

5. Mineralnyy obmen v krovi korov v usloviyakh ekologicheskogo neblagopoluchiya na territorii Yuzhnogo Urala / A.S. Pauli, E.A. Kokshanov, R.R. Fatkullin, A.M. Ismurzin // BIO. – 2020. – No. 5 (236). – S. 4-7.

6. Hernández-Castellano, L. E., Sørensen, M. T., Foldager, L., et al. (2023). Effects of feeding level, milking frequency, and single injection of cabergoline on blood metabolites, hormones, and minerals around dry-off in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 106 (4), 2919–2932. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22648>.

7. Morfologicheskii sostav krovi i pokazateli belkovogo obmena u sukhostoynykh korov /

E.O. Krupin, Sh.K. Shakirov, M.Sh. Tagirov, M.G. Zukhrabov // Agrarnyy nauchnyy zhurnal. – 2019. – No. 2. – S. 33-36. – DOI 10.28983/asj.y2019i2pp26-29.

8. Cozzi, G., Ravarotto, L., Gottardo, F., et al. (2011). Short communication: reference values for blood parameters in Holstein dairy cows: effects of parity, stage of lactation, and season of production. *Journal of Dairy Science*, 94 (8), 3895–3901. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3687>.

9. Metody veterinarnoy klinicheskoy laboratornoy diagnostiki: cpravochnik / [I.P. Kondrakhin i dr.]; pod obshch. red. I.P. Kondrakhina. – Moskva: KolSS, 2004.



УДК 579.262

DOI: 10.53083/1996-4277-2025-243-1-69-73

В.О. Чердакова, В.С. Бряднов, Н.Н. Шкиль
V.O. Cherdakova, V.S. Bryadnov, N.N. Schkiel

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА И БИОСИБ АЦИДА НА БИОПЛЕНКИ STAPHYLOCOCCUS AUREUS

EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES AND BIOSIB®ATSID ON STAPHYLOCOCCUS AUREUS BIOFILMS

Ключевые слова: наночастицы серебра, ферменты, Биосиб Ацид, микроорганизм, *Staphylococcus aureus*.

Микробные биопленки представляют собой сообщества агрегированных микробных клеток, которые встроены в самостоятельно вырабатываемый матрикс внеклеточных полимерных веществ. Биопленки устойчивы к экстремальным условиям окружающей среды и могут защищать микроорганизмы от ультрафиолетового излучения, экстремальных температур, экстремальных значений pH, высокой солености, высокого давления, плохих питательных веществ, антибиотиков и т.д., действуя как «защитная одежда». Разработка высокоэффективных антибактериальных средств для разрушения биопленок и уничтожения бактерий имеет большое значение. В последние годы исследования биопленок были в основном сосредоточены на инфекциях, связанных с биопленками, и стратегиях борьбы с микробными биопленками. Нами определено влияние препарата «Арговит» + «Биосиб Ацид» на процесс биопленкообразования у *Staphylococcus aureus*, выделенного от крупного рогатого скота с клиническим проявлением инфекционного заболевания. Проведённые исследования показали, что применение препарата на основе наночастиц серебра и Биосиб Ацида значительно снижали уровень биопленкообразования как у референтного штамма, так и у изолята *Staphylococcus*

aureus, что позволяет существенно повысить бактерицидные свойства этой композиции. Установили, что использование ферментных препаратов и антибактериальных средств на основе наночастиц металлов в качестве комплексных препаратов является эффективным средством борьбы с биопленками. Снижение биопленкообразования у *Staphylococcus aureus* ATCC 25953 было достигнуто на 23,32%, а у его изолята – на 9,2%, что может объясняться тем, что изолят имеет высокие адаптационные возможности, патогенность и вирулентность, приобретённую при инфицировании.

Keywords: *silver nanoparticles, enzymes, Biosib®ATSID preserving agent, microorganism, Staphylococcus aureus.*

Microbial biofilms are communities of aggregated microbial cells that are embedded in a self-produced matrix of extracellular polymeric substances. Biofilms are resistant to extreme environmental conditions and can protect microorganisms against ultraviolet radiation, extreme temperatures, extreme pH values, high salinity, high pressure, poor nutrients, antibiotics, etc., acting as “protective clothing”. The development of highly effective antibacterial agents for the destruction of biofilms and bacteria is of great importance. In recent years, biofilm research has mainly focused on biofilm-related infections and microbial biofilm control strategies. We have determined the effect of Argovit

