

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР - ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНОИССЛЕДОВА-
ТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРИИ
ИМЕНИ К.И. СКРЯБИНА И Я.Р. КОВАЛЕНКО
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
(ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН)**

На правах рукописи

ТЮМЕНЦЕВА ВАЛЕРИЯ СЕРГЕЕВНА
**БАКТЕРИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ БИОЦИДОВ И БАКТЕРИОЦИНОВ
НА БИОПЛЕНКИ**

4.2.2 – Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и био-
безопасность

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Доктор ветеринарных наук,
Попов Петр Александрович

Москва 2026

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	10
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1 Бактериоцины	10
1.1.1 Лантибиотики	12
1.1.2 Механизм действия бактериоцинов	14
1.1.3 Различия бактериоцинов и антибиотиков	15
1.1.4 Низин	16
1.2 Биоцидные препараты, общая характеристика	19
1.2.1 Дезинфицирующие вещества. Классификация.....	21
1.2.2 Механизм действия дезинфектантов	23
1.2.3 Резистентность микроорганизмов к дезинфицирующим средствам.....	27
1.3 Бактериальные болезни у птиц	31
1.4 Обсуждение обзора литературы	34
ГЛАВА 2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	37
2.1 Материалы и методы	38
2.2 Объекты исследования	38
2.3 Методы отбора проб	39
2.4 Методы идентификации выделенных микроорганизмов	40
2.5 Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам.....	47
2.6 Методы определения дезинфицирующего действия биоцидов	49
2.7 Методы статистической обработки результатов исследования.....	50
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	51
3.1 Биологическая безопасность птицеводческих объектов	51

3.2 Сбор и идентификация основных контаминантов птицеводческой продукции	54
3.3 Биоцидные свойства нового кислородсодержащего средства	58
3.3.1 Изучение ингибирующих свойств методом диффузии в агар	58
3.3.2 Изучение минимальной подавляющей концентрации (МПК) и минимальной бактерицидной концентрации (МБК) кислородсодержащего биоцида	60
3.3.3 Изучение дезинфицирующего действия кислородсодержащего биоцида на обрабатываемые поверхности	68
3.3.4 Исследование воздействия кислородсодержащего препарата на структурно-морфологические особенности формирования бактериальных биоплёнок.....	69
3.4 Биоцидные свойства нового средства на основе хлоргексидина основания .	77
3.4.1 Изучение ингибирующих свойств методом диффузии в агар	77
3.4.2 Изучение минимальной подавляющей концентрации (МПК) и минимальной бактерицидной концентрации (МБК) хлоргексидина основания	79
3.4.3 Изучение дезинфицирующего действия хлоргексидина основания	85
3.4.4 Изучение действия хлоргексидина основания на структурно-морфологические особенности формирования бактериальных биоплёнок	86
3.5 Изучение влияние бактериоцина на динамику развития.....	89
биопленок микроорганизмов	89
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	98
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	102
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	103
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	125

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследований. Проблема микробных биопленок приобрела в последние десятилетия характер глобального вызова для ветеринарии, пищевой промышленности и биотехнологии. Биопленки представляют собой структурированные сообщества микроорганизмов, заключенные в матрикс внеклеточных полимерных веществ. Такая форма организации обеспечивает бактериям высокую устойчивость к факторам окружающей среды, включая действие антибиотиков и дезинфицирующих средств. Именно эта устойчивость делает биопленки одной из главных причин хронических инфекций, биокоррозии оборудования и порчи продуктов. В связи с этим поиск эффективных средств борьбы с биопленками становится приоритетным направлением микробиологии.

Исследования полностью соответствуют приоритетам научно-технологического развития Российской Федерации, определенным Стратегией научно-технологического развития Российской Федерации, утвержденной Указом Президента Российской Федерации от 28 февраля 2024 г. № 145, п. г) переход к высокопродуктивному и экологически чистому агро- и аквахозяйству, разработка и внедрение систем рационального применения средств химической и биологической защиты сельскохозяйственных растений и животных, хранение и эффективная переработка сельскохозяйственной продукции, создание безопасных и качественных, в том числе функциональных, продуктов питания.

Традиционные биоциды, используемые для дезинфекции и антисептики, часто недостаточно эффективны в отношении биопленок. Причина кроется в многоуровневой защите бактериального сообщества. Матрикс биопленки действует как физический барьер, ограничивающий диффузию молекул биоцида к клеткам. Кроме того, клетки в глубине биопленки находятся в метаболически неактивном состоянии, что снижает их чувствительность к веществам, действующим на процессы деления или синтеза клеточной стенки. Поэтому в стандартных концентра-

циях биоциды, эффективные против планктонных форм бактерий, могут оказаться бесполезными при обработке биопленок.

В этом контексте особый интерес представляют бактериоцины – природные антимикробные пептиды, синтезируемые одними бактериями для подавления других. В отличие от синтетических биоцидов, механизмы действия бактериоцинов более специфичны и зачастую направлены на нарушение целостности мембран или ингибирование синтеза клеточной стенки целевых микроорганизмов. Исследования последних лет показывают, что некоторые бактериоцины способны проникать через матрикса биопленки и эффективно уничтожать бактериальные клетки в ее глубине. Кроме того, бактериоцины могут воздействовать на систему межклеточных сигналов бактерий, так называемое чувство кворума, что приводит к нарушению формирования биопленки и ее деградации.

Комбинированное применение биоцидов и бактериоцинов открывает новые перспективы. С одной стороны, биоциды разрушают внешние слои матрикса, облегчая проникновение бактериоцинов. С другой стороны, бактериоцины могут уничтожать те клетки, которые пережили действие биоцида. Такая синергия позволяет снизить концентрации агрессивных химических веществ и минимизировать их токсическое воздействие на окружающую среду и организм человека. Особенно актуально это для медицинского применения, когда требуется избирательное уничтожение патогенной микрофлоры без повреждения собственных тканей организма.

Таким образом, актуальность темы исследований бактерицидного действия биоцидов и бактериоцинов на биопленки обусловлена острой потребностью в эффективных средствах контроля микробных сообществ. Комбинированные подходы, сочетающие химическую дезинфекцию и биологическое воздействие, представляют собой наиболее перспективную стратегию. Дальнейшие исследования должны быть направлены на оптимизацию методов доставки бактериоцинов, повышение их стабильности и расширение спектра активности, а также на оценку долгосрочных последствий применения таких препаратов. Только системный подход, объединяющий усилия микробиологов, химиков и биотехнологов, позво-

лит создать надежные средства защиты от биопленок и снизить их негативное влияние на здоровье человека и экономику.

Степень разработанности темы. В процессе развития агропромышленного комплекса Российской Федерации, на фоне интенсификации сельского хозяйства, политики импортозамещения и, как закономерного следствия, роста поголовья сельскохозяйственных животных, вопросам биологической безопасности уделяется первостепенное значение. В изучение биоцидов и бактериоцинов, а также их воздействия на биоплёнки, весомый вклад внесли такие отечественные учёные, как А. А. Поляков, А. А. Закомырдин, С. И. Горжавская, Ю. И. Боченин, В. С. Ярных, В. И. Вашков, И. А. Дудницкий, М. А. Симецкий, Г. Н. Коржевенко, А. В. Мкртумян, Н. И. Попов, М. П. Бутко, А. М. Смирнов, а также современные исследователи – А. А. Прокопенко (2019), В. И. Дорожкин (2020), И. Б. Павлова, Е. М. Ленченко и другие.

Цель и задачи исследований. Целью диссертационного исследования является изучение новых биоцидов и бактериоцинов, открывающих перспективы для разработки инновационных средств ветеринарного применения.

Для достижения поставленной цели были определены следующие **задачи**:

- провести сбор и идентификацию основных контаминантов, присутствующих в продукции птицеводства;
- изучить биоцидные свойства (минимальную подавляющую концентрация МПК и минимальную бактерицидную концентрацию МБК) новых биоцидов и бактериоцинов;
- изучить бактерицидное действие новых биоцидов и бактериоцинов на тест микроорганизмы и полевые штаммы, контаминирующие птицеводческую продукцию;
- изучить воздействие новых биоцидов и бактериоцинов на процессы образования биологических плёнок и их деструкцию с использованием сканирующей электронной и световой микроскопии.

Научная новизна работы. Научная новизна заключается в комплексном исследовании новых биоцидов и бактериоцинов, что открывает широкие перспек-

тивы для создания инновационных средств ветеринарного применения. В отличие от традиционных, которые часто вызывают резистентность у патогенных микроорганизмов, бактериоцины представляют собой белки или пептиды, синтезируемые бактериями для подавления конкурирующих штаммов. Их высокая специфичность действия позволяет точно воздействовать на возбудителей инфекций, не нарушая нормальную микрофлору кишечника и кожных покровов животных. Это особенно важно в условиях современного животноводства, где массовое применение антибиотиков привело к распространению устойчивых штаммов, таких как метициллинрезистентные стафилококки или полирезистентные энтеробактерии.

Исследование расширяет спектр известных биоцидных соединений за счет открытия новых молекул, активных в отношении грамотрицательных бактерий, которые традиционно труднее поддаются воздействию из-за наличия внешней мембраны. Установлено, что некоторые из изученных бактериоцинов демонстрируют синергетический эффект при совместном применении с низкими концентрациями традиционных антисептиков, что позволяет снизить токсическую нагрузку на организм животных. Это дает возможность разрабатывать комбинированные препараты, где бактериоцин выступает как усилитель действия, а биоцид – как барьер для развития вторичных инфекций. Такой подход минимизирует риск формирования резистентности, поскольку патогены не могут одновременно адаптироваться к нескольким механизмам действия.

Теоретическую и практическую значимость работы. Теоретическая значимость исследования обусловлена расширением фундаментальных представлений о механизмах антимикробного действия новых биоцидов и бактериоцинов. Изучение их молекулярных мишеней, спектра активности и условий эффективности позволяет систематизировать знания о природных и синтетических соединениях, способных преодолевать резистентность патогенной микрофлоры. Это создает научную базу для понимания коэволюции микроорганизмов и антимикробных агентов, а также для прогнозирования рисков возникновения перекрестной устойчивости.

Практическая значимость работы заключается в возможности прямой трансформации полученных данных в ветеринарную практику для создания препаратов ветеринарного применения. Новые биоциды и бактериоцины могут быть использованы для создания препаратов с узким и широким спектром антимикробного действия, альтернативных традиционным.

Методология и методы исследований. В качестве методологической и теоретической базы исследования послужили работы как российских, так и зарубежных специалистов, посвященные изучению биоцидных веществ и бактериоцинов. При выполнении работы применяли стандартные и актуальные приемы микробиологического анализа, ветеринарно-санитарной оценки, а также статистической обработки данных, которые соответствуют положениям национальных и международных стандартов.

Основные положения, выносимые на защиту:

- биоцидные свойства (минимальную подавляющую концентрация МПК и минимальную бактерицидную концентрацию МБК) новых биоцидов и бактериоцинов;
- бактерицидное действие новых биоцидов и бактериоцинов на тест - микроорганизмы и полевые штаммы, контаминирующие птицеводческую продукцию;
- воздействию новых биоцидов и бактериоцинов на процессы образования биологических плёнок и их деструкцию, полученные с использованием сканирующей электронной и световой микроскопии.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы представлены и апробированы на Всероссийских, Национальных и Международных конференциях:

- Международная конференция, посвященная 100-летию со дня рождения доктора сельскохозяйственных наук, профессора Екатерины Александровны Петуховой. Москва, 2026.
- III Международная научно-практическая конференция. Global Issues

Conference 2025: Veterinary Medicine, Biology, Biotechnology, Zootechnology, Pedagogical and Philological Sciences. Москва, 2025.

- Научно-практическая конференция. Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии и экспертизы сырья и продуктов животного происхождения. Москва, 2022.

- Международная научная конференция. Наука. Исследования. Практика. Санкт-Петербург, 2020.

- VII Международная научно-практическая конференция. ЦЕРЕВИТИНОВСКИЕ ЧТЕНИЯ – 2020. Москва, 2020.

Степень достоверности результатов исследований. Достоверность полученных данных обеспечивается применением сертифицированных приборов, актуальных подходов в области микробиологии и ветеринарно-санитарной оценки. Научные тезисы подкреплены литературными источниками, а выводы базируются на фактических результатах. Надежность подтверждена достаточным числом наблюдений; для расчета средней арифметической ($\bar{X}$) и ее доверительного интервала I_{95} при $p \leq 0,05$ задействовали программу Microsoft Excel 2007, применяя параметрические критерии, включая t-критерий Фишера – Стьюдента.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии на всех этапах диссертационной работы: изучении литературы по проблеме, составлении плана работы, в получении экспериментального материала, написании статей, подготовке докладов, оформлении диссертации. Личный вклад автора составляет не менее 78 % работы.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертация соответствует паспорту научной специальности 4.2.2. Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и биобезопасность: пункты 2, 3, 5, 16.

Публикации результатов исследований. Основные материалы диссертационной работы опубликованы в 12 научных работах, в том числе 5 – в изданиях, включенных в перечень ведущих рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации,

в том числе 4 по специальности 4.2.2. Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и биобезопасность.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 129 страницах компьютерного текста и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, их обсуждение, заключение, выводы и практические предложения, приложения; иллюстрирована 25 рисунками и 16 таблицами. Список использованной литературы включает 193 источника, в том числе 106 источников иностранных авторов.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Бактериоцины

Бактериоцины – пептиды которые выделяются самими бактериями и обладают антимикробной активностью. Под их воздействием отдельные структуры бактериальных клеток терпят повреждения, что приводит к гибели клетки [27, 28, 68, 69, 103, 162].

Данные пептиды являются продуктом продуцирования бактерий многих видов, значит антибактериальный эффект может проявляться по отношению к разным штаммам микроорганизмов [32, 126].

Бактериоцины характеризуются большей антимикробной активностью, чем антибиотики, так как они действуют на определенные рецепторы, которые есть у каждой бактерии для лучшей адсорбции [10, 11, 32].

Бактериоцины классифицируют следующим образом:

- 1) по структурам молекул;

- 2) по механизму действия;
- 3) по наличию рецепторов к определенным клеткам-мишеням [27, 103, 166, 6].

На основании данных признаков бактериоцины подразделяют на три основных класса.

Бактериоцины первого класса относятся к группе лантибиотиков. Это пост-трансляционно-модифицированные антимикробные пептиды небольшого размера. Их отличительная черта – содержание таких аминокислот, как лантионин, α -метиллантионин, дегидроаланин и дегидробутирин [71, 74, 39, 6]. Образование дегидроаланина и дегидробутирина происходит за счет деградации сериновых и треониновых остатков при построении внутримолекулярных связей [103].

По строению данные молекулы можно подразделить на два типа [128]. Молекулы первого типа характеризуются удлинённой винтообразной формой, имеют положительный заряд. Это помогает им образовывать поры в мембранах и вызывать их разрушение, что в дальнейшем ведет к лизису клетки [109, 110]. Молекулы второго типа отличаются зарядом и глобулярной формой. Антимикробная активность проявляется через подавление основных бактериальных ферментов клетки, что также приводит к лизису [73]. Кроме того, за счет этого повышается проницаемость мембран, уменьшается АТФ-зависимый перенос белка и поглощение кальция и происходит цитолиз [154, 155, 156, 53].

Бактериоцины второго класса представляют собой термостойкие, без лантионина, пептиды [178]. Они подразделяются на более чем пять подгрупп из-за своих аминокислотных последовательностей. Так, например, бактериоцины первого подкласса меняют мембранную проницаемость клеточной стенки, и компоненты клетки просто выходят через поры, что ведет ее к гибели [178]. Бактериоцины второго подкласса действуют на формирование клеточной стенки у бактерий. Аналогичный механизм действия могут иметь и остальные подклассы описываемых веществ [73, 6, 39].

Бактериоцины третьего класса состоят из высокомолекулярных белков [71]. И они так же подразделяются на подклассы. Первый подкласс имеет в своем со-

ставе бактериолизина, которые, исходя из своего названия, приводят к разрушению клеточных стенок через их лизис [32, 39, 108]. Для второго подкласса характерно наличие пептидов, которые, не нарушая целостности клеточной мембраны, вызывают пассивный отток АТФ [110, 111, 104].

Бактериоцины подразделяются также в зависимости от микроорганизмов, от которых они были получены. Например, продукт синтеза *Escherichia coli* будет называться колицин, *Enterococcus* spp. – энтерицины [53, 27, 137, 127, 126, 131]. Однако многие молекулы имеют оригинальные названия: низин, мерсадин.

Бактериоцины синтезируются на рибосомах и имеют вид пептидных или белковых молекул с выраженным антимикробным действием. В литературных источниках говорится о том, что около 99 % бактерий могут синтезировать бактериоцины [1]. Вначале считалось, что такие бактериоцины будут действовать только на микроорганизмы того же рода, что и их продуценты. Но вскоре было выявлено их влияние и на другие микроорганизмы, например, на патогенные бактерии, такие как *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* и *Clostridium* spp [5, 161, 174, 93]

1.1.1 Лантибиотики

Лантибиотиками называют полициклические молекулы, которые получились в результате посттрансляционной модификации белков-предшественников, содержат модифицированные аминокислоты [106, 158, 147]. Различаются между собой по количеству тиоэфирных связей, которых обычно от двух до пяти [150, 158].

Лантибиотики также можно подразделить на четыре класса:

- 1-й класс – лантибиотики со способностью к дегидратации и циклизацией с образованием остатков лантионина. Иными словами, их модификация обеспечивает иммунитет продуцента к собственному лантибиотику;
- 2-й класс – их антимикробная активность строится на возможности образовывать поры в клеточных стенках микроорганизмов;
- 3-й класс – не проявляет антибактериальных свойств;

- 4-й класс – был выделен недавно, поэтому точных данных по действию на клетки нет [58, 36].

Одним из наиболее изученных лантибиотиков является низин. Считается, что он активен в отношении достаточно большого числа грамположительных бактерий [134, 185, 158, 159]. Есть данные, что уже при малых концентрациях данный бактериоцин способен приостанавливать прорастание спор бактерий некоторых родов [27, 185, 159]. Это происходит из-за способности низина связываться с сульфитгидридными участками на клеточных стенках [24, 36]

Нельзя не сказать, что есть лантабиотики, не отнесенные к какому-либо классу. Самыми изученными считаются плантарицин W, синтезируемый *Lactobacillus plantarum*, и лактицин 3147, продукт *Lactococcus lactis* [164]. Данные пептиды обладают неплохой бактерицидной активностью, однако наилучшая их активность была выявлена при их совместном использовании в соотношении 1:1 [126]. Плантарицин W можно считать уникальным представителем лантибиотиков благодаря содержащимся в нем остаткам цистеина и серина [58, 158, 159, 164]

Лантибиотики формируются на рибосомах как пептиды – предшественников, которые затем подвергаются посттрансляционной модификации [123, 124, 125, 191, 185].

Этапы формирования лантибиотиков:

- первый этап: образование дегидроаланина и тиоэфирных колец после синтеза на рибосомальных поверхностях;
- второй этап: начинается с переноса предшественника и протеолитического отделения лидерного пептида [147].

Мостики, формирующие кольцевые структуры, играют роль стабилизаторов конформации для поддержания биологической устойчивости и активности к протеазам [58, 89, 109, 153, 191]

Активность лантибиотиков основана на их катионном действии на мембраны клеток с образованием спор и уменьшении трансмембранного градиента ионов [18, 29, 155, 158]. В местах синтеза клеточной стенки они связываются с липидами, участвующими в синтезе пептидогликанов [155, 158].

Важную роль при взаимодействии лантибиотика с мембранами клеток играет отрицательно заряженные липиды на мембране и мембранный потенциал [133, 88]. При связывании с липидами мембраны блокируется синтез клеточной стенки, что ведет к образованию пор [29, 126].

Клетки-продуценты имеют защиту от собственных продуктов синтеза из-за экспрессии генов иммунных белков [124, 125, 140, 141].

1.1.2 Механизм действия бактериоцинов

Различия в строении бактериоцинов позволяют им действовать на различные важные элементы в строении клеток. Это происходит при помощи порообразования в мембранах или образования каналов, которые обуславливают нарушение мембранного потенциала клетки [71, 148, 6, 157]

Исходя из того, что анионные липиды ЦПМ служат основными рецепторами для бактериоцинов, синтезируемых молочнокислыми бактериями, можно выделить два вида формирования пор [170, 172]. Клиноподобную модель формирования пор вызывают бактериоцины 1-го класса, а бактериоцины 2-го класса создают поры посредством расположения пептидов параллельно поверхности мембраны, чем и оказывают влияние на них [6, 129, 178].

Наиболее хорошо изучен механизм действия бактериоцинов на примере низина [6]. При изучении действия низина стало ясно, что часть С-конца молекулы деполаризует цитоплазматическую мембрану, что ведет к мгновенной остановке синтеза компонентов клеточной стенки и всех биосинтетических процессов в клетке [107, 172]. Основным характер действия низина – это взаимодействие с отрицательно заряженными мембранами (билипидный слой), предпочтительно с мембранами, содержащими анионные липиды [71, 10, 11]. У грамположительных бактерий концентрация анионного липида в цитоплазматической мембране более высокая по сравнению с грамотрицательными [1]. Бактериоцин сначала связывает свой С-конец с анионными липидами, после чего N-конец опускается в липид мембраны, и пептид принимает параллельное положение на мембранной поверх-

ности [1, 2]. В конечном счете целый пептид имеет возможность переместиться по всей длине поры. Низин ингибирует синтез муреина клеточной стенки [71, 6]. В результате действия антибиотика происходит накопление промежуточного липида, с которым низин образует прочный комплекс, что и приводит к остановке дальнейшего синтеза пептидогликана бактериальной стенки [71, 6, 1]. Низин может вызывать лизис клеток вследствие необратимой деструкции клеточной мембраны, которая регулирует осмотическое давление клетки [1]. Он изменяет поверхностное натяжение цитоплазматической мембраны, что приводит к нарушению клеточной проницаемости и, как следствие этого, к бактериальному лизису [71].

1.1.3 Различия бактериоцинов и антибиотиков

Бактериоцины являются перспективными с позиции альтернативных антибиотикам препаратами и могут быть использованы в борьбе с возбудителями инфекционных заболеваний, обладающих множественной, экстремальной или панрезистентностью [37, 73, 101, 98, 136]. Они характеризуются мощной антимикробной активностью против широкого спектра патогенов, включая возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, например ESKAPE-патогенами [73, 84, 99]. Бактериоцины эффективны против множества патогенов, вызывающих широкий спектр нозологий [34, 73, 101, 98].

Принципиальные различия между бактериоцинами и антибиотиками определяются их происхождением, механизмом действия и мишенями в клетке. Антибиотики представляют собой вторичные метаболиты, синтезируемые ферментативными путями, тогда как бактериоцины являются продуктами рибосомального синтеза – первичными метаболитами, генетически кодируемыми и продуцируемыми на рибосомах [37, 122, 191].

Механизм действия антибиотиков, как правило, требует проникновения внутрь микробной клетки и связывания с внутриклеточными мишенями – рибосомами, ферментами синтеза пептидогликана, ДНК-гиразой, что приводит к

ингибированию синтеза белка, клеточной стенки или репликации ДНК. Бактериоцины действуют иначе: они поражают клетку сразу двумя путями [2]. Во-первых, связываются с липидом II – транспортером субъединиц пептидогликана, что тормозит синтез клеточной стенки; во-вторых, запускают процесс формирования пор, нарушающий целостность цитоплазматической мембраны и диссипирующий трансмембранный электрический потенциал, что приводит к быстрой гибели клетки [37, 15]. Такой двойной механизм делает маловероятным появление устойчивых популяций, поскольку для приобретения резистентности к бактериальной клетке бактериоцину требуются существенные изменения в составе липидной части мембраны [58, 173].

Спектр действия также является важным отличием антибиотиков от бактериоцинов. Антибиотики чаще обладают широким спектром активности, в то время как бактериоцины характеризуются в основном узкой специфичностью, направленной против филогенетически близких видов [37, 187]. Однако существуют бактериоцины, проявляющие активность и в отношении отдаленных таксонов, включая клинически значимые ESKAPE-патогены [73, 83, 84, 90, 94].

Некоторые бактериоцины продемонстрировали большую эффективность по сравнению с антибиотиками, что может снизить риск развития перекрёстной резистентности [58, 73, 170, 102, 94, 90, 99]. Более того, сочетание бактериоцинов с антимикробными препаратами с различными механизмами действия может повысить их антимикробную активность, одновременно снижая риск развития резистентности [73, 160, 102, 90, 94].

1.1.4 Низин

Низин, продуцируемый штаммами *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, является первым обнаруженным и наиболее всесторонне изученным лантибиотиком [70, 130]. В его состав входят аминокислоты: лизин, гистидин, аспарагиновая кислота, лантионин, β -метиллантионин, пролин, глицин, аланин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, дегидроаланин и β -метилдегидроаланин [77, 47, 21, 1].

История изучения низина насчитывает почти столетие: впервые его анти-микробная активность была отмечена в 1928 г. в культурах ферментированного молока, однако окончательное выделение и идентификация были осуществлены Мэттиком и Хиршем в 1947 г. из штаммов *L. lactis*. Структура пептида была расшифрована Гроссом и Мореллом в 1971 г. Уже в 1953 г. низин начали предлагать в качестве антибактериального агента в Англии, а в 1969 г. Объединенный комитет экспертов ФАО/ВОЗ одобрил его использование в качестве безопасной пищевой добавки [130].

Биосинтез низина, как и других лантибиотиков, реализуется на рибосомах в виде пептида-предшественника [168, 163]. Структурный ген *nisA* кодирует пре-пропептид, который впоследствии подвергается ферментативной модификации [188, 21, 8, 116]. Ключевую роль в этом процессе играют ферменты NisB, NisC и NisP. NisB осуществляет дегидратацию сериновых и треониновых остатков предшественника по механизму, ассоциированному с tРНК-опосредованным глутамилированием, с образованием дегидроаланина и дегидробутирина [115, 116, 117]. Затем фермент NisC катализирует циклизацию – тиоэфирное присоединение тиоловых групп цистеина к дегидроаминокислотам с формированием лантиониновых и β -метиллантиониновых мостиков [190, 130]. Завершающий этап включает протеолитическое отщепление лидерного пептида, осуществляемое протеазой NisP, после чего образуется биологически активная зрелая форма пептида [71, 115, 116]. Гены биосинтеза низина организованы в транскрипционный оперон, включающий одиннадцать генов, причем белок NisB, как показали исследования, локализован на мембране клетки-продуцента, что указывает на ассоциацию биосинтеза с цитоплазматической мембраной [190, 91].

Антимикробное действие низина реализуется посредством двойного механизма. С одной стороны, лантибиотик связывается с липидом II – ключевой молекулой-переносчиком субъединиц пептидогликана, что приводит к блокировке синтеза клеточной стенки [29, 70]. С другой стороны, взаимодействие с липидом II инициирует образование трансмембранных пор, нарушающих целостность цитоплазматической мембраны и диссипирующих трансмембранный электрический

потенциал [1, 178]. Исследования на плоских липидных бислоях продемонстрировали, что наличие липида II не является строго обязательным условием для проявления низином порообразующей способности: достаточно присутствия отрицательно заряженных фосфолипидов, причем наибольшее сродство лантибиотик проявляет в отношении кардиолипинсодержащих мембран [29, 1, 2].

Низин характеризуется широким спектром антимикробной активности в отношении грамположительных бактерий, включая споровые микроорганизмы родов *Bacillus* и *Clostridium*, а также патогены *Listeria monocytogenes* и *Staphylococcus aureus* [70, 71, 6, 158, 159, 174, 165]. Против грамотрицательных бактерий низин проявляет слабую активность или не проявляет ее вовсе, что обусловлено наличием внешней мембраны, однако обработка хелатирующими агентами может повысить чувствительность грамотрицательных микроорганизмов к этому лантибиотику [10, 11, 91, 113].

В пищевой промышленности низин разрешен к использованию в качестве консерванта – пищевой добавки E234 [20]. Применение низина технологически оправдано, поскольку он предотвращает развитие грамположительных спорообразующих бактерий, продлевает срок годности продукции и позволяет снизить температуру и длительность термической обработки. В Российской Федерации низин используется преимущественно в молочной промышленности, а также при производстве сыров, пудингов и жидких пастеризованных яйцепродуктов [1, 3, 4, 20]. В то же время существуют опасения относительно расширения спектра применения этого антибиотика, поскольку его использование в качестве пищевой добавки может способствовать формированию резистентности у условно-патогенных и патогенных микроорганизмов [4, 86, 170, 113, 176]. В связи с этим в научном сообществе ведутся дискуссии о необходимости исключения низина из перечня разрешенных пищевых добавок на основании дополнительных оценок рисков [130, 152].

Известно несколько природных вариантов низина (A, B, C, D, E, Z, R, Q), однако наиболее изученным и широко применяемым остается низин A [2]. Несмотря на многолетнее использование, масштабного развития резистентности к

низину не зафиксировано, что обусловлено сложностью приобретения устойчивости к его двойному механизму действия, однако лабораторные исследования выявили резистентные варианты, что требует дальнейшего изучения [190, 130, 170, 152].

1.2 Биоцидные препараты, общая характеристика

Бактериоцины представляют собой рибосомально синтезируемые антимикробные пептиды, характеризующиеся узкой специфичностью действия, обусловленной связыванием с консервативными рецепторными структурами на поверхности клеток-мишеней [37, 168]. Данная избирательность, являющаяся несомненным преимуществом с позиции подавления патогенных штаммов, одновременно служит источником фундаментальных ограничений: эффективность бактериоцинов существенно снижается при мутационных изменениях рецепторных белков, а их активность, как правило, не распространяется на таксономически отдаленные группы микроорганизмов, что делает их малоэффективными в условиях смешанных микробных сообществ [29, 66, 176]. В этом контексте закономерным расширением антимикробной парадигмы выступают биоциды – химические агенты, реализующие принципиально иную стратегию воздействия, основанную на неселективном повреждении фундаментальных клеточных структур [40].

На протяжении десятилетий биоциды широко используются для борьбы с бактериями и обычно входят в состав различных продуктов, включая дезинфицирующие составы, консерванты, пестициды и антисептики [40].

Следует разграничивать три смежных, но не идентичных понятия: биоциды – это активные вещества, которые при превышении определенных концентраций и в определенных условиях убивают клетки в течение заданного времени; противомикробные агенты – вещества, оказывающие неблагоприятное воздействие на рост или выживание микроорганизмов (не обязательно приводящее к гибели); дезинфицирующие средства – составы, содержащие активные вещества, безопасные для нанесения на неодушевленные поверхности и уничтожающие определен-

ные группы болезнетворных микроорганизмов в течение установленного времени [40, 60, 173].

По механизму действия биоциды подразделяются на две основные категории. Окисляющие биоциды вступают в реакцию с белками и липидами, разрушая целостность клеточной стенки, а некоторые представители этой группы, например хлор, могут вызывать коррозию и создавать экологические проблемы при выбросе в атмосферу [119, 175, 139, 171, 40].

Неокисляющие биоциды, напротив, находят широкое применение в промышленности; к ним относят соли четвертичного аммония, хлорфенолы, изотиазолин, бром- и хлорорганические соединения, оксазолидиноны, триазины, причем постоянно разрабатываются новые составы как на основе новых соединений, так и с использованием известных композиций [112, 135]. Механизм их действия связан с повреждением клеточных мембран или взаимодействием с другими внутриклеточными компонентами, что обеспечивает политаргетность и снижает вероятность быстрого развития резистентности [40, 112, 135, 145, 148].

Вместе с тем, проблема приобретенной устойчивости остается актуальной и для биоцидов. Под приобретенной устойчивостью понимают генетическое изменение, при котором микроорганизм приобретает способность противостоять действию биоцида вследствие мутации или генетического приобретения нуклеиновых кислот [40, 144, 173]. Данный феномен известен для бактерий, хотя аналогичные механизмы характерны и для других прокариот и эукариот, таких как грибы и простейшие [40, 173]. Более того, предполагается, что приобретенные механизмы влияют на устойчивость вирусов к дезинфицирующим средствам: например, изменения в структуре белков, связанных со структурами вирусных капсидов, могут приводить к образованию более устойчивых к нагреванию или химическим веществам форм [40, 173].

