекция в сельском хозяйстве является одним из важнейших направлений в комплексе мероприятий по борьбе с различными заболеваниями и патогенной флорой. Вместе с тем в силу объективных причин существующие дезинфицирующие средства уже не отвечают возросшим требованиям. По мнению учёных многих стран, следующим поколением являются дезинфектанты на основе наноразмерных структур, обладающие биоцидными свойствами широкого диапазона действия. В связи с этим нами изучено совместное влияние наночастиц серебра, дезинфектантов и моющих средств, используемых в молочном животноводстве на изменение бактерицидной активности комплексных экспериментальных композиций. Изучение изменения бактерицидных свойств Algavit 25 в отношении референтного штамма *S. enteritidis* 182 показало, что в комбинации с Арговитом показатель увеличивает в 64 (с 200 до 3,12 мкг/мл) раза, при этом в сочетании Algavit 25 с Арговитом и изолятом *S. enteritidis* отмечен рост показателя в 16 (с 200 до 12,5 мкг/мл) раз. Установлено, что музейный штамм *S. enteritidis* 182 обладал более высокой чувствительностью к этим комплексам, чем изолят, выделенный от животных. Eco Dol-I, Salvo Dip B, Ital Mast up blue обладали бактерицидной активностью к изоляту *S. Enteritidis*, которая в сочетании с Арговитом увеличивалась в 8 (с 100 до 12,5 мкг/мл) раз. В то время как при культивировании референтного штамма *S. enteritidis* 182 с Eco Dol-I и Ар-

говита выявлен рост чувствительности в 32 раза (с 200 до 6,25 мкг/мл), с Salvo Dip B и Ital Mast up blue – в 32 раза (с 100 до 3,12 мкг/мл). Применение AgNPs совместно с изучаемыми дезинфектантами и моющими средствами позволит существенно сократить (в 8-32 раза) бактерицидную концентрацию их применения, что экономически обосновано и требует дальнейшего изучения.

Keywords: silver nanoparticles, *S. enteritidis*, antibiotics, antibiotic resistance, nanoparticles AgNPs.

Disinfection in farming industry is one of the most important areas in the complex of measures to combat various diseases and pathogenic flora. At the same time, due to objective reasons, the existing disinfectants no longer meet the increased requirements. According to scientists from many countries, the next generation of disinfectants is based on nanosized structures with biocidal properties of a wide range of action. In this regard, we studied the combined effect of silver nanoparticles, disinfectants and detergents used in dairy farming on the change of the bactericidal activity of complex experimental compositions. The study of changes in the bactericidal properties of Algavit 25 against to the reference strain *S. enteritidis* 182 showed that in combination with Argovit the indice increases 64 times (from 200 to 3.12 µg mL) while in the combination of Algavit 25, Argovit and isolate *S. enteritidis*, 16-fold increase (from 200 to 12.5 µg mL) was found. It was found that the museum strain *S. enteritidis* 182 had higher sensitivity to these complexes than the isolate from animals. The disinfectants Eco Dol-I, Salvo Dip B, and Ital Mast up blue

had bactericidal activity against the *S. enteritidis* isolate which, in combination with Argovit, increased 8 times (from 100 to 12.5 µg ml). The cultivation of the reference strain *S. enteritidis* 182 with Eco Dol-I and Argovita revealed 32-fold increase in sensitivity (from 200 to 6.25 µg mL), with Salvo Dip B and Ital Mast up blue - 32 times (from 100 to

3.12 µg mL). The use of nanoparticles AgNPs together with the studied disinfectants and detergents will significantly reduce (8-32 times) the bactericidal concentration of their use which is economically justified and requires further study.

Нефедова Екатерина Владимировна, к.в.н., ст. науч. сотр., Сибирский федеральный научный центр агробιοтехнологий РАН, р.п. Краснообск, Новосибирская область, Российская Федерация, e-mail: fill555@mail.ru.

Шкиль Николай Николаевич, д.в.н., доцент, гл. науч. сотр., Сибирский федеральный научный центр агробιοтехнологий РАН, р.п. Краснообск, Новосибирская область, Российская Федерация, e-mail: nicola07@mail.ru.

Nefedova Ekaterina Vladimirovna, Cand. Vet. Sci., Senior Researcher, Siberian Federal Scientific Center of Agro-Biotechnologies, Rus. Acad. of Sci., Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russian Federation, e-mail: fill555@mail.ru.

Schkiel Nikolay Nikolaevich, Dr. Vet. Sci., Chief Researcher, Siberian Federal Scientific Center of Agro-Biotechnologies, Rus. Acad. of Sci., Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russian Federation, e-mail: nicola07@mail.ru.

