УДК 631.95

ВЛИЯНИЕ КЛАСТЕРНОГО СЕРЕБРА НА ПАТОГЕННУЮ МИКРОФЛОРУ ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ АГРОПРОМЫШЛЕННОГО КОМПЛЕКСА

А.И. Пискаева*, Л.С. Дышлюк, Ю.Ю. Сидорин

ФГБОУ ВО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности (университет)», 650056, Россия, г. Кемерово, б-р Строителей, 47

**e-mail: a_piskaeva@mail.ru*

Дата поступления в редакцию: 22.01.2016
Дата принятия в печать: 15.04.2016

Известно, что применение серебросодержащих препаратов в качестве антипатогенных агентов активно используется во многих отраслях промышленности. В статье изучен отечественный и зарубежный опыт применения кластерного серебра в целях борьбы с патогенной и условно-патогенной микрофлорой, обитающей в органических отходах сельского хозяйства. Представлены основные механизмы воздействия стабильных кластеров серебра на бактериальные клетки и происходящие вследствие этого изменения. Целью настоящего исследования являлось изучение биоцидных свойств кластерного серебра в отношении патогенных и условно-патогенных тест-культур: *Salmonella typhimurium ATCC 1353*, *Salmonella pullorum ATCC 19945*, *Staphylococcus aureus ATCC 25923*, *Escherichia coli Б-5*, *Proteus vulgaris ATCC 13315*, *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*, представляющих естественную микрофлору органических отходов агропромышленного комплекса. Представлены результаты сравнения эффективности применения кластерного серебра и таких антибиотиков, как амоксициллин, тетрациклин, стрептомицин, левомицетин, для ингибирования роста *Salmonella typhimurium ATCC 1353*, *Salmonella pullorum ATCC 19945*, *Staphylococcus aureus ATCC 25923*, *Escherichia coli Б-5*, *Proteus vulgaris ATCC 13315*, *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*. Установлено, что кластерное серебро в концентрации 50 мкг/мл и выше способно ингибировать рост тест-культур в 1,5–2 раза сильнее антибиотиков. Определена способность кластерного серебра в различных концентрациях подавлять рост и развитие бактерий в искусственно контаминированных субстратах на примере куриного помета. Установлено бактериостатическое действие кластерного серебра в отношении грамотрицательных *Escherichia coli Б-5*, *Proteus vulgaris ATCC 13315* и *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* при концентрации 80 мкг/мл и выше.

Кластерное серебро, микрофлора отходов, утилизация отходов, антипатогенные свойства, обеззараживание

Введение

Сельское хозяйство остается одной из отраслей с наиболее низкой наукоемкостью, что определяет отставание агропродовольственного комплекса России в развитии и внедрении био- и нанотехнологий, использование которых в современных условиях способно обеспечить устойчивое развитие агропродовольственного комплекса, решение проблем продовольственной безопасности страны, получение высококачественных и экологически чистых продуктов питания, переработку отходов сельскохозяйственного производства, а также восстановление плодородия почв [1]. Биотехнологии представляют собой развитие и расширение набора технологических приемов, корни которых появились тысячи лет назад [2]. Нанотехнологию можно определить как набор технологий или методик, основанных на манипуляциях с отдельными атомами и молекулами, т.е. регулирования структуры и состава вещества. К наночастицам или наноструктурам относятся объекты размером от 1 до 100 нм [3].

Одной из главных проблем сельского хозяйства была и остается утилизация отходов. Разнообразность состава, наличие органических и неорганических компонентов осложняются высоким уровнем обсеменения, наличием цист простейших, семян сорных растений и различных загрязняющих веществ. Обеспечение норм безопасности сырья и продукции животного происхождения, а также экологической безопасности производства пищевой продукции делает актуальным поиск безопасных биоцидов, не наносящих вреда животным, человеку и окружающей среде [4].

Использование серебра в качестве эффективного антипатогенного агента пролонгированного действия не ново и активно используется в фармацевтической, косметической и пищевой отраслях промышленности, где находит применение в качестве антимикробных и антигрибковых добавок. Однако использование серебра в перерабатывающей промышленности не распространено, в то время как контаминация отходов предприятий зачастую превышает допустимые нормы. Установлено, что в одном литре помета или навоза может находиться до 100 видов возбудителей инфекционных и инвазионных заболеваний. Показатели заболеваемости работников птицефабрик, зооферм, хозяйств крупного рогатого скота и т.д. в 6 раз выше среднего, а уровень заболеваемости населения в районах, близких к крупным сельскохозяйственным предприятиям, – в 1,5. В то же время количество подобных отходов ежегодно увеличивается на 7–13 %.

В связи с вышеизложенным объединение достижений био- и нанотехнологий для эффективной утилизации органических отходов предприятий агропромышленного комплекса является актуальной и востребованной задачей.

Об антибактериальных свойствах серебра известно давно, однако научное обоснование появилось только в 1800 г. [5, 6]. В 1940 г. после ряда экс-

периментов группой американских исследователей установлено, что лечебным свойством обладают ионы серебра, которые выделяются из металла естественным путем за счет дефектов кристаллической решетки, хотя и в ничтожно малом количестве [7].

Известный ученый Джим Пауэлл в марте 1978 г. опубликовал в журнале Science Digest статью «Наш наиболее мощный бактерицид». Автор отметил, что один антибиотик может убить не более 10 разнообразных болезнетворных микроорганизмов, в то время как серебро убивает около 650, не вызывает привыкания бактерий, а также не токсично [8].

При сравнении антибактериальных свойств серебра и других препаратов обнаружено, что его бактерицидный эффект в 1750 раз превышает таковой карболовой кислоты и в 3,5 раза – сулемы и хлорной извести. Так, авторы [9, 10] выявили, что серебро обладает более мощным антибактериальным эффектом, чем пенициллин, биомицин и другие антибиотики, и оказывает губительное действие на антибиотикоустойчивые штаммы бактерий. На золотистый стафилококк, палочку протея, синегнойную и кишечную палочки ионы серебра оказывают различное действие – от бактериостатического (способность препятствовать размножению микробов) до бактерицидного (способность убивать микробы).