Таким образом, несмотря на принципиальные различия в механизмах действия бактериоцинов и биоцидов, обе группы антимикробных агентов сталкиваются с общей проблемой формирования резистентности, что требует постоянного

мониторинга и разработки новых подходов к контролю микробных популяций [152, 91].

1.2.1 Дезинфицирующие вещества. Классификация

Как было показано выше, биоциды представляют собой активные вещества, реализующие антимикробное действие на молекулярном уровне. Однако в практическом применении их используют не в чистом виде, а в составе готовых композиций, которые принято обозначать как дезинфицирующие средства. Последние представляют собой определенной рецептуры продукты, содержащие одно или несколько биоцидных соединений в определенных концентрациях, а также вспомогательные компоненты (растворители, стабилизаторы, поверхностно-активные вещества), обеспечивающие технологическую эффективность, совместимость с обрабатываемыми поверхностями и безопасность для животных и человека [135, 40].

Многообразие дезинфицирующих средств, известных в настоящее время, требует их систематизации. Необходимость классификации продиктована несколькими обстоятельствами. Во-первых, разные сферы применения предъявляют различные требования к средствам. Во-вторых, спектр действия конкретного препарата должен соответствовать тем микроорганизмам, с которыми предстоит бороться. В-третьих, условия использования диктуют допустимый уровень токсичности и агрессивности состава [30]. Ниже приведены основные параметры, по которым принято классифицировать дезинфицирующие средства.

По области применения выделяют три основные группы:

- 1) медицинские дезинфицирующие средства используются в лечебно-профилактических учреждениях, больницах и лабораториях для обработки инструментов, поверхностей и изделий медицинского назначения;
- 2) бытовые средства предназначены для поддержания чистоты и гигиены в домашних условиях, они, как правило, менее агрессивны и безопасны при контакте с кожей;

- 3) промышленные средства применяются на объектах пищевой промышленности, общественного питания, торговли, в коммунальном хозяйстве и на производстве, где требуется обработка больших площадей и оборудования [14].

По химическому составу, определяющему механизм действия, дезинфицирующие средства подразделяют на несколько групп [22, 23].

Хлорсодержащие соединения. Несмотря на то, что противомикробное действие некоторых галогеновых соединений известно давно, их производные применяются по сей день и достаточно широко [23]. Они эффективны против большинства известных микроорганизмов, включая споровые формы, вирусы и грибы [22, 23].

Йодсодержащие соединения. Йод действует губительно на микроорганизмы многих видов, при этом патогенные грибы особенно чувствительны к его воздействию. Бактерицидное действие йода обусловлено как подавлением ферментных систем микробных клеток, так и денатурацией белков и связано с его йодирующим и окислительным влиянием [23]. Среди классических йодсодержащих препаратов известны спиртовой раствор йода, раствор Люголя, йодоформ, применяемые наружно. Более прогрессивным направлением в разработке йодсодержащих препаратов являются йодофоры – комплексы йода с поверхностно-активными веществами или полимерами, в своей основе имеющие воду, а значит не раздражающие слизистые оболочки и кожные покровы, и, кроме того, характеризующиеся пролонгированным действием [22, 23].

Кислородсодержащие соединения (пероксиды). Препараты данной группы применяются для дезинфекции и стерилизации, в том числе термолабильных изделий. В отличие от хлорактивных соединений, пероксиды не оставляют токсичных продуктов распада и обладают широким спектром действия, включая спороцидную активность при определенных концентрациях [22, 23].

Четвертичные аммониевые соединения (ЧАС). Препараты данной группы широко используются в медицинских и ветеринарных учреждениях. Катионные поверхностно-активные вещества, составляющие их основу, успешно

применяются против устойчивых к другим веществам микроорганизмов, в том числе возбудителей внутрибольничных инфекций [22, 23]. На предприятия препараты поставляются в основном в виде концентратов, в ёмкостях большого объёма, не обладают резким запахом и не оказывают раздражающего действия, что позволяет применять их в присутствии пациентов [22]. ЧАС обладают хорошей моющей способностью и относительно низкой токсичностью, однако требуют более длительной экспозиции [22, 23]. В комбинации с другими биоцидами их эффективность значительно возрастает.

Спиртосодержащие средства. Дезинфектанты на основе этанола, пропанола и изопропанола обеспечивают быстрое обеззараживание, их активность в отношении вирусов проявляется при концентрации выше 60 %. Спирты вызывают денатурацию белков и разрушение липидного слоя мембран, однако неэффективны в отношении спор [22, 23].

Фенолсодержащие соединения. Фенолы являются производными бензола и имеют гидроксильную группу (-ОН), присоединенную к бензольному кольцу. Препараты данной группы обладают противомикробной активностью и применяются для дезинфекции поверхностей, предметов обстановки и средств ухода, не входящих в непосредственный контакт с пациентом [30, 38, 23].

1.2.2 Механизм действия дезинфектантов

Механизм действия дезинфицирующих препаратов разнообразен и может быть связан с денатурацией белка, нарушением проницаемости плазматических мембран, ингибированием ферментов микроорганизмов и с другим влиянием [22, 23]. Условия жизнедеятельности микроорганизмов: оптимальная температура, осмотическое давление, ионное равновесие. Антисептические и дезинфицирующие вещества изменяют эти параметры и тем самым нарушают метаболические процессы в микробной клетке, оказывая бактериостатическое действие – временное подавление способности микроорганизмов к размножению в организме [38]. Если антисептическое или дезинфицирующее вещество проникает в протоплазму

микробной клетки и ведет к свертыванию ее белков, наступает гибель микробной клетки, что обозначается как бактерицидное действие [23, 38, 80].

Мишени действия антисептиков и дезинфектантов находятся:

- в клеточной стенке: альдегиды, формалин, фенолы нарушают структуру клеточной стенки [23, 80];

- в мембране: нарушение мембранного потенциала (фенолы) – ингибирование ферментов, ассоциированных с мембраной, что ведет к нарушению процессов метаболизма (хлоргексидин и этилена оксид ингибируют мембранную АТФазу), нарушение проницаемости мембраны, что сопровождается утечкой цитоплазмы (ПАВ, спирты, фенолы) [23, 80];

- в цитоплазме: собственно цитоплазма (хлоргексидин, фенол) – рибосомы (пероксид водорода), ДНК (акридиновые красители), белки (галогены, формальдегид, глутаровый альдегид) [23, 38, 80]. ДАС (дезинфицирующие и антисептические средства) губительно влияют на большинство микроорганизмов, вирусов и патогенных грибов и почти не обладают избирательностью противомикробного действия [23]. В то же время они более активны в отношении вегетативных форм микроорганизмов, а среди вегетативных форм наиболее чувствительны к ДАС микроорганизмы колиatifозной группы, затем – кокковые формы и наконец кислотоустойчивые бактерии [24, 38, 80].

Механизм антимикробного действия дезинфицирующих средств представляет собой сложную многостадийную последовательность, начальным звеном которой является адсорбция молекул биоцида на поверхности микроорганизма [19]. После того как дезинфектант диффундирует через клеточную стенку, его мишенями становятся цитоплазматическая мембрана, нуклеоид, рибосомы и мезосомы, причем каждая из этих структур обладает специфической чувствительностью к химическому воздействию [24].

Следующий этап связан с деградацией макромолекулярных комплексов бактерии, прежде всего белков, что достигается за счет необратимой инактивации

высокореакционных функциональных групп, включающих сульфгидрильные (-SH), аминные, фенольные, индольные, тиоэтиловые, фосфатные, кетогруппы, а также эндоциклические атомы азота [22, 21].

Наиболее уязвимыми мишенями для действия дезинфектантов признаны тиоловые ферменты, содержащие сульфгидрильные группы [24].

Чаще всего среди этих ферментов наиболее сильно подавляются дегидрогеназы, обеспечивающие дыхательные процессы бактерий и локализованные преимущественно в мезосомах [19, 38].

Цитоплазматическая мембрана также относится к числу наиболее повреждаемых структур, что обусловлено ее легкой доступностью для окислителей и наличием большого числа активных групп, легко инактивируемых, поэтому для ее повреждения требуются сравнительно незначительные количества дезинфектантов [18, 24, 38]. Как указывается в учебной литературе, воздействие на цитоплазматическую мембрану сопровождается нарушением мембранного потенциала, ферментов мембраны и ее проницаемости, что приводит к прекращению энергетических процессов и синтеза АТФ [18, 21, 38]. Ввиду критической значимости функций цитоплазматической мембраны для жизнедеятельности бактериальной клетки, ее повреждение является для микроорганизма чрезвычайно опасным и часто необратимым [18, 38].

Особый интерес представляет взаимодействие дезинфектантов с нуклеоидом бактерии, основной частью которого является молекула ДНК [21, 38]. Несмотря на наличие реакционноспособных групп, потенциально способных взаимодействовать с биоцидами, нуклеоид характеризуется относительно низкой доступностью для молекул и ионов дезинфектантов [24, 23, 22, 38, 80]. Эта устойчивость, как отмечается в исследованиях по ультраструктурной организации бактерий, обусловлена несколькими факторами [80]. Во-первых, существуют значительные транспортные ограничения для проникновения дезинфектанта из водного раствора к нуклеоиду через внешнюю и цитоплазматическую мембраны, что сопровождается нецелевыми потерями обеззараживающих агентов [22]. Во-вторых, наличие первичной гидратной оболочки на поверхности ДНК становится препят-

ствием для некоторых дезинфектантов; в частности, эта гидратная оболочка непроницаема для катионов [80].

Ультраструктурные исследования показывают, что у резистентных к дезинфицирующим средствам бактерий наблюдаются уплотнение внешних слоев клеточной стенки и цитоплазматической мембраны, а также появление электронно-прозрачных вакуолеподобных структур в области нуклеоида, что свидетельствует о комплексных адаптационных перестройках клетки [24].

Механизм действия по группам следующий.

Галогенсодержащие дезинфектанты – взаимодействуют с гидроксильными группами белков микроорганизмов и вирусов, нарушая их структуру. Препараты хлора и йода являются окислителями [18, 40, 23].

Хлорсодержащие препараты – хлор в газообразном состоянии как окислитель действует преимущественно на органические вещества, в частности на белок микробной клетки [23]. При соприкосновении хлора с содержащейся в микробной клетке влагой образуются хлористоводородная и хлорноватистая кислоты. Освобождающийся при этом кислород, окисляя компоненты клетки, действует на нее губительно. Атом хлора также действует на белки протоплазмы клеток, переводя их в инертное состояние [18]. Бактерицидность хлора весьма велика, но она зависит от степени влажности среды, окружающей микроорганизмы [62].

Щелочи – механизм их дезинфицирующего действия в значительной степени зависит от свойств среды объекта и от концентрации ионов гидроксила, обуславливающих бактерицидность препарата [23]. Чем выше концентрация, тем сильнее обеззараживающее действие щелочи. Проникновение гидроксида натрия в микробную клетку приводит к повышению в ней pH и вызывает коагуляцию ее протоплазмы, омыление жиров [18]. Эти явления нарушают нормальную жизнедеятельность микробной клетки и приводят ее к гибели. В кислой среде щелочи сразу же вступают в реакцию нейтрализации [40]. Протоплазма микробной клетки под влиянием щелочей претерпевает большие изменения: за счет увеличения pH среды происходят гидролиз белков, образование коллоидных частиц, омыление

жиров и расщепление углеводов [40]. Это нарушает нормальную жизнедеятельность клетки, а при значительных изменениях вызывает ее гибель.

Окислители – механизм антимикробного действия обусловлен нарушением окислительно-восстановительных процессов белков протоплазмы и ферментных систем микробной клетки, либо денатурацией микробных белков [40, 62].

Альдегиды – алкилируют (необратимо связывают) сульфгидрильные, карбоксильные и аминокислотные группы белков и других органических соединений, вызывая гибель микроорганизмов [18, 40].

Надкислоты – механизм действия аналогичен действию пероксида водорода (вызывают окисление ферментов и других белковых молекул, что вызывает их денатурацию, приводящую к гибели клетки) [23, 40].

Поверхностно-активные вещества (ПАВ) – молекулы ПАВ липофильным концом входят в бислойную систему клеточной мембраны и нарушают упаковку фосфолипидов, что ведет к увеличению их подвижности и изменению физико-химических и функциональных свойств мембраны. Нарушается проницаемость клеточных мембран клеток микроорганизмов, что сопровождается утечкой цитоплазматического содержимого [23, 40, 83].

1.2.3 Резистентность микроорганизмов к дезинфицирующим средствам

Микроорганизмы демонстрируют широкий спектр устойчивости к биоцидам, что во многом аналогично их резистентности к антибиотикам [33, 110, 189]. В научной литературе принято выделять два основных типа такой устойчивости: естественную (природную) и приобретенную [83].

Природная устойчивость детерминирована врожденными структурно-метаболическими характеристиками бактериальной клетки, среди которых ключевую роль играют наличие защитных барьеров (внешней мембраны у грамотрицательных бактерий), способность к образованию биопленок, а также метаболическая активность, направленная на ферментативную деградацию ксенобиотиков или их активный выброс из клетки [148, 149].

Особый интерес представляет резистентность грамотрицательных бактерий, во многом обусловленная строением их клеточной стенки. Наличие внешней мембраны, содержащей липополисахаридный слой, создает эффективный барьер для проникновения гидрофильных и крупных молекул [66, 143, 151]. Однако поверхностно-активные вещества, особенно четвертичные аммониевые соединения, способны разрушать этот слой, что визуализируется под электронным микроскопом в виде образования вздутий и везикул на поверхности клетки, состоящих из липополисахаридов, белков и фосфолипидов [66, 143]. Частичное восстановление барьера возможно за счет фосфолипидов, формирующих бислой, однако при обширных повреждениях биоцид проникает внутрь, вызывая необратимые изменения структур и метаболитов [18]. Устойчивость *Pseudomonas aeruginosa* часто связывают с повышенным содержанием фосфатных групп в липиде А, что снижает проницаемость внешней мембраны и обуславливает более высокую резистентность этого микроорганизма по сравнению с другими грамотрицательными бактериями [143, 151].

Способность к адгезии и образованию биопленок является одной из важнейших детерминант устойчивости, особенно для грамотрицательных бактерий [33, 42, 43]. Биопленка представляет собой организованное сообщество клеток, погруженных в матрикс экзополисахаридов (гликокаликс), который действует как диффузионный барьер, замедляя проникновение биоцида [120, 166]. Клетки в глубине биопленки находятся в состоянии замедленного роста из-за ограничения питательных веществ, что дополнительно повышает их устойчивость к неблагоприятным воздействиям по сравнению с планктонными формами [33, 106, 149].

Грамположительные бактерии, лишенные внешней мембраны, в целом более чувствительны к биоцидам, однако и среди них встречаются резистентные штаммы [18, 143]. Например, устойчивость *Staphylococcus aureus* к фенолам и четвертичным аммониевым соединениям может быть обусловлена наличием поверхностных липидов, препятствующих проникновению биоцидов [18, 142, 143]. Микобактерии, характеризующиеся высоким содержанием воскоподобных липидов, в частности миколовых кислот, в клеточной стенке, проявляют высокую

устойчивость к дезинфектантам, что требует применения специальных режимов обработки [121, 143].

Особого внимания заслуживает резистентность бактериальных спор, которые выдерживают концентрации биоцидов, в тысячи раз превышающие эффективные для вегетативных клеток [169]. Многие соединения, такие как спирты, фенолы, хлоргексидин и соединения ртути, практически не обладают спороцидной активностью, хотя могут задерживать прорастание спор. Уникальная структура оболочки споры обеспечивает не только низкую проницаемость, но и потенциальную нейтрализацию некоторых агентов [180]. Для эффективной стерилизации необходимы более агрессивные средства (этилена оксид, Д-пропиолактон, формальдегид, глутаровый альдегид, водорода пероксид и галогены), однако их действие достаточно медленное и требует длительных экспозиций: от 30 мин до нескольких часов [180]. Чувствительность спор варьируется в зависимости от вида микроорганизма и условий культивирования [169].

Приобретенная резистентность связана с изменениями в генетическом аппарате бактерий, возникающими в результате мутаций или горизонтального переноса генов [110, 189]. Горизонтальный транспорт посредством конъюгативных плазмид и транспозонов играет критическую роль в распространении генов устойчивости между различными видами и родами бактерий [189, 184]. Плазмиды могут детерминировать множественную резистентность к биоцидам. Примером служат плазмиды, обеспечивающие устойчивость к соединениям ртути у *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*; они кодируют фермент редуктазу, восстанавливающую ионы ртути до металлической формы, которая затем испаряется из среды [83]. Плазмиды широкого спектра действия помимо редуктазы кодируют одну или несколько гидролаз, которые освобождают ионы ртути из ртутьорганических соединений, разрывая связь ртуть – углерод. Существование таких механизмов трансформации ставит под сомнение целесообразность использования ртутьорганических соединений в качестве консервантов в фармацевтике [83].

Широкий круг хозяев у генов резистентности способствует их сохранению в природе, причем такие гены могут стабильно существовать даже в отсутствие селективного давления, то есть в среде, не содержащей биоцидов [95, 110].

Однако селективные условия создаются в растворах дезинфектантов с концентрацией ниже рекомендуемой, а также при нарушении сроков их хранения [169]. Помимо концентрации биоцида на развитие резистентности популяции существенное влияние оказывают состав среды (наличие защитных агентов, факторов роста), фаза развития и скорость размножения клеток [180, 181, 184]. Например, *Pseudomonas aeruginosa*, выращенная на среде с недостаточным количеством магния, высокоустойчива к бензалкониума хлориду, тогда как выращенная на среде с недостатком углерода проявляет к нему высокую чувствительность [180]. Большое значение имеют температура и длительность культивирования: медленно растущие клетки менее чувствительны к биоцидам, чем быстро растущие, поэтому необходимо строго соблюдать стандартные условия испытания активности антимикробных агентов [132, 180, 184].

Возможность быстрого развития резистентности в бактериальных популяциях требует пересмотра практик применения биоцидов [189, 192]. При длительном использовании какого-либо антимикробного агента в замкнутых экосистемах (госпитали, аптеки, лаборатории, производственные цеха) микробиота, обитающая в данном объекте, может приобрести высокую устойчивость к этому препарату [83]. Чтобы предотвратить этот эффект и обеспечить эффективность дезинфекционных мероприятий, рекомендуется проводить ротацию биоцидов, используя попеременно несколько химических веществ в определенном порядке [22]. Эта стратегия позволяет снизить селективное давление и минимизировать риски формирования перекрестной устойчивости, которая может распространяться и на антибиотики, что крайне важно для поддержания асептических условий в медицинских и фармацевтических учреждениях [183, 83, 189].

1.3 Бактериальные болезни у птиц

У птиц инфекционные процессы бактериальной природы, этиологическими факторами которых выступают условно-патогенные штаммы с множественной лекарственной устойчивостью, нередко характеризуются затяжным течением, при этом клинические проявления могут либо полностью отсутствовать, либо приобретать вялотекущий характер, что существенно пролонгирует терапевтические мероприятия [26, 46, 105]. Данные микроорганизмы устойчиво циркулируют в птицеводческих объектах независимо от их производственной направленности, а также обнаруживаются у синантропных видов, создавая тем самым устойчивые природно-антропогенные очаги, поддерживающие напряжённость эпизоотического фона [81, 46, 9].

По объёму наносимого экономического ущерба бактериозы уверенно лидируют среди всех инфекционных патологий в промышленном птицеводстве [41, 81]. В целях сокращения производственных потерь внедрены комплексные схемы профилактических и противозпизоотических мероприятий, ориентированные на оздоровление популяций и поддержание стабильного санитарного состояния [22, 24, 64]. Однако сведения о бессимптомном бактерионосительстве, в особенности среди представителей дикой орнитофауны и охотничьих видов, остаются фрагментарными и требуют дальнейшего изучения [53, 45, 82].

Сезонные перемещения и миграционные пути птиц выступают значимым фактором трансграничного переноса возбудителей, включая бактериальные агенты, между популяциями домашней, дикой птицы и человеком [80, 82, 146]. В связи с этим особую актуальность приобретает системный эпизоотологический надзор за болезнями как вирусной, так и бактериальной этиологии, позволяющий своевременно прогнозировать риски и оперативно купировать возможные вспышки [55, 80].

Современное промышленное птицеводство сталкивается с комплексной проблемой бактериальных инфекций, которые наносят значительный экономический ущерб и требуют постоянного эпизоотологического контроля [41, 46, 82]. Наиболее актуальными остаются заболевания, вызываемые как классическими

патогенами, так и относительно новыми возбудителями, циркулирующими в хозяйствах различного типа [53].

Пуллороз-тиф птиц. Это заболевание, известное с конца XIX века, продолжает представлять серьезную угрозу, особенно для молодняка. Возбудитель – *Salmonella pullorum-gallinarum*. Обладает высокой устойчивостью во внешней среде, сохраняясь в почве более 400 дней, что затрудняет ликвидацию инфекции [17,18, 41]. В эпизоотическом процессе важную роль играет вертикальный путь передачи через инфицированные яйца [5, 14, 18]. Прижизненная диагностика основана на серологических реакциях (капельная реакция агглютинации), позволяющих выявить бактерионосителей среди взрослой птицы [18].

Пастереллез (холера птиц). Это острое септическое заболевание, вызываемое *Pasteurella multocida*, характеризуется высокой летальностью и поражает птиц всех видов [7, 3, 18]. Эпизоотический процесс часто принимает стационарный характер, чему способствуют широкое носительство среди внешне здоровой птицы и роль переносчиков (грызуны, синантропные птицы) [18]. В Российской Федерации пастереллез стабильно регистрируется в различных регионах, что подтверждается исследованиями, например, в Иркутской области [3]. Специфическая профилактика осуществляется с использованием инаktivированных вакцин, однако их эффективность зависит от соответствия циркулирующим серотипам возбудителя [41].

Орнитобактериоз. Относительно новая инфекция, вызываемая *Ornithobacterium rhinotracheale*, в последние годы приобретает все большее значение в России [13]. Болезнь проявляется респираторным синдромом (ринотрахеиты, аэросаккулиты, пневмонии), особенно тяжело протекая у молодняка и в ассоциации с другими патогенами, такими как микоплазмы [16, 53]. Как отмечают исследователи, диагностика и контроль орнитобактериоза требуют комплексного подхода, включая лабораторное подтверждение и применение специфических вакцин с учетом эпизоотической ситуации [13, 53].

Орнитоз (пситтакоз). Это зооантропонозное заболевание, вызываемое *Chlamydia psittaci*, представляет опасность не только для птиц, но и для человека

[72, 18]. В Российской Федерации эпизоотическая ситуация по орнитозу остается напряженной: положительные случаи регистрируются в различных федеральных округах [44]. Основным источником возбудителя в природе служат дикие и синантропные птицы, что создает постоянный риск заноса инфекции в хозяйства [18, 44].

Стрептококкоз. Инфекция, вызываемая различными видами стрептококков (*S. faecalis*, *S. zooepidemicus* и др.), протекает преимущественно у взрослой птицы с явлениями септицемии, артритов и эндокардитов [18]. В РФ стрептококкоз регистрируется как в виде спорадических случаев, так и в ассоциации с другими болезнями, что затрудняет диагностику и требует бактериологического подтверждения [18].

Стафилококкоз. Болезнь, вызываемая *Staphylococcus aureus*, поражает птиц различных видов и проявляется в виде омфалитов, артритов, дерматитов и септицемии. В российских хозяйствах стафилококкоз часто возникает на фоне нарушений ветеринарно-санитарных норм и иммунодефицитов [18]. Устойчивость возбудителя во внешней среде способствует его длительной циркуляции в птичниках.

Туберкулез птиц. Вызывается *Mycobacterium avium*, характеризуется хроническим гранулематозным воспалением с поражением кишечника, печени, селезенки и костного мозга. В РФ заболевание чаще регистрируется в хозяйствах с напольным содержанием старого поголовья и в частных подворьях [18]. Эпизоотологическую опасность представляет длительное выделение возбудителя с пометом и устойчивость в почве.

Сальмонеллез. Сальмонеллез остается одной из наиболее значимых бактериальных инфекций в птицеводстве, представляя угрозу как для эпизоотического благополучия хозяйств, так и для здоровья населения в связи с контаминацией пищевых продуктов [4, 14, 18]. Возбудителями выступают различные серотипы *Salmonella* (*S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. infantis*), поражающие кур, индеек, уток и гусей [5, 18, 41]. Заболевание характеризуется поражением ЖКТ и септицемией. У взрослой птицы часто протекает бессимптомно, при этом куры выде-

ляют возбудителя с яйцами и пометом. У цыплят отмечают вялость, профузный понос, отказ от корма [18]. Возбудитель устойчив во внешней среде: в почве до 9–10 мес., в пыли до 8–18 мес. [18, 48]. Передача – фекально-оральным путем через корм, воду, подстилку.

1.4 Обсуждение обзора литературы

Материалы, представленные в настоящем обзоре, позволяют несколько иначе оценить проблему бактериальной контаминации. При рассмотрении вопроса в целом становится очевидно, что применение бактериоцинов и дезинфицирующих препаратов основывается на принципиально разных подходах к контролю микробной обсеменённости. Эти различия определяются не только химической природой действующих веществ и особенностями спектра антимикробной активности, но и самим характером их практического применения [40, 104].

Особого внимания в данном отношении заслуживают бактериоцины. Повышенный интерес к этой группе соединений, в частности к лантибиотикам, связан прежде всего с распространением антибиотикорезистентности и необходимостью поиска альтернативных способов контроля бактериальных возбудителей [4, 97, 130, 177]. При этом сами бактериоцины нельзя считать новым направлением: например, низин применяют и изучают уже достаточно продолжительное время [8, 21]. Рибосомальный механизм образования бактериоцинов и выраженная специфичность их действия являются важными преимуществами по сравнению с рядом традиционных антибиотиков [10, 104]. Однако высокая специфичность одновременно может становиться фактором, ограничивающим их применение. Чем более узким является спектр активности вещества, тем выше требования к предварительному установлению видового состава возбудителей [37, 73]. Для промышленного птицеводства это особенно существенно, поскольку инфекционные процессы нередко обусловлены присутствием нескольких микроорганизмов одновременно [46, 53].

Дополнительным ограничением остаётся вопрос сохранения активности бактериоцинов непосредственно в условиях организма или производственной

среды. В частности, сведения о стабильности лантибиотиков при взаимодействии с биологическими жидкостями и компонентами кормов неоднозначны [8, 1, 190]. Результаты отдельных исследований существенно различаются, а эффективность низина в условиях, приближенных к естественным, в ряде случаев оказывается ниже показателей, полученных в лабораторных экспериментах [75, 190, 177]. Таким образом, результаты *in vitro* не всегда позволяют напрямую прогнозировать эффективность бактериоцинов при практическом использовании.

Иной принцип лежит в основе применения дезинфицирующих средств, основные группы которых были рассмотрены в разделе 1.2 [15, 18, 24, 83]. Для многих из них характерно одновременное воздействие на несколько структурных и функциональных компонентов бактериальной клетки. Такое сочетание механизмов действия традиционно рассматривается как фактор, снижающий вероятность формирования устойчивости микроорганизмов [22, 40, 62, 177]. Вместе с тем современные данные свидетельствуют о том, что считать применение дезинфицирующих препаратов полной гарантией от формирования устойчивых вариантов микроорганизмов было бы неправомерно.

Особую проблему в этом отношении представляет воздействие дезинфицирующих веществ в сублетальных концентрациях. Подобные условия могут возникать при обработке значительных по площади поверхностей, особенно при наличии органических загрязнений, снижающих фактическую концентрацию действующего вещества [33, 42, 43, 119, 189, 193]. Регулярное воздействие недостаточных концентраций создаёт условия для отбора микроорганизмов, способных лучше переносить неблагоприятные воздействия.

Накопление подобных данных заставляет более критически оценивать представление о химической дезинфекции, как о безусловной преграде для формирования устойчивости [143, 169, 189]. В определённой степени механизмы адаптации к бактериоцинам и дезинфектантам могут иметь общие черты: в обоих случаях у микроорганизмов возможно изменение экспрессии эффлюксных систем, а также структурная модификация компонентов клеточной оболочки [87, 89, 110, 138, 142].

При рассмотрении бактериальных заболеваний птиц необходимо учитывать, что механизмы развития таких инфекций, как сальмонеллёз, эшерихиоз (колибактериоз), пастереллёз и орнитобактериоз, изучены достаточно подробно [2, 13, 17, 18, 41, 81]. Однако наличие значительного объёма сведений о патогенезе этих заболеваний ещё не означает, что эффективность конкретного средства контроля можно однозначно связать с конечным эпизоотологическим результатом. Например, снижение микробной обсеменённости после санитарной обработки не всегда сопровождается пропорциональным уменьшением последующей заболеваемости [22, 24, 62]. Аналогично, включение бактериоцинов в кормовые программы не обеспечивает полной защиты птицы от поступления возбудителей из внешней среды [66].

Поэтому противопоставление бактериоцинов и дезинфицирующих средств как альтернативных вариантов контроля бактериальной инфекции представляется не вполне обоснованным. Более логичным выглядит их рассмотрение как взаимодополняющих компонентов системы биологической безопасности, применяемых на различных этапах производственного цикла. Первоначальная химическая обработка позволяет существенно уменьшить микробную нагрузку на поверхности и в окружающей среде [22, 64]. После этого специфическое действие бактериоцинов потенциально может быть использовано для дополнительного контроля отдельных бактериальных групп, сохранившихся после дезинфекции либо обладающих сниженной чувствительностью к используемому химическому агенту [15, 76, 100, 117].

Таким образом, совмещение двух подходов можно рассматривать как перспективное направление организации комплексной системы биобезопасности в птицеводстве. Дезинфицирующие средства в такой схеме выполняют функцию общего снижения микробной нагрузки, тогда как бактериоцины могут обеспечивать более направленное воздействие на определённые группы микроорганизмов. Подобное распределение функций позволяет частично компенсировать ограничения каждого из методов и соответствует современному представлению о необхо-

димости комплексного контроля бактериальных инфекций в условиях промышленного птицеводства [9, 41, 46, 53].

2.1 Материалы и методы

Работа выполнена в период с 2023 по 2026 гг. в лаборатории санитарной микробиологии ВНИИВСГЭ – филиала ФНЦ ВИЭВ РАН.

Исследование проводили в несколько этапов. На первом этапе осуществляли микробиологическое изучение объектов исследования с выделением и идентификацией чистой культуры микроорганизмов. На втором этапе в экспериментах *in vitro* определяли чувствительность выделенных и тест-штаммов к изучаемым препаратам путем установления минимальной подавляющей концентрации (МПК) и минимальной бактерицидной концентрации (МБК). На третьем этапе проводили моделирование дезинфицирующего действия препаратов на контаминированных тест-поверхностях. На четвертом этапе оценивали влияние исследуемых препаратов на морфологические особенности формирования бактериальных биоплёнок.

2.2 Объекты исследования

Материалом для исследования служили 120 образцов куриных яиц категорий С0–С2, закупленные в торговых сетях городов и регионов Российской Федерации: Москвы, Санкт-Петербурга, Казани, Республики Мордовия, Белгородской, Воронежской, Пермской, Владимирской, Московской и Ростовской областей [75, 78].

Штаммы бактерий, использованные в работе. В экспериментах использовали тест-штаммы: *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P, *B. cereus* шт. 96. Изоляты яичной скорлупы: *E. coli*, *L. amnigena*, *E. cloacae*, *E. ludwigii*, *C. braakii*, *C. freundii*, *M. morganii*, *P. mirabilis*, *P. graminis*, *P. taetrolens*, *A. urinae*, *A. viridans*, *E. casefiles*, *E. columbae*, *E. faecium*, *K. Atrinae*, *K. cornophila*, *M. caseolyticus*, *M. luteus*, *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *S. equorum*, *S. xylosus*, *C. freneyi*, *C. stationis*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. cereus*.