+ Biosib®/ATSID products on biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolated from cattle with a clinical manifestation of an infectious disease. The studies have shown that the use of a product based on silver nanoparticles and Biosib®/ATSID significantly reduced the level of biofilm formation in both the reference strain and the *Staphylococcus aureus* isolate, and significantly increases the bactericidal properties of this composition. It is found that the use

of enzyme products and antibacterial agents based on metal nanoparticles as complex preparations is an effective means of combating biofilms. The reduction of biofilm formation in *Staphylococcus aureus* ATCC 25953 was achieved to 23.32%, and in its isolate - to 9.2%, which may be explained by the fact that the isolate has high adaptive capabilities and high pathogenicity and virulence acquired during infection.

Чердакова Валерия Олеговна, аспирант, ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, г. Новосибирск, Российская Федерация, e-mail: vloshhinina@list.ru.

Бряднов Вячеслав Сергеевич, аспирант, ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, г. Новосибирск, Российская Федерация, e-mail: bryadnov@mail.ru.

Шкиль Николай Николаевич, д.в.н., профессор, ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, г. Новосибирск, Российская Федерация, e-mail: nicola07@mail.ru.

Cherdakova Valeriya Olegovna, post-graduate student, Novosibirsk State Agricultural University, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: vloshhinina@list.ru.

Bryadnov Vyacheslav Sergeevich, post-graduate student, Novosibirsk State Agricultural University, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: bryadnov@mail.ru.

Schkiel Nikolay Nikolaevich, Dr. Vet. Sci., Prof., Novosibirsk State Agricultural University, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: nicola07@mail.ru.

Микроорганизмы способны собираться в объединения (биопленки), которые прикрепляются к поверхностям. В состоянии биопленки бактерии обладают большей устойчивостью к негативным изменениям окружающей среды, в частности к антибактериальным препаратам, и борьба с ними становится более трудной задачей. Биопленки устойчивы к действию имеющихся антибиотиков, что представляет собой угрозу для здравоохранения и животноводства, в связи с чем необходим поиск препаратов, которые будут эффективны в отношении биопленок [1].

Установлено, что использование ферментов в качестве мощного средства против формирования биопленок имеет первостепенное значение, поскольку ферменты могут ингибировать образование биопленки экологически чистым и экономически эффективным способом. Физическая и химическая иммобилизация фермента не только приводит к улучшению термостабильности и возможности повторного использования фермента, но также повышает эффективность удаления биопленки. Иммобилизация амилазы, целлобиогидролазы, пектиназы, субтилизина А и β-N-ацетил-глюкозаминидазы (DspB) оказалась наиболее эффективной в ингибировании образования биопленок и удалении созревшей биопленки, чем их свободные формы. Следовательно, эти иммобилизованные ферменты обеспечивают более эффективное уничтожение биопленок, образующихся на различных поверхностях, и становятся мощными антибиопленочными агентами [2].

Имеются данные об исследованиях способа разрушения биопленок у *P. aeruginosa* и Метициллинрезистентного золотистого стафилококка посредством применения коллоидного серебра. В исследованиях приведен механизм действия, при котором эффект достигался за счет связывания атомов серы в белках и ферментах на поверхности бактериальной клетки. Для *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *S. aureus*, *A. baumannii* А. и *Enterococcus spp* концентрация серебра составила 4 и 8 мг/л; а для *Bacillus subtilis*, *S. epidermidis* и *S. Aureus* 30 мг/мл [3-7].

Анализ литературных данных показал наличие способности наночастиц серебра подавлять рост биопленок в различных концентрациях у широкого круга микроорганизмов. Кроме того, установлена возможность существенного увеличения этой способности при добавлении различных химически и биологически активных веществ, в том числе и ферментов, которые в настоящее время широко применяются в ветеринарии и кормопроизводстве, что актуализирует возможность применения комбинации фермент + антибактериальный препарат + наночастицы серебра.

Цель исследования – оценить эффективность борьбы с биопленкообразованием у *S. aureus* при применении сочетания консерванта Биосиб Ацид с препаратом, содержащим наночастицы серебра.

