

ПРОТИВОФАГОВАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОЦИДОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ НА МОЛОЧНЫХ ЗАВОДАХ

ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

Ирина Сергеевна Полянская, канд. техн. наук, доцент

Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н. В. Верещагина, с. Молочное

E-mail: poljanska69@mail.ru

Фаголизис заквасочной микробиоты при производстве ферментированных молочных продуктов представляет собой серьезную угрозу безопасности и качеству продукции. Сведения о вирулицидной активности коммерческих дезинфицирующих веществ, предназначенных для молочной промышленности, более ограничены по сравнению с антибактериальной активностью, и требуют своей актуализации в свете разработки эффективных процедур инактивации фагов на молочных заводах, программ нормального и усиленного режимов мойки и дезинфекции на конкретном предприятии против появляющихся новых устойчивых фагов. Подходы и выбор ротации биоцидов, включая фагодиагностику, исследования бактериофагов различных видов молочнокислых бактерий, также имеют важное значение для разработки более эффективных процедур инактивации фагов в лабораториях. Цель литературного обзора – выявление возможности направленных профилактических противофаговых дезинфекционных мероприятий на молокоперерабатывающем заводе для дальнейшей разработки инструкции по санитарной обработке на предприятиях молочной промышленности. Анализ оригинальных и обзорных статей на русском и английском языках был осуществлен с применением ресурсов электронных библиотек и поисковых систем eLIBRARY.RU, CyberLeninka, Scholar Google, Science Direct, PubMed. Выявлено, что, несмотря на значительный прогресс в области изучения вирулицидной активности дезинфицирующих средств, остаются нерешенные вопросы, связанные с тщательным и регулярным изучением доступных биоцидов против появляющихся новых фагов, с использованием системы ротации биоцидов на конкретных предприятиях. Полученные данные могут быть использованы при разработке направленных профилактических противофаговых мероприятий на молокоперерабатывающих заводах, при пересмотре санитарных правил для предприятий молочной промышленности, разработке инструкции по санитарной обработке технологического оборудования и производственных помещений на предприятиях молочной промышленности, а также санитарных правил для исследовательских лабораторий, работающих с бактериофагами молочнокислых бактерий.

Ключевые слова: молочные продукты, молочнокислые бактерии, бактериофаги, биоциды, дезинфекция, дезинфекция, надуксусная кислота, четвертичные аммониевые соединения, поливинилпирролидон-йод, УФ-обработка

Для цитирования: Полянская, И. С. Противофаговая эффективность биоцидов, применяемых на молочных заводах / И. С. Полянская // Молочная промышленность. 2025. № 5. С. 44–58. <https://doi.org/10.21603/1019-8946-2025-5-60>

ВВЕДЕНИЕ

В молочной промышленности активно применяются биотехнологические подходы к производству пищевого белка, пробиотиков, пребиотиков, синбиотиков, заквасок и пищевых ингредиентов, ферментных препаратов, новых штаммов молочнокислых микроорганизмов, микробных консорциумов с заданными биологическими свойствами и оптимальными технологическими характеристиками [1–3]. На молочных предприятиях микробиологические показатели продукции могут оказывать влияние на ход биотехнологических процессов, инициируя возникновение рисков безопасности производства.

Бактериофаги – микроскопические существа, способные размножаться только в бактериальных клетках, в строгом смысле не являются живыми, однако их относят к «организмам на границе живого» или к низшей из существующих на Земле неклеточной

форме жизни, т. к. они имеют собственный набор генетического материала и способны к эволюции совместно с бактериями¹. На основании проведенных уникальных фундаментальных исследований свойств вирусов последние выделены в самостоятельное царство *Virae*, отличающееся от других – животных (*Animalia*), растений (*Plantae*), простейших (*Protista*), бактерий (*Monera*), грибов (*Fungi*) [4, 5].

Бактериофаги представляют постоянную угрозу процессам ферментации пищевых продуктов [6], которая особенно возрастает при современной тенденции полного использования вторичного молочного сырья и концентрации на крупных молокоперерабатывающих предприятиях большого ассортимента ферментированной молочной продукции. Опасным фактором фаголизиса является также применение стартовых культур многих производителей, не исследованных между собой на перекрещивающийся фаготип [7, 8].