Аппаратура, материалы, реактивы. Для проведения исследования использовали следующие приборы, аппаратуру и материалы: холодильники быто-

вые электрические, автоклавы, термостаты (30 °С; 37 °С; 41 °С), водяная баня, вортекс V-3, лабораторные весы SC2020, оптический микроскоп Olympus CX 43 (Япония), УФ-облучатели ОБН-150, пробирки, перчатки одноразовые, бактериологические петли, шпатели пластмассовые одноразовые, стерильная посуда, дистиллированная вода, спирт этиловый 70 %-й, горелка спиртовая, колбы емкостью 100 и 200 см³, ватные тампоны, стерильные фильтры «Владипор», глутаровый альдегид 25%-й, пропиленоксид, чашки Петри, автоматические пипетки MicroPette, петли бактериологические из никеля, хрома и пластиковые диаметром 3 мм, предметные и покровные стекла.

Питательные среды отечественного (г. Оболенск, Россия) производства: Мясо-пептонный агар, мясо-пептонный бульон, среда Кесслера, среда Эндо, среда Китта – Тароцци, среда Бильсон – Блера, магниевая среда, висмут-сульфит агар, среда Олькеницкого, энтерококк агар, щелочно-полимерксиновая среда, среда с мочевиной для протеев, среды Гисса (ксилоза, рамноза, арабиноза, маннит, мальтоза, сорбитол), плазма кроличья сухая цитратная («БиоХолд», Россия), 0,9 %-й физиологический раствор, забуференная пептонная вода, набор красок для окраски по Граму, иммерсионное масло.

2.3 Методы отбора проб

Отбор проб проводили в соответствии с инструкцией по санитарно-микробиологическому контролю тушек, мяса птицы, птицепродуктов, яиц и яйцепродуктов на птицеводческих и птицеперерабатывающих предприятиях методом смывов с поверхности скорлупы [34].

Пробы яиц отбирали методом случайной выборки (10 шт. от партии). Для микробиологического исследования использовали смывы с поверхности скорлупы, полученные методом тампона.

Для получения смыва яйцо погружали в ступку, содержащую 10 см³ 0,9 %-го физиологического раствора, с помощью стерильного тампона обмывали поверх-

ность яйца в течение 2–3 мин. Яйцо удаляли, смыв использовали для исследования [34].

Из 1 см³ смывной жидкости определяли КМАФАнМ (ОМЧ), БГКП, количества сульфитредуцирующих клостридий, коагулазоположительных стафилококков. В 25 г (мл) – наличие бактерий рода сальмонелл.

2.4 Методы идентификации выделенных микроорганизмов

Определение количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов. Определение КМАФАнМ проводили согласно инструкции по санитарно-микробиологическому контролю тушек, мяса птицы, птицепродуктов, яиц и яйцепродуктов на птицеводческих и птицеперерабатывающих предприятиях [34].

Смывную жидкость переносили в пробирки, содержащие физиологический раствор, в соотношении 1 : 10, после чего готовили последовательные десятикратные разведения [34, 75]. Посевы проводили в чашки Петри глубинным агаровым методом. После застывания МПА чашки ставили в термостат дном вверх, инкубировали при температуре 30 °С в течение 72 ч. Предварительный учет проводился через 48 ч. Производили подсчет колоний. Учитывали в разведениях, где выросло от 30 до 300 колоний [34]. Количество микроорганизмов в 1 г продукта определяли средневзвешенным значением из подсчетов двух последовательных разведений по следующей формуле:

$$N = \frac{\sum c}{V(n_1 + 0,1n_2)d},$$

где: $\sum C$ – сумма колоний, подсчитанных на всех чашках в двух последовательных разведениях, из которых хотя бы в одной из них содержалось не менее 15 колоний;

V – объем посевного материала, внесенного в чашку, мл;

n_1 – число отобранных для подсчета чашек первого выбранного разведения;
 n_2 – число отобранных для подсчета чашек последующего разведения;
 d – коэффициент разбавления, соответствующий первому выбранному разведению.

Выявление и идентификация БГКП. Определение БГКП проводили согласно инструкции по санитарно-микробиологическому контролю тушек, мяса птицы, птицепродуктов, яиц и яйцепродуктов на птицеводческих и птицеперерабатывающих предприятиях [34].

К бактериям группы кишечных палочек относятся грамотрицательные неспорообразующие палочковидные бактерии, способные сбраживать лактозу с образованием кислоты и газа при температуре 37 °С в течение 24–48 ч, преимущественно представители родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*.

Смывную жидкость вносили в среду Кесслера с лактозой и поплавком, соблюдая соотношение продукта и питательной среды 1 : 10. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 24 ч. При отсутствии признаков роста, выраженных в газообразовании и изменении цвета или помутнении среды, делали заключение об отсутствии БГКП в исследуемой пробе [34].

При наличии признаков роста в среде Кесслера из подозрительных пробирок проводили пересев на чашки Петри с дифференциально-диагностическими средами Эндо. Материал из каждой пробирки высевали петлей с целью получения изолированных колоний. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 18–24 ч. После инкубации оценивали морфологические признаки колоний [34].

На среде Эндо типичными для БГКП считали красные колонии с металлическим блеском или без него, а также розовые и бледно-розовые колонии.

Из изолированных колоний, характерных или подозрительных на БГКП, готовили препараты, окрашивали их по Граму и проводили микроскопическое исследование для подтверждения морфологических свойств выявленных микроорганизмов.

Выявление *Escherichia coli* O157. Проводили по «Методическим рекомендациям по обнаружению бактерий *E. coli*, продуцирующих шига-токсин в кормах для животных» [48]. Выделение проводили дополнительно к определению БГКП. Делали пересев из положительных пробирок со средой Кесслера на селективную среду Сорбитол *E. coli* O157: H7 агар. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 24–48 ч [48]. При наличии роста оценивали морфологические и культуральные признаки колоний. Подозрительными считали бесцветные, прозрачные выпуклые округлые колонии среднего размера, не ферментирующие сорбитол [63].

Подозрительные колонии пересеивали на мясо-пептонный агар (МПА) для получения чистой культуры и последующего проведения биохимической и серологической идентификации. Принадлежность выделенных культур к *E. coli* определяли по комплексу биохимических признаков, включающих ферментацию лактозы, глюкозы, сахарозы и маннита, образование индола, подвижность, отрицательные реакции на образование сероводорода и утилизацию цитрата Симмонса [48, 63].

Параллельно подозрительные колонии подвергали идентификации методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (Bruker MALDI Biotyper) для более точного определения видовой принадлежности выделенных микроорганизмов.

Выявление и идентификация бактерий рода *Salmonella*. Определение бактерий рода *Salmonella* проводили согласно инструкции по санитарно-микробиологическому контролю тушек, мяса птицы, птицепродуктов, яиц и яйцепродуктов на птицеводческих и птицеперерабатывающих предприятиях [34].

Навеску исследуемого продукта вносили в пептонную буферную воду в соотношении 1 : 9. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 18–24 ч.

После предварительного обогащения 1 мл культуры из пептонной буферной воды переносили в магниевую среду для селективного обогащения, соблюдая соотношение посевного материала и питательной среды 1:9. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 24–48 ч [34, 75].

Для выделения подозрительных колоний после селективного обогащения проводили пересев на дифференциально-диагностические среды [34]. Из культуры высевали материал на чашки Петри со средами Эндо и висмут-сульфитным агаром [34]. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 18–24 ч, при отсутствии подозрительных колоний инкубирование продолжали еще 24 ч [75]. На среде Эндо сальмонеллы формируют прозрачные бесцветные колонии. На висмут-сульфитном агаре типичные колонии сальмонелл имеют черную окраску с металлическим блеском, при этом отмечается почернение участка среды под колонией.

При наличии типичных или подозрительных колоний проводили дальнейшую идентификацию выделенных микроорганизмов. Из подозрительных колоний, отбираемых с каждой дифференциально-диагностической среды, проводили пересев на комбинированные среды Олькеницкого и среды Гисса. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 24 ч [34]. Идентификацию культур проводили по их способности ферментировать лактозу, глюкозу и сахарозу, а также расщеплять мочевины и образовывать сероводород [34]. На средах Гисса оценивали способность культур ферментировать углеводы с образованием кислоты.

Культуры, ферментирующие лактозу с образованием газа и расщепляющие мочевины, исключали из дальнейшего исследования как не относящиеся к бактериям рода *Salmonella*. Культуры, не ферментирующие лактозу и не расщепляющие мочевины, но ферментирующие глюкозу с образованием или без образования газа, подвергали дальнейшей идентификации.

Параллельно подозрительные колонии подвергали идентификации методом MALDI-TOF масс-спектрометрии для более точного определения видовой принадлежности выделенных микроорганизмов.

Выявление и идентификация сульфитредуцирующих клостридий. Определение сульфитредуцирующих клостридий проводили согласно инструкции по санитарно-микробиологическому контролю тушек, мяса птицы, птицепродук-

тов, яиц и яйцепродуктов на птицеводческих и птицеперерабатывающих предприятиях [34].

Для выявления сульфитредуцирующих клостридий из подготовленных разведений по 1 мл исследуемого материала или его последовательного разведения вносили в пробирки с агаризованной средой Вильсона – Блера. Посевы инкубировали в анаэробе при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течение 48 ч. Сульфитредуцирующие микроорганизмы выявляли по образованию темно-серых или черных колоний и потемнению питательной среды [34, 75, 78].

Для подтверждения принадлежности выделенных микроорганизмов к клостридиям подозрительные колонии пересеивали в пробирки со средой Китта – Тароцци, предварительно прогретой [34]. Посевы инкубировали при температуре 37°C в течение 24–48 ч. При появлении признаков роста, выраженных в помутнении среды, газообразовании и появлении специфического запаха, проводили микроскопическое исследование и определяли каталазную активность микроорганизмов с использованием раствора пероксида водорода [34].

При наличии в мазках спорообразующих палочек и отсутствии каталазной активности, определяемой по отсутствию газообразования при добавлении пероксида водорода к культуральной жидкости, выделенные микроорганизмы относили к клостридиям.

Параллельно подозрительные колонии подвергали идентификации методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (Bruker MALDI Biotyper) для более точного определения видовой принадлежности выделенных микроорганизмов.

Выявление и идентификация *Staphylococcus aureus*. Определение *Staphylococcus aureus* проводили согласно инструкции по санитарно-микробиологическому контролю тушек, мяса птицы, птицепродуктов, яиц и яйцепродуктов на птицеводческих и птицеперерабатывающих предприятиях [34].

Из подготовленного разведения вносили в солевой бульон по 1 мл исследуемого материала. При необходимости дополнительно проводили посев из серии десятикратных разведений. Посевы инкубировали при температуре 37°C в течение 24 ч [34].

После инкубации из солевого бульона проводили пересев петлей на подсушенные чашки Петри с агаром Байрд – Паркера для получения изолированных колоний [34]. Чашки инкубировали при температуре 37 °С в течение 18–24 ч.

На агаре Байрд – Паркера колонии, характерные для *S. aureus*, имели вид черных блестящих выпуклых колоний диаметром около 1–1,5 мм, окруженных зоной просветления среды.

Из характерных и подозрительных колоний готовили мазки, окрашивали их по Граму и проводили микроскопическое исследование. Колонии, содержащие грамположительные кокки, расположенные в виде характерных для стафилококков скоплений, пересеивали на скошенный мясо-пептонный агар (МПА) для получения чистой культуры. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 18–24 ч [34].

Из выросших чистых культур проводили реакцию плазмокоагуляции. Для этого в пробирки вносили по 0,5 мл разведенной кроличьей плазмы. В одну пробирку вносили исследуемую суточную агаровую культуру, вторую пробирку использовали в качестве контроля. Пробирки инкубировали при температуре 37 °С. Результаты реакции предварительно учитывали через 2 – 4 ч, после чего проводили окончательный учет.

Образование сгустка плазмы любой степени выраженности расценивали как положительную реакцию плазмокоагуляции. Положительная реакция свидетельствовала о наличии коагулазоположительных стафилококков в исследуемой пробе. При отсутствии свертывания плазмы реакцию считали отрицательной.

Параллельно подозрительные колонии подвергали идентификации методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (Bruker MALDI Biotyper) для более точного определения видовой принадлежности выделенных микроорганизмов.

Выявление и идентификация бактерий рода *Proteus*. Определение бактерий рода *Proteus* проводили согласно инструкции по санитарно-микробиологическому контролю тушек, мяса птицы, птицепродуктов, яиц и яйцепродуктов на птицеводческих и птицеперерабатывающих предприятиях [34].

Из исследуемого материала или соответствующих разведений по 1 мл вносили в жидкую селективную среду обогащения. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 48 ч.

Положительными считали пробирки, в которых наблюдали помутнение питательной среды и изменение ее окраски вследствие роста бактерий, расщепляющих мочевины. При этом отсутствие изменения окраски среды не рассматривали как признак отсутствия бактерий рода *Proteus* [34].

Для подтверждения присутствия бактерий рода *Proteus* из пробирок с признаками роста проводили пересев на дифференциально-диагностические плотные среды для получения изолированных колоний [34]. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 48 ч. Бактерии рода *Proteus* на плотных дифференциально-диагностических средах формировали округлые колонии диаметром 1–3 мм и характеризовались выраженной способностью к роению (ползучему росту).

Из чашек с характерным ростом отбирали не менее пяти подозрительных колоний для выделения чистых культур и последующей идентификации. Для получения чистых культур проводили пересев на скошенный мясо-пептонный агар (МПА) или мясо-пептонный бульон. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 24 ч.

Биохимическую идентификацию бактерий рода *Proteus* проводили по способности расщеплять фенилаланин [34]. Из суточной культуры выполняли штриховой посев на поверхность агара с фенилаланином и инкубировали при температуре 37 °С в течение 48 ч [34]. После инкубации на поверхность среды наносили 3–5 капель раствора хлорида железа. Появление интенсивной зеленой окраски среды расценивали как положительную реакцию на расщепление фенилаланина, характерную для бактерий рода *Proteus*.

Для определения способности к образованию сероводорода культуру высевали уколом в столбик и штрихом на поверхность агаризованной среды с цитратом железа. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 48 ч. Образование сероводорода определяли по почернению среды. Дополнительным призна-

ком являлось образование газа в столбике среды, что свидетельствовало о ферментации глюкозы с образованием кислоты и газа.

Параллельно подозрительные колонии подвергали идентификации методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (Bruker MALDI Biotyper) для более точного определения видовой принадлежности выделенных микроорганизмов [75, 78].

2.5 Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам

Чувствительность микроорганизмов к антибактериальным препаратам (АБП) определяли по МУК 4.2.1890-04 «Методические указания. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам», методом серийных разведений с установлением минимальной подавляющей концентрации (МПК) [52]. Минимальная подавляющая концентрация определялась как наименьшая концентрация препарата, при которой подавляется видимый рост микроорганизмов [52].

Для проведения исследования готовили стандартную суспензию микроорганизмов, соответствующую $1,5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл (что соответствует стандарту мутности 0,5 по МакФарланду). Затем готовили серийные разведения культур микроорганизмов.

Основной раствор АБП готовили с учетом его активности. После определения расчетного количества АБП, готовили близкую к расчетной навеску и пересчитывали количество необходимого растворителя по формулам (1) и (2). На питательном бульоне готовили последовательные двукратные разведения препарата. В планшеты с 0,5 мл соответствующего разведения АБП вносили по 0,5 мл стандартизованного инокулюма. Параллельно ставили контроль роста микроорганизма без добавления АБП. Посевы инкубировали при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 16–24 ч в зависимости от вида исследуемого микроорганизма. После инкубации оценивали наличие видимого роста культуры в пробирках.

$$m_{AB_{теор.}} (мг) = \frac{C(мкг/мл) \times V_{теор.} (мл)}{A (содержание АПБ в мкг/мг)}, \quad (1)$$

где $m_{AB_{теор.}}$ – расчетная (теоретическая) навеска АБП;

C – необходимая концентрация АБП;

$V_{теор.}$ – объем растворителя для растворения теоретической навески;

A – активность АБП (количество активного вещества, содержащегося в субстанции).

$$V_{практик.} (мл) = \frac{m_{AB_{практик.}} (мг) \times V_{практик.} (мл)}{m_{AB_{теор.}} (мг)}, \quad (2)$$

где $V_{практик.}$ – объем растворителя для растворения практической навески;

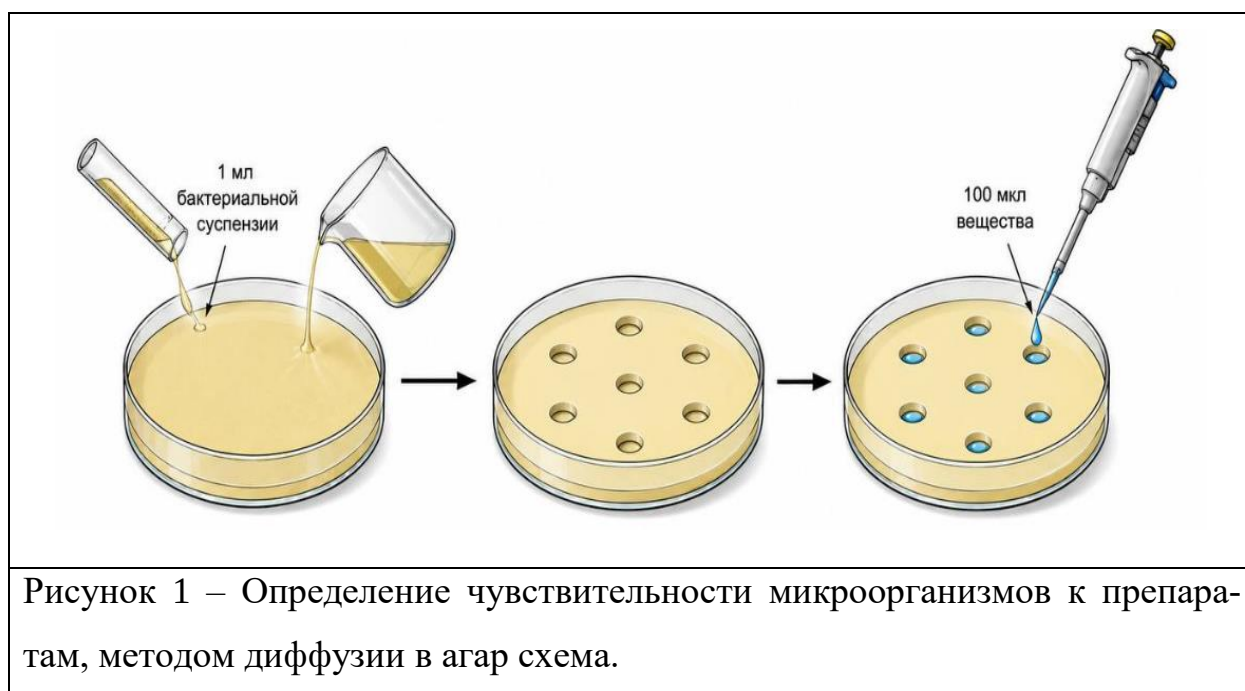
$m_{AB_{практик.}}$ – полученная навеска АБП;

$m_{AB_{теор.}}$ – расчетная (теоретическая) навеска АБП;

$V_{теор.}$ – объем растворителя для растворения теоретической навески [52].

Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным-препаратам методом диффузии в агар. Чувствительность микроорганизмов к АПБ дополнительно определяли методом диффузии в агар с использованием лунок. Метод основан на диффузии исследуемого вещества из лунки в питательную

среду, предварительно засеянную (глубинный посев) тест-культурой. В застывшем агаре стерильным пробойником формировали лунки диаметром 6–8 мм на равном расстоянии друг от друга, в которые вносили исследуемые растворы, оставляя одну лунку для контроля. Чашки Петри инкубировали при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 24 ч. Чувствительность оценивали по диаметру зоны задержки роста микроорганизмов вокруг лунки, который замеряли линейкой или штангенциркулем (рис 1.)



2.6 Методы определения дезинфицирующего действия биоцидов

В основе работы лежали методические указания «О порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики» (утв. ГУВ Госагропрома СССР от 07.01.1987 г.), «Правила проведения дезинфекции и дезинвазии объектов государственного ветеринарного надзора» (М., 2002), «Руководство Р 4.2.2643–10. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфицирующих средств для оценки их эффективности и безопасности» (Издание официальное, М., 2011) [49, 50].

Тест-образцы из пластика, стали, кафеля, дерева и бетона инокулировали культурами *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P, *B.cereus* шт

96. Посевы выдерживали при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$, результаты фиксировали через 24 ч и на 7-е сутки [49, 50]. Для обеспечения статистической достоверности опыты проводили в трехкратной повторности.

2.7 Методы статистической обработки результатов исследования

Все эксперименты выполняли не менее чем в трех повторностях, что позволяло обеспечить воспроизводимость и достоверность полученных результатов. Статистическую обработку экспериментальных данных, а также построение графиков и диаграмм проводили с использованием программы Microsoft Excel. Для оценки достоверности различий между средними значениями применяли критерий Стьюдента. При статистической обработке рассчитывали среднее арифметическое значение ($\bar{X}$), его ошибку (m) и 95%-й доверительный интервал (I95) [79]. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p \leq 0,05$.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Биологическая безопасность птицеводческих объектов

Биологическая безопасность птицеводческих объектов представляет собой систему организационных, санитарно-гигиенических и ветеринарных мероприятий, направленных на предотвращение проникновения и распространения патогенных микроорганизмов [22, 24, 62]. Данная система охватывает все этапы производственного цикла, начиная от инкубации яйца и заканчивая отправкой готовой продукции потребителю [34, 78]. Эффективность биозащиты напрямую определяет экономическую стабильность предприятия, сохранность поголовья и безопасность продукции для конечного потребителя [9, 41].

Основные угрозы биологической безопасности подразделяют на внешние и внутренние. Внешние факторы связаны с заносом инфекции из окружающей среды, с кормами, водой, транспортными средствами, персоналом и дикой фауной [17, 80]. Внутренние факторы включают циркуляцию микроорганизмов внутри самого хозяйства между птицей разных возрастных групп, а также накопление патогенов в подстилке, воздухе и технологическом оборудовании [46, 53, 62]. Для построения грамотной системы защиты необходимо четко понимать, какие именно микроорганизмы представляют опасность [17, 58].

Среди бактериальных контаминантов наибольшую значимость имеют представители семейства *Enterobacteriaceae* [14, 48, 182]. Сальмонеллы занимают особое место, поскольку некоторые серотипы вызывают не только заболевание птицы, но и тяжелые пищевые токсикоинфекции у людей [4, 5, 17]. *Salmonella enteritidis* и *Salmonella typhimurium* являются наиболее распространенными при-

чинами сальмонеллеза у человека, связанного с потреблением яиц и мяса птицы [4, 5, 14, 17]. Кампилобактер также широко присутствует в кишечнике здоровой птицы и при нарушении технологии переработки может попадать в готовую продукцию [17]. *Escherichia coli* является условно-патогенным микроорганизмом, который при снижении иммунитета птицы вызывает колибактериоз, поражая дыхательную систему, суставы и внутренние органы [17, 48, 58].

Клостридии представляют отдельную группу опасных бактерий [17]. *Clostridium perfringens* вызывает некротический энтерит, особенно в условиях напольного содержания при нарушении санитарных норм [17, 66]. *Clostridium botulinum* продуцирует токсин, вызывающий ботулизм птиц [17]. Энтерококки и стафилококки также встречаются в птицеводческих хозяйствах, вызывая локальные инфекции и ухудшая качество продукции [17, 26, 182, 179, 92, 114].

Вирусные контаминанты создают наибольшую угрозу из-за высокой контагиозности и способности к быстрому распространению [17]. Вирус гриппа птиц, особенно высокопатогенные штаммы H5N1 и H7N9, способны вызывать стопроцентную гибель зараженного поголовья в течение нескольких суток [17, 55]. Эпизоотии гриппа приводят к масштабному уничтожению птицы и огромным экономическим потерям [41]. Вирус болезни Ньюкасла поражает респираторную и нервную системы, а также желудочно-кишечный тракт, вызывая до 90 % летальности у непривитого поголовья [17]. Вирус инфекционного бронхита кур поражает респираторный тракт и репродуктивные органы, приводя к снижению яйценоскости и ухудшению качества скорлупы [17]. Вирус инфекционной бурсальной болезни поражает фабрициеву сумку, вызывая иммуносупрессию и повышая восприимчивость птицы к другим инфекциям [17, 66].

Для идентификации контаминантов применяют классические бактериологические методы и современные молекулярно-генетические технологии [38, 53]. Посев на селективные среды, подсчет колоний, определение чувствительности к антибиотикам остаются базовыми процедурами [34, 53, 58]. Полимеразная цепная реакция позволяет с высокой точностью и скоростью выявлять специфические фрагменты ДНК патогенов [38, 69]. Иммуноферментный анализ и масс-

спектрометрию используют для идентификации серотипов и токсинов [65, 67]. Мониторинг микробного фона в помещениях проводят с помощью аэрометрических и смывных проб [24, 34]. Регулярный контроль кормов на микотоксины обязателен для всех хозяйств, использующих комбикорма собственного производства [48].

Система биологической безопасности включает несколько уровней защиты [22, 24, 62]. Первый уровень – карантин и контроль входа. Все транспортные средства проходят дезинфекционную обработку [22, 64]. Персонал переодевается в специальную одежду и обувь, проходит санитарные обработки [24, 62]. Посещение производственных зон посторонними лицами строго ограничено [22]. Второй уровень – разделение помещений на «чистые» и «грязные» зоны с соблюдением направления технологических потоков [24, 62]. Воздух, вода и корма проходят регулярный контроль [17, 48]. Третьим уровнем является санитарная обработка между циклами: очистка, мойка, дезинфекция, аэрозольная обработка и оценка эффективности с помощью смывов [22, 24, 34, 62].

Особое внимание уделяется состоянию подстилки при напольном содержании [17, 62]. Влажность и температура подстилки влияют на размножение микроорганизмов [17]. Регулярная аэрация, поддержание микроклимата и своевременная замена загрязненных участков позволяют контролировать микробную нагрузку [62, 66]. Применение подкислителей кормов и пробиотиков помогает поддерживать естественную микрофлору кишечника и препятствует размножению патогенов [19, 51, 66]. Водоснабжение также критично: бактериологический анализ воды необходимо проводить не реже одного раза в квартал, а системы поения промываются регулярно [24, 62].

Биологическая безопасность в птицеводстве не является статичным набором правил [22, 62]. Это непрерывный процесс, требующий постоянного обучения персонала, обновления методик контроля и внедрения новых технологий [9, 53]. Понимание того, какие микроорганизмы являются ключевыми контаминантами, позволяет точно настраивать систему профилактических мер [46, 58]. Сочетание строгой гигиены, вакцинации, контроля кормов и воды, а также регулярного мо-

ниторинга создает надежный барьер между патогенами и поголовьем птицы [22, 24, 41, 66]. Только комплексный подход гарантирует защиту здоровья птицы, безопасность продукции и устойчивую работу предприятия в условиях постоянного инфекционного давления [9, 41, 53, 78].

3.2 Сбор и идентификация основных контаминантов птицеводческой продукции

Поверхность скорлупы куриных яиц служит естественным резервуаром разнообразной микрофлоры, включая условно-патогенные и патогенные бактерии (рис. 2). Проведена идентификация микроорганизмов, выделенных со 120 образцов куриных яиц категорий С0–С2 из 10 регионов РФ, включая фермерские хозяйства. Видовую идентификацию выполняли классическим способом и подтверждали полученные данные методом MALDI-ToF масс-спектрометрии. Дополнительно было определено общее микробное число.

Результаты по определению общего микробного числа представлены в таблице 1. Значения общего микробного числа в смывах с поверхности партий товарных яиц варьируются от $1,1 \cdot 10^2$ до $5,5 \cdot 10^7$ КОЕ/мл. Статистический анализ данных показал, что среднее значение общего микробного числа (ОМЧ) составило $1,4 \cdot 10^6$ КОЕ/мл. Распределение общего микробного числа по диапазонам выявило, что большая доля образцов (28,6 %) находилась в диапазоне 10^3 – 10^4 КОЕ/мл. В диапазоне 10^5 – 10^6 КОЕ/мл находилось 24,4 % образцов, а в диапазоне 10^4 – 10^5 КОЕ/мл – 18,5 %. Наименьшая доля проб (16,8 %) была отнесена к диапазону 10^2 – 10^3 КОЕ/мл, что свидетельствует о хорошем санитарном состоянии отдельных партий яиц [75, 78]. Вместе с тем в 11,6 % образцов уровень микробной обсеменённости превышал 10^6 КОЕ/мл [75].



Рисунок 2 – Поверхность скорлупы

Таблица 1 – Распределение общего микробного числа по диапазонам (n = 120)

Диапазон ОМЧ (КОЕ/мл)	Число образцов	Доля образцов, %
10^2-10^3	20	16,8
10^3-10^4	34	28,6
10^4-10^5	22	18,5
10^5-10^6	29	24,4
$>10^6$	14	11,6

Стоит отметить, что ни в одном смыве не было обнаружено бактерий рода *Salmonella*. Все выделенные виды бактерий, представлены на рисунке 3. Всего было идентифицировано 33 вида бактерий [75].

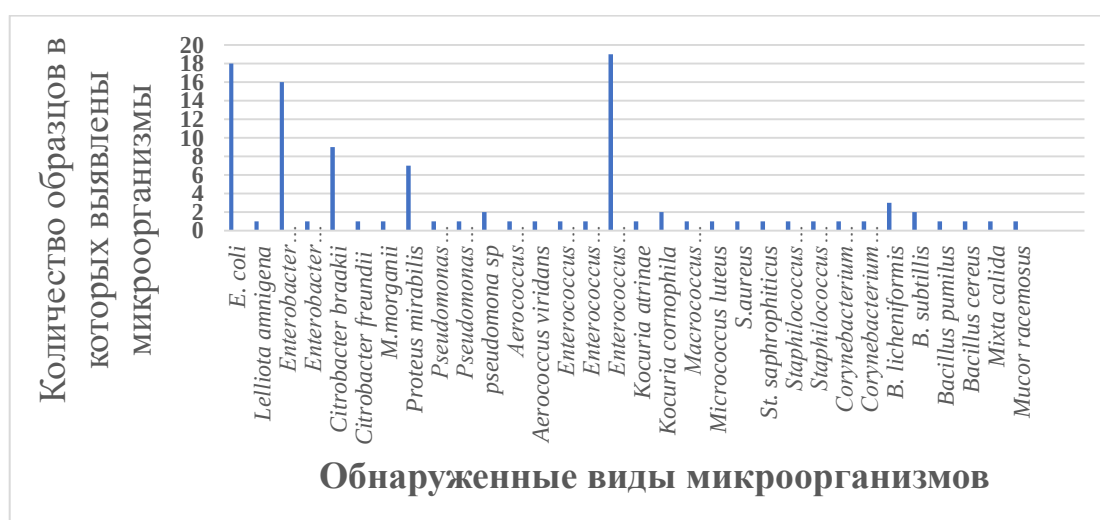


Рисунок 3 – Виды бактерии, выделенные с поверхности скорлупы товарных яиц

По результатам исследования было выявлено наличие разнообразной бактериальной микрофлоры, представленной как условно-патогенными, так и сапрофитными микроорганизмами [75, 78]. Всего идентифицировано более 30 видов микроорганизмов, относящихся к различным таксономическим группам.

Среди выделенных микроорганизмов преобладали грамотрицательные бактерий, на долю которых приходилось 57,8 % всех изолятов. Грамположительные

микроорганизмы составили 41,2 %, тогда как микроскопические грибы были представлены единичным изолятом 1,0 %.

Наибольшую долю выделенных изолятов составили представители родов *Enterococcus*, *Escherichia*, *Enterobacter* и *Citrobacter*. Среди них чаще всего обнаруживались *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* и *Enterobacter cloacae*. Также относительно высокой встречаемостью характеризовались *Citrobacter braakii* и *Proteus mirabilis* [75, 78].

Преобладание представителей семейства *Enterobacteriaceae* и энтерококков может свидетельствовать о контаминации поверхности скорлупы микроорганизмами окружающей среды и органическими загрязнениями, что указывает на важность соблюдения санитарно-гигиенических требований при содержании птицы, сборе и хранении яиц. Эти микроорганизмы широко распространены в кишечнике животных и во внешней среде и нередко используются в качестве индикаторов санитарного состояния объектов.

Наряду с этим были выявлены представители родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Kocuria* и другие микроорганизмы, большинство из которых выделялось единично. Их присутствие может быть связано с естественной микрофлорой окружающей среды, загрязнением подстилки, воздуха, кормов или оборудования птицеводческого помещения [75, 78].