Материалы и методы

Препарат «Арговит», в состав которого входят высокодисперсные частицы кластерного серебра 13 мг/мл, поливинилпирролидон и водный

раствор, эффективен против грамположительных и грамотрицательных, аэробных и анаэробных, спорообразующих и аспорогенных бактерий в виде монокультур и микробных ассоциаций (ООО НПЦ «Вектор-Вита»). Биосиб Ацид (ООО НПО «Сиббиофарм») – комплексный биохимический консервант на основе органических, неорганических кислот и ферментов. Содержит в качестве действующих веществ продукты метаболизма молочнокислых и пропионовых бактерий – 50%, лимонную кислоту – 10%, вспомогательные компоненты – 20% и растворитель (вода) – до 100%, используется при консервировании кормов в сельском хозяйстве [8, 9].

Методика оценки эффективности снижения биоплёнкообразования препарата «Арговит» совместно с Биосиб-Ацид заключалась в том, что к 0,05 мл раствора препарата «Арговит» вносят равный объём 0,05 мл Биосиб-Ацида, в равных количествах этих компонентов, а также 0,2 мл МПБ. Методом проведения серийных разведений уменьшают последовательно концентрацию действующих веществ в каждом последующем разведении в 2 раза. После этого в лунки с различным содержанием действующих компонентов добавляют 0,05 мл $1,5 \cdot 10^6$ КОЕ/мл референтного штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 25953 или изолята *Staphylococcus aureus*. Изолят был выделен от крупного рогатого скота в период острого проявления заболевания. После выделения был помещен на инкубацию в термостат на 24 ч при $t = 37,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Эффек-

тивность применения сочетания препаратов анализировали по измерению оптической плотности на спектрофотометре при длине волны 492 нм, из чего делали выводы по изменению биопленкообразования.

Собственные исследования

Определено влияние препарата «Арговит» + «Биосиб Ацид» на процесс биопленкообразования у *Staphylococcus aureus*, который выделили от крупного рогатого скота с острой картиной заболевания. Проведённые исследования показали, что комбинация Арговит + Биосиб Ацид снижает биоплёнкообразование у *Staphylococcus aureus* ATCC 25953 на 30,4%, а у его изолята, выделенного при инфекционном заболевании, – на 9,2%, что, видимо, объясняется его высокими адаптационными возможностями и высокой патогенностью, а также вирулентностью, приобретённой при инфицировании (табл.).

Проведённые исследования показали снижение биопленкообразования у *Staphylococcus aureus* ATCC 25953 на 23,32%, а у его изолята – на 9,2%. Более низкий процент снижения биопленкообразования у изолята, видимо, связан длительным его пребыванием во внешней среде и организме хозяина и контактом с неблагоприятными факторами (антибиотики, дезинфектанты, ультрафиолетовое излучение и пр.), которые способствовали его высокой устойчивости.

Таблица

Влияние препарата «Арговит» + «Биосиб Ацид» на процесс биопленкообразования *Staphylococcus aureus*

Микроорганизм	Оптическая плотность, усл. ед.	
	контрольные значения	Арговит + Биосиб Ацид
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25953	0,982±0,02	0,753±0,01
<i>Staphylococcus aureus</i> изолят	1,01±0,01	0,917±0,01

Ранее проведённые исследования подтвердили влияние трех видов протеаз, четырех видов гликозидаз и одного вида липазы на отслоение биопленок *Shewanella marisflavi* ECSMB14101 с определением общего ответа белковых составляющих биоплёнки на обработку ферментами, после этого выявили эффекты у биопленок, которые обработали ферментными препаратами при поселении мидий *Mytilus coruscus plantigrades*. Установлено снижение плотности клеток бактерий после обработки ис-

следуемыми веществами. Наиболее успешными оказались α -нейтраза и α -амилаза. Для поселений мидий *M. coruscus plantigrades* индуцирующие способности биопленки *S. marisflavi* были заметно подавлены, при их снижении на более чем 75,0% при исходной плотности 5×10^6 КОЕ/см². Таким образом, протестированные ферменты могли эффективно удалять прилипшие бактериальные клетки, ингибировать образование биопленки и, наконец, подавлять заселение мидий [10].

Оценено влияние антибиопленочных ферментов (комбинированной липазы, целлюлазы и протеиназы К) на ингибирование и уничтожение биопленки патогена. Самый высокий рост биопленок *V. parahaemolyticus* отмечен при инкубационном периоде 24 ч, а комбинированные ферменты значительно ингибировали их развитие. Скорость ингибирования и эрадикации биопленки при инкубационном периоде 24 ч составила 89,7 и 66,9% соответственно. Изображения, полученные конфокальной лазерной сканирующей микроскопией, подтвердили, что агрегация микроколоний и адгезия биопленки ингибировались при комбинированной обработке ферментами. Установлены уменьшение концентрации экзополисахарида (ЭПС) и деградация матрикса ЭПС. Также отмечается подавление экспрессии гена *cpsA-J*. На ряде материалов удалось добиться подавления роста биопленки у *V. Parahaemolyticus*. На пластине из нержавеющей стали был показан наилучший результат, который составил 59,35% [11].