Введение

Применение дезинфектантов в промышленном животноводстве стало неотъемлемой частью технологического процесса, который обеспечивает высокий уровень сохранности животных. Многократное применение этих химически активных и агрессивных препаратов к микроорганизмам вызывает активный мутационный процесс, выражающийся в формировании устойчивости к химически активным веществам, что сильно снижает эффективность проводимых ветеринарных профилактических мероприятий. В связи с этим активно разрабатываются новые препараты, изучается возможность комбинирования ранее известных препаратов [1-3].

Современное развитие нанотехнологий позволяет получать новые материалы, обладающие высокими бактерицидными свойствами при низких токсикологических показателях. Наиболее часто в ветеринарии и медицине используются наночастицы металлов: серебра, золота, железа, титана, марганца, магния, среди которых наиболее изучены наночастицы серебра (AgNPs). Ранее проведенными исследованиями установлена высокая бактерицидная и противовирусная активность AgNPs, а также способность усиливать эти свойства при их совместном применении с антибактериальными препаратами. Кроме того, контакт микроорганизмов с AgNPs вызывает рост антибиотикочувствительности к широкому кругу антибиотиков [4-9].

В связи с этим необходимо изучение сочетанного применения AgNPs и дезинфекционных средств с целью возможного увеличения их активности.

Цель работы – определить бактерицидную активность сочетаний наночастиц серебра и дезинфектантов на штамме *S. enteritidis* 182 изоляте *S. Enteritidis*, выделенном при инфекционной патологии крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследования

Для изучения действия наночастиц серебра использовался препарат «Арговит» (ООО НПЦ «Вектор-Вита» г. Новосибирск), содержащий AgNPs 13 мкг/мл; в качестве дезинфектантов – Eco Dol-I, Krionite, Farmos, GEA Salvo Dip B, Oxy Cite Pre, Senso Dip 50, Ital Mast up blue, Algavit 25, Dairy EcoHex.

GEA Salvo Dip B – мощное средство содержащее в качестве действующего вещества синтетическую молочную кислоту (GEA Farm Technologies, Германия).

Oxy Cite Pre – средство для обработки сосков перед доением, содержащее в составе перекись водорода, глицерин (GEA Farm Technologies, Германия).

Farmos – мощные и дезинфицирующие средство, содержащее хлор, композицию ПАВ, целевые добавки, воду очищенную (GEA Farm Technologies, Германия).

Krionite – мощное и дезинфицирующее средство, содержащее комплекс неорганических

кислот, ПАВ, целевые добавки и воду очищенную (GEA Farm Technologies, Германия).

Senso Dip 50 – моющее и дезинфицирующее средство, содержащее комплекс, в 100 г продукта которого содержится 0,5 г хлоргексидина, 0,5 г диэтил бензамида, ланолин, глицерин (GEA Farm Technologies, Германия).

Ital Mast up blue – дезинфицирующее средство, содержащее комплекс хлоргексидин биглюконата, воду деионизированную (GEA Farm Technologies, Германия).

Dairy EcoHex – дезинфицирующее средство, содержащее комплекс хлоргексидина, смягчающих и увлажняющих веществ и вспомогательных компонентов (GEA Farm Technologies, Германия).

Senso Dip 50 – средство для обработки сосков перед доением в составе содержит 5000 мкг/мл хлоргексидина (GEA Farm Technologies, Германия).

Algavit 25 – средство для ухода за выменем КРС после доения, содержащее воду, аллантоин, глицерин, сорбитол, пленкообразующий поверхностно-активные вещества и комплекс йода (0,25%) с массовой долей 2500 мкг/мл (GEA Farm Technologies, Германия).

Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным веществам и их сочетаний, которые вносили равными объемами 0,2 мл, проводили методом последовательных серийных разведений в МПБ при внесении 0,2 мл $1,5 \times 10^6$ КОЕ/мл референтного штамма *S. enteritidis* 182 или изолята *S. enteritidis* выделенного при инфекционном заболевании от крупного рогатого скота при последующем инкубировании в течение 24 ч при $T = 36,5 + 0,5^\circ\text{C}$ [10].

Результаты исследований

Изучение изменения бактерицидных свойств Algavit 25 в отношении референтного штамма *S. enteritidis* 182 показало, что в комбинации с Арговитом показатель увеличивает в 64 (с 200 до 3,12 мкг/мл) раза, при этом в сочетании Algavit 25

с Арговитом и изолятом *S. enteritidis* отмечен рост показателя в 16 (с 200 до 12,5 мкг/мл) раз.