Таким образом, микробное сообщество поверхности яичной скорлупы характеризовалось значительным таксономическим разнообразием с преобладанием условно-патогенных бактерий кишечного происхождения и микроорганизмов окружающей среды. Полученные результаты подтверждают, что поверхность скорлупы может служить резервуаром разнообразной микрофлоры, а соблюдение санитарных мероприятий на всех этапах получения и хранения яиц имеет важное значение для снижения уровня микробной контаминации продукции.

3.3 Бицидные свойства нового кислородсодержащего средства

3.3.1 Изучение ингибирующих свойств методом диффузии в агар

Оценку антимикробной активности исследуемого препарата проводили в несколько этапов. На первом этапе методом диффузии в агар определяли наличие и выраженность ингибирующего действия в отношении исследуемых микроорганизмов. Далее методом серийных разведений оценивали бактерицидную активность препарата [53].

Для подтверждения воздействия на бактериальные клетки и анализа возникающих изменений проводили электронно-микроскопическое исследование после различных экспозиций препарата.

Антимикробную активность кислородсодержащего дезинфицирующего средства в отношении микроорганизмов *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P определяли методом диффузии в агар с использованием лунок (рис.4). Для этого в чашки Петри вносили по 1 мл суспензии тест-культур в концентрации 10^6 м.к/мл и равномерно распределяли по поверхности агара, после чего заливали расплавленную питательную среду. После застывания среды в агаре формировали лунки на одинаковом расстоянии друг от друга, в которые вносили по 100 мкл дезинфицирующего средства концентрацией 0,5; 1; 2; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5 % (см. рис. 1).

Чашки Петри инкубировали в течение 24 ч при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$, после чего измеряли диаметры зон задержки роста микроорганизмов (табл. 2). Наибольшая зона задержки роста для *E. coli* ATCC 25922 наблюдалась при концентрации 3,5 % (рис.5, а). Наибольшая зона задержки роста для *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P – при концентрации 4 % (рис. 5, б).

Таблица 2 – Результаты исследований чувствительности микроорганизмов к действию кислородсодержащего препарата

Виды бак- терий	Концентрация кислородосодержащего препарата, %									
	0,5	1	2	3	3,5	4	4,5	5	5,5	К

<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	9,6 ± 0,3	11,6 ± 0,3	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	-	-	+
<i>S. aureus</i> ATCC 6538- PFDA 209-P	-	-	-	15,3 ± 0,3	15,3 ± 0,3	24,0 ± 0,5	24,0 ± 0,5	24,0 ± 0,5	24,0 ± 0,5	+
Примечание: «+» – наличие роста микроорганизмов; «-» – отсутствие роста микроорганизмов. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – стандартная ошибка среднего, К – контроль.										

Для оценки влияния кислородсодержащего дезинфицирующего препарата на динамику развития биопленок использовали метод культивирования на стерильных дисках с последующей фиксацией образцов для сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Микроорганизмы культивировали на МПА при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 24 ч. Для эксперимента использовались микроорганизмы с

3-й генерацией клеток. Согласно методическим рекомендациям, стандартная суспензия должна иметь начальную концентрацию взвеси $1,5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл. Далее были приготовлены серийные разведения культур микроорганизмов до конечной концентрации бактерий 10^6 м.к./мл для *E. coli* ATCC 25922 и 10^5 м.к./мл для *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P. Взвесь бактерий в количестве 1,0 мл вносили на поверхность стерильных фильтров, предварительно размещенных на МПА в чашки Петри. Культивирование микроорганизмов проводили при $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение

24 ч. Оценка выросших колоний проводилась визуально. Фильтры с колониями подвергали фиксации парами 25 %-го глутарового альдегида в течение 4 ч, обезвоживание препаратов проводили пропиленоксидом в течение 4 ч. Морфометрические показатели учитывали при достоверной частоте встречаемости $\geq 90,0$ % поля зрения оптического микроскопа Olympus CX 43 (Япония) и сканирующего электронного микроскопа SM-20 (Китай) [65].

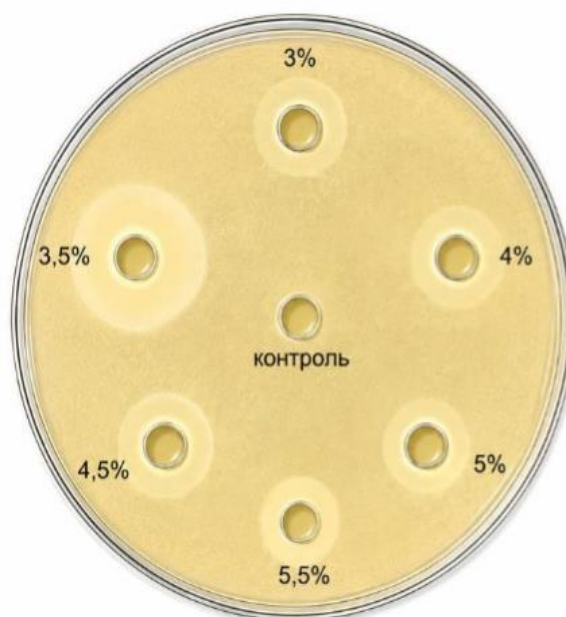
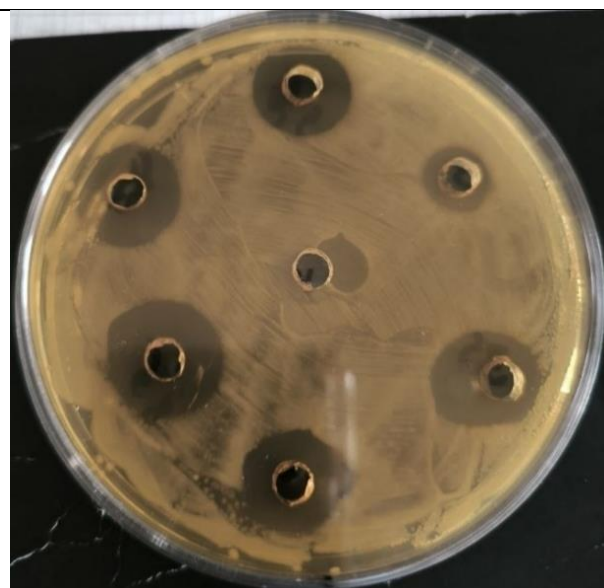
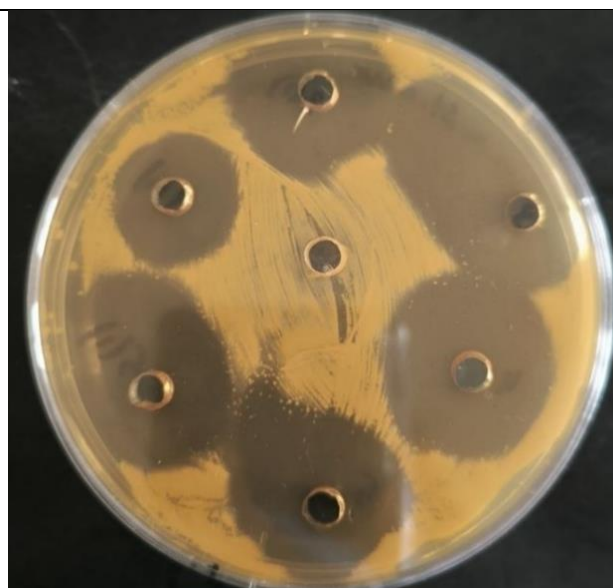


Рисунок 4 – Схема экспериментальных исследований влияния кислородосодержащего препарата на чувствительность микроорганизмов.



а



б

Рисунок 5 – оценка чувствительности микроорганизмов к кислородосодержащему препарату, $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, 24 ч. Культуры микроорганизмов: а – *E. coli* ATCC 25922; б – *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P

3.3.2 Изучение минимальной подавляющей концентрации (МПК) и минимальной бактерицидной концентрации (МБК) кислородсодержащего биоцида

Изучение минимальной подавляющей концентрации (МПК) и минимальной бактерицидной концентрации (МБК) кислородсодержащего биоцида является

ключевым этапом в оценке его антимикробной эффективности и обосновании рабочих дозировок при применении в качестве дезинфектанта в птицеводстве [53].

Определение этих двух показателей позволяет установить границы, в которых препарат может либо остановить размножение патогенов, либо полностью их уничтожить. Различие между МПК и МБК имеет принципиальное значение для практики: бактериостатический эффект может быть достаточным для профилактики, тогда как бактерицидный требуется для ликвидации уже сложившегося очага инфекции или для обработки оборудования после контакта с зараженным поголовьем.

Методология определения МПК основана на серийных разведениях биоцида в жидкой питательной среде. Используют стерильный бульон, в который вносят стандартизированную бактериальную суспензию с концентрацией около 10^5 или 10^6 КОЕ/мл [52]. После инкубации при оптимальной температуре в течение 18–24 ч регистрируют наименьшую концентрацию, при которой видимый рост микроорганизмов отсутствует [52]. Для кислородсодержащих биоцидов этот метод имеет особенности.

Бактерицидную активность кислородсодержащего дезинфицирующего средства в отношении микроорганизмов *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P оценивали методом серийных разведений с определением минимальной подавляющей концентрации (МПК). Исследование проводили в мясо-пептонном бульоне с использованием стерильных 96-луночных полистироловых планшетов размером $128 \times 85,5 \times 17$ мм $\pm 0,2$ мм («МиниМед», Россия). В качестве исходной использовали концентрацию препарата 64 %, после чего готовили ряд последовательных двукратных разведений в диапазоне концентраций от 64 до 0,25 %. В лунки вносили суспензию тест-культур концентрацией 10^6 КОЕ/мл и инкубировали в течение 24 ч при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$. После инкубации результаты оценивали визуально по отсутствию или наличию помутнения питательной среды, свидетельствующего о росте микроорганизмов (табл. 3).

Из всех лунок планшета выполняли высев по 10 мкл содержимого на поверхность чашек Петри с мясопептонным агаром (МПА). Перед посевом в лунки добавляли нейтрализатор для прекращения действия остаточных количеств дезинфицирующего средства. Полученный материал равномерно распределяли по поверхности питательной среды стерильным шпателем. Затем чашки инкубировали при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 24 ч, после чего определяли количество выросших колоний (в КОЕ) [52]. На основании полученных данных устанавливали минимальную концентрацию препарата (табл. 4).

Таблица 4 – Минимальная бактерицидная концентрация кислородосодержащего препарата в отношении тест-штаммов микроорганизмов

[illegible]

Бактерицидную активность кислородсодержащего дезинфицирующего средства также определяли в отношении изолятов микроорганизмов, выделенных с поверхности яиц. Исследование проводили аналогичным методом серийных разведений с последующим высевом на плотную питательную среду и подсчетом выросших колоний (в КОЕ). Полученные результаты использовали для оценки чувствительности выделенных изолятов к исследуемому дезинфицирующему средству (табл. 5, 6).

Таблица 5 – Минимальная подавляющая концентрация кислородсодержащего препарата на изоляты микроорганизмов

Изоляты	Концентрация кислородсодержащего препарата, %									
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	К
Грамотрицательные (палочки)										
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>L. amnigena</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>E. cloacae</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>E. ludwigii</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>C. braakii</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>C. freundii</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>M.morganii</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>P. mirabilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. graminis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>P. taetrolens</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Грамположительные (кокки)										
<i>A. urinaeequi</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>A. viridans</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Изоляты	Концентрация кислородосодержащего препарата, %									
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	К
<i>E. casseliflavus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>E. columbae</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>K. atrinae</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>K. cornophila</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>M. caseolyticus</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>M. luteus</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

<i>S. saprophyticus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>S. equorum</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>S. xylosus</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Грамположительные (палочки)										
<i>C. freneyi</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>C. stationis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Изоляты	Концентрация кислородосодержащего препарата, %									
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	К
<i>B. pumilus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. cereus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Примечание: «+» – наличие роста микроорганизмов; «-» – отсутствие роста микроорганизмов, К – контроль.										

Таблица 6 – Минимальная бактерицидная концентрация кислородосодержащего препарата на изоляты микроорганизмов

Изоляты	Концентрация кислородосодержащего препарата, %									
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	К
Грамотрицательные (палочки)										
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>L. amnigena</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

	-	-	-	-	-	-				
<i>E. cloacae</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>E. ludwigii</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>C. braakii</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>C. freundii</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>M. morganii</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>P. mirabilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Изоляты	Концентрация кислородосодержащего препарата, %									
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	К
<i>P. graminis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>P. taetrolens</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Грамположительные (кокки)										
<i>A. urinaeequi</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>A. viridans</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>E. casseliflavus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>E. columbae</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>K. atrinae</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>K. cornophila</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>M. caseolyticus</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>M. luteus</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>S. saprophyticus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Изоляты	Концентрация кислородосодержащего препарата, %									
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	К
<i>S. equorum</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>S. xylosus</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Грамположительные (палочки)										
<i>C. freneyi</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>C. stationis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>B. licheniformis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. pumilus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. cereus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Примечание: «+» – наличие роста микроорганизмов; «-» – отсутствие роста микроорганизмов; К – контроль.										

3.3.3 Изучение дезинфицирующего действия кислородсодержащего биоцида на обрабатываемые поверхности

После определения минимальных подавляющих и бактерицидных концентраций исследуемого средства была проведена оценка его дезинфицирующей активности на искусственно загрязненных поверхностях. Исследовали его действие на тест-объектах из пластика, нержавеющей стали, кафеля, дерева и бетона, загрязненных суточными культурами *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P в концентрации $2 \cdot 10^9$ клеток/мл. Растворы дезинфицирующего средства наносили в объеме 3–5 мл на 100 см² с последующей экспозицией от 5 до 60 мин.

После окончания экспозиции с тест-объектов делали смывы и проводили посев на питательные среды. Результаты учитывали после инкубации при температуре 37 °С в течение 24 ч по наличию или отсутствию роста микроорганизмов [49, 50]. В качестве контроля использовали необработанные тест-поверхности.

Полное подавление роста *E. coli* ATCC 25922 достигалось при обработке 3,5%-м раствором дезинфицирующего средства при экспозиции 30 минут. В отношении *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P обеззараживающий эффект наблюдался при использовании 4%-ного раствора также при экспозиции 30 минут (табл. 7).

Таблица 7 – Дезинфицирующая активность кислородсодержащего препарата в отношении тест-штаммов *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P

Концентрация, %	Экспозиция, мин	Тест-штамм	Тест-объекты					К
			пластик	нержавеющая сталь	кафель	дерево	бетон	
3,5	5	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	+	+

	15	ATCC 25922	+	+	+	+	+	+
	30		-	-	-	-	-	+
	60		-	-	-	-	-	+
4	5	<i>S. aureus</i> ATCC 6538-P FDA 209-P	+	+	+	+	+	+
	15		+	+	+	+	+	+
	30		-	-	-	-	-	+
	60		-	-	-	-	-	+
Примечание: «+» – наличие роста микроорганизмов; «-» – отсутствие роста микроорганизмов; К – контроль.								

3.3.4 Исследование воздействия кислородсодержащего препарата на структурно-морфологические особенности формирования бактериальных биоплёнок

Формирование биопленок имеет фундаментальное значение для микробной экологии [43, 58, 120]. Биопленки защищают бактерии от стрессов (антибиотики, ультрафиолет, фаги, высыхание, действие иммунной системы), служат резервуаром генов устойчивости и местом горизонтального переноса [33, 106, 148, 149], способствуют выживанию в условиях конкуренции [42, 120]. В клинической микробиологии биопленки – основная причина хронических инфекций, плохо поддающихся терапии (например, инфекции протезов, катетеров, эндокардит, муковисцидоз) [106, 148, 105]. В промышленности и экологии биопленки могут быть как полезным (биоремедиация, очистка сточных вод, производство уксуса), так и вредным (биообрастание корпусов судов, коррозия трубопроводов, засорение фильтров) явлением [40, 43, 120].

Важным аспектом формирования биопленки является межклеточная коммуникация, или Quorum Sensing (QS) [43, 96, 184, 186]. Бактерии секретируют сигнальные молекулы (автоиндукторы), концентрация которых увеличивается по мере роста популяции [96]. При достижении порогового уровня автоиндукторы запускают каскад регуляторных событий, координируя экспрессию генов, связанных с биопленкообразованием [43, 96]. У грамотрицательных бактерий наиболее изучены N-ацил-гомосерин-лактоны (AHL), у грамположительных – аутоиндуци-

рующие пептиды [96, 184]. QS регулирует синтез EPS, формирование архитектуры и, что особенно важно, инициирует заключительную стадию – дисперсию [43, 120, 186, 85].

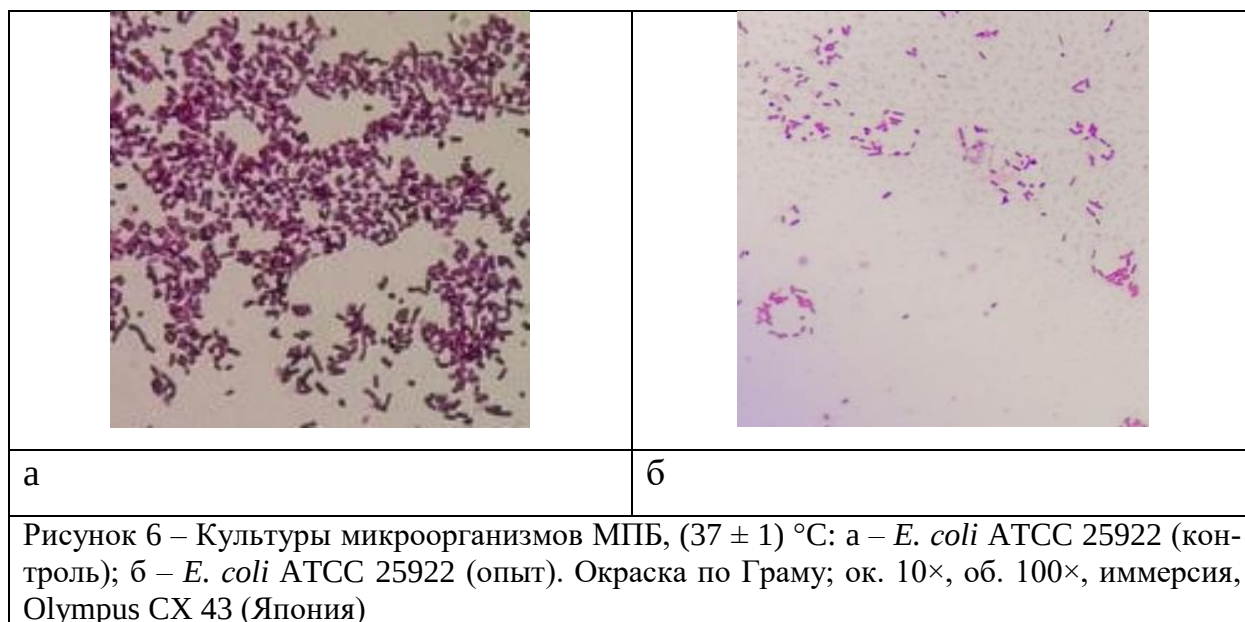
Регуляция биопленкообразования на молекулярном уровне включает множество сигнальных путей [43, 96]. Помимо QS, активное участие принимают циклические динуклеотиды (с-di-GMP), которые являются глобальным регулятором перехода от планктонной к биопленочной форме существования [43, 96, 146]. Высокий уровень с-di-GMP активирует синтез EPS и подавляет подвижность, низкий – наоборот [43]. Фосфорилирование, протеолиз, малые РНК и транскрипционные факторы (например, CsgD, VolA, RpoS) интегрируют сигналы внешней среды (доступность питательных веществ, температура, осмолярность, pH) и контролируют экспрессию адгезинов и EPS [43, 96]. На межвидовом уровне биопленки часто представляют собой смешанные сообщества, где разные виды бактерий взаимодействуют через метаболическую кооперацию, конкуренцию или мутуализм [42, 43, 7].

Таким образом, формирование биопленок – это не просто случайная агрегация клеток, а высокоорганизованный, программируемый процесс, обеспечивающий бактериям эволюционное преимущество в борьбе за выживание в самых разнообразных нишах [43, 120, 148]. Понимание молекулярных механизмов этого процесса открывает пути для разработки антибиопленочных стратегий: использование ингибиторов QS, ферментов, разрушающих матрикс, и молекул, блокирующих адгезию [96, 183, 85].

На следующем этапе изучали влияние кислородосодержащего препарата на динамику формирования биопленок исследуемых микроорганизмов. Подробное описание этапов формирования бактериальных биоплёнок представлено в разделе 3.4, поэтому в данном разделе они рассматриваются лишь кратко.

Исследование морфологии *E. coli* ATCC 25922 при действии кислородосодержащего препарата, концентрация 3,5 %. При исследовании морфологии *E. coli* ATCC 25922 (контроль) на первом этапе выявляли адгезию отдельных бактериальных клеток к поверхности субстрата. Бактерии имели типичную

палочковидную форму располагались преимущественно небольшими группами (рис. 6, а, б). Через последующие сроки инкубации наблюдалось формирование тонкого диффузного слоя, представленного рыхло расположенными клетками. В отдельных участках выявлялись начальные признаки коагрегации и образования микроколоний, объединенных межклеточным матриксом



В контроле выявляется плотное скопление бактериальных клеток, палочковидной формы. Клетки объединены межклеточным матриксом, плотно примыкают друг к другу (рис.7, а).

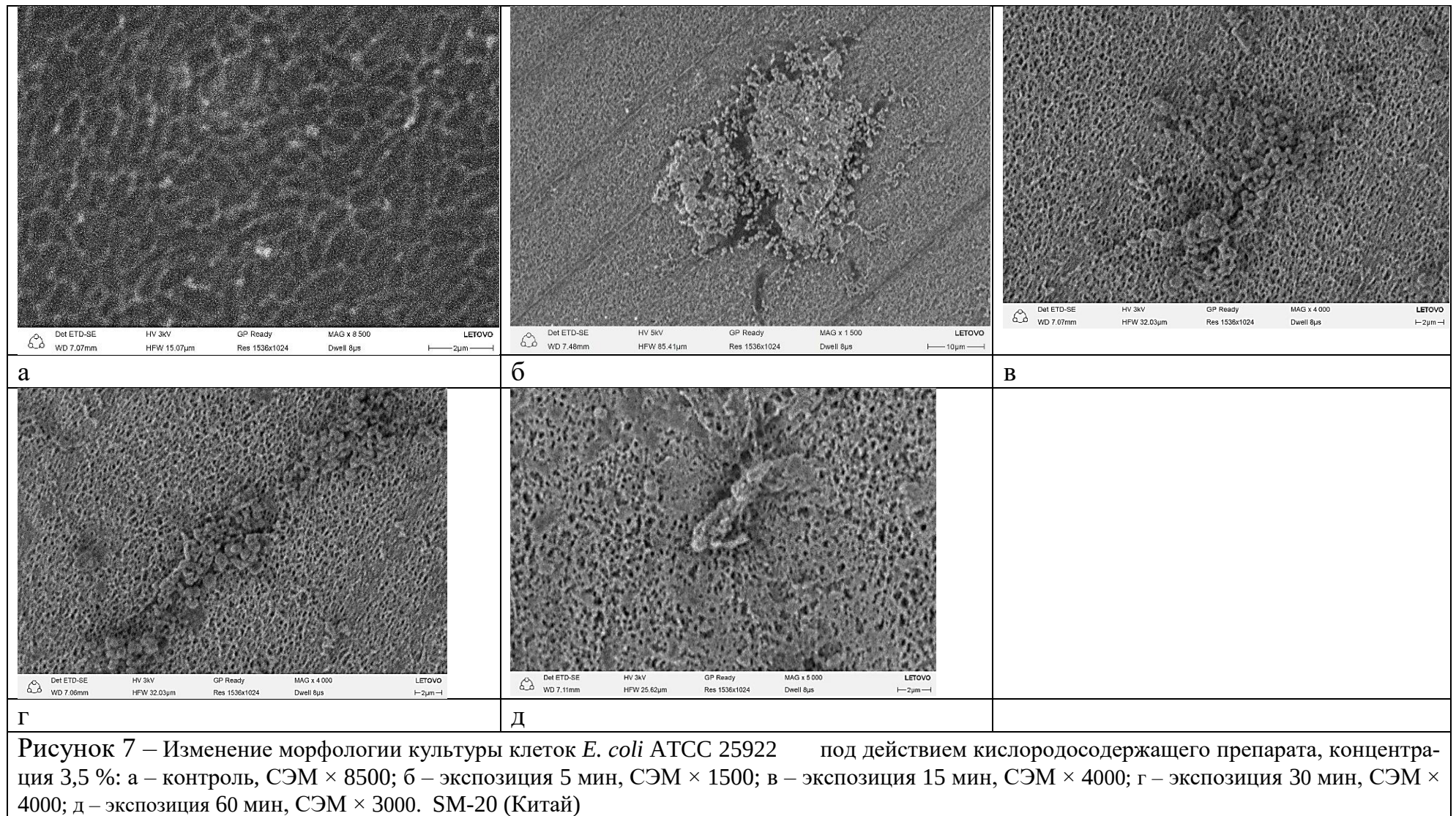
При экспозиции 5 мин в поле зрения выявляются локальные скопления клеток, образующие агрегаты неправильной формы. Сплошной слой биопленки отсутствует. Вокруг агрегатов диффузно расположены единичные клетки микроорганизма (рис.7, б).

При экспозиции 15 мин отмечали уменьшение размеров бактериальных агрегатов и снижение плотности колонизации поверхности. Биоплёнка сохранялась лишь в виде отдельных рыхлых микроколоний, что свидетельствует о прогрессирующей деструкции биоплёночной структуры под действием препарата (рис.7, в).

При воздействии в течение 30 мин микроорганизмы формируют отдельные компактные скопления, соединённые между собой участками менее плотной колонизации. Сплошной биоплёночный слой отсутствует, а большая часть исследу-

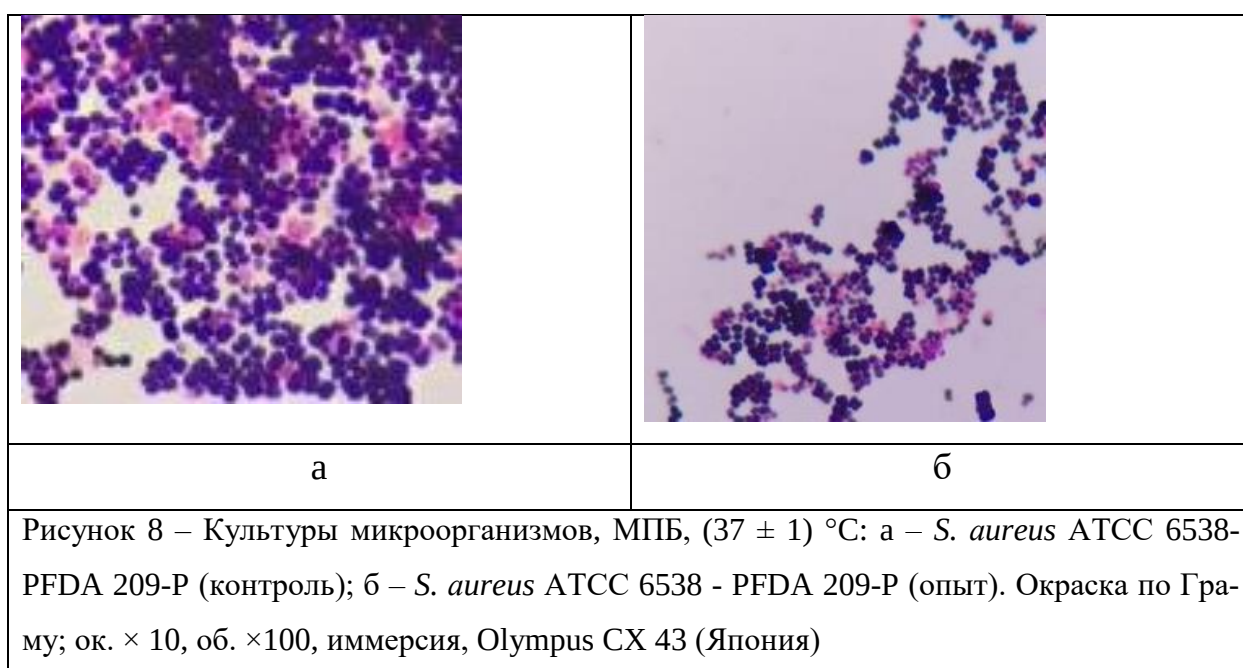
емой поверхности остается свободной от бактериальных клеток. По сравнению с контрольными образцами отмечается снижение плотности колонизации и нарушение целостности биоплёночной структуры (рис.7, г).

При воздействии в течение 60 мин микроколонии практически отсутствуют, межклеточные контакты выражены слабо. Полученные данные свидетельствуют о выраженной деструкции биоплёночной структуры под действием исследуемого дезинфицирующего средства (Рис.7, д).



Исследование морфологии *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P при действии кислородосодержащего средства, концентрация 4 %. Исследование *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P (контроль) выявило активное формирование биопленки. Кокковые клетки располагались компактно, образуя плотные клеточные агрегаты различного размера. Выявлялись многочисленные микроколонии, объединенные хорошо выраженным межклеточным матриксом. В отдельных участках наблюдалось формирование многослойных структур и плотных покровов, под которыми визуализировались бактериальные клетки (рис. 8, а).

После воздействия препарата на поверхности субстрата выявлялись скопления клеток стафилококка, сохраняющих характерную кокковидную форму. Бактерии располагались преимущественно в виде агрегатов различной плотности, однако их распределение носило неравномерный характер. На отдельных участках наблюдались компактные клеточные скопления, соответствующие микроколониям, тогда как сплошной слой биоплёнки не сформировался. Полученные данные могут свидетельствовать о частичном сохранении способности стафилококка к агрегации при одновременном угнетении процессов формирования биоплёночной структуры под действием исследуемого вещества (рис. 8, б).



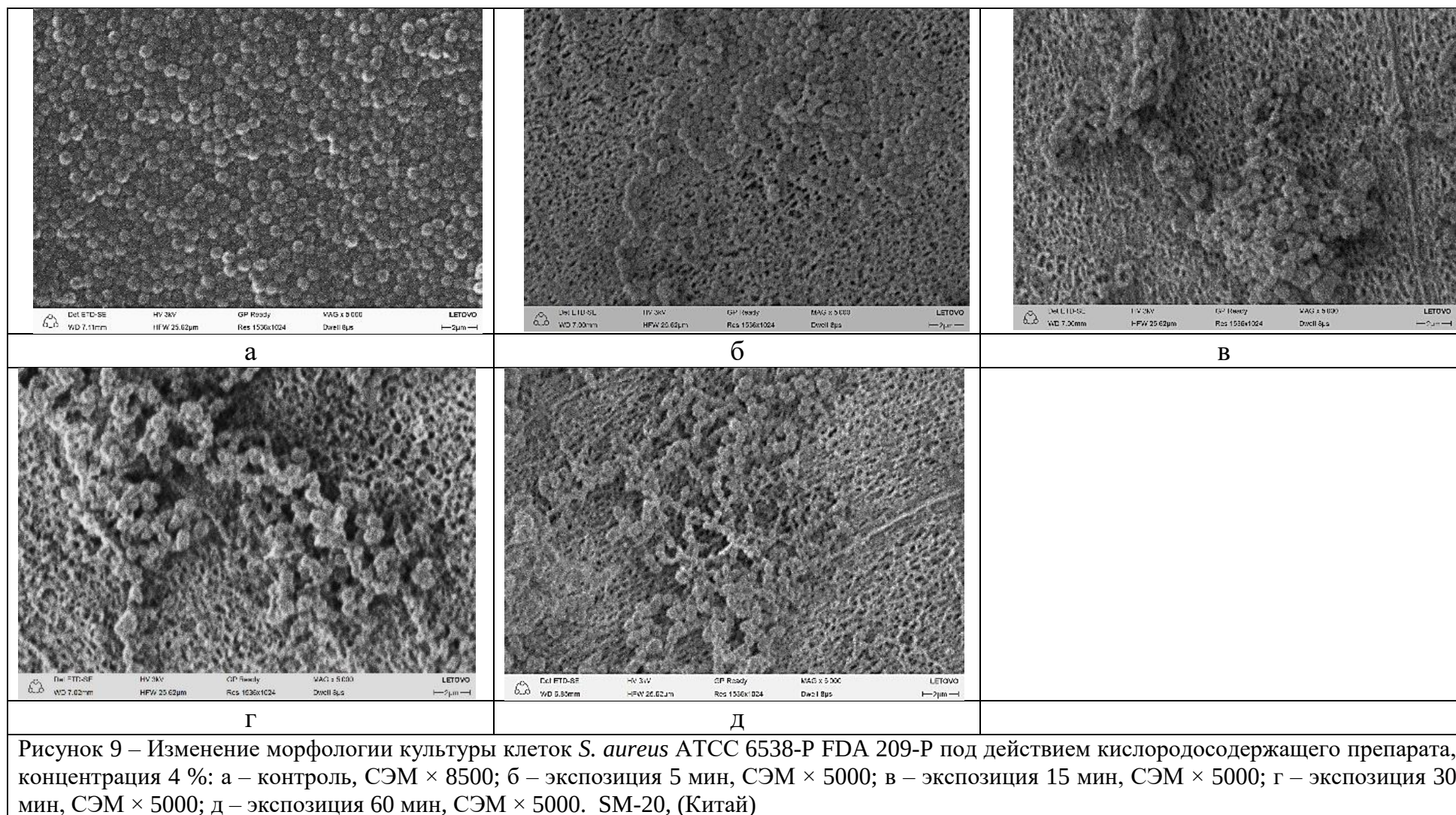
В контроле бактериальные клетки располагаются достаточно плотно, формируя крупные агрегаты и участки непрерывного биоплёночного слоя. (рис. 9, а).