Авторами [11] установлено, что наночастицы серебра в невысоких концентрациях частично разрушают клеточную стенку бактерий, препятствуют нормальному делению клеток, инициируют процессы гетероморфизма. При этом популяция остается жизнеспособной, хотя ее развитие несколько замедляется. Попав в благоприятную среду такие популяции полностью восстанавливают свои морфологические свойства и возможность роста. В высоких концентрациях (40 мг/л) растворы коллоидного серебра вызывают столь стремительную гибель клеток в популяции, что возможностей сканирующей электронной микроскопии не хватает для того, чтобы зафиксировать происходящие морфологические изменения в популяции в виде разрушения покровов, мембранных структур или возникновения гетероморфных форм. Было сделано заключение, что бактерицидный эффект растворов серебра напрямую зависит от концентрации в них наночастиц. Чем она выше, тем глубже поражение клеточных структур, а следовательно, выше дезинфицирующий эффект применяемого препарата.

Исследования, проведенные авторами ранее, показывают, что влияние растворов коллоидного серебра на популяции клеток листерий также вызывает бактериостатический эффект, характеризующийся образованием в популяции гетероморфных форм на различных стадиях L-трансформации [12].

Бактерицидное действие кластерного серебра в отношении бактерий, вызывающих сальмонеллезы, описано в работе Е.П. Савиновой [13].

Антибактериальная активность известных российских препаратов на основе кластерного серебра, таких как «Фрактал-М», проверена А.В. Артемовым [4]. Исследования проводились в отношении штаммов *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium*, выращенных на мясопептонном агаре (МПА). Препараты кластерного серебра оказывали бактерицидное действие в отношении *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* при концентрации 20 мг/л, а также бактериостатическое действие при концентрации 10 мг/л. В отношении *Proteus vulgaris* отмечено бактериостатическое действие серебра в концентрации 20 мг/л. Концентрация, оказывающая бактериостатическое действие для *Staphylococcus aureus*, составляла от 20 до 40 мг/л. Препарат обладал бактерицидной активностью в отношении *Escherichia coli* при содержании кластерного серебра 20 и 40 мг/л. В отношении *Salmonella typhimurium* препарат продемонстрировал бактерицидную активность при концентрации кластерного серебра 40 мг/л и бактериостатическую при 20 и 10 мг/л. Ингибирование роста *Staphylococcus aureus*, рекомендованного в соответствии с методическими указаниями в качестве модельной тест-культуры для вирусов, свидетельствует о возможности применения кластерного серебра в качестве биоцида для возбудителей вирусной природы.

Однако в настоящее время недостаточно изучено избирательное действие кластерного серебра в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий. Как показывают большинство проведенных исследований, грамположительные бактерии гораздо устойчивее к высоким концентрациям серебра по сравнению с грамотрицательными. Многие из них обладают способностью накапливать частицы серебра на своей поверхности или в цитоплазме. Например, *Bacillus cereus* эффективно осаждает серебро в виде дискретных коллоидных агрегатов на поверхности клетки, а иногда и в цитоплазме, таким образом, организм снижает до 89 % от общего количества Ag+ и удаляет его из раствора [14]. Аналогично были показаны способности к накоплению наночастиц серебра определенной формы и размера в цитоплазме у *Bacillus licheniformis* [15, 17], *Bacillus cereus* PGN1 [16], *Bacillus. subtilis* [15].

Внутри клетки токсичные эффекты тяжелых металлов проявляются в образовании неспецифического внутриклеточного комплекса с особо уязвимыми тиоловыми группами.

Предыдущие исследования показывают, что некоторые тяжелые металлы токсичны для клеточных процессов. В грамотрицательных бактериях ионы тяжелых металлов могут связываться с глутатионом, а конечные продукты реакции имеют тенденцию реагировать с молекулярным кислородом с образованием окисленного бис-глутатиона, при этом выпуская катион металла и перекиси водорода. Некоторые ионы металлов структурно имитируют физиологически важные молекулы. Некоторые металлы влияют на внутриклеточные ферментативные и неферментативные реакции. Этот процесс может привести к повреждению многих клеточных компонентов, включая ДНК и белки. Кроме того, воздействие тяжелых металлов влияет на активность оксидазы, образование биопленок, по-

движность или ассимиляцию серы в различных микроорганизмах [18].

Некоторые ученые предполагают, что от размера частиц серебра зависят изменения в бактериальной клетке, как внутриклеточные, так и происходящие вне ее [19, 20, 21].

Наночастицы серебра размером до 80 нм, как было показано в работе [20], имеют возможность проникать во внутреннюю и внешнюю бактериальную клеточную мембрану. Частицы диаметром менее 10 нм способны просачиваться в цитоплазму путем формирования пор на клеточной стенке бактерий, при этом не влияя на внеклеточные белки и нуклеиновые кислоты [23].

В исследовании [24] был представлен противовирусный эффект наночастиц серебра. Учеными было установлено, что действие серебра происходит через взаимодействие с вирусным белком и/или вирусными нуклеиновыми кислотами.

Более глубокие исследования – транскриптомный ответ на воздействие кластерного серебра – были проведены индийскими учеными [14]. Они анализировали штамм *Bacillus cereus ATCC 14579* на способность к продуцированию наночастиц серебра из водного раствора нитрата серебра. В ходе исследований было установлено, что бактерии могут активировать различные клеточные и обменные адаптационные механизмы, чтобы уменьшить токсичность и осадок наноразмерных частиц серебра.

По предварительному анализу данных было доказано, что ряд микроорганизмов способен производить наночастицы серебра из водного раствора нитрата серебра (~ 1 мм).

Сканирующая электронная микроскопия *Bacillus cereus ATCC 14579* наряду с рентгеновским дисперсионным анализом показали накопление наночастиц серебра в клеточной стенке. Было установлено, что избыток серебра индуцирует экспрессию генов, участвующих в регуляции осмотического давления, транспортных элементов и реакции детоксикации, а также, возможно, способствует ослаблению защитных механизмов. Интересно, что наблюдалось влияние наночастиц серебра и на подвижность клеток – она значительно сокращалась.

Обобщая опыт изучения воздействия частиц серебра на патогенную микрофлору, следует отметить, что вопрос о механизме действия наночастиц серебра на вирусы, бактерии и клетки до настоящего времени остается окончательно не выясненным и требует дополнительных исследований [25].