Заключение

Применение препарата на основе наночастиц серебра и Биосиб Ацида является эффективным средством борьбы в отношении биопленок у референтного штамма и изолята *Staphylococcus aureus*, что позволяет существенно повысить бактерицидные свойства этой композиции. Снижение биопленкообразования у *Staphylococcus aureus* ATCC 25953 было достигнуто на 23,32%, а у его изолята – на 9,2%. Также установили, что использование ферментных препаратов и антибактериальных средств на основе наночастиц металлов в качестве комплексных препаратов является эффективным средством борьбы с биопленками, что подтверждается результатами других исследователей, и может быть использовано при лечении инфекционных патологий сельскохозяйственных животных.

Библиографический список

1. Николаев, Ю. А. Биопленка – «город микробов» или аналог многоклеточного организма? / Ю. А. Николаев, В.К. Плакунов. – Текст: непосредственный // Микробиология. – 2007. – № 76 (2). – С. 149-163.
2. Lahiri, D., Nag, M., Dey, A., et al. (2022). Immobilized enzymes as potent antibiofilm agent. *Biotechnology Progress*, 38 (5), e3281. <https://doi.org/10.1002/btpr.3281>.

3. Goggin, R., Jardeleza, C., Wormald, P. J., et al. (2014). Colloidal silver: a novel treatment for *Staphylococcus aureus* biofilms? *International Forum of Allergy & Rhinology*, 4 (3), 171–175. <https://doi.org/10.1002/alr.21259>.

4. Richter, K., Facal, P., Thomas, N., et al. (2017). Taking the Silver Bullet Colloidal Silver Particles for the Topical Treatment of Biofilm-Related Infections. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9 (26), 21631–21638. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b03672>.

5. Barras, F., Aussel, L., & Ezraty, B. (2018). Silver and Antibiotic, New Facts to an Old Story. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 7 (3), 79. <https://doi.org/10.3390/antibiotics7030079>.

6. Petica, A., Gavrilu, S., Lungu, M., et al. (2008). Colloidal silver solutions with antimicrobial properties. *Materials Science and Engineering: B*. 152. 22-27. DOI: 10.1016/j.mseb.2008.06.021.

7. Concepcion, D.D., Verzosa, L.G., & Nuevo, J.J. (2007). Antimicrobial potency of colloidal silver compared with antibiotic eye drops. *Philippine Journal of Ophthalmology*. 32 (1): 9-11.

8. Российский агропромышленный сервер. – URL: <https://agroservers.ru/b/konservant-biosib-bioferm-dlya-zagotovki-silosa-i-senazha-1-v-1234662.htm> (дата обращения: 27.06.2024). – Текст: электронный.

9. Консервант бактериальный для силоса и сенажа «Биосиб». – URL: https://ru.sellbuy.zone/physical_product/346334-konservant-bakterialnyy-dlya-silosa-i-senazha-biosib.html (дата обращения: 27.06.2024). – Текст: электронный.

10. Li, J., Zhang, C., Hu, X., Yoshida, A., et al. (2022). Impact of different enzymes on biofilm formation and mussel settlement. *Scientific Reports*, 12 (1), 4685. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08530-4>.

11. Li, Y., Dong, R., Ma, L., et al. (2022). Combined Anti-Biofilm Enzymes Strengthen the Eradicate Effect of *Vibrio parahaemolyticus* Biofilm: Mechanism on *cpsA-J* Expression and Application on Different Carriers. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11 (9), 1305. <https://doi.org/10.3390/foods11091305>.

References

1. Nikolaev, Yu.A. Bioplenka – «gorod mikrobov» ili analog mnogokletochnogo organizma? / Yu.A. Nikolaev, V.K. Plakunov // Mikrobiologiya. – 2007. – Т. 76, No. 2. – S. 149-163.
2. Lahiri, D., Nag, M., Dey, A., et al. (2022). Immobilized enzymes as potent antibiofilm agent.

Biotechnology Progress, 38 (5), e3281. <https://doi.org/10.1002/btpr.3281>.