Полученные данные свидетельствуют о том, что при экспозиции дезинфицирующего средства в течение 5 мин происходит лишь начальная деструкция биоплёнки, не приводящая к её существенному разрушению (рис. 9, б).

После действия препарата в течение 15 мин можно видеть два бактериальных агломерата и отдельные клетки стафилококка. Сплошной слой биопленки отсутствует. Клетки в целом сохраняют шаровидную форму, однако отличаются значительной вариабельностью размеров. Также отмечаются признаки нарушения целостности клеточной стенки и повреждения бактериальных клеток (рис. 9, в).

После воздействия в течение 30 мин крупные бактериальные агломераты отсутствуют. Большинство клеток деформированы. Наблюдаются признаки нарушения нормальной клеточной структуры, а также начальные стадии формирования нитевидных образований (рис. 9, г).

После воздействия в течение 60 мин визуализируются нитевидные структуры и деформированные бактериальные клетки. Отмечаются выраженные морфологические изменения, свидетельствующие о нарушении нормального строения клеток под действием препарата (рис. 9, д).



3.4 Бицидные свойства нового средства на основе хлоргексидина основания

3.4.1 Изучение ингибирующих свойств методом диффузии в агар

Для оценки влияния препарата на основе хлоргексидина основания на динамику развития биопленок микроорганизмов *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P, *B.cereus* шт 96 антимикробную активность определяли методом лунок. Метод описан в разделе 2.5 и проиллюстрирован на рисунке 10. Исследовали концентрации 0,1; 0,5; 1,5; 1; 2; 2,5; 3; 3,5 %. Чашки инкубировали в течение 24 ч при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$, после чего измеряли диаметры зон подавления роста (табл. 8).

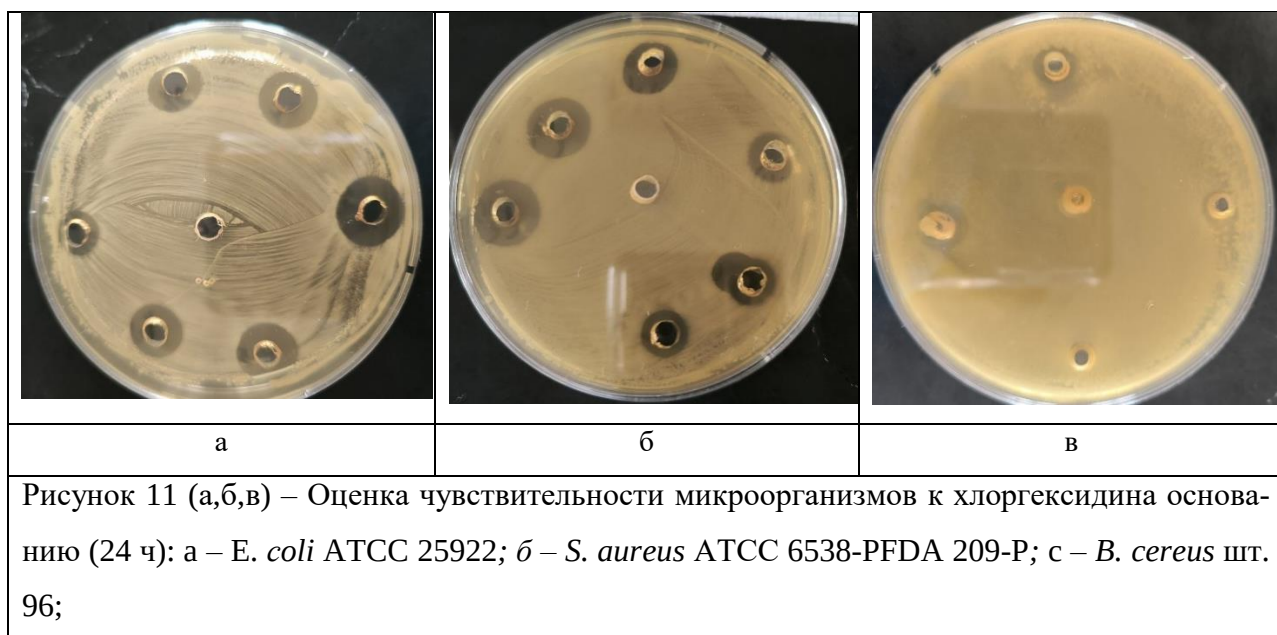
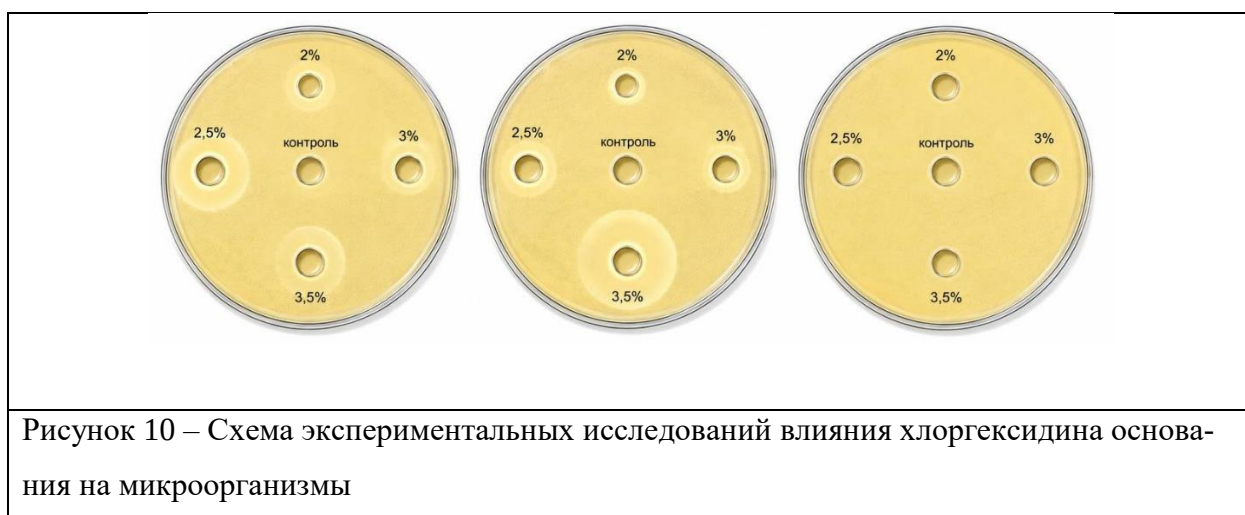
Таблица 8 – Результаты исследований чувствительности микроорганизмов к действию хлоргексидина основания

Вид микроорганизма	Концентрация хлоргексидина основания, %								
	0,1	0,5	1,5	1	2	2,5	3	3,5	К
<i>E. coli</i> ATCC 25922	$5,6 \pm 0,3$	$7,0 \pm 0,5$	$7,0 \pm 0,5$	$7,6 \pm 0,3$	$8,3 \pm 0,3$	$12,3 \pm 0,3$	-	-	+
<i>S. aureus</i> ATCC 6538-P FDA 209-P	$5,3 \pm 0,3$	$6,3 \pm 0,3$	$7,6 \pm 0,3$	$7,6 \pm 0,3$	$8,6 \pm 0,3$	$10,6 \pm 0,3$	$12,6 \pm 0,3$	$13,3 \pm 0,3$	+
<i>B.cereus</i> шт. 96	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Примечание: «+» – наличие роста микроорганизмов; «-» – отсутствие роста микроорганизмов, К – контроль.									

На следующем этапе для оценки влияния дезинфицирующего средства на структуру биопленок использовали метод культивирования на стерильных дисках с последующей фиксацией образцов для сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). На стерильные диски наносили культуру каждого микроорганизма концентрацией 10^6 КОЕ/мл, затем сверху наносили дезинфицирующее средство в концентрациях, вызвавших максимальные зоны подавления роста. Микроорганизмы культивировали на МПА при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течении 24 ч. Выросшие колоний оценивали визуально. Фильтры с колониями подвергали фиксации так же, как и в предыдущих опытах. После

чего готовые образцы были отсняты на сканирующем электронном микроскопе (SM-20, Китай).

Наибольшая зона задержки роста для *E. coli* ATCC 25922 наблюдалась при концентрации 2,5 % (рис.11 а). Для *S. aureus* ATCC 6538-Р FDA 209-Р - при концентрации 3,5 % (рис.11 б). Тогда как на *B. cereus* шт. 96 исследуемое вещество не оказало действия (рис.11 в).



В качестве исходной использовали концентрацию препарата 56 %, после чего готовили ряд последовательных двукратных разведений в диапазоне концентраций от 56 до 0,21875 %. В лунки вносили суспензию тест-культур концентрацией 10^6 КОЕ/мл и инкубировали в течение 24 ч при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$. После инкубации результаты оценивали визуально по отсутствию или наличию помутнения питательной среды, свидетельствующего о росте микроорганизмов (табл. 9).

[illegible]

Дальнейшие исследования проводили аналогично описанным в разделе 3.2.2. После добавления нейтрализатора из всех лунок планшета выполняли высев по 10 мкл содержимого на чашки Петри с МПА. Чашки инкубировали при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 24 ч, после чего определяли количество КОЕ и на основании полученных результатов устанавливали минимальную концентрацию препарата (табл. 10).

Таблица 10 – Минимальная бактерицидная концентрация хлоргексидина основания

Виды микроорганизмов	Концентрация хлоргексидина основания%									
	56	28	14	7	3,5	1,75	0,875	0,4375	0,21875	К
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> ATCC 6538-PFDA 209-P	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>B.cereus</i> шт. 96	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Примечание: «+» – наличие роста микроорганизмов; «-» – отсутствие роста микроорганизмов; К – контроль.										

Исследование бактерицидной активности хлоргексидина основания в отношении изолятов, выделенных с поверхности яиц, проводили таким же образом. Результаты использовали для оценки чувствительности микроорганизмов к препарату (табл. 11, 12).

Таблица 11 – Минимальная подавляющая концентрация хлоргексидин основания

Изоляты	Концентрация хлоргексидина основания, %									
	56	28	14	7	3,5	1,75	0,875	0,4375	0,21875	к
Грамотрицательные (палочки)										
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>L. amnigena</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>E. cloacae</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>E. ludwigii</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>C. braakii</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>C. freundii</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>M. morgani</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>P. mirabilis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>P. graminis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>P. taetrolens</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Грамположительные (кокки)										
<i>A. urinaeequi</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>A. viridans</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Изоляты	Концентрация хлоргексидина основания, %									
	56	28	14	7	3,5	1,75	0,875	0,4375	0,21875	К

<i>E. casseliflavus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>E. columbae</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>K. atrinae</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>K. cornophila</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>M. caseolyticus</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>M. luteus</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>S. saprophyticus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>S. equorum</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>S. xylosus</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Грамположительные (палочки)										
<i>C. freneyi</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. stationis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. licheniformis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Изоляты	Концентрация хлоргексидина основания, %									
	56	28	14	7	3,5	1,75	0,875	0,4375	0,21875	K

<i>B. pumilus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. subtilis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. cereus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» – наличие роста микроорганизмов; «-» – отсутствие роста микроорганизмов; К – контроль.

Таблица 12 – Минимальная бактерицидная концентрация хлоргексидина основания

Изоляты	Концентрация хлоргексидина основания, %									
	56	28	14	7	3,5	1,75	0,875	0,4375	0,21875	К
Грамотрицательные (палочки)										
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>L. amnigena</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>E. cloacae</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>E. ludwigii</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>C. braakii</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>C. freundii</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>M. morganii</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. mirabilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. graminis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Изоляты	Концентрация хлоргексидина основания, %									
	56	28	14	7	3,5	1,75	0,875	0,4375	0,21875	К

<i>P. taetrolens</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Грамположительные (кокки)										
<i>A. urinaeequi</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>A. viridans</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>E. casseliflavus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>E. columbae</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>K. atrinae</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>K. cornophila</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>M. caseolyticus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>M. luteus</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>S. aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. saprophyticus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>S. equorum</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>S. xylosus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Изоляты	Концентрация хлоргексидина основания, %									
	56	28	14	7	3,5	1,75	0,875	0,4375	0,21875	K

Грамположительные (палочки)										
<i>C. freneyi</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. stationis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. licheniformis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. pumilus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. subtilis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. cereus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Примечание: «+» – наличие роста микроорганизмов; «-» – отсутствие роста микроорганизмов; К – контроль.										

3.4.3 Изучение дезинфицирующего действия хлоргексидина основания

По окончании определения минимальных подавляющих (МПК) и минимальных бактерицидных (МБК) концентраций была проведена оценка дезинфицирующей активности исследуемого средства на искусственно загрязненных поверхностях. Установлено, что полное подавление роста *E. coli* ATCC 25922 достигалось при обработке 2,5%-м раствором средства с экспозицией 60 мин, тогда как для *S. aureus* ATCC 6538-Р FDA 209-Р обеззараживающий эффект наблюдался при использовании 3,5%-го раствора при аналогичной экспозиции (табл. 13, 14).

Таблица 13 – Дезинфицирующая активность хлоргексидин основания в отношении *E. coli* ATCC 25922

Концентрация, %	Экспозиция, мин	Тест-объекты					
		дерево	бетон	каф. Плитка	нерж. Сталь	пластик	К
2,0	30	+	+	+	+	+	+
	45	+	+	+	+	+	+
	60	+	+	+	+	+	+
2,5	30	+	+	+	+	+	+
	45	+	+	-	-	-	+

	60	-	-	-	-	-	+
Примечание: «+» – наличие роста микроорганизмов; «-» – отсутствие роста микроорганизмов; К – контроль.							

Таблица 14 – Дезинфицирующая активность хлоргексидина основания в отношении *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P

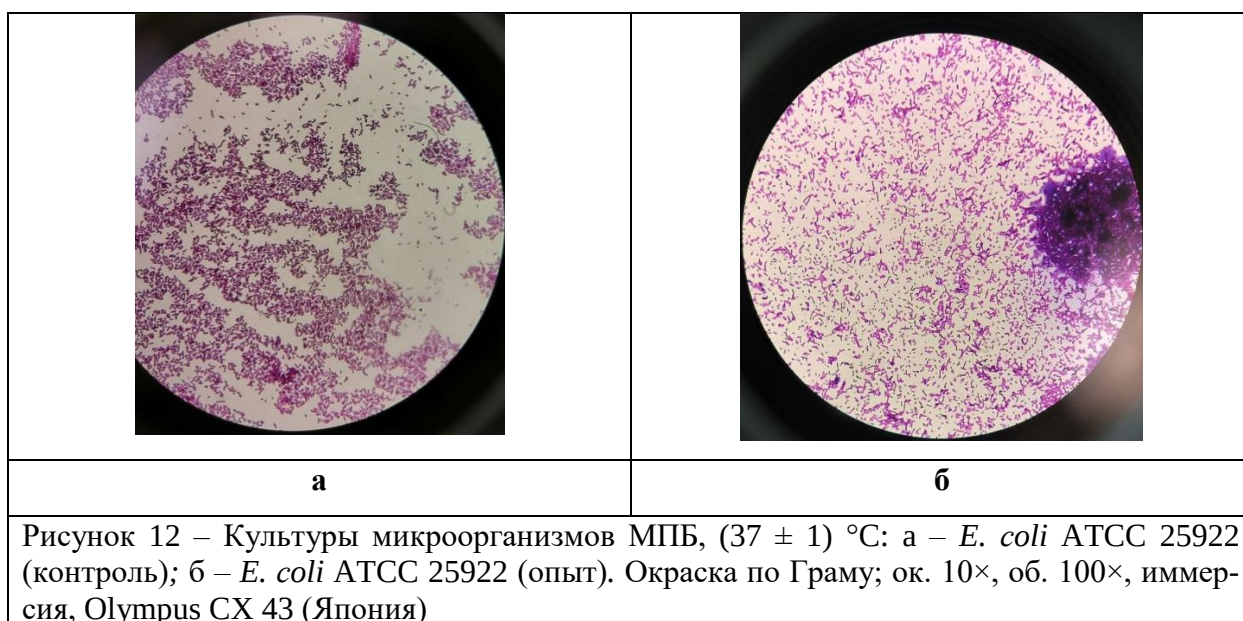
Концентрация, %	Экспозиция, мин	Тест-объекты					
		дерево	бетон	каф. Плитка	нерж. Сталь	пластик	К
2,5	30	+	+	+	+	+	+
	45	+	+	+	+	+	+
	60	+	+	+	+	+	+
3,5	30	+	+	+	+	+	+
	45	+	+	-	-	-	+
	60	-	-	-	-	-	+
Примечание: «+» – наличие роста микроорганизмов; «-» – отсутствие роста микроорганизмов; К – контроль.							

3.4.4 Изучение действия хлоргексидина основания на структурно-морфологические особенности формирования бактериальных биоплёнок

При исследовании морфологии *E. coli* ATCC 25922 (контроль) бактерии имели типичную палочковидную форму, располагались преимущественно небольшими группами. Наблюдалось формирование тонкого диффузного слоя, представленного рыхло расположенными клетками. В отдельных участках выявлялись начальные признаки коагрегации и образования микроколоний, объединенных межклеточным матриксом (рис. 12, а).

После воздействия препарата выявлялись преимущественно одиночно расположенные бактериальные клетки и небольшие клеточные агрегаты. Бактерии сохраняли характерную палочковидную форму и были распределены неравномерно по всему полю зрения. Формирования сплошного бактериального слоя не наблюдалось. Лишь в отдельных участках выявлялись локальные скопления микроорганизмов, соответствующие остаточным микроколониям. По сравнению с контрольными образцами отмечалось снижение плотности клеточных агрегатов и нарушение пространственной организации

бактериального сообщества, что свидетельствует об ингибирующем воздействии препарата на процессы формирования биоплёнки (рис. 12, б).

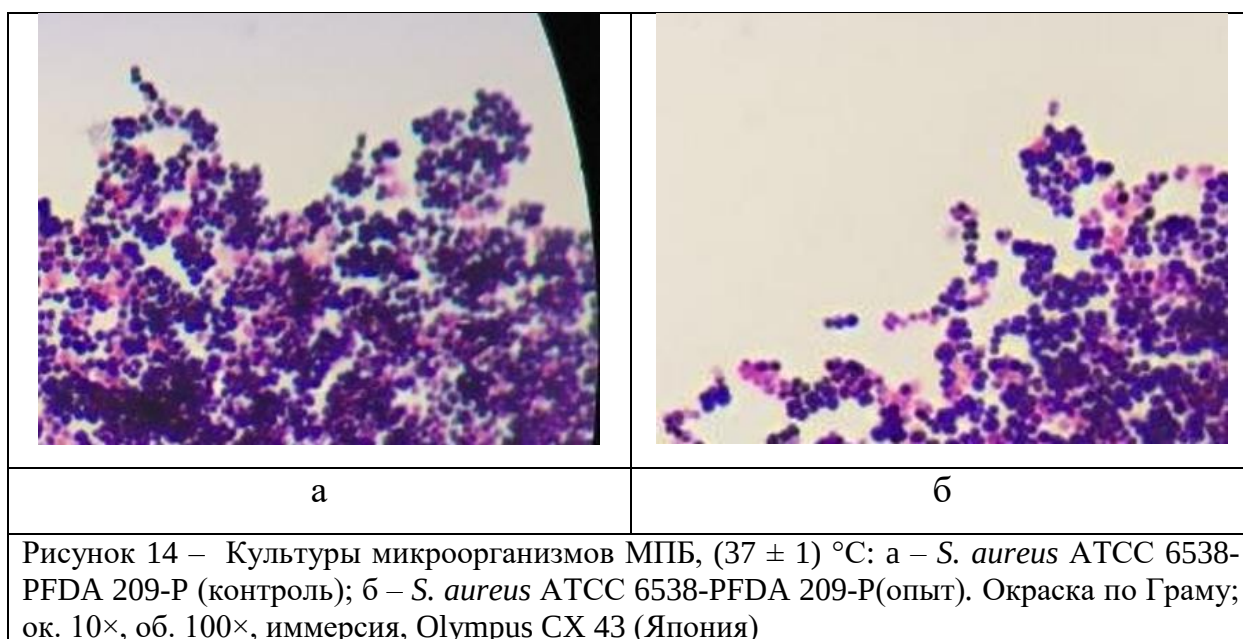


В контроле выявляется плотное скопление бактериальных клеток палочковидной формы. Клетки, объединенные межклеточным матриксом, плотно примыкают друг к другу (рис.13, а).

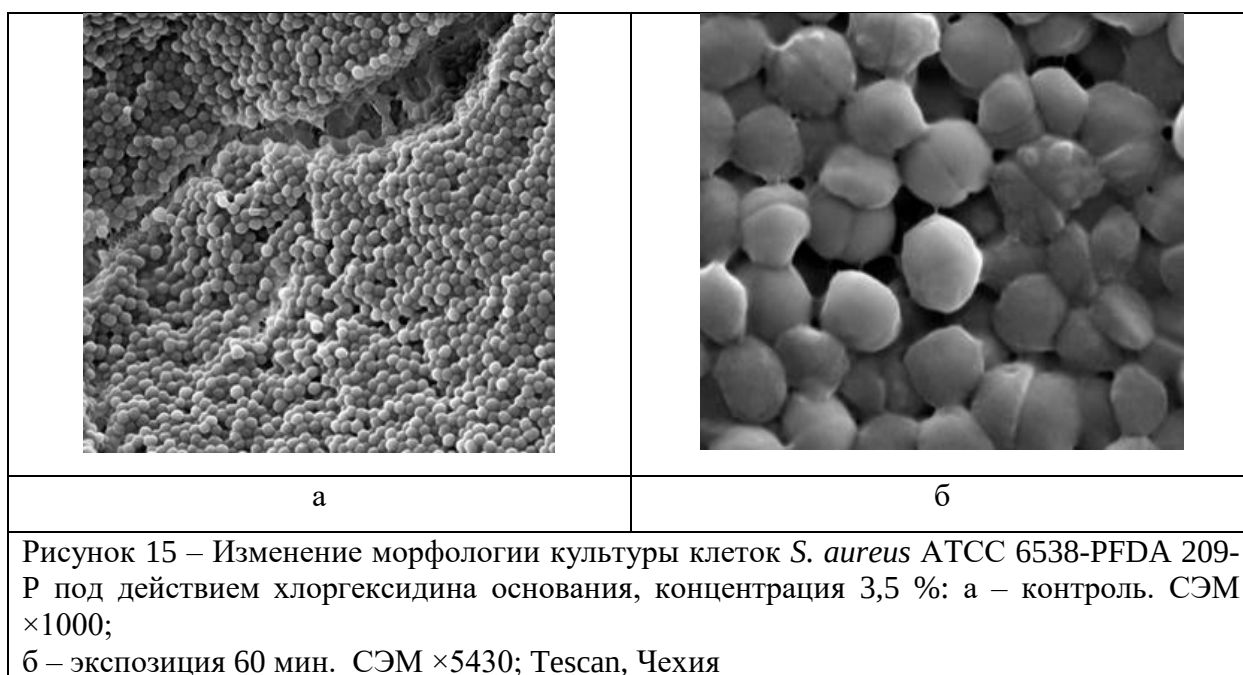
После воздействия исследуемых препаратов наблюдается разрыхление межклеточного матрикса, окружающего бактерии, благодаря чему отдельные клетки становятся хорошо различимыми в структуре биоплёнки; популяция остаётся гетерогенной с преобладанием полиморфных слегка изогнутых палочковидных форм (рис. 13, б).



Исследование морфологии *S. aureus* ATCC 6538-PFDA 209-P при действии хлоргексидина основания, концентрация 3,5 %. При исследовании морфологии *S. aureus* ATCC 6538-PFDA 209-P (контроль) установлено, что кокковые клетки располагались компактно, образуя плотные клеточные агрегаты различного размера. Клетки объединены межклеточным матриксом (рис. 14, а, 15, а). После воздействия препарата на поверхности субстрата выявлялись агрегаты клеток стафилококка, сохраняющих характерную кокковидную форму. Распределение бактерий носило неравномерный характер: наблюдались компактные микроколонии, однако сплошной биоплёночный слой отсутствовал (рис. 14, б).



При воздействии препарата наблюдаются выраженные деформации бактериальных клеток. В отличие от контроля, опытные клетки утратили правильную округлую форму: визуализируются «сморщенные» и уплощенные формы, отдельные клетки выглядят деформированными. При этом признаки полного разрушения клеточной стенки с выходом цитоплазматического содержимого отсутствуют (рис. 15, б).



3.5 Изучение влияние бактериоцина на динамику развития биопленок микроорганизмов

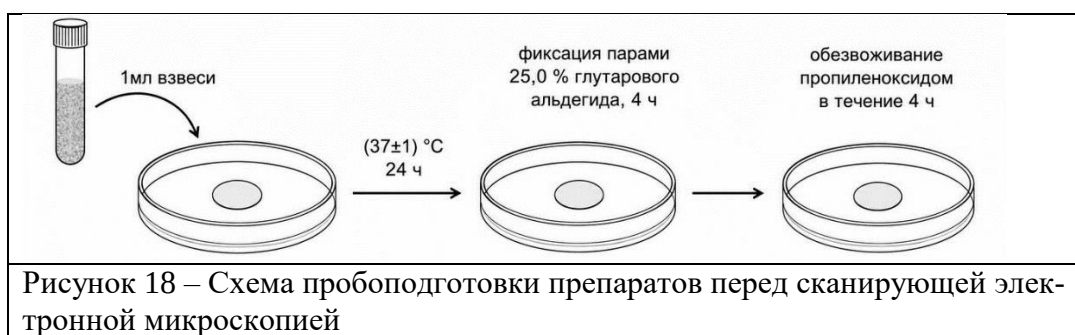
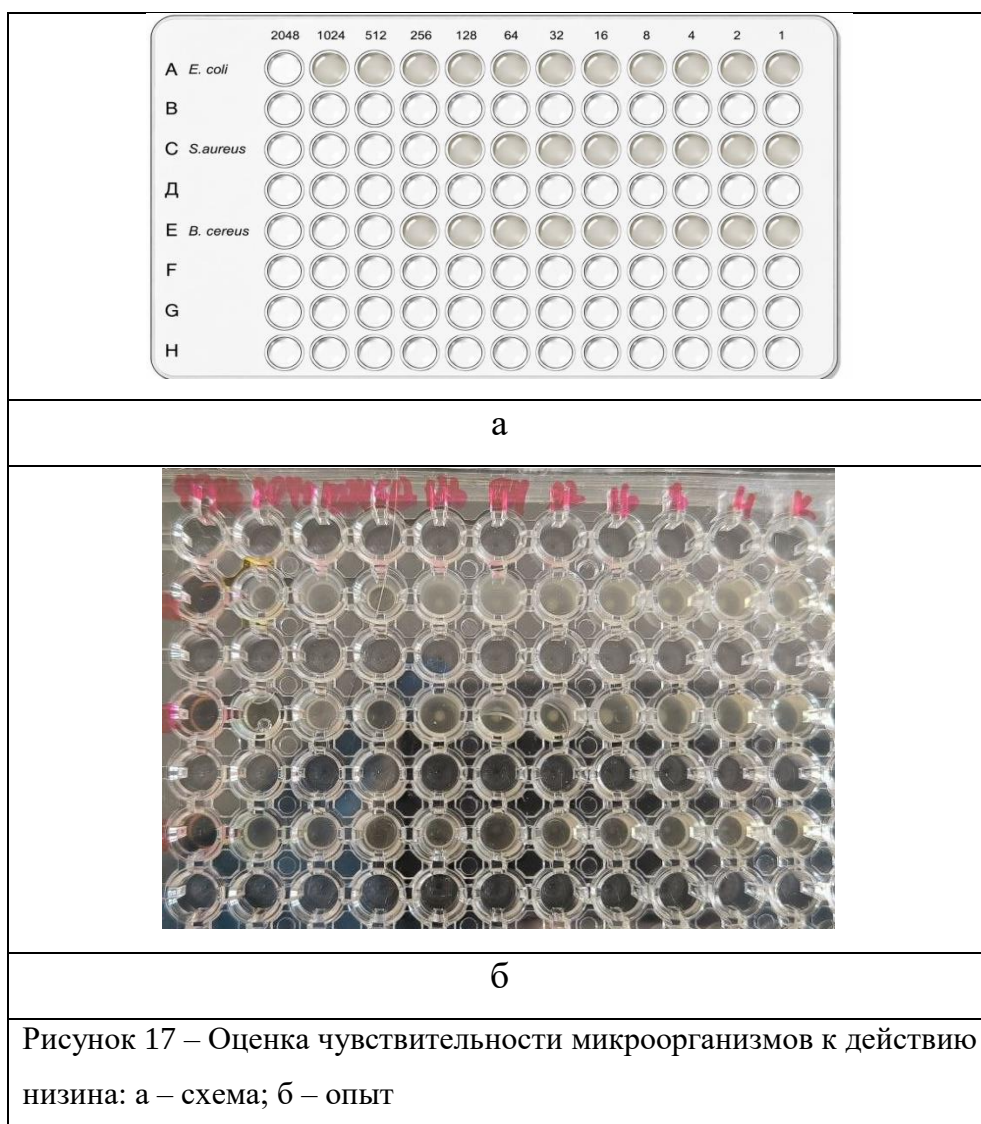
Для оценки влияния низина на динамику развития микроорганизмов *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P, *B. cereus* шт. 96 определяли его минимальную подавляющую концентрацию (МПК) методом серийных разведений в МПБ, используя 96-луночные полистироловые стерильные планшеты размером 128 x 85,5 x 17 мм $\pm$ 0,2 мм («МиниМед», Россия). Исходная концентрация низина составляла 4096 мкг/мл, затем готовили ряд последовательных разведений до концентрации 2 мкг/мл (рис. 16). Далее вносили суспензии микроорганизмов в концентрации 10^6 КОЕ/мл, культивировали в течение 24 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, после чего визуально оцени-

вали подавление роста по наличию или отсутствию помутнения среды (рис. 17).

Динамику развития биопленок изучали с применением стерильных мембранных фильтров «Владипор» с последующей фиксацией образцов для сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Микроорганизмы культивировали на МПА при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течении 24 ч. Для эксперимента использовались микроорганизмы с 3-й генерацией клеток, концентрация суспензии составляла $1,5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл. Затем готовили серийные разведения культур микроорганизмов *E. coli* ATCC 25922, 10^6 м.к/мл; *S. aureus* ATCC 6538-PFDA 209-P, 10^5 м.к/мл; *B. cereus* шт. 96 10^5 м.к/мл. Исследуемую взвесь в количестве 1 мл наносили на поверхность стерильных фильтров, предварительно размещенных на МПА в чашки Петри. Культивирование микроорганизмов проводили при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 24 ч. Фильтры с колониями подвергали фиксации парами 25 %-го глутарового альдегида в течение 4 ч, обезвоживание препаратов проводили пропиленоксидом в течение 4 ч (рис. 18).