Объекты и методы исследований

Экспериментальные исследования выполнены в лаборатории Научно-исследовательского института биотехнологии (НИИ биотехнологии) при ФГБОУ ВО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности (университет)». Работа с микроорганизмами II и III групп патогенности проводилась на базе бактериологической лаборатории МУЗ ЦРБ Гурьевского района.

В качестве тест-культур для определения антагонистической активности кластерного серебра в отношении патогенной и условно-патогенной микрофлоры органических отходов использовали штаммы, представляющие естественную микрофлору куриного помета: *Salmonella typhimurium ATCC 1353, Salmonella pullorum ATCC 19945, Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli Б-5, Proteus vulgaris ATCC 13315, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853.*

Штаммы выращивали на скошенной питательной среде МПА при (37±2) °С в течение 24 ч, затем проводили смывы стерильной водой и устанавливали концентрацию 10^9 микробных клеток на мл, используя стандарт мутности.

Подготавливали серии разведений культур в стерильной воде до 10^6 микробных клеток на мл. Засевали стерильные чашки Петри путем смешивания 1 мл каждой культуры с 10–15 мл питательной среды МПА. После застывания агара на поверхность питательной среды помещали диски диаметром 8 мм, пропитанные раствором кластерного серебра. Концентрацию серебра варьировали от 10 до 100 мкг/мл с шагом 10. В качестве контроля использовали чашки с дисками, пропитанными стерильной водой.

Для сравнения биоцидного эффекта кластерного серебра и антибиотиков (амоксициллина, тетрациклина, стрептомицина, левомицетина) использовали диски, пропитанные растворами антибиотиков в концентрации 0,4 %. Эксперимент проводили в трех повторностях. Анализ результатов вели путем измерения радиуса зон ингибирования роста бактерий (R), включая диаметр самого диска, после 24–48-часового инкубирования при (37±2) °С.

Для подтверждения результатов проводились опыты на искусственно контаминированных субстратах (куриный помет). Для этого в 4 стерильных контейнера с навесками субстрата массой 100 г вносили по 1 мл суточных культур *Salmonella typhimurium ATCC 1353, Salmonella pullorum ATCC 19945, Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli Б-5, Proteus vulgaris ATCC 13315, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* в концентрации 10^6 микробных клеток на мл. Спустя 24 ч инкубирования контаминированных субстратов при температуре (37±2) °С в каждый контейнер путем распрыскивания вносили по 1 мл препарата кластерного серебра в концентрации от 40 до 100 мкг/мл с шагом 20 (концентрацию растворов кластерного серебра выбирали в соответствии с результатами предыдущих экспериментов).

Для оценки результатов эксперимента и времени воздействия кластерного серебра на патогенную и условно-патогенную микрофлору отбирались пробы субстратов массой 1 г (через 24, 48, 72, 96 ч), с последующим десятикратным разведением материала стерильной водой для определения наличия микроорганизмов.

Для определения *Staphylococcus aureus ATCC 25923* и *Escherichia coli Б-5* использовали петрифильмы (Petrifilm™ корпорации 3M). Проводили автоматический учет количества выросших на петрифильме колоний с использованием Петрифильм-Ридера (Petrifilm™ Plate Reader) [27].

Для выявления микроорганизмов рода *Salmonella* использовали лактозный агар Дригальского (BD Drigalski Lactose Agar). Выросшие колонии имеют сизо-голубой цвет с зеленоватым центром. Учет выросших колоний проводили после 18–24 ч культивирования при (35±2) °С в аэробной атмосфере.

Для выявления *Proteus* и *Pseudomonas* использовали агар бессолевой лактозной питательной среды с цистином (BD CLED Agar). Выросшие колонии *Proteus* бесцветные или синие. *Pseudomonas* – зеленые колонии с обычной матовой поверхностью и грубой границей периметра. Продолжительность культивирования 24–48 ч при температуре окружающей среды (35±2) °С.

В течение эксперимента совместно с высевами на петрифильмы и диагностические среды проводились микроскопические исследования на микроскопе AxioVert.A1 (Carl Zeiss AG) путем приготовления мазков и окрашивания по Граму. Эксперимент ставили в трех повторностях.

Результаты исследований

Результаты исследования биоцидного эффекта кластерного серебра в отношении штаммов *Salmonella typhimurium ATCC 1353, Salmonella pullorum ATCC 19945, Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli Б-5, Proteus vulgaris ATCC 13315, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* представлены в табл. 1.

На рис. 1 показано сравнение зон ингибирования роста *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* при воздействии антибиотика амоксициллина и кластерного серебра в концентрации 80 и 100 мкг/мл.

Антибиотическая устойчивость штаммов к амоксициллину, тетрациклину, стрептомицину и левомицетину представлена в табл. 2.

Таблица 1

Изменение размеров зон ингибирования роста от концентрации кластерного серебра

Штамм	Концентрация кластерного серебра, мкг/мл									
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
	Радиус зоны ингибирования роста (R)*, мм									
Salmonella typhimurium	11,0±2,5	14,0±1,4	16,0±0,4	18,0±2,2	19,0±0,2	19,0±2,7	20,0±1,9	21,0±1,5	22,0±1,0	22,0±0,5
Salmonella pullorum	9,0±3,3	13,0±2,3	15,0±1,5	17,0±0,9	19,0±0,1	19,0±2,9	20,0±1,9	22,0±1,3	22,0±1,4	22,0±0,3
Staphylococcus aureus	11,0±1,3	15,0±1,9	16,0±0,9	18,0±2,9	20,0±1,6	21,0±0,6	21,0±1,6	22,0±1,9	23,0±0,6	23,0±0,1
Escherichia coli	10,0±1,9	13,0±1,5	17,0±0,7	18,0±0,2	19,0±2,2	20,0±0,1	20,0±2,4	21,0±2,1	22,0±1,3	23,0±0,3
Proteus vulgaris	13,0±1,9	16,0±2,8	19,0±1,8	20,0±1,5	21,0±1,4	22,0±1,2	23,0±1,9	24,0±1,8	24,0±1,9	24,0±0,2
Pseudomonas aeruginosa	12,0±1,7	17,0±2,3	20,0±1,9	22,0±2,2	24,0±0,2	24,0±2,2	25,0±2,7	26,0±2,1	26,0±2,9	26,0±0,9

*Среднее значение трех наблюдений, P<0.05.