Eco Dol-I, Salvo Dip B, Ital Mast up blue обладали бактерицидной активностью к изоляту *S. Enteritidis*, которая в сочетании с Арговитом увеличивалась в 8 (с 100 до 12,5 мкг/мл) раз. В то время как при культивировании референтного штамма *S. enteritidis* 182 с Eco Dol-I и Арговита выявлен рост чувствительности в 32 раза (с 200 до 6,25 мкг/мл), с Salvo Dip B и Ital Mast up blue – в 32 раза (с 100 до 3,12 мкг/мл).

Установлен рост бактерицидной активности при культивировании Kryptonite, Oxy Cite Pre, Дэйри ЭкоГекс с референтным штаммом *S. enteritidis* 182 и Арговитом в 16 раз. Тем временем бактерицидная активность этих же дезинфектантов к полевому изоляту штамму *S. enteritidis* и арговиту увеличилась в 8 раз.

Senso Dip 50 обладал бактерицидной активностью к изоляту *S. enteritidis* (50 мкг/мл), которая повышалась в комбинации с Арговитом в 8 раз (с 50 до 6,25 мкг/мл). Бактерицидная активность этого дезинфектанта к референтному штамму *S. enteritidis* 182 характеризовалась аналогичным повышением в присутствии Арговита в 8 раз – с 100 до 12,5 мкг/мл (табл.).

Выводы

1. Результаты исследований показали, что при сочетанном применении AgNPs и изучаемых дезинфектантов получен различный результат, который зависел от их вида и изучаемого микроорганизма. Наиболее чувствительным к таким воздействиям оказался музейный штамм *S. enteritidis* 182, что, видимо, связано с отсутствием ранее активного контакта с подобными агрессивными химическими веществами.

2. Применение AgNPs совместно с изучаемыми дезинфектантами и моющими средствами позволит существенно сократить (в 8-32 раза) бактерицидную концентрацию их применения, что экономически обосновано и требует дальнейшего изучения.

Антибиотикочувствительность референтного штамма *S. enteritidis* 182 и изолята *S. enteritidis* к различным комбинациям дезинфицирующих средств

Название препарата	Бактерицидная концентрация комбинаций антибактериальных веществ, мкг/мл			
	<i>S. enteritidis</i> 182		<i>S. enteritidis</i>	
	Арговит	Дезинфектант	Арговит	Дезинфектант
Арговит	0,078	-	0,156	-
Есо Dol-I	-	200	-	100
Есо Dol-I + Арговит	0,078	6,25	0,156	12,5
Krionite	-	50	-	50
Krionite + Арговит	0,039	3,12	0,156	12,5
Farmos	-	50	-	100
Farmos + Арговит	0,078	6,25	0,312	25
Salvo Dip B	-	100	-	100
Salvo Dip B + Арговит	0,039	3,12	0,156	12,5
Оxy Cite Pre	-	100	-	50
Оxy Cite Pre + Арговит	0,078	6,25	0,156	12,5
Senso Dip 50	-	50	-	100
Senso Dip 50 + Арговит	0,078	6,25	0,156	12,5
Ital Mast up blue	-	100	-	100
Ital Mast up blue + Арговит	0,039	3,12	0,156	12,5
Algavit 25	-	200	-	200
Algavit 25 + Арговит	0,039	3,12	0,156	12,5
Дэйри ЭкоГекс	-	200	-	200
Дэйри ЭкоГекс + Арговит	0,156	12,5	0,312	25

Библиографический список

1. Manoharan, A., Sugumar, M., Kumar, A., et al. (2012). Phenotypic & molecular characterization of AmpC β -lactamases among *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. & *Enterobacter* spp. from five Indian Medical Centers. *Indian Journal of Medical Research*, 135 (3), 359–364.

2. Yuan, Y.G., Peng, Q.L., Gurunathan, S. (2017). Effects of Silver Nanoparticles on Multiple Drug-Resistant Strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* from Mastitis-Infected Goats: An Alternative Approach for Antimicrobial Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(3), 569. <https://doi.org/10.3390/ijms18030569>.

3. Yu, L., Shang, F., Chen, X., et al. (2018). The anti-biofilm effect of silver-nanoparticle-decorated quercetin nanoparticles on a multi-drug resistant *Escherichia coli* strain isolated from a dairy cow with mastitis. *Peer J.*, 6, e5711. <https://doi.org/10.7717/peerj.5711>.

4. Garibo Ruiz, D., Nefedova, E., Shkil, N.N., Shkil, N.A., et al. (2022). Silver Nanoparticles Targeting the Drug Resistance Problem of *Streptococcus dysgalactiae*: Susceptibility to Antibiotics and Efflux Effect. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11), 6024. <https://doi.org/10.3390/ijms23116024>.

5. Нефедова, Е. В. Влияние наночастиц серебра на бактерицидную активность и антибиотикочувствительность *Salmonella enteritidis* 182 / Е. В. Нефедова, Н. Н. Шкиль. – Текст: электронный // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2021. – № 3. – С. 82-91. – URL: <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2021-3-9>.