Морфометрические показатели учитывали при достоверной частоте встречаемости $\geq 90,0\%$ поля зрения оптического микроскопа Olympus CX 43 (Япония) и сканирующего электронного микроскопа SM-20 (Китай) [65].

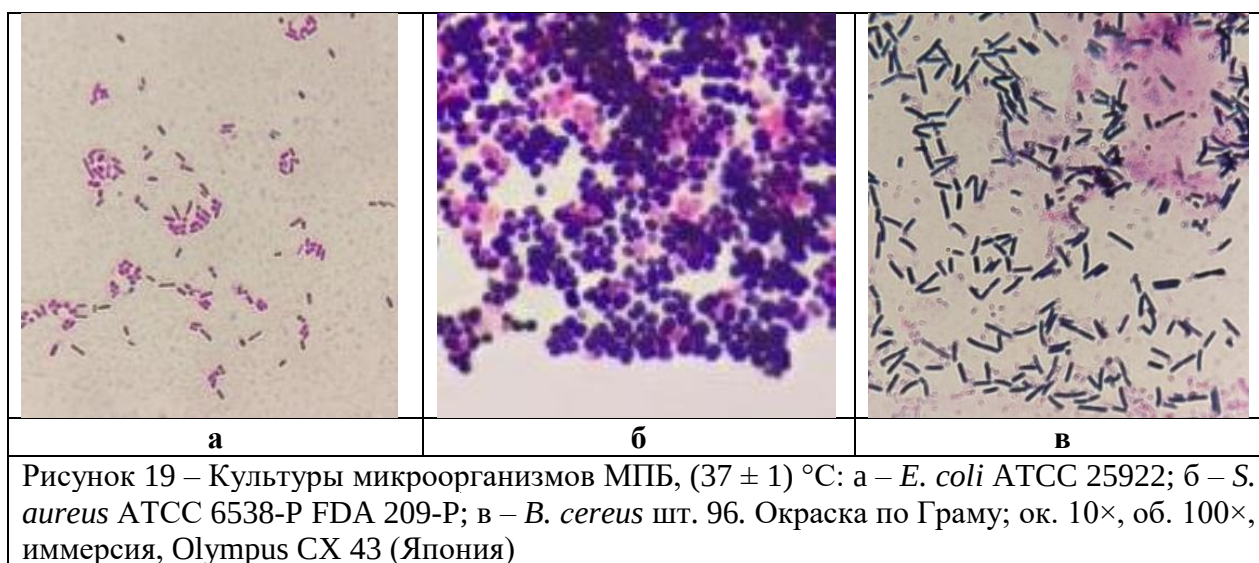




При оценке чувствительности культур микроорганизмов *E. coli* ATCC 25922 МПК низина составила 1024 мкг/мл; *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P – 128 мкг/мл; *B. cereus* шт. 96 – 256 мкг/мл (табл. 15).

	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
Примечание: «+» – наличие роста микроорганизмов; «-» – отсутствие роста микроорганизмов; К – контроль.												

Следующей задачей наших исследований явилась морфометрическая оценка динамики развития биопленок микроорганизмов при действии низина. При репрезентативном учете достоверной частоты встречаемости $\geq 90,0$ % поля зрения оптического и сканирующего электронного микроскопа визуализировали микроорганизмы типичной для вида структуры и размеров. Бактерии *E. coli* ATCC 25922 – граммотрицательные палочковидной формы, $1,0 - 3,0 \times 0,4 - 0,8$ мкм; *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P – грамположительные кокки, $0,5 - 1,5$ мкм; *B. Cereus* шт. 96, грамположительные бактерии палочковидной формы, $3,0 - 5,0 \times 1,0 - 1,2$ мкм (рис. 19 а, б, в).

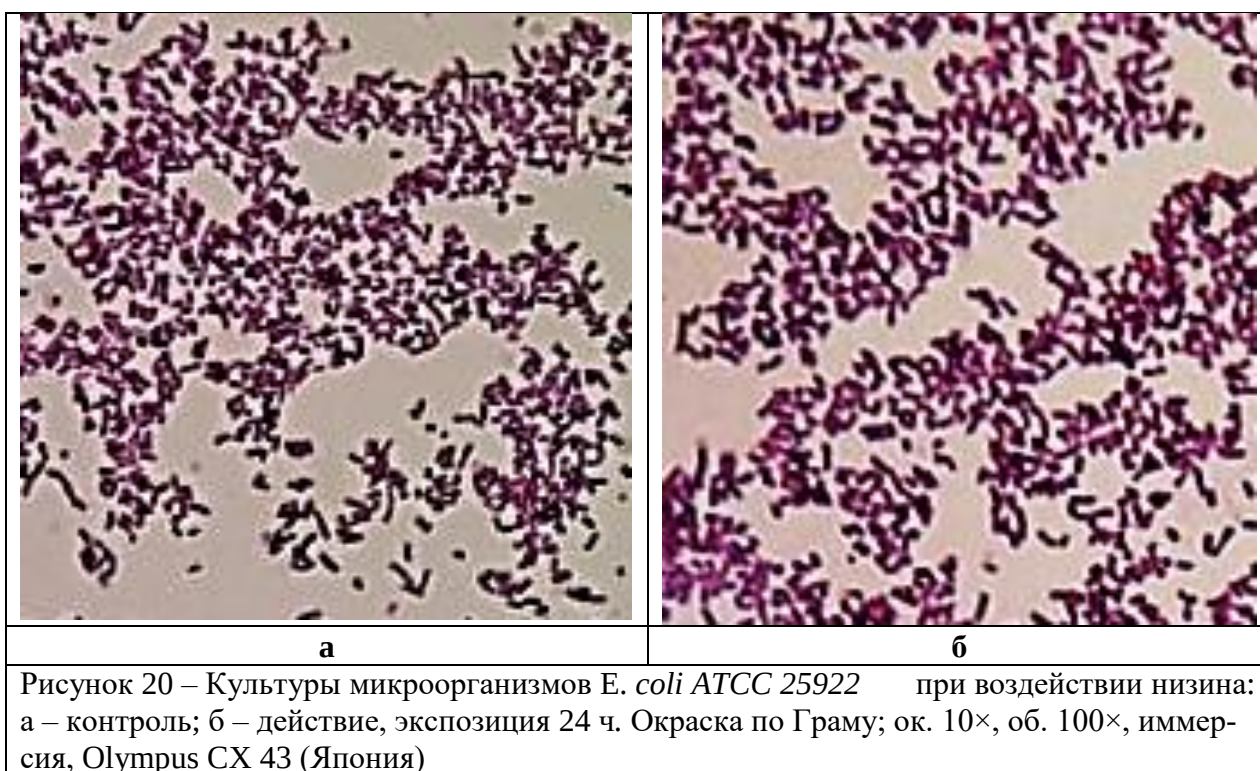


Исследование морфологии *E. coli* ATCC 25922 при действии низина, концентрация 1024 мкг/мл. Динамика развития биопленок *E. coli* (контроль) на первом этапе взаимодействия с абиотической поверхностью характеризовалась адгезией отдельных бактериальных клеток к поверхности субстрата. При световой микроскопии установлено, что бактерии имели типичную палочковидную форму, располагались преимущественно небольшими группами. В отдельных полях зрения микроскопа отмечалось формирование

многослойных клеточных агрегатов и выраженных межклеточных связей, обеспечивающих фиксацию бактериальной популяции.

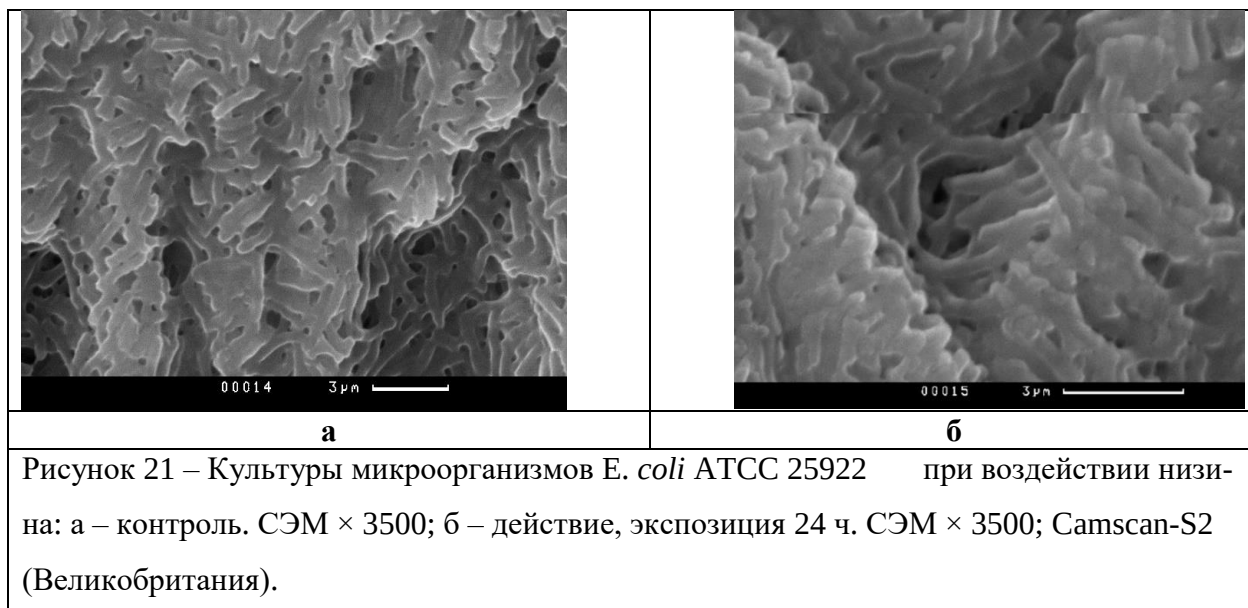
По мере увеличения длительности культивирования наблюдалось формирование тонкого диффузного слоя, представленного рыхло расположенными клетками. В отдельных участках выявлялись начальные признаки коагрегации и образования микроколоний, объединенных межклеточным матриксом (рис. 20, а).

При действии низина (опыт) наблюдалось формирование плотных скоплений палочковидных клеток, объединенных межклеточным матриксом. Выявлялись уплотненные участки биопленки с образованием микроколоний различного размера (рис. 20, б).



Электронно-микроскопическое исследование (СЭМ) позволило детально визуализировать морфологические особенности биопленок. Клетки были объединены межклеточным матриксом, в контроле наблюдались делящиеся клетки (рис. 21, а). При воздействии низина в течении 24 ч были выявлены бактерии палочковидной формы, объединенные межклеточным матриксом,

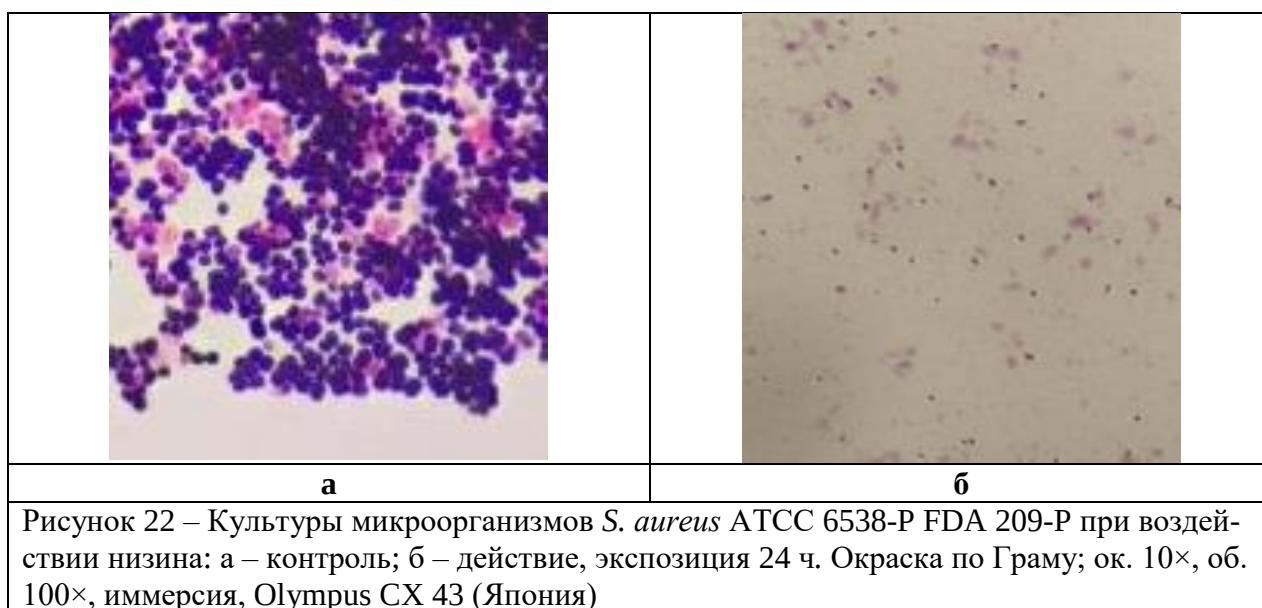
атипичные морфологические формы не выявлялись, изменений в структуре биоплёнки не обнаружено (рис. 21, б).



Исследование морфологии *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P при действии низина, концентрация 128 мкг/мл. При исследовании культуры клеток *S. aureus* ATCC 6538-PFDA 209-P (контроль) наблюдалось активное формирование биопленки. Кокковые клетки располагались компактно, образуя плотные клеточные агрегаты различного размера. Выявлялись многочисленные микроколонии, объединенные хорошо выраженным межклеточным матриксом. В отдельных участках отмечено формирование многослойных структур и плотных покровов, под которыми были видны бактериальные клетки (рис. 22, а).

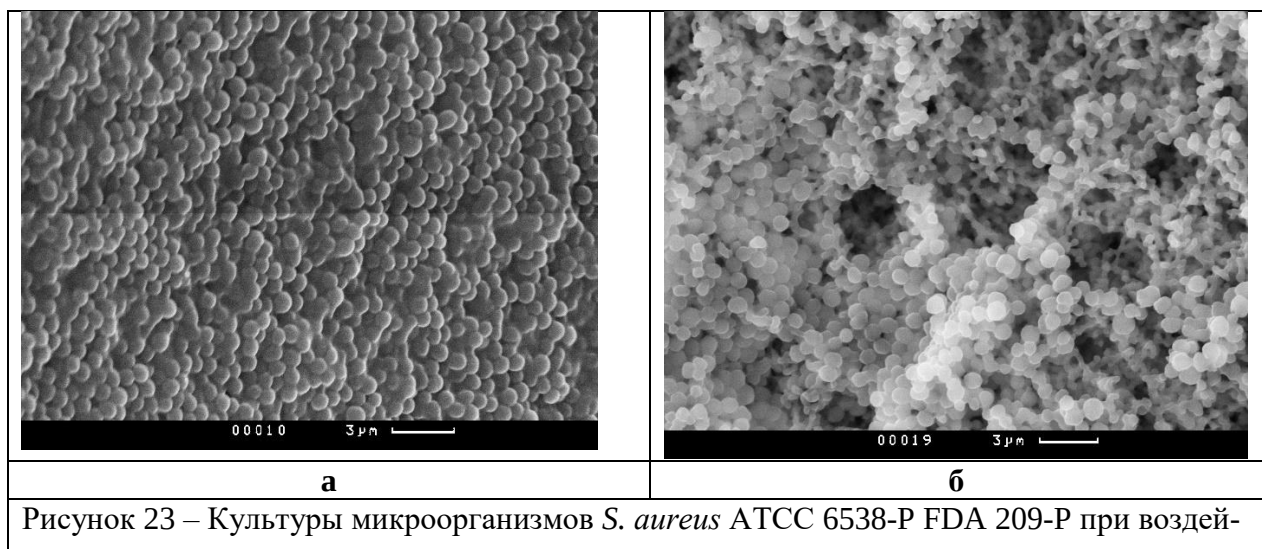
В опытных образцах наблюдалось отдельные кокковые клетки и небольшие рыхлые скопления микроорганизмов. Бактерии располагались неравномерно, местами формируя начальные микроколонии. Межклеточный матрикс был выражен слабо, биопленка оставалась недостаточно сформированной (рис. 22, б).

Морфометрические исследования выявили процессы биопленкообразования исследуемых микроорганизмов, наблюдалось выраженное угнетение формирования биопленки, сопровождавшееся уменьшением числа клеток и слабым развитием межклеточного матрикса.



Полученные при световой микроскопии данные были подтверждены и дополнены результатами электронной микроскопии, позволившими визуализировать морфологические особенности биопленок.

В контроле при исследовании морфологии культур микроорганизмов установлено, что клетки были объединены межклеточным матриксом, при этом наблюдались отдельные делящиеся клетки (рис. 23, а). При воздействии низина в концентрации 128 мкг/мл, наряду с типичными для вида клетками, присутствовали гетероморфные структуры. Выявлено отсутствие межклеточного матрикса отмечены участки *L* - трансформации. Также отмечается начало формирования нитевидных структур (рис. 23, б).

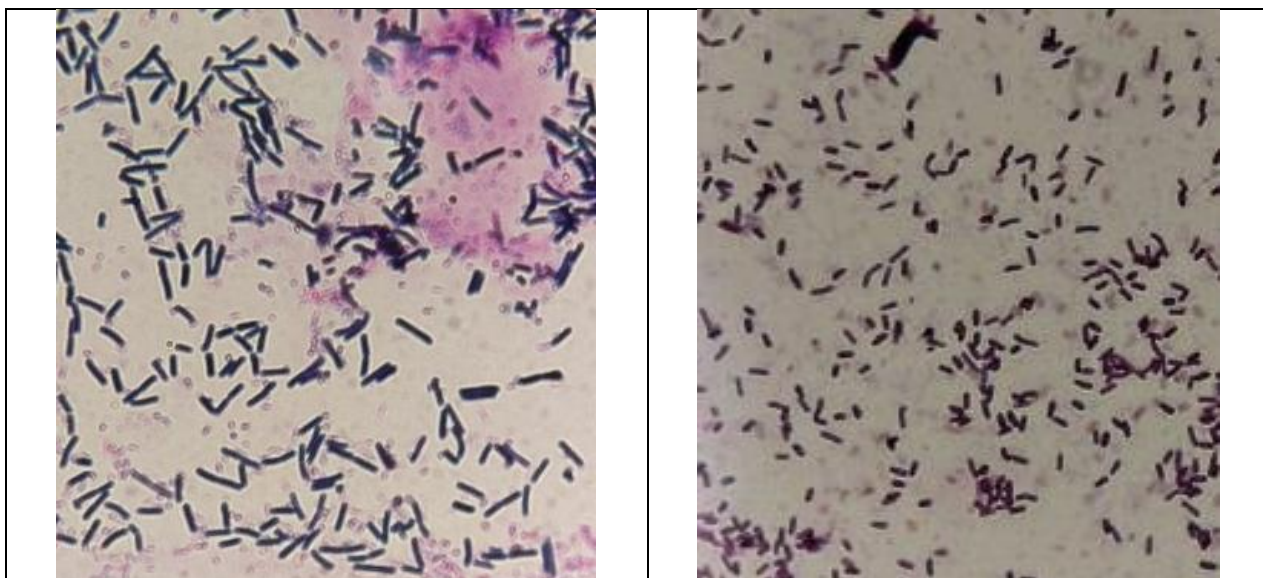


ствии низина: а – контроль. СЭМ $\times 3300$; б – действие, экспозиция 24 ч. СЭМ $\times 3300$; Camscan-S2 (Великобритания)

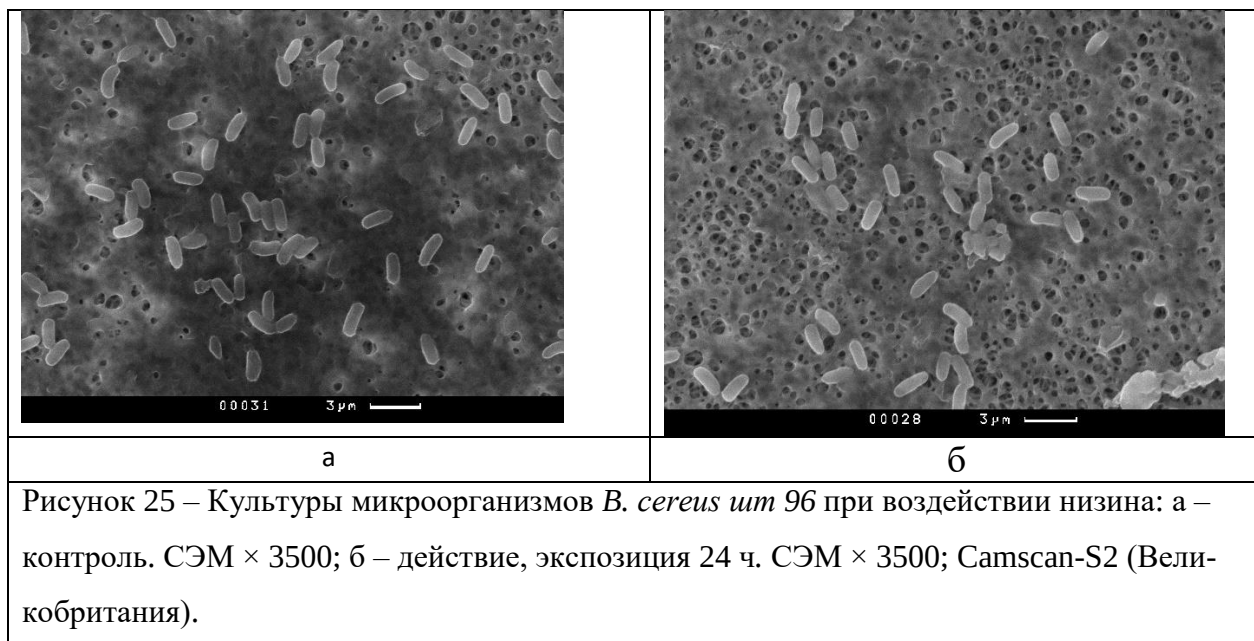
Исследование морфологии *B. cereus* шт. 96 при действии низина, концентрация 256 мкг/мл. В контрольных образцах *B. cereus* шт. 96 выявлялись преимущественно одиночные палочковидные клетки и короткие цепочки бактерий. Формирование биопленки происходило неравномерно. Отмечались отдельные участки адгезии клеток к поверхности и слабовыраженные межклеточные взаимодействия. Микроколонии были немногочисленными (рис. 24, а).

В опытных образцах наблюдалось образование плотных клеточных скоплений, объединенных межклеточным матриксом. Выявлялись крупные микроколонии и уплотненные участки биопленки с выраженной пространственной организацией. В отдельных полях зрения отмечалось формирование кластеров различного размера и признаков созревания биоплёночной структуры (рис. 24, б).

В контроле при исследовании морфологии культур микроорганизмов *B. cereus* шт. 96 было видно, что культура представлена единичными клетками микроорганизма (рис. 25, а). При воздействии низина в концентрации 256 мкг/мл, наряду с типичными для вида клетками, выявляли гетероморфные структуры (рис. 25, б).



а	б
Рисунок 24 – Культуры микроорганизмов <i>B. cereus</i> шт. 96 при воздействии низина: а – контроль; б – действие, экспозиция 24 ч. Окраска по Граму; ок. 10×, об. 100×, иммерсия, Olympus CX 43 (Япония)	



Общая закономерность динамики развития гетерогенной популяции микроорганизмов опосредована адгезией, интенсивной пролиферацией клеток, синтезом экзоцеллюлярных молекул и является коагрегацией гетероморфных клеток разных размеров и форм в зависимости от стадии клеточного цикла [56, 57].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведённого исследования были изучены ингибирующие свойства и дезинфицирующая активность препаратов: основе хлоргексидина основания, кислородсодержащего средства и бактериоцина (Низин) в отношении выделенных и музейных штаммов микроорганизмов. Исследования включали в себя идентификацию выделенных бактериальных культур, определение МПК и МБК исследуемых веществ, определение их дезинфицирующей активности в отношении этих культур, а также проведена оценка харак-

тера воздействия препаратов на бактериальные клетки методом электронной микроскопии. По результатам диссертационной работы можно сделать следующие выводы:

Изучено и дано научное обоснование новым биоцидам и бактериоцинам, открывающих перспективы для разработки инновационных средств ветеринарного применения.

В результате микробиологического исследования образцов яиц был установлен состав выделенной бактериальной микрофлоры. Из исследованных проб были выделены и идентифицированы следующие микроорганизмы: *E. coli*, *L. amnigena*, *E. cloacae*, *E. ludwigii*, *C. braakii*, *C. freundii*, *M. morganii*, *P. mirabilis*, *P. Graminis*, *P. taetrolens*, *A. urinaeequi*, *A. viridans*, *E. casseliflavus*, *E. columbae*, *E. faecium*, *K. atrinae*, *K. cornophila*, *M. caseolyticus*, *M. luteus*, *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *S. equorum*, *S. xylosus*, *C. freneyi*, *C. stationis*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. cereus*. Полученные результаты свидетельствуют о наличии в исследованных образцах значимых для санитарно-гигиенической безопасности микроорганизмов.

Определение минимальной подавляющей концентрации показало, что исследуемые препараты обладали различной выраженности антибактериальным действием в отношении выделенных микроорганизмов. Значения минимальной подавляющей концентрации (МПК) кислородосодержащего средства для вегетативных форм бактерий составляли 2–8 %, хлоргексидина основания – 0,4375–3,5 %, и не оказывали действия на споровые микроорганизмы [7]. При изучении низина были установлены следующие значения: *E. coli* ATCC 25922 – 1024 мкг/мл; *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P – 128 мкг/мл; *B. cereus* шт. 96 – 256 мкг/мл.

Результаты определения минимальной бактерицидной концентрации подтвердили способность исследуемых препаратов не только подавлять размножение бактерий, но и оказывать бактерицидное действие. Для кислородосодержащего средства значения МБК составили 4–8 %, для хлоргексидина основания – 0,875–7 %, для бактериоцина низин: *E. coli* ATCC 25922 – 2048

мкг/мл; *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P – 256 мкг/мл; *B. cereus* шт. 96 – 512 мкг/мл.

При оценке дезинфицирующего действия тестируемых препаратов установлена их способность обеспечивать полное подавление роста исследуемых микроорганизмов при определённых концентрациях и экспозиции. Для средства на основе хлоргексидина основания полное подавление роста *E. coli* ATCC 25922 достигалось при использовании 2,5 % -го раствора и экспозиции 60 мин, тогда как в отношении *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P аналогичный обеззараживающий эффект наблюдался при концентрации 3,5 % и экспозиции 60 мин [7]. Кислородсодержащее дезинфицирующее средство обеспечивало полное подавление роста *E. coli* ATCC 25922 в концентрации 3,5 % и экспозиции 30 мин, а в отношении *S. aureus* ATCC 6538-P FDA 209-P — при использовании 4 %-го раствора и той же экспозиции. Таким образом, оба тестируемых средства проявляли выраженное дезинфицирующее действие в отношении изученных микроорганизмов.

Исследование бактериальных клеток методом электронной микроскопии позволило выявить изменения их морфологического состояния и структуры бактериальных сообществ после воздействия кислородсодержащего дезинфицирующего средства. В контрольных образцах *E. coli* клетки имели характерную палочковидную форму, плотно располагались друг относительно друга и были объединены выраженным межклеточным матриксом. После кратковременном воздействии препарата отмечалось снижение плотности колонизации исследуемой поверхности и нарушение целостности структуры биоплёнки: вместо сплошного биоплёночного слоя формировались отдельные компактные скопления клеток, между которыми сохранялись участки менее плотной колонизации. При увеличении экспозиции микроколонии практически отсутствовали, а межклеточные контакты были выражены слабо.

В контрольных образцах *S. aureus* клетки располагались компактно, формируя плотные агрегаты и многочисленные микроколонии, объединён-

ные хорошо выраженным межклеточным матриксом. После кратковременного воздействия кислородсодержащего средства крупные бактериальные агрегаты не выявлялись, отмечались деформация и нарушение характерной морфологии у большинства клеток. При длительном воздействии наблюдались выраженные морфологические изменения клеток и формирование нитевидных структур. Таким образом, результаты электронной микроскопии свидетельствуют о выраженном воздействии кислородсодержащего средства на структуру бактериальных сообществ *E. coli* и морфологическое состояние клеток *S. aureus*.

При обработке хлоргексидина основанием наблюдались изменения в морфологии *E. coli* ATCC 25922, а именно разрыхление межклеточного матрикса, окружающего бактерии, благодаря чему отдельные клетки становятся хорошо различимыми в структуре биоплёнки; популяция остаётся гетерогенной с преобладанием полиморфных слегка изогнутых палочковидных форм. Исследование *S. aureus* ATCC 6538-PFDA 209-P показало выраженные деформации бактериальных клеток. В отличие от контроля, опытные клетки утратили правильную округлую форму: визуализируются «сморщенные» и уплощенные формы, отдельные клетки выглядят деформированными.

После воздействия низина на *E. coli* ATCC 25922 внешних изменений структуры биоплёнки не обнаружено. При исследовании биопленок *S. aureus* ATCC 6538-PFDA 209-P и *B. cereus* шт. 96 наряду с типичными для вида клетками выявляли гетероморфные структуры.