Таблица 2

Антибиотическая устойчивость штаммов

Штамм	Антибиотик			
	амоксициллин	тетрациклин	стрептомицин	левомицетин
	Радиус зоны ингибирования роста (R)*, мм			
Salmonella typhimurium	12,0±0,4	13,0±2,2	15,0±2,5	14,0±1,4
Salmonella pullorum	14,0±1,5	19,0±0,9	18,0±3,3	17,0±2,3
Staphylococcus aureus	10,0±0,9	11,0±2,9	13,0±1,3	15,0±1,9
Escherichia coli	14,0±0,7	18,0±0,2	17,0±1,9	18,0±1,5
Proteus vulgaris	12,0±1,8	10,0±1,5	13,0±1,9	15,0±2,8
Pseudomonas aeruginosa	13,0±1,9	10,0±2,2	12,0±1,7	12,0±2,3

*Среднее значение трех наблюдений, P<0.05.

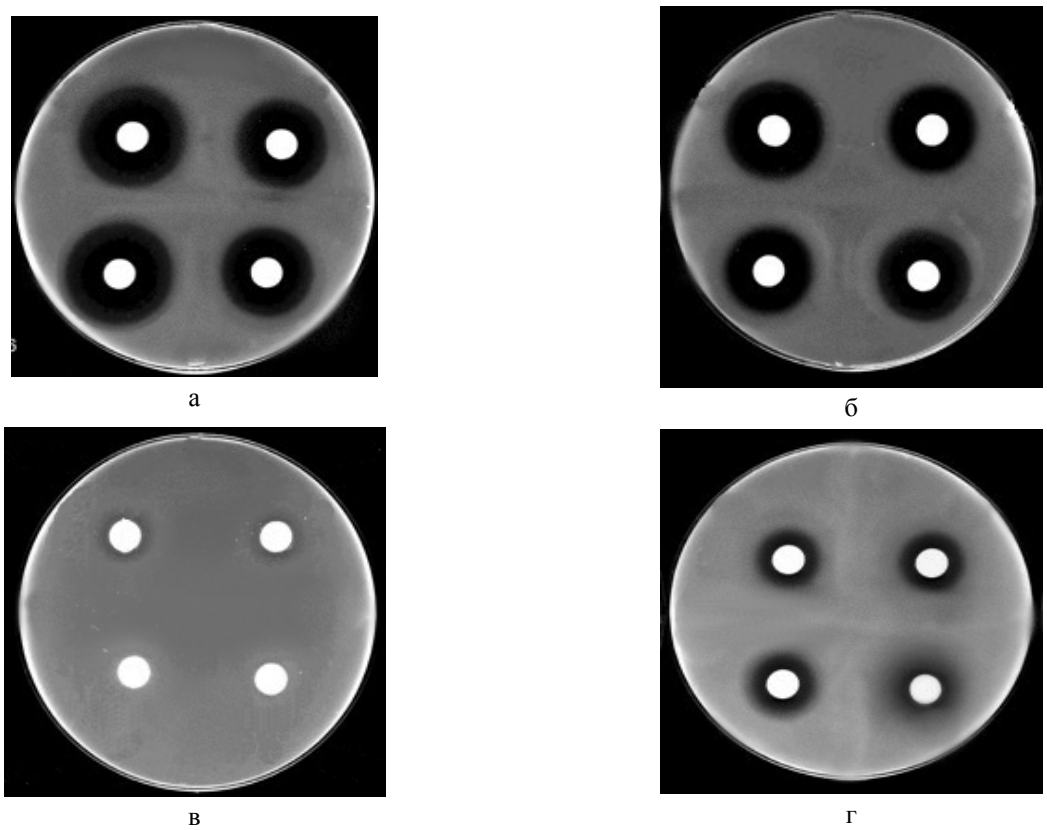

Рис. 1. Зоны ингибирования роста *Pseudomonas aeruginos ATCC 27853*:
а – 80 мкг/мл кластерное серебро; б – 100 мкг/мл кластерное серебро; в – контроль; г – 0,4 % амоксициллин

Из данных, представленных в табл. 1 и 2 и на рис. 1, следует вывод о том, что кластерное серебро обладает выраженными антипатогенными свойствами. Ингибирующий эффект проявляется уже при концентрации 10 мкг/мл для всех исследуемых штаммов. При концентрации 50 мкг/мл и выше серебро ингибирует рост *Salmonella typhimurium ATCC 1353, Salmonella pullorum ATCC 19945, Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli Б-5, Proteus vulgaris ATCC 13315, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* в 1,5–2 раза сильнее антибиотиков.

Интересно отметить, что при сравнении результатов теста на ингибирование роста кластерным серебром полученные через 24, 48 и 72 ч зоны не меняли своих размеров, в то время как в тесте с антибиотиками отмечалось зарастание зон, образованных после 24 ч, на 0,5–0,7 мм у штаммов *Salmonella typhimurium ATCC 1353, Staphylococcus aureus ATCC 25923* и *Proteus vulgaris ATCC 13315.* Это можно объяснить накопительным эффектом ионов серебра в среде, что делает его действие пролонгированным.

Результаты исследований, проведенных на контаминированных субстратах, представлены на рис. 2.

Согласно с кривыми гибели тест-культур в искусственно контаминированном субстрате установлено биоцидное действие кластерного серебра в отношении грамотрицательных *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* и *Pseudomonas aeruginosa* при концентрации 80 мкг/мл и выше и продолжительности культивирования от 72 ч. Отмечено двукратное уменьшение числа выросших колоний для штаммов *Salmonella typhimurium*, *Salmonella pullorum* и *Staphylococcus aureus* после 72 ч культивирования, предположительно, это связано со способностью данных штаммов осаждать серебро на клеточной стенке и внутри цитоплазмы. Причиной относительно медленного воздействия на грамположительный *Staphylococcus aureus* может служить толстая клеточная стенка бактерий.