3. Goggin, R., Jardeleza, C., Wormald, P. J., et al. (2014). Colloidal silver: a novel treatment for *Staphylococcus aureus* biofilms? *International Forum of Allergy & Rhinology*, 4 (3), 171–175. <https://doi.org/10.1002/alar.21259>.

4. Richter, K., Facal, P., Thomas, N., et al. (2017). Taking the Silver Bullet Colloidal Silver Particles for the Topical Treatment of Biofilm-Related Infections. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9 (26), 21631–21638. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b03672>.

5. Barras, F., Aussel, L., & Ezraty, B. (2018). Silver and Antibiotic, New Facts to an Old Story. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 7 (3), 79. <https://doi.org/10.3390/antibiotics7030079>.

6. Petica, A., Gavrilu, S., Lungu, M., et al. (2008). Colloidal silver solutions with antimicrobial properties. *Materials Science and Engineering: B*. 152. 22-27. DOI: 10.1016/j.mseb.2008.06.021.

7. Concepcion, D.D., Verzosa, L.G., & Nuevo, J.J. (2007). Antimicrobial potency of colloidal silver compared with antibiotic eye drops. *Philippine Journal of Ophthalmology*. 32 (1): 9-11.

8. Rossiyskiy agropromyshlenny server: [Elektronnyy resurs]. URL: <https://agroserver.ru/b/konservant-biosib-bioferm-dlya-zagotovki-silosa-i-senazha-1-v-1234662.htm>. (Data obrashcheniya: 27.06.2024).

9. Konservant bakterialnyy dlya silosa i senazha "Biosib": [Elektronnyy resurs]. URL: https://ru.sellbuy.zone/physical_product/346334-konservant-bakterialnyy-dlya-silosa-i-senazha-biosib.html. (Data obrashcheniya: 27.06.2024).

10. Li, J., Zhang, C., Hu, X., Yoshida, A., et al. (2022). Impact of different enzymes on biofilm formation and mussel settlement. *Scientific Reports*, 12 (1), 4685. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08530-4>.

11. Li, Y., Dong, R., Ma, L., et al. (2022). Combined Anti-Biofilm Enzymes Strengthen the Eradicate Effect of *Vibrio parahaemolyticus* Biofilm: Mechanism on *cpsA-J* Expression and Application on Different Carriers. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11 (9), 1305. <https://doi.org/10.3390/foods11091305>.



УДК 619:616.33:636.22/28

DOI: 10.53083/1996-4277-2025-243-1-73-78

Е.А. Палкина, А.В. Требухов

E.A. Palkina, A.V. Trebukhov

ЛЕЧЕНИЕ ГИПОТОНИИ РУБЦА У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

TREATMENT OF RUMEN HYPOTENSION IN CATTLE

Ключевые слова: гипотония рубца, вератрин, ихтиол, глюкоза, тиамин, руминация, преджелудки, снижение продуктивности, перистальтика кишечника, пищеварительная система, соляная кислота.

Гипотония рубца является одним из наиболее часто встречающихся заболеваний пищеварительной системы у крупного рогатого скота. В связи с необходимостью импортозамещения препаратов целью работы стало определение наиболее эффективной терапии данной патологии при помощи отечественных препаратов. В ходе работы мы определяли частоту возникновения гипотонии рубца в условиях «ООО Агро-Стандарт» и сравнивали предложенную нами схему лечения с той, которая ранее проводилась на производстве. Для оценки состояния животных в ходе лечения проводилась ежедневная оценка температуры тела, руминации, пульса и частоты дыхательных движений. Помимо этого до и после лечения проводилось лабораторное исследование крови, включающее в себя

оценку уровня гемоглобина, лейкоцитов, общего кальция, неорганического фосфора и общего белка. По результатам исследования журналов регистрации заболеваний выяснилось, что гипотония рубца в среднем возникала у 21,8% поголовья в год. После применения обеих схем лечения определилось, что предложенная нами схема лечения, включающая в себя применение тиамина хлорида, полыни, вератрина, глюкозы и ихтиола, способствовала более эффективному лечению. Данный факт подтверждался клиническим состоянием животных, улучшение состояния которых происходило уже на 3-и сут. Помимо этого эффективность комбинации препаратов подтверждалась результатами исследования крови. При использовании схемы лечения, применяющейся на производстве, после окончания курса препаратов уровень лейкоцитов оставался повышенным, в связи с сохраняющимся воспалением в рубце, тогда как после использования предложенной уровень лейкоцитов пришел в норму.