Сопоставление результатов определения МПК, МБК и дезинфицирующего действия показало, что выраженность антибактериальной активности исследуемых средств не во всех случаях может быть оценена только по одному показателю. Эффективность препарата определяется как его непосредственным воздействием на бактериальную клетку, так и концентрацией, продолжительностью контакта и условиями проведения обработки. Различия в чувствительности отдельных микроорганизмов также указывают на необхо-

димось учитывать видовой состав микрофлоры при выборе средства и режима его применения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АБП – антибактериальный препарат
БГКП – бактерии группы кишечной палочки
КМАФАнМ – количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов
МБК – минимальная бактерицидная концентрация
МПА – мясо-пептонный агар
МПБ – мясо-пептонный бульон
МПК – минимальная подавляющая концентрация
ОМЧ – общее микробное число
ПАВ – поверхностно-активные вещества
СЭМ – сканирующая электронная микроскопия
ЧАС – четвертичные аммониевые соединения
АНЛ – ацилгомосеринлактоны
EPS – внеклеточные полимерные вещества или экзополимерный субстрат
GMP – гуанозинмонофосфат
QS – quorum sensing

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллаева, А. М. Низин: инновационный антимикробный пептид в пищевой промышленности - эффективность, применение и перспективы / Абдуллаева А. М., Стоянов И. А., Блинкова Л. П. [и др.] // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». – 2024. – № 3(51). – С. 373–381. – DOI: 10.36871/vet.san.hyг.ecol.202403009. – EDN RWFYHU.
2. Абдуллаева, Н. Ф. Современные представления о механизме действия бактериоцинов молочнокислых бактерий (обзор) / Абдуллаева Н. Ф. // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2014. – № 10. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-predstavleniya-o-mehanizme-deystviya-bakteriotsinov-molochnokislyh-bakteriy-obzor>.
3. Аблов, А. М. Пастереллез животных и птиц в Иркутской области / Аблов А. М., Батомункуев А. С., Плискин А. А. [и др.] // Достижения науки и техники АПК. – 2013. – № 9. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/pasterellez-zhivotnyh-i-ptits-v-irkutskoy-oblasti>.
4. Абрамова, Е. С. Бактериоцины: перспективы, использование в России и за рубежом / Абрамова Е. С. // Современные тенденции и проблемы современной радиохимии и фармацевтики в работе научно-образовательных центров. – М.: Изд. дом «Граница», 2022. – С. 101–116. – EDN MDMFNQ.
5. Акулич, О. А. Антибиотикорезистентность бактерий рода *Salmonella*, выявленных в продукции животного происхождения в 2022–2024 гг. / Акулич О. А., Шадрова Н. Б., Денисова Г. С. // Ветеринария сегодня. – 2025. – Т. 14, № 3. – С. 310–318. – DOI: 10.29326/2304-196X-2025-14-3-310-318.
6. Антошина, Д. В. Структурные особенности, механизмы действия и перспективы практического применения бактериоцинов класса II / Антошина Д. В., Баландин С. В., Овчинникова Т. В. // Биохимия. – 2022. – Т. 87, № 11. – С. 1720–1738. – DOI: 10.31857/S0320972522110161.
7. Арсенюк, А. Ю. Морфология биопленок *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* при воздействии препаратов на основе хлоргексидин-основания / Арсенюк А. Ю., Тюменцева В. С., Банникова Д. А. [и др.] // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, ги-

- гиены и экологии». – 2025. – № 3 (55). – С. 426–431. – DOI: 10.36871/vet.san.hyг.ecol.202503012. – EDN OBIVDJ.
8. Баранова, И. П. Низин, условия образования и получение препарата / Баранова И. П., Егоров Н. С., Стоянова Л. Г. // Антибиотики и химиотерапия. – 1997. – Т. 42, № 3. – С. 37–44.
 9. Березкин, В. А. Новые подходы экосистемного изучения популяционного здоровья животных (птиц) в условиях Северо-Западного региона РФ / Березкин В. А., Козыренко О. В. [и др.] // Ветеринарная патология. – 2022. – № 4 (82). – С. 5–13. – ISSN 2949-4826. – URL: <https://e.lanbook.com/journal/issue/354791>.
 10. Блинкова, Л. П. Молекулярные основы продукции и действия бактериоцинов / Блинкова Л. П., Альтшулер М. Л., Дорофеева Е. С. [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2007. – № 2. – С. 97–104.
 11. Блинкова, Л. П. Биотехнологические условия синтеза бактериоцинов / Блинкова Л. П., Машенцева Н. Г., Хорольский В. В. [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2006. – № 2. – С. 83–89.
 12. Бондаренко, В. М. Симбиотические энтерококки и проблема энтерококковой оппортунистической инфекции / Бондаренко В. М., Суворов А. Н. – М., 2007.
 13. Боряева, Ю. А. Орнитобактериоз в промышленном птицеводстве Республики Мордовия / Боряева Ю. А., Родина Э. В., Родин В. Н. [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2023. – № 11 (137). – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ornitobakterioz-v-promyshlennom-ptitsevodstve-respubliki-mordoviya>.
 14. Бутко, М. П. Классификация дезинфицирующих средств и оценка их эффективности / Бутко М. П., Попов П. А., Онищенко Д. А. // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». – 2018. – № 3 (27). – DOI: 1025725 /vet.san.hyг.ecol.201803024.
 15. Валышев, А. В. Комбинация антибиотиков и бактериоцинов – эффективный способ борьбы с резистентными микроорганизмами / Валышев А. В., Валышева Н. А. // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал). – 2016. – № 4. – С. 1–6.
 16. Васильев, Д. А. Биологические свойства бактерий вида *Ornithobacterium rhinotracheale* – возбудителей орнитобактериоза птиц / Васильев Д. А., Феоктистова Н. А., Батраков В. В. [и др.] // Вестник

- Ульяновской ГСХА. – 2012. – № 3 (19). – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/biologicheskie-svoystva-bakteriy-vida-ornithobacterium-rhinotracheale-vozbuditeley-ornitobakterioza-ptits>.
17. Галиуллин, А. К. Инфекционные болезни птиц : учебное пособие для СПО / Галиуллин А. К., Волков Р. А., Спиридонов Г. Н. [и др.]. – СПб.: Лань, 2026. – 176 с. – ISBN 978-5-507-56872-7. – URL: <https://e.lanbook.com/book/521228>.
 18. Галынкин, В. А. Дезинфекция и антисептика в промышленности и медицине / Галынкин В. А., Заикина Н. А., Потехина Т. С. [и др.]. – СПб.: ФОЛИАНТ, 2004. – 96 с. – ISBN 5-93929-094-9. – URL: <https://e.lanbook.com/book/143907>.
 19. Гончар, Н. В. Пробиотические штаммы энтерококков как средства терапии и профилактики заболеваний кишечника у детей (обзор литературы) / Гончар Н. В., Алехина Л. А., Суворов А. Н. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2013. – № 1. – С. 74–78.
 20. ГОСТ Р 57646 – 2017. Продукция микробиологическая. Добавка пищевая низин. Технические условия. – Введ. 2018-08-01. – М.: Стандартинформ, 2017. – (с изм. и доп. от 05.06.2022).
 21. Грамматикова, Н. Э. Микробиология и промышленная санитария на биофармацевтических производствах: Практикум : учебное пособие / Грамматикова Н. Э., Золотарева М. С., Кедик С. А. – М.: РТУ МИРЭА, 2023. – 108 с. – ISBN 978-5-7339-1834-1. – URL: <https://e.lanbook.com/book/368858>.
 22. Дезинфекция и дератизация в системе противозoonотических мероприятий : учебное пособие для СПО / Красочко П. А., Готовский Д. Г., Красочко И. А. [и др.] ; под редакцией П. А. Красочко. – СПб.: Лань, 2026. – 208 с. – ISBN 978-5-507-56186-5. – URL: <https://e.lanbook.com/book/523632>.
 23. Дезинфекция объектов государственного ветеринарного надзора : учебное пособие / Сидорчук А. А., Пчельников А. В., Коба И. С. [и др.]. – М.: МГАВМиБ им. К.И. Скрябина, 2023. – 140 с. – ISBN 978-5-86341-509-3. – URL: <https://e.lanbook.com/book/392879>.
 24. Дисбиоз кишечника. Руководство по диагностике и лечению / под ред. А. Н. Суворова, Е. И. Ткаченко, Ю. П. Успенского. – СПб.: ИнформМед, 2013. – 270 с.
 25. Дорожкин В. И. Современные направления ветеринарно-санитарной науки в обеспечении биологической и продовольственной безопасно-

- сти / Дорожкин В. И. // Ветеринария и кормление. – 2018. – № 2. – С. 37–39.
26. Епишина Д. С. Чувствительность к антибактериальным препаратам изолятов, выделенных при дисбактериозах кишечника птиц / Епишина Д. С., Морозов Н. А., Ленченко Е. М. // Аграрная наука в обеспечении продовольственной безопасности и развитии сельских территорий : Сборник материалов IV Международной научно-практической конференции. – Луганск : Луганский ГАУ им. К.Е. Ворошилова, 2023. – С. 296–298. – EDN UKGVUS.
 27. Ермоленко, Е. И. Бактериоцины энтерококков: проблемы и перспективы использования (обзор литературы) / Ермоленко Е. И. // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. – 2009. – № 3. – С. 78–93. – EDN KXTMAF.
 28. Ермоленко, Е. И. Антагонистическая активность энтерококков в отношении *Streptococcus pyogenes* / Ермоленко Е. И., Черныш А. Ю., Берлов М. Н., Тотолян А. А., Суворов А. Н. // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. – 2008. – № 3. – С. 137–144.
 29. Ефимова, С. С. Плоские липидные бислои в изучении механизмов липид-опосредованной регуляции порообразующей активности антимикробных агентов / Ефимова С. С., Остроумова О. С. // Биологические мембраны. – 2024. – Т. 41, № 5-6. – С. 492–510. – DOI: 10.31857/S0233475524050107.
 30. Жилин, Р. А. Современные антисептические и дезинфицирующие средства в ветеринарной практике / Жилин Р. А., Астраханцева С. Е. // Аграрный вестник Приморья. – 2024. – № 2 (34). – С. 22–26. – ISSN 2500-0071. – URL: <https://e.lanbook.com/journal/issue/376996>.
 31. Забокрицкий, Н. А. Разработка биотехнологического способа получения инновационной лекарственной формы на основе нового поколения препаратов лантибиотиков / Забокрицкий Н. А., Каримова А. А. // Здоровье и образование в XXI веке. – 2014. – № 2. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/razrabotka-biotehnologicheskogo-sposoba-polucheniya-innovatsionnoy-lekarstvennoy-formy-na-osnove-novogo-pokoleniya-preparatov>.
 32. Заславская, М. И. Перспективы использования бактериоцинов нормальной микробиоты в антибактериальной терапии (обзор) / Заславская М. И., Махрова Т. В., Александрова Н. А. [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2019. – Т. 11, № 3. – С. 136–145. – DOI: 10.17691/stm2019.11.3.17. – EDN XNUEIQ.

- 33.Игнатенко, А. В. Изучение образования биопленок бактерий и оценка их устойчивости к биоцидам / Игнатенко А. В. // Труды БГТУ. Серия 2: Химические технологии, биотехнология, геоэкология. – 2008. – № 4. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/izuchenie-obrazovaniya-bioplenuk-bakteriy-i-otsenka-ih-ustoychivosti-k-biotsidam>.
- 34.Инструкция по санитарно-микробиологическому контролю тушек, мяса птицы, птицепродуктов, яиц и яйцепродуктов на птицеводческих и птицеперерабатывающих предприятиях. – Утв. 30.08.1990.
- 35.Испытания эффективности биопрепарата на основе молочнокислых бактерий для профилактики и лечения маститов у коров в условиях КСУП «Заря и К» Волковысского района Гродненской области / Михалюк А. Н. [и др.] // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы : сб. науч. тр. – Гродно, 2013. – Т. 20: Ветеринария. – С. 196–202.
- 36.Казачина, А. Д. Актуальные аспекты биотехнологической разработки экспериментальных образцов лантибиотиков / Казачина А. Д. // Здоровье и образование в XXI веке. – 2015. – № 3. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/aktualnye-aspekty-biotekhnologicheskoy-razrabotki-eksperimentalnyh-obraztsov-lantibiotikov>.
- 37.Каночкина, М. С. Возможности использования бактериоцинов лактобактерий в клинической практике (систематический обзор предметного поля) / Каночкина М. С., Иванова Л. А., Соколов И. Р. [и др.] // Здоровье, продовольствие и биотехнология. – 2025. – № 3. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vozmozhnosti-ispolzovaniya-bakteriotsinov-laktobakteriy-v-klinicheskoy-praktike-sistematicheskyy-obzor-predmetnogo-polya>.
- 38.Карпова, М. Р. Медицинская микробиология. Общий курс : учебное пособие / Карпова М. Р., Муштоватова Л. С., Бочкарева О. П. [и др.] ; под ред. Л. С. Муштоватой. – Томск: СибГМУ, 2023. – 318 с. – URL: <https://e.lanbook.com/book/369062> . – С. 100.
- 39.Классификация нового нативного бактериоцина на основе физико-химических характеристик / Мерзлякова Н. В., Тихонов С. Л. [и др.] // АПК России. – 2023. – № 4. – С. 566–573. – ISSN 2587-8824. – URL: <https://e.lanbook.com/journal/issue/369278>.
- 40.Кравченко, Н. Г. Биоциды. Примеры, механизмы действия и применение / Кравченко Н. Г., Щекин В. К., Лаптев А. Б. [и др.]// Труды ВИ-АМ. – 2023. – № 7 (125). – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/biotsidy-primery-mehanizmy-deystviya-i-primenenie>.

41. Курмакаева, Т. В. К вопросу о заболеваемости птицы отдельными бактериальными болезнями и обеспечение биобезопасности / Курмакаева Т. В., Козак С. С., Баранович Е. С. // Ветеринария сегодня. – 2024. – Т. 13, № 2. – С. 171–176. – DOI: 10.29326/2304-196X-2024-13-2-171-176.
42. Ленченко, Е. М. Индикация биопленок микроорганизмов при мониторинге биологической безопасности пищевого сырья и окружающей среды / Ленченко Е. М., Абдуллаева А. М., Покровский А. А. // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». – 2024. – № 2(50). – С. 233–238. – DOI: 10.36871/vet.san.hyг.ecol.202402009. – EDN XTIVUV.
43. Ленченко, Е. М. Методологические аспекты исследований состава биопленок *in vitro*, *ex vivo*, *in vivo* / Ленченко Е. М., Павлова И. Б., Блюменкранц Д. А. [и др.] // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». – 2022. – № 1(41). – С. 73–82. – DOI: 10.36871/vet.san.hyг.ecol.202201009. – EDN CCUCXE.
44. Лобова, Т. П. Эпизоотическая ситуация по орнитозу птиц на территории Российской Федерации с 2018 по 2020 год / Лобова Т. П., Михайлова В. В., Шишкина М. С., Скворцова А. Н., Нурлыгаянова Г. А. // Аграрная наука. – 2022. – № 2. – С. 15–18. – DOI: 10.32634/0869-8155-2022-356-2-15-18.
45. Лях, Ю. Г. Бактериозы охотничьих водоплавающих птиц в Беларуси / Лях Ю. Г., Котович И. В. // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – 2018. – № 2. – С. 18–25. – ISSN 2079-6668. – URL: <https://e.lanbook.com/journal/issue/308383>.
46. Макавчик, С. А. Видовое разнообразие доминирующих этиологически значимых бактерий, циркулирующих в промышленном птицеводстве / Макавчик С. А., Смирнова Л. И., Сухинин А. А., Кузьмин В. А. // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 1. – С. 22–26. – ISSN 2072-2419. – URL: <https://e.lanbook.com/journal/issue/320375>.
47. Методические приемы для обучения работе с антагонистическими бактериоцинопродуцирующими микроорганизмами / Абдуллаева А. М., Блинкова Л. П., Удавлиев Д. И. [и др.] // Инновации и продовольственная безопасность. – 2019. – № 3 (25). – С. 58–63. – DOI: 10.31677/2311-0651-2019-25-3-58-63.
48. Методические рекомендации по обнаружению бактерий *E. coli*, продуцирующих шигатоксин, в кормах для животных / Попов П. А., Банникова Д. А., Бабунова В. С. [и др.]. – М.: Издательский дом «НАУЧНАЯ

- БИБЛИОТЕКА», 2024. – 12 с. – ISBN 978-5-907823-89-1. – DOI: 10.36871/978-5-907823-89-1. – EDN JFYMBT.
49. Методические указания о порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики. – М.: Печ. цех Госагропрома СССР, 1987. – 158 с.
50. Методы лабораторных испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности. Руководство Р 4.2.2643–10. – М., 2011. – С. 1–32.
51. Михалюк, А. Пробиотики: назначение и перспективы использования / Михалюк А. // Наше сельское хозяйство. – 2019. – № 16 (216). – С. 68–73. – EDN QUOUGK.
52. МУК 4.2.1890–04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.
53. Новикова, О. Б. Сравнительный анализ микрофлоры, выделяемой от сельскохозяйственной птицы разных видов, и контроль бактериальных болезней в птицеводствах / Новикова О. Б., Герасимова А. О., Красков Д. А. // Вестник Курганской ГСХА. – 2024. – № 4. – С. 31–40. – ISSN 2227-4227. – URL: <https://e.lanbook.com/journal/issue/373612>.
54. Ольшевская, А. В. Бактериоцины как альтернатива антибиотикам в аквакультуре: перспективы применения и технологические аспекты / Ольшевская А. В., Шевченко В. Н., Козырев Д. А. [и др.] // Научный журнал КубГАУ. – 2025. – № 211. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/bakteriotsiny-kak-alternativa-antibiotikam-v-akvakulture-perspektivy-primeneniya-i-tehnologicheskie-aspekty>.
55. Павлик, К. С. Мониторинг заболеваний вирусной и бактериальной этиологии у животных и птиц / Павлик К. С., Столбова О. А. // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2022. – № 3. – С. 280–283. – ISSN 2073-0853. – URL: <https://e.lanbook.com/journal/issue/321629>.
56. Павлова, И. Б. Закономерности развития биопленок бактерий на разных фазах их формирования in vitro / Павлова И. Б., Кононенко А. Б., Банникова Д. А. [и др.] // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». – 2018. – № 4(28). – С. 56–61. – DOI: 10.25725/vet.san.hyг.ecol.201804009. – EDN VSDBBU.

57. Павлова, И. Б. Атлас морфологии популяций патогенных бактерий / Павлова И. Б., Ленченко Е. М., Банникова Д. А. – М.: Колос, 2007. – ISBN 978-5-10-003956-3.
58. Пипия, С. О. Использование расширенного химического пространства антибиотиков для создания искусственного биоразнообразия генетически кодируемых антибиотиков / Пипия С. О., Терехов С. С., Мокрушина Ю. А. [и др.] // Биохимия. – 2020. – Т. 85, № 11. – С. 1550–1568. – DOI: 10.31857/S0320972520110044.
59. Полянская, И. С. Антимикробные свойства лактобацилл в решении проблемы антибиотикорезистентности. Метабиотики / Полянская И. С., Стоянова Л. Г. // VIII Емельяновские чтения : Материалы научно-практических конференций. – Вологда : Вологодский научный центр РАН, 2024. – С. 137–141. – EDN PLDAKC.
60. Поляков, А. А. Руководство по ветеринарной санитарии / Поляков А. А. – М.: Агропромиздат, 1986.
61. Попов, Е. А. Доминанты социального благополучия населения Сибирского региона / Попов Е. А. // Сибирский журнал экономических и бизнес-исследований. – 2012. – № 1. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/dominanty-sotsialnogo-blagopoluchiya-naseleniya-sibirskogo-regiona>.
62. Попов, Н. И. Основные этапы становления и развития лаборатории дезинфекции / Попов Н. И., Волковский Г. Д., Григанова Н. И. [и др.] // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». – 2015. – № 1 (13). – С. 32–38.
63. Попов, П. А. Метод обнаружения бактерий *E. coli*, продуцирующих шигатоксин, в кормах для животных / Попов П. А., Банникова Д. А., Бабунова В. С. [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2025. – № 1. – С. 8–10. – DOI: 10.3861/2071-8020-2025-1-8-10. – EDN DOUXBK.
64. Правила проведения дезинфекции и дезинвазии объектов государственного ветеринарного надзора. – Минсельхоз России, № 13–5–2/0525, 2002.
65. Практическая электронная микроскопия / Сахно Н. В., Ватников Ю. А., Ленченко Е. М. [и др.]. – СПб.: Издательство «Лань», 2022. – 280 с. – ISBN 978-5-8114-9868-0. – EDN MCPPVV.
66. Романова, Н. И. Антагонистическая активность пробиотических культур в отношении госпитальных штаммов *Klebsiella pneumoniae* / Рома-

- нова Н. И., Горская Е. М., Раскошная Т. А. [и др.] // Дезинфекционное дело. – 2017. – № 1(99). – С. 57–58. – EDN YFYMUJ.
67. Сахно, Н. В. Электронная микроскопия в прикладной ветеринарии / Сахно Н. В., Ватников Ю. А., Ленченко Е. М. [и др.]. – СПб.: Издательство «Лань», 2022. – 280 с. – ISBN 978-5-8114-9867-3. – EDN CFJOEI.
68. Соловьева, И. В. Профилактика формирования устойчивых дисбиотических состояний микрофлоры желудочно-кишечного тракта студентов с помощью нового симбиотика / Соловьева И. В., Белова И. В., Точилина А. Г. [и др.] // Медицинский альманах. – 2011. – № 2 (15). – С. 112–114.
69. Соловьева, И. В. Биологические свойства лактобацилл. Перспективы использования в лабораториях Роспотребнадзора экспресс-методов амплификации нуклеиновых кислот (МАНК) при контроле качества пищевых продуктов, БАД к пище, лекарственных форм, содержащих лактобациллы / Соловьева И. В., Точилина А. Г., Белова И. В. [и др.] // Медиаль. – 2014. – № 2 (12). – С. 29–44.
70. Стоянова, Л. Г. Антагонистическая активность *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* относительно условно-патогенной флоры / Стоянова Л. Г., Дбар С. Д., Крупенио Т. В. [и др.] // Дезинфекционное дело. – 2017. – № 4(102). – С. 69–70. – EDN ZWYZRV.
71. Сульtimiова, Т. Д. Бактериоцины молочнокислых бактерий / Сульtimiова Т. Д., Захаров Е. В. // Вестник ВСГУТУ. – 2016. – № 2 (59). – С. 41–47. – ISSN 2413-1997. – URL: <https://e.lanbook.com/journal/issue/297790>.
72. Татарникова, Н. А. Болезни птиц / Татарникова Н. А. – Пермь: ИПЦ «Прокрость», 2023. – 274 с.
73. Теймуразов, М. Г. Применение бактериоцинов, включая микроцины: настоящее и будущее / Теймуразов М. Г., Коваленко И. М., Хохлова О. Е. // Антибиотики и химиотерапия. – 2024. – Т. 69, № 9-10. – С. 71–85. – DOI: 10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-71-85. – EDN JCQLUN.
74. Торшин, И. Ю. Сравнительный хеомикробиомный анализ бактериоцинов / Торшин И. Ю., Громова О. А. // ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. – 2023. – Т. 16, № 4. – С. 643–656. – DOI: 10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2023.192.
75. Тюменцева, В. С. Бактериальная обсемененность товарного куриного яйца / Тюменцева В. С., Попов П. А., Бабунова В. С. [и др.] // Аграрная

- наука. – 2025. – № 4. – С. 63–68. – DOI: 10.32634/0869-8155-2025-393-04-63-68. – EDN TDXIKF.
76. Тюменцева, В. С. Изучение антимикробных свойств бактериоцинов, вырабатываемых молочнокислыми бактериями / Тюменцева В. С. // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии имени Я. Р. Коваленко. – 2023. – Т. 83, № 1. – С. 233–237. – DOI: 10.31016/viev-2023-83-3-7. – EDN THZJYB.
77. Тюменцева, В. С. Изучение антимикробных свойств низина / Тюменцева В. С., Абдуллаева А. М., Блинкова Л. П. // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2023. – Т. 9, № 1 (33). – С. 56–62. – DOI: 10.30914/2411-9687-2023-9-1-56-62. – EDN SNZQIS.
78. Тюменцева, В. С. Микробиологическая биобезопасность яиц из частных хозяйств областей России / Тюменцева В. С., Бабунова В. С. // Стратегия развития инновационных систем в кормлении животных : Сборник трудов Международной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения доктора сельскохозяйственных наук, профессора Екатерины Александровны Петуховой. – М.: ООО "Издательство "Сельскохозяйственные технологии", 2026. – С. 128–132. – EDN JVOERR.
79. Урбах, В. Ю. Биометрические методы : Статистическая обработка опытных данных в биологии, сельском хозяйстве и медицине / Урбах В. Ю. – 2-е изд., доп. перераб. – М.: Наука, 1964. – 418 с.
80. Федорова, Л. С. Направления и перспективы исследований в области дезинфекции / Федорова Л. С. // МедАлфавит. – 2012. – № 22. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/napravleniya-i-perspektivy-issledovaniy-v-oblasti-dezinfektsii>.
81. Фотина, Т. И. Эпизоотологическое и эпидемиологическое значение бактериальных болезней птиц / Фотина Т. И., Фотина А. А., Дворская Ю. Е. // Ученые записки учреждения образования "Витебская ордена "Знак почета" государственная академия ветеринарной медицины". – 2014. – № 2-1. – С. 62–65. – ISSN 2078-0109. – URL: <https://e.lanbook.com/journal/issue/295920>.
82. Фрик, Е. В. Миграция птиц как фактор распространения инфекционных агентов и антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов / Фрик Е. В., Лещёва Н. А. [и др.] // Вестник Омского государственного аграрного университета. – 2025. – № 2 (58). – С. 146–153. – ISSN 2222-0364. – URL: <https://e.lanbook.com/journal/issue/374643>.

- 83.Хараева, З. Ф. Современные антисептики и дезинфицирующие вещества : учебное пособие / Хараева З. Ф., Накова Л. В., Блиева Л. З. [и др.]. – Нальчик : КБГУ, 2024. – 62 с.
- 84.Чистякова, Д. А. Антагонистическая активность бактерий рода *Lactobacillus* в отношении ESKAPE-патогенов / Чистякова Д. А., Шафикова А. А., Спивак М. В. [и др.]// Бактериология. – 2024. – Т. 9, № 4. – С. 115–119.
- 85.Шендеров, Б. А. Метабиотики: вчера, сегодня, завтра / Шендеров Б. А., Сеница А. В., Захарченко М. М. – СПб.: ИнформМед, 2017.
- 86.Щепитова, Н. Е. Скрининг штаммов энтерококков с целью разработки на их основе препаратов-пробиотиков / Щепитова Н. Е., Сычева М. В., Карташова О. Л. // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2015. – № 13 (188). – С. 226–233.
- 87.Abachin E., Poyart C., Pellegrini E. et al. Formation of D-alanyl-lipoteichoic acid is required for adhesion and virulence of *Listeria monocytogenes* // Molecular Microbiology. – 2002. – Vol. 43, No. 1. – P. 1–14. – DOI: 10.1046/j.1365-2958.2002.02723. x.
- 88.Abdelraouf K., Braggs K. H., Yin T. et al. Characterization of polymyxin B-induced nephrotoxicity: implications for dosing regimen design // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2012. – Vol. 56, No. 9. – P. 4625–4629. – DOI: 10.1128/AAC.00280-12.
- 89.Abi Khattar Z., Rejasse A., Destoumieux-Garzón D. et al. The *dlt* operon of *Bacillus cereus* is required for resistance to cationic antimicrobial peptides and for virulence in insects // Journal of Bacteriology. – 2009. – Vol. 191, No. 22. – P. 7063–7073. – DOI: 10.1128/JB.00892-09.
- 90.Algburi A., Volski A., Chikindas M. L. Natural antimicrobials subtilisin and lauramide arginine ethyl ester synergize with conventional antibiotics clindamycin and metronidazole against biofilms of *Gardnerella vaginalis* but not against biofilms of healthy vaginal lactobacilli // Pathogens and Disease. – 2015. – Vol. 73. – P. ftv018. – DOI: 10.1093/femspd/ftv018.
- 91.Aranha C. C., Gupta S. M., Reddy K. V. Assessment of cervicovaginal cytokine levels following exposure to microbicide nisin gel in rabbits // Cytokine. – 2008. – Vol. 43, No. 1. – P. 63–70. – DOI: 10.1016/j.cyto.2008.04.005.
- 92.Balla E., Dicks L. M., Du Toit M. et al. Characterization and cloning of the genes encoding enterocin 1071A and enterocin 1071B, two antimicrobial peptides produced by *Enterococcus faecalis* BFE 1071 // Applied and Envi-

- ronmental Microbiology. – 2000. – Vol. 66, No. 4. – P. 1298–1304. – DOI: 10.1128/AEM.66.4.1298-1304.2000.
93. Bastos M. do C. de F., Coutinho B. G., Coelho M. L. V. Lysostaphin: a Staphylococcal bacteriolysin with potential clinical applications // *Pharmaceuticals*. – 2010. – Vol. 3, No. 4. – P. 1139–1161. – DOI: 10.3390/ph3041139.
 94. Becker S. C., Foster-Frey J., Donovan D. M. The phage K lytic enzyme LysK and lysostaphin act synergistically to kill MRSA // *FEMS Microbiology Letters*. – 2008. – Vol. 287, No. 2. – P. 185–191. – DOI: 10.1111/j.1574-6968.2008.01308. x.
 95. Bédard F., Biron E. Recent progress in the chemical synthesis of class II and S-glycosylated bacteriocins // *Frontiers in Microbiology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1048. – DOI: 10.3389/fmicb.2018.01048.
 96. Bhuiyan M. N. I. Biofilm, resistance, and quorum sensing: The triple threat in bacterial pathogenesis // *The Microbe*. – 2025. – Vol. 9. – P. 100578. – ISSN 2950-1946. – DOI: 10.1016/j.microb.2025.100578.
 97. Blaser M. Antibiotic overuse: stop the killing of beneficial bacteria // *Nature*. – 2011. – Vol. 476, No. 7361. – P. 393–394. – DOI: 10.1038/476393a.
 98. Breukink E., de Kruijff B. Lipid II as a target for antibiotics // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2006. – Vol. 5, No. 4. – P. 321–332. – DOI: 10.1038/nrd2004.
 99. Brumfitt W., Salton M. R., Hamilton-Miller J. M. Nisin, alone and combined with peptidoglycan-modulating antibiotics: activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2002. – Vol. 50, No. 5. – P. 731–734. – DOI: 10.1093/jac/dkf190.
 100. Caballero Gómez N., Abriouel H., Grande M. J. et al. Combined treatments of enterocin AS-48 with biocides to improve the inactivation of methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* planktonic and sessile cells // *International Journal of Food Microbiology*. – 2013. – Vol. 163, No. 2–3. – P. 96–100. – DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.02.018.
 101. Cavera V. L., Volski A., Chikindas M. L. The natural antimicrobial subtilisin A synergizes with lauramide arginine ethyl ester (LAE), ϵ -poly-L-lysine (polylysine), clindamycin phosphate and metronidazole, against the vaginal pathogen *Gardnerella vaginalis* // *Probiotics and Antimi-*

- crobial Proteins. – 2015. – Vol. 7, No. 2. – P. 164–171. – DOI: 10.1007/s12602-014-9183-1.
102. Ceotto-Vigoder H., Marques S. L., Santos I. N. et al. Nisin and lyso-staphin activity against preformed biofilm of *Staphylococcus aureus* involved in bovine mastitis // *Journal of Applied Microbiology*. – 2016. – Vol. 121, No. 1. – P. 101–114. – DOI: 10.1111/jam.13136.
 103. Chiu L., Bazin T., Truchetet M. et al. Protective microbiota: from localized to long-reaching co-immunity // *Frontiers in Immunology*. – 2017. – Vol. 8. – P. 1678. – DOI: 10.3389/fimmu.2017.01678.
 104. Cotter P. D., Ross R. P., Hill C. Bacteriocins – a viable alternative to antibiotics? // *Nature Reviews Microbiology*. – 2013. – Vol. 11, No. 2. – P. 95–105. – DOI: 10.1038/nrmicro2937.
 105. Dajcs J. J., Thibodeaux B. A., Girgis D. O. et al. Immunity to lyso-staphin and its therapeutic value for ocular MRSA infections in the rabbit // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 2002. – Vol. 43, No. 12. – P. 3712–3716.
 106. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2003. – Vol. 2, No. 2. – P. 114–122. – DOI: 10.1038/nrd1008.
 107. Djadouni F., Kihal M. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria and the spectrum of their biopeptides against spoiling germs in foods // *Brazilian Archives of Biology and Technology*. – 2012. – Vol. 55, No. 3. – P. 435–443. – DOI: 10.1590/S1516-89132012000300015.
 108. Dobson A., Cotter P. D., Ross R. P. et al. Bacteriocin production: a probiotic trait? // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2012. – Vol. 78, No. 1. – P. 1–6. – DOI: 10.1128/AEM.05576-11.
 109. Dosler S., Mataraci E. In vitro pharmacokinetics of antimicrobial cationic peptides alone and in combination with antibiotics against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* biofilms // *Peptides*. – 2013. – Vol. 49. – P. 53–58. – DOI: 10.1016/j.peptides.2013.08.008.
 110. Draper L. A., Cotter P. D., Hill C. et al. Lantibiotic resistance // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. – 2015. – Vol. 79, No. 2. – P. 171–191. – DOI: 10.1128/MMBR.00051-14. – PMID: 25787977.
 111. Draper L. A., Cotter P. D., Hill C. et al. The two peptide lantibiotic lactacin 3147 acts synergistically with polymyxin to inhibit gram negative bacteria // *BMC Microbiology*. – 2013. – Vol. 13, No. 1. – P. 212. – DOI: 10.1186/1471-2180-13-212.