Интенсивное подавление роста колоний всех штаммов отмечалось при сравнении результатов, полученных при концентрации кластерного серебра 60 и 80 мкг/мл. Разница между показателем 80 и 100 мкг/мл не являлась значительной.

Результаты предыдущих исследований [26], где в качестве модельного микроорганизма исследовался патогенный серовариант *E. coli*, подтверждают выбор концентрации кластерного серебра 80 мкг/мл как достаточной для обеспечения обеззараживания субстратов.

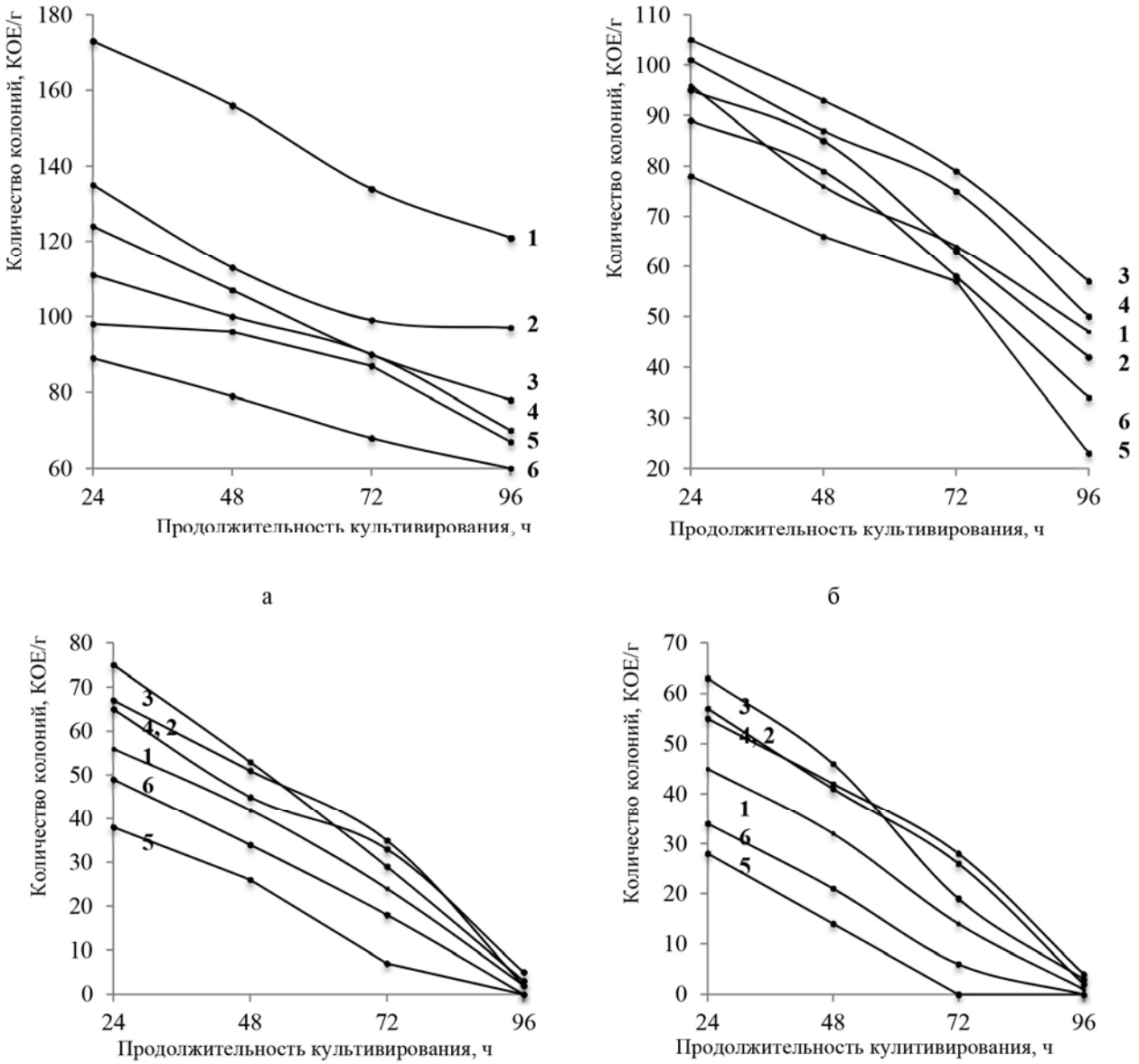

Рис. 2. Кривые гибели тест-культур бактерий в зависимости от концентрации серебра и времени воздействия:
1 – *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*; 2 – *Salmonella typhimurium ATCC 1353*; 3 – *Salmonella pullorum ATCC 19945*;
4 – *Staphylococcus aureus ATCC 25923;* 5 – *Escherichia coli Б-5*; 6 – *Proteus vulgaris ATCC 13315;*
а – кластерное серебро 40 мкг/мл; б – кластерное серебро 60 мкг/мл; в – кластерное серебро 80 мкг/мл;
г – кластерное серебро 100 мкг/мл

Выводы

Установлены биоцидные свойства кластерного серебра в отношении патогенных и условно-патогенных бактерий *Salmonella typhimurium ATCC 1353, Salmonella pullorum ATCC 19945, Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli Б-5, Proteus vulgaris ATCC 13315, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*, представляющих естественную микрофлору органических отходов агропромышленного комплекса.

Представлены результаты сравнения эффективности применения кластерного серебра и антибиотиков (амоксициллин, тетрациклин, стрептомицин, левомицетин) для ингибирования роста *Salmonella typhimurium ATCC 1353, Salmonella pullorum ATCC 19945, Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli Б-5, Proteus vulgaris ATCC 13315, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*. Установлено, что концентрация кластерного серебра 50 мкг/мл и выше ингибирует рост перечисленных бактерий в 1,5–2 раза сильнее антибиотиков.

Определена способность кластерного серебра в различных концентрациях подавлять рост и развитие бактерий в искусственно контаминированных субстратах. Установлено бактериостатическое действие кластерного серебра в отношении грамотрицательных *Escherichia coli Б-5*, *Proteus vulgaris ATCC 13315* и *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* при концентрации 80 мкг/мл и выше.

Список литературы

1. Кадомцева, М.Е. Био- и нанотехнологии в агропродовольственном комплексе / М.Е. Кадомцева // Вестник ПНИПУ. Социально-экономические науки. – 2015. – № 1. – С. 74–82.