6. Актуальные аспекты применения химически синтезированных соединений наночастиц серебра в животноводстве и агрохимии / А. И. Перфильева, И. А. Граскова, О. А. Ножкина [и др.]. – Текст: электронный // Российские нанотехнологии. – 2019. – Т. 14, №. 9-10. –

C. 85-93. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42638066>.

7. Nefedova, E., Shkil, N., Luna Vazquez-Gomez, R., et al. (2022). AgNPs Targeting the Drug Resistance Problem of *Staphylococcus aureus*: Susceptibility to Antibiotics and Efflux Effect. *Pharmaceutics*, 14, 763. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14040763>.

8. Неведова, Е. В. Влияние наночастиц серебра на антибиотикорезистентность микроорганизмов при лечении эндометритов коров / Е. В. Неведова, Н. Н. Шкиль. – Текст: непосредственный // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2022. – № 3. – С. 55-62.

9. Nefedova, E., Koptev, V., Bobikova, A.S., et al. (2021). The Infectious Bronchitis Coronavirus Pneumonia Model Presenting a Novel Insight for the SARS-CoV-2 Dissemination Route. *Veterinary Sciences*, 8 (10), 239. <https://doi.org/10.3390/vetsci8100239>.

10. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания МУК 4.2. 1890-04 / ЦНИИЭ. – Москва, 2004. – 101 с. – Текст: непосредственный.

References

1. Manoharan, A., Sugumar, M., Kumar, A., et al. (2012). Phenotypic & molecular characterization of AmpC β -lactamases among *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. & *Enterobacter* spp. from five Indian Medical Centers. *Indian Journal of Medical Research*, 135 (3), 359–364.

2. Yuan, Y.G., Peng, Q.L., Gurunathan, S. (2017). Effects of Silver Nanoparticles on Multiple Drug-Resistant Strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* from Mastitis-Infected Goats: An Alternative Approach for Antimicrobial Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(3), 569. <https://doi.org/10.3390/ijms18030569>.

3. Yu, L., Shang, F., Chen, X., et al. (2018). The anti-biofilm effect of silver-nanoparticle-decorated quercetin nanoparticles on a multi-drug resistant *Escherichia coli* strain isolated from a dairy cow

with mastitis. *Peer J.*, 6, e5711. <https://doi.org/10.7717/peerj.5711>.

4. Garibo Ruiz, D., Nefedova, E., Shkil, N.N., Shkil, N.A., et al. (2022). Silver Nanoparticles Targeting the Drug Resistance Problem of *Streptococcus dysgalactiae*: Susceptibility to Antibiotics and Efflux Effect. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11), 6024. <https://doi.org/10.3390/ijms23116024>.

5. Shkil N.N. Vliianie nanochastits serebra na bakteritsidnuiu aktivnost i antibiotikochuvstvitelnost *Salmonella enteritidis* 182 / E.V. Nefedova, N.N. Shkil // Sibirskii vestnik selskokhoziaistvennoi nauki. – 2021. – No. 3. – S. 82-91. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2021-3-9>.

6. Perfilova A.I. Aktualnye aspekty primeneniia khimicheski sintezirovannykh soedinenii nanochastits serebra v zhivotnovodstve i agrokhemii / A.I. Perfilova, I.A. Graskova, O.A. Nozhkina, N.S. Zabanova, B.G. Sukhov, N.N. Shkil, E.V. Nefedova // Rossiiskie nanotekhnologii. – 2019. – T. 14. – No. 9-10. – S. 85-93. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42638066>.

7. Nefedova, E., Shkil, N., Luna Vazquez-Gomez, R., et al. (2022). AgNPs Targeting the Drug Resistance Problem of *Staphylococcus aureus*: Susceptibility to Antibiotics and Efflux Effect. *Pharmaceutics*, 14, 763. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14040763>.

8. Nefedova E.V. Vliianie nanochastits serebra na antibiotikorezistentnost mikroorganizmov pri lechenii endometritov korov / E.V. Nefedova, N.N. Shkil // Sibirskii vestnik selskokhoziaistvennoi nauki. – 2022. – No. 3. – S. 55-62.

9. Nefedova, E., Koptev, V., Bobikova, A.S., et al. (2021). The Infectious Bronchitis Coronavirus Pneumonia Model Presenting a Novel Insight for the SARS-CoV-2 Dissemination Route. *Veterinary Sciences*, 8 (10), 239. <https://doi.org/10.3390/vetsci8100239>.

10. Opredelenie chuvstvitelnosti mikroorganizmov k antibakterialnym preparatam: metodicheskie ukazaniia MUK 4.2. 1890-04. – TsNIIE. – Moskva, 2004. – 101 s.