112. Elumalai S. D., Shaw A. M., Pattillo D. A. et al. Influence of UV treatment on the food safety status of a model aquaponics system // *Water*. – 2017. – Vol. 9, No. 1. – P. 27. – DOI: 10.3390/w9010027.
113. Engevik M. A., Versalovic J. Biochemical features of beneficial microbes: foundations for therapeutic microbiology // *Microbiology Spectrum*. – 2017. – Vol. 5, No. 5. – P. 3–47. – DOI: 10.1128/microbiolspec.BAD-0012-2016.
114. Enterococci: from commensals to leading causes of drug resistant infection / M. S. Gilmore, D. B. Clewell, Y. Ike, N. Shankar (eds.). – Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014.
115. Field D., Begley M., O'Connor P. M. et al. Bioengineered nisin A derivatives with enhanced activity against both gram positive and gram negative pathogens // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, No. 10. – P. e46884. – DOI: 10.1371/journal.pone.0046884.
116. Field D., Daly K., O'Connor P. M. et al. Efficacies of nisin A and nisin V semipurified preparations alone and in combination with plant essential oils for controlling *Listeria monocytogenes* // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2015. – Vol. 81, No. 8. – P. 2762–2769. – DOI: 10.1128/AEM.00070-15.
117. Field D., O'Connor R., Cotter P. D. et al. In vitro activities of nisin and nisin derivatives alone and in combination with antibiotics against staphylococcus biofilms // *Frontiers in Microbiology*. – 2016. – Vol. 7. – P. 508. – DOI: 10.3389/fmicb.2016.00508.
118. Field D., Seisling N., Cotter P. D. et al. Synergistic nisin-polymyxin combinations for the control of *Pseudomonas* biofilm formation // *Frontiers in Microbiology*. – 2016. – Vol. 7. – P. 1713. – DOI: 10.3389/fmicb.2016.01713.
119. Finnegan E. J., Kovac K. A., Jaligot E. et al. The down-regulation of FLOWERING LOCUS C (FLC) expression in plants with low levels of DNA methylation and by vernalization occurs by distinct mechanisms // *The Plant Journal*. – 2005. – Vol. 44, No. 3. – P. 420–432. – DOI: 10.1111/j.1365-313X.2005.02541.x.
120. Flemming H. C., Wingender J. The biofilm matrix // *Nature Reviews Microbiology*. – 2010. – Vol. 8, No. 9. – P. 623–633. – DOI: 10.1038/nrmicro2415.
121. Fonseca I. M., Martins I., Oleastro M. et al. When disinfection fails: biocide tolerance as a driver of *Campylobacter* persistence and resistance //

- Antibiotics. – 2026. – Vol. 15, No. 4. – P. 357. – DOI: 10.3390/antibiotics15040357. – PMID: 42041320.
122. García P., Martínez B., Rodríguez L. et al. Synergy between the phage endolysin LysH5 and nisin to kill *Staphylococcus aureus* in pasteurized milk // *International Journal of Food Microbiology*. – 2010. – Vol. 141. – P. 151–155. – DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.029.
 123. Ghobrial O., Derendorf H., Hillman J. D. Human serum binding and its effect on the pharmacodynamics of the lantibiotic MU1140 // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2010. – Vol. 41, No. 5. – P. 658–664. – DOI: 10.1016/j.ejps.2010.09.005.
 124. Ghobrial O., Derendorf H., Hillman J. D. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of the lantibiotic MU1140 // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2010. – Vol. 99, No. 5. – P. 2521–2528. – DOI: 10.1002/jps.22015.
 125. Ghobrial O. G., Derendorf H., Hillman J. D. Development and validation of a LC–MS quantification method for the lantibiotic MU1140 in rat plasma // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2009. – Vol. 49, No. 4. – P. 970–975. – DOI: 10.1016/j.jpba.2008.12.022.
 126. Gillor O., Ghazaryan L. Recent advances in bacteriocin application as antimicrobials // *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*. – 2007. – Vol. 2, No. 2. – P. 115–122. – DOI: 10.2174/157489107780832613.
 127. Gillor O., Giladi I., Riley M. A. Persistence of colicinogenic *Escherichia coli* in the mouse gastrointestinal tract // *BMC Microbiology*. – 2009. – Vol. 9, No. 1. – P. 165. – DOI: 10.1186/1471-2180-9-165.
 128. González C., Langdon G. M., Bruix M. et al. Bacteriocin AS-48, a microbial cyclic polypeptide structurally and functionally related to mammalian NK-lysin // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 2000. – Vol. 97, No. 21. – P. 11221–11226. – DOI: 10.1073/pnas.210301097.
 129. Guder A., Wiedemann I., Sahl H. G. Posttranslationally modified bacteriocins – the lantibiotics // *Biopolymers*. – 2000. – Vol. 55, No. 1. – P. 62–73. – DOI: 10.1002/1097-0282(2000)55:1<62::AID-BIP60>[3.0.CO;2-P](#).
 130. Ghazanfari N., Yazdi F. T., Mortazavi S. A. et al. Comparative framework of natural nisin variants: linking genetic basis to future bioengineering applications // *Microbial Cell Factories*. – 2026. – Vol. 25. – P. 82. – DOI: 10.1186/s12934-026-02962-7.

131. Hecht A. L., Casterline B. W., Earley Z. M. et al. Strain competition restricts colonization of an enteric pathogen and prevents colitis // *EMBO Reports*. – 2016. – Vol. 17, No. 9. – P. 1281–1291. – DOI: 10.15252/embr.201642282.
132. Holmes A. H., Moore L. S., Sundsfjord A. et al. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance // *The Lancet*. – 2016. – Vol. 387, No. 10014. – P. 176–187. – DOI: 10.1016/S0140-6736(15)00473-0.
133. Jabés D., Brunati C., Candiani G. et al. Efficacy of the new lantibiotic NAI-107 in experimental infections induced by MDR gram positive pathogens // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2011. – Vol. 55, No. 4. – P. 1671–1676. – DOI: 10.1128/AAC.01288-10.
134. Janek D., Zipperer A., Kulik A. et al. High frequency and diversity of antimicrobial activities produced by nasal *Staphylococcus* strains against bacterial competitors // *PLoS Pathogens*. – 2016. – Vol. 12, No. 8. – P. e1005812. – DOI: 10.1371/journal.ppat.1005812.
135. Jia R., Yang D., Al-Mahamedh H. H., Gu T. Electrochemical testing of biocide enhancement by a mixture of D-amino acids for the prevention of a corrosive biofilm consortium on carbon steel // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. – 2017. – Vol. 56, No. 27. – P. 7640–7649. – DOI: 10.1021/acs.iecr.7b01534.
136. Khosa S., Alkhatib Z., Smits S. H. NSR from *Streptococcus agalactiae* confers resistance against nisin and is encoded by a conserved nsr operon // *Biological Chemistry*. – 2013. – Vol. 394, No. 11. – P. 1543–1549. – DOI: 10.1515/hsz-2013-0167.
137. Kim Y. C., Tarr A. W., Penfold C. N. Colicin import into *E. coli* cells: a model system for insights into the import mechanisms of bacteriocins // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*. – 2014. – Vol. 1843, No. 8. – P. 1717–1731. – DOI: 10.1016/j.bbamcr.2014.04.010.
138. Kjos M., Nes I. F., Diep D. B. Mechanisms of resistance to bacteriocins targeting the mannose phosphotransferase system // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2011. – Vol. 77, No. 10. – P. 3335–3342. – DOI: 10.1128/AEM.02602-10.
139. Kahrilas G. A., Blotevogel J., Corrin E. R. et al. Downhole transformation of the hydraulic fracturing fluid biocide glutaraldehyde: implications for flowback and produced water quality // *Environmental Science & Technology*. – 2016. – Vol. 50. – P. 11414–11423. – DOI: 10.1021/acs.est.6b02881.

140. Kommineni S., Bretl D. J., Lam V. et al. Bacteriocin production augments niche competition by enterococci in the mammalian gastrointestinal tract // *Nature*. – 2015. – Vol. 526, No. 7575. – P. 719–722. – DOI: 10.1038/nature15524.
141. Kommineni S., Kristich C. J., Salzman N. H. Harnessing bacteriocin biology as targeted therapy in the GI tract // *Gut Microbes*. – 2016. – Vol. 7, No. 6. – P. 512–517. – DOI: 10.1080/19490976.2016.1233089.
142. Kovács M., Halfmann A., Fedtke I. et al. Functional *dlt* operon, encoding proteins required for incorporation of D-alanine in teichoic acids in gram-positive bacteria, confers resistance to cationic antimicrobial peptides in *Streptococcus pneumoniae* // *Journal of Bacteriology*. – 2006. – Vol. 188, No. 16. – P. 5797–5805. – DOI: 10.1128/JB.00336-06.
143. Kuznetsova M. V. Nosocomial *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*: sensitivity to chlorhexidine-based biocides and prevalence of efflux pump genes / Kuznetsova M. V., Nesterova L. Y., Mihailovskaya V. S. et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2025. – Vol. 26, No. 1. – P. 355. – DOI: 10.3390/ijms26010355. – PMID: 39796210.
144. LeBel G., Piché F., Frenette M. et al. Antimicrobial activity of nisin against the swine pathogen *Streptococcus suis* and its synergistic interaction with antibiotics // *Peptides*. – 2013. – Vol. 50. – P. 19–23. – DOI: 10.1016/j.peptides.2013.09.014.
145. Lenz R. W. *Biodegradable Polymers* // *Advances in Polymer Science*. – Berlin, Heidelberg: Springer, 1993. – Vol. 107. – P. 1–40.
146. Liu X. A lightweight database of human nonsynonymous SNPs and their functional predictions // *Human Mutation*. – 2011. – Vol. 32, No. 8. – P. 894–899. – DOI: 10.1002/humu.21517.
147. Lee J. H., Li X., O’Sullivan D. J. Transcription analysis of a lantibiotic gene cluster from *Bifidobacterium longum* DJO10A // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2011. – Vol. 77, No. 17. – P. 5879–5887. – DOI: 10.1128/AEM.00571-11.
148. Liu H. Y., Prentice E. L., Webber M. A. Mechanisms of antimicrobial resistance in biofilms // *npj Antimicrobials and Resistance*. – 2024. – Vol. 2. – P. 27. – DOI: 10.1038/s44259-024-00046-3.
149. Mah T. F., O’Toole G. A. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents // *Trends in Microbiology*. – 2001. – Vol. 9, No. 1. – P. 34–39. – DOI: 10.1016/S0966-842X(00)01913-2.

150. Maïworé J., Essia Ngang J.-J. 15 – Biotechnology of bacteriocins production by LAB // *Lactic Acid Bacteria as Cell Factories* / D. Montet, R. C. Ray, V. A. De Carvalho Azevedo, S. Paramithiotis (eds.). – Woodhead Publishing, 2023. – P. 289–310. – ISBN 9780323919302.
151. Majeed H., Lampert A., Ghazaryan L. et al. The weak shall inherit: bacteriocin-mediated interactions in bacterial populations // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, No. 5. – P. e63837. – DOI: 10.1371/journal.pone.0063837.
152. Martínez B., Obeso J. M., Rodríguez A. et al. Nisin-bacteriophage cross resistance in *Staphylococcus aureus* // *International Journal of Food Microbiology*. – 2008. – Vol. 122, No. 3. – P. 253–258. – DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.01.011.
153. Martinez F. C., Balciunas E. M., Converti A. et al. Bacteriocin production by *Bifidobacterium* spp. A review // *Biotechnology Advances*. – 2013. – Vol. 31, No. 4. – P. 482–488. – DOI: 10.1016/j.biotechadv.2013.01.010.
154. Mataraci E., Dosler S. In vitro activities of antibiotics and antimicrobial cationic peptides alone and in combination against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2012. – Vol. 56, No. 12. – P. 6366–6371. – DOI: 10.1128/AAC.01180-12.
155. Mathur H., Des F., Rea M. C. et al. Bacteriocin-antimicrobial synergy: a medical and food perspective // *Frontiers in Microbiology*. – 2017. – Vol. 8. – P. 1205. – DOI: 10.3389/fmicb.2017.01205.
156. Mathur H., O'Connor P. M., Hill C. et al. Analysis of anti-*Clostridium difficile* activity of thuricin CD, vancomycin, metronidazole, ramoplanin, and actagardine, both singly and in paired combinations // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2013. – Vol. 57, No. 6. – P. 2882–2886. – DOI: 10.1128/AAC.00261-13.
157. Mathur H., Rea M. C., Cotter P. D. et al. The sactibiotic subclass of bacteriocins: an update // *Current Protein & Peptide Science*. – 2015. – Vol. 16, No. 6. – P. 549–558. – DOI: 10.2174/1389203716666150515124831.
158. McAuliffe O., Ross R. P., Hill C. Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2001. – Vol. 25, No. 3. – P. 285–308. – DOI: 10.1016/S0168-6445(00)00065-6.
159. McBride S. M., Sonenshein A. L. Identification of a genetic locus responsible for antimicrobial peptide resistance in *Clostridium difficile* // *Infection and Immunity*. – 2011. – Vol. 79, No. 1. – P. 167–176. – DOI: 10.1128/IAI.00731-10.

160. Mendes C. A., Cordeiro J. A., Burdmann E. A. Prevalence and risk factors for acute kidney injury associated with parenteral polymyxin B use // *Annals of Pharmacotherapy*. – 2009. – Vol. 43, No. 12. – P. 1948–1955. – DOI: 10.1345/aph.1M277.
161. Michael C. A., Dominey-Howes D., Labbate M. The antimicrobial resistance crisis: causes, consequences, and management // *Frontiers in Public Health*. – 2014. – Vol. 2. – P. 145. – DOI: 10.3389/fpubh.2014.00145.
162. Miceli de Farias F., O'Connor P. M., Buttner C. et al. Raffinocyclin is a novel plasmid-encoded circular bacteriocin produced by *Lactococcus raffinolactis* with broad-spectrum activity against many gram-positive food pathogens // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2024. – Vol. 90, No. 9. – P. e00809-24. – DOI: 10.1128/aem.00809-24.
163. Mignolet J., Fontaine L., Sass A. et al. Circuitry rewiring directly couples competence to predation in the gut dweller *Streptococcus salivarius* // *Cell Reports*. – 2018. – Vol. 22, No. 7. – P. 1627–1638. – DOI: 10.1016/j.celrep.2018.01.055.
164. Ming L., Zhang Q., Yang L. et al. Comparison of antibacterial effects between antimicrobial peptide and bacteriocins isolated from *Lactobacillus plantarum* on three common pathogenic bacteria // *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. – 2015. – Vol. 8, No. 4. – P. 5806–5811.
165. Modi K. D., Chikindas M. L., Montville T. J. Sensitivity of nisin-resistant *Listeria monocytogenes* to heat and the synergistic action of heat and nisin // *Letters in Applied Microbiology*. – 2000. – Vol. 30, No. 3. – P. 249–253. – DOI: 10.1046/j.1472-765x.2000.00708.x.
166. Mokoena M. P. Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and applications against uropathogens: a mini-review // *Molecules*. – 2017. – Vol. 22, No. 8. – P. 1255. – DOI: 10.3390/molecules22081255.
167. Nascimento J. G., Guerreiro-Pereira M. D., Costa S. et al. Nisin-triggered activity of Lys44, the secreted endolysin from *Oenococcus oeni* phage fOg44 // *Journal of Bacteriology*. – 2008. – Vol. 190, No. 1. – P. 457–461. – DOI: 10.1128/JB.01195-07.
168. Nishie M., Nagao J., Sonomoto K. Antibacterial peptides "bacteriocins": an overview of their diverse characteristics and applications // *Biocontrol Science*. – 2012. – Vol. 17, No. 1. – P. 1–16. – DOI: 10.4265/bio.17.1.

169. Nordholt N., Sobisch L., Gödt A. et al. Heterogeneous survival upon disinfection underlies evolution of increased tolerance // *Microbiology Spectrum*. – 2024. – Vol. 12. – P. e03276-22. – DOI: 10.1128/spectrum.03276-22.
170. Obeso J. M., Martínez B., Rodríguez A. et al. Lytic activity of the recombinant staphylococcal bacteriophage phiH5 endolysin active against *Staphylococcus aureus* in milk // *International Journal of Food Microbiology*. – 2008. – Vol. 128, No. 2. – P. 212–218. – DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.08.010.
171. Oliveira G. F., Rohde C., Garcia A. C. et al. Contributions of dryland forest (Caatinga) to species composition, richness and diversity of *Drosophilidae* // *Neotropical Entomology*. – 2016. – Vol. 45. – P. 537–547. – DOI: 10.1007/s13744-016-0406-x.
172. Pei J., Yuan Y., Yue T. Characterization of bacteriocin bificin C6165: a novel bacteriocin // *Journal of Applied Microbiology*. – 2013. – Vol. 114, No. 5. – P. 1273–1284. – DOI: 10.1111/jam.12145.
173. Pickard J. M., Zeng M. Y., Caruso R. et al. Gut microbiota: role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease // *Immunological Reviews*. – 2017. – Vol. 279, No. 1. – P. 70–89. – DOI: 10.1111/imr.12567.
174. Rodríguez-Rubio L., García P., Rodríguez A. et al. *Listeria* phages and coagulin C23 act synergistically to kill *Listeria monocytogenes* in milk under refrigeration conditions // *International Journal of Food Microbiology*. – 2015. – Vol. 205. – P. 68–72. – DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.007.
175. Rubioa D., Lopez-Galindoa C., Casanuevab J. F. et al. Monitoring and assessment of an industrial antifouling treatment. Seasonal effects and influence of water velocity in an open once-through sea-water cooling system // *Applied Thermal Engineering*. – 2014. – Vol. 67, No. 1-2. – P. 378–387. – DOI: 10.1016/j.applthermaleng.2014.03.057.
176. Saleh F. A., El-Sayed E. M. Isolation and characterization of bacteriocins produced by *Bifidobacterium lactis* BB-12 and *Bifidobacterium longum* BB-46 // 9th Egyptian Conference for Dairy Science and Technology. – Cairo: Research Papers, 2004. – P. 323–337.
177. Sharma A., Srivastava S. Anti-*Candida* activity of two-peptide bacteriocins, plantaricins (Pln E/F and J/K) and their mode of action // *Fungal Biology*. – 2014. – Vol. 118, No. 2. – P. 264–275. – DOI: 10.1016/j.funbio.2013.12.006.

178. Stoyanova L. G., Ustyugova E. A., Netrusov A. I. Antibacterial metabolites of lactic acid bacteria: their diversity and properties // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2012. – Vol. 48, No. 3. – P. 229–243. – DOI: 10.1134/S0003683812030143.
179. Suarez J. M., Edwards A. N., McBride S. M. The *Clostridium difficile* cpr locus is regulated by a noncontiguous two-component system in response to type A and B lantibiotics // *Journal of Bacteriology*. – 2013. – Vol. 195, No. 11. – P. 2621–2631. – DOI: 10.1128/JB.00166-13.
180. Sun X., Kong X., Li C., Wang M., Yi J. et al. Sporicidal mechanism of the combination of ortho-phthalaldehyde and benzyldimethyldodecylammonium chloride as a disinfectant against the *Bacillus subtilis* spores // *Brazilian Journal of Microbiology*. – 2022. – Vol. 53, No. 2. – P. 547–556. – DOI: 10.1007/s42770-022-00695-4. – PMID: 35143017. – PMCID: PMC9151947. (Erratum: *Braz J Microbiol.* 2022 Jun;53(2):1085. DOI: 10.1007/s42770-022-00723-3).
181. Suvorov A. Enterococci as probiotics or autoprobiotics / Suvorov A., Simanenkova V., Gromova L., Kolodjieva V. et al. // *Prebiotics and Probiotics Potential for Human Health* / Ivanova I. (ed.). – Sofia: Paisi Hilendarski, 2011. – P. 104–112.
182. Tong Z., Zhang Y., Ling J. et al. In vitro study on the effects of nisin on the antibacterial activities of 18 antibiotics against *Enterococcus faecalis* // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, No. 2. – P. e89209. – DOI: 10.1371/journal.pone.0089209.
183. Ullah S., Chen Y., Wu C. et al. Mechanistic insights and therapeutic innovations in engineered nanomaterial-driven disruption of biofilm dynamics // *RSC Advances*. – 2025. – Vol. 15, No. 29. – P. 23187–23222. – DOI: 10.1039/d5ra01711d.
184. Umu Ö. C. O., Rudi K., Diep D. B. Modulation of the gut microbiota by prebiotic fibres and bacteriocins // *Microbial Ecology in Health and Disease*. – 2017. – Vol. 28, No. 1. – P. 1348886. – DOI: 10.1080/16512235.2017.1348886.
185. Vaillancourt K., LeBel G., Frenette M. et al. Suicin 3908, a new lantibiotic produced by a strain of *Streptococcus suis* serotype 2 isolated from a healthy carrier pig // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10, No. 2. – P. e0117245. – DOI: 10.1371/journal.pone.0117245.
186. van der Ploeg J. R. Regulation of bacteriocin production in *Streptococcus mutans* by the quorum-sensing system required for development of

- genetic competence // *Journal of Bacteriology*. – 2005. – Vol. 187, No. 12. – P. 3980–3989. – DOI: 10.1128/JB.187.12.3980-3989.2005.
187. van Heel A. J., Montalban-Lopez M., Kuipers O. P. Evaluating the feasibility of lantibiotics as an alternative therapy against bacterial infections in humans // *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. – 2011. – Vol. 7, No. 6. – P. 675–680. – DOI: 10.1517/17425255.2011.573478.
 188. Walczak Ł. J., Kwiatkowska M., Twarowski B. et al. Disinfectant-induced bacterial resistance and antibiotic cross-resistance—mechanisms and clinical relevance // *Clinical and Experimental Medicine*. – 2026. – Vol. 26. – P. 26. – DOI: 10.1007/s10238-025-01950-2.
 189. Willing B. P., Russell S. L., Finlay B. B. Shifting the balance: antibiotic effects on host-microbiota mutualism // *Nature Reviews Microbiology*. – 2011. – Vol. 9, No. 4. – P. 233–243. – DOI: 10.1038/nrmicro2536.
 190. Wu J., Zang M., Wang S. et al. Nisin: from a structural and meat preservation perspective // *Food Microbiology*. – 2023. – Vol. 111. – P. 104207. – DOI: 10.1016/j.fm.2022.104207. – PMID: 36681394.
 191. Yang S. C., Lin C. H., Sung C. T. et al. Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals // *Frontiers in Microbiology*. – 2014. – Vol. 5. – P. 241. – DOI: 10.3389/fmicb.2014.00241.
 192. Yuan J., Zhang Z. Z., Chen X. Z. et al. Site-directed mutagenesis of the hinge region of nisin Z and properties of nisin Z mutants // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2004. – Vol. 64, No. 6. – P. 806–815. – DOI: 10.1007/s00253-004-1599-1.
 193. Zheng J., Gänzle M. G., Lin X. B. et al. Diversity and dynamics of bacteriocins from human microbiome // *Environmental Microbiology*. – 2015. – Vol. 17, No. 6. – P. 2133–2143. – DOI: 10.1111/1462-2920.12662.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Название пробы	Идентификатор пробы	Микроорганизмы (наилучшее совпадение)	Численная оценка	Микроорганизмы (второе наилучшее совпадение)	Численная оценка
H7 (+++)(A)	H7 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,09	<i>Escherichia coli</i>	2,04
H8 (+++)(A)	H8 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,09	<i>Escherichia coli</i>	1,99
H4 (+++)(A)	H4 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,34	<i>Escherichia coli</i>	2,19
H5 (+++)(A)	H5 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,43	<i>Escherichia coli</i>	2,33
G10 (+++)(A)	G10 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	1,74	<i>Escherichia coli</i>	1,73
G7 (+++)(A)	G7 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,17	<i>Escherichia coli</i>	2,00
G6 (+++)(A)	G6 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,28	<i>Escherichia coli</i>	2,21
F12 (+++)(A)	F12 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,23	<i>Escherichia coli</i>	2,09
G1 (+++)(A)	G1 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,30	<i>Escherichia coli</i>	2,26
G3 (+++)(A)	G3 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,37	<i>Escherichia coli</i>	2,29
G5 (+++)(A)	G5 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,44	<i>Escherichia coli</i>	2,40
G6 (+++)(A)	G6 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,40	<i>Escherichia coli</i>	2,38
G7 (+++)(A)	G7 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,28	<i>Escherichia coli</i>	2,26
G9 (+++)(A)	G9 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,27	<i>Escherichia coli</i>	2,17
G12 (+++)(A)	G12 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,34	<i>Escherichia coli</i>	2,33
H11 (+++)(A)	H11 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,38	<i>Escherichia coli</i>	2,32
H12 (+++)(A)	H12 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,22	<i>Escherichia coli</i>	2,22
H11 (+++)(A)	H11 (стандарт)	<i>Escherichia coli</i>	2,43	<i>Escherichia coli</i>	2,36
E8 (стандарт)	E8 (стандарт)	<i>Lelliota amnigena</i>	2,29	<i>Lelliota amnigena</i>	2,23
F1 (+++)(A)	F1 (стандарт)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,08	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,05
F2 (+++)(A)	F2 (стандарт)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,07	<i>Enterobacter cloacae</i>	1,99
F3 (+++)(A)	F3 (стандарт)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,20	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,16
F10 (+++)(A)	F10 (стандарт)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,24	<i>Enterobacter cloacae</i>	1,95
G9 (+++)(A)	G9 (стандарт)	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,14	<i>Enterobacter cloacae</i>	1,99
G10	G10	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,01	<i>Enterobacter</i>	1,93

(+++)(A)	(стандарт)			<i>hormaechei</i>	
H6	H6	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,28	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,27
(+++)(A)	(стандарт)				
H7	H7	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,38	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,23
(+++)(A)	(стандарт)				
H10	H10	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,42	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,21
(+++)(A)	(стандарт)				
H12	H12	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,40	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,23
(+++)(A)	(стандарт)				
G7	G7	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,18	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,14
(+++)(A)	(стандарт)				
G8	G8	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,24	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,04
(+++)(A)	(стандарт)				
H10	H10	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,07	<i>Enterobacter cloacae</i>	1,91
(+++)(A)	(стандарт)				
H11	H11	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,15	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,13
(+++)(A)	(стандарт)				
H12	H12	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,09	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,09
(+++)(A)	(стандарт)				
G10	G10	<i>Enterobacter cloacae</i>	2,01	<i>Enterobacter hormaechei</i>	1,93
(+++)(A)	(стандарт)				
G11	G11	<i>Enterobacter ludwigii</i>	2,00	<i>Enterobacter bugandensis</i>	1,81
(+++)(A)	(стандарт)				
G12	G12	<i>Citrobacter braakii</i>	1,80	<i>Citrobacter koseri</i>	1,77
(+++)(A)	(стандарт)				
H1	H1	<i>Citrobacter braakii</i>	2,24	<i>Citrobacter braakii</i>	2,22
(+++)(A)	(стандарт)				
H2	H2	<i>Citrobacter braakii</i>	2,29	<i>Citrobacter braakii</i>	2,24
(+++)(A)	(стандарт)				
G6	G6	<i>Citrobacter braakii</i>	2,21	<i>Citrobacter freundii</i>	2,21
(+++)(A)	(стандарт)				
H9	H9	<i>Citrobacter braakii</i>	2,30	<i>Citrobacter braakii</i>	2,29
(+++)(A)	(стандарт)				
F4	F4	<i>Citrobacter braakii</i>	2,12	<i>Citrobacter murliniae</i>	2,11
(+++)(A)	(стандарт)				
G2	G2	<i>Citrobacter freundii</i>	2,25	<i>Citrobacter freundii</i>	2,09
(+++)(A)	(стандарт)				
H1	H1	<i>Morganella morganii</i>	2,40	<i>Morganella morganii</i>	2,38
(+++)(A)	(стандарт)				
H2	H2	<i>Proteus mirabilis</i>	2,25	<i>Proteus mirabilis</i>	2,17

(+++)(A)	(стандарт)				
H3 (+++)(A)	H3 (стандарт)	<i>Proteus mirabilis</i>	1,81	<i>Proteus mirabilis</i>	1,80
G9 (+++)(A)	G9 (стандарт)	<i>Proteus mirabilis</i>	2,33	<i>Proteus mirabilis</i>	2,30
G10 (+++)(A)	G10 (стандарт)	<i>Proteus mirabilis</i>	2,43	<i>Proteus mirabilis</i>	2,36
H2 (+)(C)	H2 (стандарт)	<i>Proteus mirabilis</i>	1,75	<i>Kurthia gibsoni</i>	1,70
H3 (+++)(A)	H3 (стандарт)	<i>Proteus mirabilis</i>	2,03	<i>Proteus mirabilis</i>	1,99
H4 (+++)(A)	H4 (стандарт)	<i>Proteus mirabilis</i>	2,03	<i>Proteus mirabilis</i>	1,94
G10 (+++)(A)	G10 (стандарт)	<i>Proteus mirabilis</i>	2,52	<i>Proteus mirabilis</i>	2,37
H9 (+++)(A)	H9 (стандарт)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2,34	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2,32
E10 (+)(B)	E10 (стандарт)	<i>Pseudomonas graminis</i>	1,79	<i>Pseudomonas graminis</i>	1,68
E10 (+)(B)	E9 (стандарт)	<i>Pseudomonas taetrolens</i>	1,94	<i>Pseudomonas fragi</i>	1,94
F6 (+++)(A)	F6 (стандарт)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,36	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,22
F10 (+++)(A)	F10 (стандарт)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,29	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,19
H1 (+++)(A)	H1 (стандарт)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,31	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,20
H2 (+++)(A)	H2 (стандарт)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,17	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,15
E2 (+++)(B)	E2 (стандарт)	<i>Aerococcus viridans</i>	2,05	<i>Aerococcus urinaequi</i>	2,04
E5 (+)(B)	E5 (стандарт)	<i>Aerococcus urinaequi</i>	1,72	<i>Aerococcus viridans</i>	1,71
F4 (+++)(A)	F4 (стандарт)	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	2,25	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	2,18
F5 (+)(B)	F5 (стандарт)	<i>Enterococcus columbae</i>	1,73	<i>Enterococcus columbae</i>	1,59
F6	F6 (стандарт)	<i>Enterococcus faecium</i>	2,31	<i>Enterococcus faecium</i>	1,98

(+++)(A)					
H6 (+++)(A)	H6 (стандарт)	<i>Enterococcus faecium</i>	2,40	<i>Enterococcus faecium</i>	2,36
H6 (+++)(A)	H6 (стандарт)	<i>Enterococcus faecium</i>	2,51	<i>Enterococcus faecium</i>	2,39
H9 (+++)(A)	H9 (стандарт)	<i>Enterococcus faecium</i>	2,44	<i>Enterococcus faecium</i>	2,35
H1 (+++)(A)	H1 (стандарт)	<i>Micrococcus luteus</i>	2,25	<i>Micrococcus luteus</i>	2,19
H3 (+++)(A)	H3 (стандарт)	<i>Micrococcus luteus</i>	2,32	<i>Micrococcus luteus</i>	2,31
H4 (+++)(A)	H4 (стандарт)	<i>Micrococcus luteus</i>	2,17	<i>Micrococcus luteus</i>	2,10
H5 (+++)(A)	H5 (стандарт)	<i>Micrococcus luteus</i>	2,06	<i>Micrococcus luteus</i>	2,04
H7 (+++)(A)	H7 (стандарт)	<i>Mixta calida</i>	2,52	<i>Mixta calida</i>	2,47
H4 (+++)(A)	H4 (стандарт)	<i>Staphylococcus equorum</i>	1,77	<i>Staphylococcus equorum</i>	1,75
E7 (+++)(A)	E7 (стандарт)	<i>Staphylococcus saprophiticus</i>	2,10	<i>Staphylococcus saprophiticus</i>	1,89
H8 (+++)(A)	H8 (стандарт)	<i>Staphylococcus sciuri</i>	2,22	<i>Staphylococcus sciuri</i>	1,81
E4 (+++)(A)	E4 (стандарт)	<i>Staphylococcus sciuri</i>	2,22	<i>Staphylococcus sciuri</i>	1,85
E11 (+++)(A)	E11 (стандарт)	<i>Staphylococcus xylosus</i>	2,05	<i>Staphylococcus xylosus</i>	1,74
F1 (+++)(A)	F1 (стандарт)	<i>Staphylococcus xylosus</i>	2,11	<i>Staphylococcus xylosus</i>	1,98
G11 (+)(B)	G11 (стандарт)	<i>Corynebacterium stationis</i>	1,80	<i>Corynebacterium stationis</i>	1,22
G6 (+++)(A)	G6 (стандарт)	<i>Bacillus licheniformis</i>	2,12	<i>Bacillus licheniformis</i>	2,09
H2 (+++)(A)	H2 (стандарт)	<i>Bacillus licheniformis</i>	2,01	<i>Bacillus licheniformis</i>	1,84
H7 (+++)(A)	H7 (стандарт)	<i>Bacillus licheniformis</i>	2,00	<i>Bacillus licheniformis</i>	1,91
A12 (+)(B)	A12 (стандарт)	<i>Bacillus subtilis</i>	1,70	<i>Bacillus subtilis</i>	1,47
B3	B3	<i>Bacillus pumilus</i>	1,95	<i>Bacillus pumilus</i>	1,92

(+) (B)	(стандарт)				
F3 (+++)(A)	F3 (стандарт)	<i>Bacillus cereus</i>	2,14	<i>Bacillus cereus</i>	1,96