2. Просеков, А.Ю. Необходимость формирования знаний о принципах и возможностях биотехнологии / А.Ю. Просеков, О.В. Мудрикова // Международный журнал экспериментального образования. – 2011. – №7. – С 75. URL: http://www.expeducation.ru/ru/article/view?id=2008 (дата обращения: 12.12.2015).

3. Глебова, С.Ю. Молочный белок как наночастица с заданными свойствами / А.Ю. Просеков, С.Ю. Глебова, И.С. Разумникова // Молочная промышленность. – 2008. – №4. – С 71–72.

4. Артемов, А.В. Биоцидные свойства кластерного серебра и перспективы его использования в ветеринарии / А.В. Артемов // Ветеринарная патология. – 2011. – № 3. – С. 117–119.

5. Гусев, А.И. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. – М.: ФИЗМАТПИТ, 2007. – 416 с.

6. Савинова, Е.П. Бактерицидная и дезинфицирующая активность препаратов кластерного серебра / Е.П. Савинова // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2014. – № 11. – С. 44–48.

7. Goetz, A. Silver in Industry / A. Goetz, R. Tracey, F. Harris // Reinhold. – 1940. – pp. 401–429.

8. Powell, J. Our Mightiest Germ Fighter // Science Digest. – 1978. – pp. 57–60.

9. Изучение биоцидной активности дезинфицирующего препарата на основе нанокластеров серебра / К.И. Гурин, И.П. Погорельский, В.М. Бакулин, Д.А. Шаров // Дезинфекционное дело. – 2011. – № 4. – С. 30–31.

10. Родионов, П.П. Серебро в медицине, биологии и технике: сб. науч. трудов. – Новосибирск: Ин-т клинической иммунологии СО РАМН, 1996. – 224 с.

11. Банникова, Д.А. Изучение влияния коллоидного серебра на морфологию и развитие популяций клеток сальмонелл с применением метода сканирующей электронной микроскопии / Д.А. Банникова, А.Б. Кононенко, Е.П. Савинова // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2015. – № 1. – С. 81–87.

12. Pavlova, I.B. Vliyanie rastvorov klasternogo cerebra na vyzhivaemost i morfologiyu patogennykh bakterii / I.B. Pavlova, A.M. Smirnov, A.A. Vlasov // Vestnik RASKHN. – 2010. – № 5. – С. 63–66.

13. Савинова, Е.П. Оценка бактерицидной активности антимикробных средств в отношении возбудителей сальмонеллезов / Е.П. Савинова // Ветеринария и кормление. – 2013. – № 5. – С. 48–49.

14. Mullen, M.D. Bacterial sorption of heavy metals // M.D. Mullen, D.C. Wolf, F.G. Ferris, T.J. Beveridge, C.A. Flemming, G.W. Bailey / Appl Environ Microbiol. – 1989. – № 55. – pp. 3143–3149.

15. Beveridge, T.J. Major sites of metal binding in Bacillus licheniformis walls / T.J. Beveridge, C.W. Forsberg, R.J. Doyle // Bacteriol. – 1982. – № 150. – pp. 1438–1448.

16. Kalimuthu, K. Biosynthesis of silver nanocrystals by Bacillus licheniformis Coll. Surf. // K. Kalimuthu, R.S. Babu, D. Venkatataraman, M. Bilal, S. Gurunathan. – 2008. – № 65. – pp. 150–153.

17. Babu, G.M. Production and structural characterization of silver nanoparticles from Bacillus cereus PGN1 isolate. Coll surf B / G.M. Babu, P. Gunasekaran // Biointerface. – 2009. – № 74. – pp. 191–194.

18. Anuradha, P. Synthesis of AgNps By Bacillus cereus bacteria and their antimicrobial potential / P. Anuradha, S. Seema, A. Naheed, G. Ashok, S. Preety // Biomaterial Nanobiotech. – 2011. – № 2. – pp. 155–161.

19. Morones, J.R. The bactericidal effect of silver nanoparticles / J.R. Morones, J.L. Elechiguerra, A. Camacho, K. Holt, J.B. Kouri, J.T. Ramírez, M.J. Yacaman // Nanotechnology. – 2009. – № 16. – pp. 2346–2353.

20. Gogoi, SK. Green uorescent protein-expressing Escherichia coli as a model system for investigating the antimicrobial activities of silver nanoparticles / S.K. Gogoi, P. Gopinath, A. Paul, A. Ramesh, S.S. Ghosh, A. Chattopadhyay // Langmuir. – 2006. – № 22. – pp. 9322–9328.

21. Banerjee, M. Heightened reactive oxygen species generation in the antimicrobial activity of a three component iodinated chitosan- silver nanoparticle composite / M. Banerjee, S. Mallick, A. Paul, A. Chattopadhyay, S.S. Ghosh // Langmuir. – 2010. – № 26. – pp. 5901–5908.

22. Xu, X.H. Real-time probing of membrane transport in living microbial cells using single nanoparticle optics and living cell imaging / X.H Xu, W.J. Brownlow, S.V. Kyriacou, Q. Wan, J.J. Viola // Biochemistry, – 2004. – № 43. – pp. 10400–10413.

23. Gogoi, S.K. Green uorescent protein-expressing Escherichia coli as a model system for investigating the antimicrobial activities of silver nanoparticles / S.K. Gogoi, P. Gopinath, A. Paul, A. Ramesh, S.S. Ghosh, A. Chattopadhyay // Langmuir, – 2006. – № 22. – pp. 9322–9328.

24. Maillard, J.Y. Virus susceptibility to biocides: an understanding / J.Y. Maillard // Rev Med Microbiol. – 2001. – № 12. – pp. 63–74.

25. Применение серебра (обзор) / Л.Т. Денисова, Н.В. Белоусова, В.М. Денисов, В.В. Иванов // Журнал Сибирского федерального университета. – 2009. – № 3. – С. 25–27.

26. Piskaeva, A. I. Investigation of the influence of the cluster silver on microorganisms-destructors and bacteria Escherichia coli / A. I. Piskaeva, L.S. Dysluk, Y.Y. Sidorin, Y.V. Zhumaev, A.Y. Prosekov // Foods and Raw Materials. – 2013. – № 1. – pp. 62–66.

27. МУК 4.2.2884-11. Методы микробиологического контроля объектов окружающей среды и пищевых продуктов с использованием петрифильмов: Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. – 24 с.

CLUSTER SILVER INFLUENCE ON PATHOGENIC MICROFLORA OF AGRO-INDUSTRIAL ORGANIC WASTE

A.I. Piskaeva*, L.S. Dyshlyuk, Yu.Yu. Sidorin

Kemerovo Institute of Food Science and Technology(University), 47, Boulevard Stroiteley, Kemerovo, 650056, Russia

**e-mail: a_piskaeva@mail.ru*

Received: 22.01.2016
Accepted: 15.04.2016

It is known that the use of silver-containing preparations as anti-pathogenic agents is widely applied in many industries. The paper deals with domestic and foreign experience of cluster silvers application against pathogenic and conventionally pathogenic microflora inhabiting the organic agricultural waste. The main mechanisms of stable cluster silver effect on bacterial cells and changes occurring in them are presented. The present study aims to evaluate the biocidal properties of cluster silver against pathogenic and conventionally pathogenic test cultures: *Salmonella typhimurium ATCC 1353, Salmonella pullorum ATCC 19945, Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli B-5, Proteus vulgaris ATCC 13315, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*, representing the natural microflora of organic agricultural waste. The results of comparing the effectiveness of cluster silver application and that of antibiotics (amoxicillin, tetracycline, streptomycin, chloramphenicol) to inhibit the growth of Salmonella typhimurium ATCC 1353, Salmonella pullorum ATCC 19945, Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli B-5, Proteus vulgaris ATCC 13315, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 are presented. It has been found that cluster silver with 50 ug / ml concentration and above is capable of inhibiting the growth of test cultures at 1.5–2.0 times stronger than antibiotics are. The ability of various concentrations of cluster silver to inhibit the growth and development of bacteria in artificially contaminated substrates by the example of chicken manure has been determined. The bacteriostatic effect of cluster silver against gram-negative Escherichia coli B-5, Proteus vulgaris ATCC 13315 and Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 at a concentration of 80 ug/ml and higher has been established.

Cluster silver, microflora of waste, waste recycling, antipathogenic properties, decontamination

References

1. Kadomtseva M.E. Bio- i nanotehnologiya v agropromyshlennom komplekse [Bio- and nanotechnology in the agro-food complex]. *Vestnik PNIPU. Social'no-economicheskie nayki* [Bulletin of Perm National Research Polytechnic University. Social and economic sciences.], 2015, no. 1, pp. 74–82.

2. Prosekov A.Yu., Mudrikova O.V. Neobkhodimost' formirovaniya znaniy o printsipakh i vozmozhnostyakh biotekhnologii [The necessity of formation of knowledge of the principles and possibilities of biotechnology]. *Mezhdunarodnyy zhurnal eksperimental'nogo obrazovaniya* [International Journal of Experimental Education], 2011, no. 7, pp. 75. Available at: http://www.expeducation.ru/ru/article/view?id=2008. (accessed 12 December 2015).

3. Glebova S.Yu., Prosekov A.Yu., Razumnikova I.S. Molochnyy belok kak nanochastitsa s zadannymi svoystvami [Milk protein as a nanoparticle with predetermined properties]. *Molochnaya promyshlennost'* [Dairy Industry], 2008, no. 4, pp. 71–72.

4. Artemov A.V. Biocidniye svoistva klasternogo serebra i perspektivy ego ispol'zovaniya v veterenarii [Biocidal properties of the cluster of silver, and the prospects for its use in veterinary medicine]. *Veterinarnaya patologiya* [Veterinary Pathology], 2011, no. 3, pp. 117–119.

5. Gusev A.I. *Nanomaterialy, nanostructury, nanotehnologii* [Nanomaterials, nanostructures, nanotechnology]. Moscow, FIZMATPIT Publ., 2007. 416 p.

6. Savinova E.P. Bakteritsidnaya i dezinfitsiruyushchaya aktivnost' preparatov klasternogo serebra [Bactericidal and disinfecting activity of the preparations of the cluster of silver]. *Problemy Veterinarnoi Sanitarii, Gigieny i Ecologii* [Problems on Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology], 2014, no. 11, pp. 44–48.

7. Goetz A., Tracey R., Harris F. Silver in Industry. *Reinhold*, 1940, pp. 401–429.

8. Powell J. Our Mightiest Germ Fighter. *Science Digest*, 1978, pp. 57–60.

9. Gurin K.I., Pogorel'skiy I.P., Bakulin V.M., Sharov D.A. Izuchenie biocidnoiy aktivnosty dezenficiruyshego preparata na osnove klasternogo serebra [Study of Biocide Activity of Disinfection Preparation Based on Silver Nanoclusters]. *Dezinfektsionnoe delo* [Disinfection Affairs], 2011, no. 4, pp. 30–31.

10. Rodionov P.P. *Serebro v medecine, biologii i tehnike* [Silver in medicine, biology and technology]. Novosibirsk, Institute of Clinical Immunology SB RAMS Publ., 1996. 224 p.

11. Bannikova D.A., Kononenko A.B., Savinova E.P. Izuchenie vliyaniya kolloidnogo serebra na morphologiy i razvitie populiyacii kletok Salmonella s primeneniem metoda scaniryushei microscopii [Effect of colloid silver ontomorphology and development of Salmonella cells populations with using scanning electron microscopy]. *Problemy Veterinarnoi Sanitarii, Gigieny i Ecologii* [Problems on Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology], 2015, no. 1, pp. 81–87.

12. Pavlova I.B., Smirnov A.M., Vlasov A.A. Vliyanie rastvorov klasternogo cerebra na vyzhivaemost i morfologiyu patogennykh bakterii [Influence of cluster silver solution on survival and morphology of pathogenic bacteria populations]. *Vestnik RASKHN* [Bulletin of the russian academy of agricultural sciences], 2010, no. 5, pp. 63–66.

13. Savinova E.P. Otsenka bakteritsidnoy aktivnosti antimikrobnykh sredstv v otnoshenii vozbuditeley sal'monellezov [Assessment of bactericidal activity of antimicrobial drugs against Salmonellosis agents]. *Veterinaria I kormlenie*, 2013, no. 5, pp. 48–49.

14. Mullen M.D., Wolf D.C., Ferris F.G., Beveridge T.J., Flemming C.A., Bailey G.W. Bacterial sorption of heavy metals. *Appl. Environ Microbiol*., 1989, no. 55, pp. 3143–3149.

15. Beveridge T.J., Forsberg C.W., Doyle R.J. Major sites of metal binding in *Bacillus licheniformis* walls. *Bacteriol*., 1982, no. 150, pp. 1438–1448.

16. Kalimuthu K., Babu R.S., Venkatataraman D., Bilal M., Gurunathan S. Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2008, vol. 65, iss. 1, pp. 150–153.

17. Babu G.M., Gunasekaran P. P Production and structural characterization of crystalline silver nanoparticles from *Bacillus cereus* isolate. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2009, vol. 74, iss. 1, pp. 191–194.

18. Anuradha P., Seema S., Naheed A., Ashok G., Preety S. Synthesis of AgNps By *Bacillus cereus* bacteria and their antimicrobial potential. *Biomaterial Nanobiotech.*, 2011, no. 2, pp. 155–161.

19. Morones J.R., Elechiguerra J.L., Camacho A., Holt K., Kouri J.B., Ramírez J.T., Yacaman M.J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 2009, no. 16, pp. 2346–2353.

20. Gogoi S.K., Gopinath P., Paul A., Ramesh A., Ghosh S.S., Chattopadhyay A. Green uorescent protein-expressing *Escherichia coli* as a model system for investigating the antimicrobial activities of silver nanoparticles. *Langmuir*., 2006, no. 22, pp. 9322–9328.

21. Banerjee M., Mallick S., Paul A., Chattopadhyay A., Ghosh S.S. Heightened reactive oxygen species generation in the antimicrobial activity of a three component iodinated chitosan- silver nanoparticle composite. *Langmuir.*, 2010, no. 26, pp. 5901–5908.

22. Xu X.H., Brownlow W.J., Kyriacou S.V., Wan Q., Viola J.J. Real-time probing of membrane transport in living microbial cells using single nanoparticle optics and living cell imaging. *Biochemistry*, 2004, no. 43, pp. 10400–10413.

23. Gogoi S.K., Gopinath P., Paul A., Ramesh A., Ghosh S.S., Chattopadhyay A. Green uorescent protein-expressing *Escherichia coli* as a model system for investigating the antimicrobial activities of silver nanoparticles. *Langmuir.*, 2006, no. 22, pp. 9322–9328.

24. Maillard J.Y. Virus susceptibility to biocides: an understanding. *Rev Med Microbiol*., 2001, no. 12, pp. 63–74.

25. Denisova L.T., Belousova N.V., Denisov V.M., Ivanov V.V. Primenenie serebra (obzor) [The use of silver (Overview)]. *Zhurnal Sibirskogo Federal'nogo Universiteta* [Journal of Siberian Federal University], 2009, no. 3, pp. 25–27.

26. Piskaeva A.I., Dysluk L.S., Sidorin Yu.Yu., Zhumaev Yu.V., Prosekov A.Yu. Investigation of the influence of the cluster silver on microorganisms-destructors and bacteria *Escherichia coli. Foods and Raw Materials*, 2013, vol. 1, no. 1, pp. 62–66.

27. *MUK 4.2.2884-11. Metody mikrobiologicheskogo kontrolya s ispol'zovaniem petrifil'mov* [Practical policies 4.2.2884-11. Methods of microbiological control of environmental projects and food products with the use of Petrifilms]. Moscow, Federal Center of Hygiene and Epidemiology, 2011. 24 p. (In Russ.).

Дополнительная информация / Additional Information

Пискаева, А.И. Влияние кластерного серебра на патогенную микрофлору органических отходов агропромышленного комплекса / А.И. Пискаева, Л.С. Дышлюк, Ю.Ю. Сидорин // Техника и технология пищевых производств. – 2016. – Т. 41. – № 2. – С. 132–140.

Piskaeva A.I., Dyshlyuk L.S., Sidorin Yu.Yu. Cluster silver influence on pathogenic microflora of agro-industrial organic waste. *Food Processing: Techniques and Technology,* 2016, vol. 41, no. 2, pp. 132–140 (in Russ.).

Пискаева Анастасия Игоревна
аспирант кафедры бионанотехнологии, ФГБОУ ВО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности (университет)», 650056, Россия, г. Кемерово, б-р Строителей, 47, тел.: +7 (3842) 39-68-73, e-mail: a_piskaeva@mail.ru

Дышлюк Любовь Сергеевна
канд. биол. наук, старший преподаватель кафедры бионанотехнологии, ФГБОУ ВО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности (университет)», 650056, Россия, г. Кемерово, б-р Строителей, 47, тел.: +7 (3842) 39-05-37, e-mail: soldatovals1984@mail.ru

Сидорин Юрий Юрьевич
канд. физ.-мат. наук, доцент, профессор-консультант научно-образовательного центра, ФГБОУ ВО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности (университет)», 650056, Россия, г. Кемерово, б-р Строителей, 47, e-mail: sidorin99@mail.ru

Anastasia I. Piskaeva
Postgraduate studen of the Department of Bionanotechnology, Kemerovo Institute of Food Science and Technology (University)», 47, Boulevard Stroiteley, Kemerovo, 650056, Russia, phone: +7 (3842) 39-68-73, e-mail: a_piskaeva@mail.ru

Lyubov S. Dyshlyuk
Cand.Sci.(Biol.), Senior Lecturer of the Department of Bionanotechnology, Kemerovo Institute of Food Science and Technology (University), 47, Boulevard Stroiteley, Kemerovo, 650056, Russia, phone: +7 (3842) 39-05-37, e-mail: soldatovals1984@mail.ru

Yuri Yu. Sidorin
Cand.Sci.(Phys.-Mathem.), Associate Professor, Professor-Consultant of the Center of Research and Education, Kemerovo Institute of Food Science and Technology (University), 47, Boulevard Stroiteley, Kemerovo, 650056, Russia