¹Вирусы и механизмы возникновения их мутаций [Электронный ресурс].

URL: <https://cemp.msk.ru/info/articles/virusy-i-mekhanizmy-vozniknoveniya-ikh-mutatsiy/> (дата обращения 17.01.2025).

При ферментации бактериофаги попадают в воздух, на санитарную одежду и открытые части тела персонала, на инвентарь и т. д. С потоками воздуха они могут распространиться по всем производственным помещениям. При недостаточно высоком уровне санитарии и гигиены фаги постоянно циркулируют на предприятии и наносят существенный урон качеству и безопасности ферментированных продуктов, а также экономике предприятий². Присутствие генетического материала фагов молочнокислых бактерий (МКБ) было обнаружено на многих поверхностях, таких как полы, стены, лестницы, дверные ручки, офисные столы, оборудование, чистящие средства и трубы [9].

Дезинфекция является комплексным мероприятием обеззараживания объектов окружающей среды и представляет собой специализированную обработку объекта химическими препаратами, обладающими антимикробным действием. В целом устойчивость различных видов микроорганизмов к дезинфицирующим агентам возрастает в следующем порядке: простейшие, клетки эукариот, вегетативные клетки прокариот, грибы рода *Aspergillus*, грибы-дерматофиты, микобактерии туберкулеза, споры прокариот, прионы. Многие вирусы относят к среднеустойчивым, между вегетативными прокариотами и грибами рода *Aspergillus*³. Место бактериофагов МКБ в этом ранге не определено. Биоциды, используемые в пищевой промышленности и протестированные против фагов, можно разделить на две группы: те, которые используются для обработки небольших поверхностей в лабораторных условиях, в том числе в лабораториях фагодиагностики, и те, которые применяются в производственных условиях. Свойства некоторых дезинфицирующих веществ в отношении конкретных видов микроорганизмов, в том числе против вирусов, приведены в приложении А1 ГОСТ ISO 7218-2015. В лабораториях рекомендуют применять против вирусов гипохлориты, спирты, формальдегид, глутаральдегид, йодофоры (ГОСТ ISO 7218-2015). Четвертичные аммониевые соединения также широко используются в лабораторных условиях как противофаговые средства [10]. Однако МР 3.5.2431-08 «Изучение и оценка вирулицидной активности дезинфицирующих средств» не распространяются на бактериофаги МКБ.



Источник изображения: freepik.com

Методы оценки активности дезинфицирующих средств по Р 4.2.3676-20 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности» также не предусматривают испытаний с применением тестовых фагов, лизирующих стартовые молочнокислые культуры.

Знания об инактивирующей активности дезинфицирующих средств против МКБ, применяемых в молочной промышленности, могут способствовать как появлению более эффективных композиционных биоцидов против появляющихся на предприятиях новых фагов, так и выбору эффективных систем ротации биоцидов на конкретном предприятии. В связи с этим **целью исследования** было проведение литературного обзора, раскрывающего возможности дезинфекционных и профилактических противофаговых мероприятий на молокоперерабатывающих заводах, выявление факторов, влияющих на вирулицидную активность дезинфицирующих средств против фагов МКБ и вытекающих из них основных и дополнительных к стандартной дезинфекции рекомендаций для молочной промышленности.

²Сорокина, Н. П. О фаговой ситуации на молокоперерабатывающих предприятиях. [Электронный ресурс].

URL: <https://www.milkbranch.ru/publ/view/247.html> (дата обращения 17.01.2025).

³Федеральные клинические рекомендации по выбору химических средств дезинфекции и стерилизации для использования в медицинских организациях / Н. В. Шестопалов [и др.]. – М.: Ремедиум Приволжье, 2015. – 56 с.

Результаты обзора могут быть использованы для дальнейшей разработки инструкции по санитарной обработке технологического оборудования и производственных помещений на предприятиях молочной промышленности, а также санитарных правил для исследовательских лабораторий, работающих с бактериофагом МКБ. Новизна исследования заключается в определении места фагов МКБ в существующей системе классов и рангов устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам, дополнении рекомендаций для отечественной молочной промышленности к стандартной дезинфекции на основе современного анализа мирового опыта в области исследования эффективности биоцидов против бактериофагов.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследований – оригинальные и обзорные статьи на русском и английском языках за период 2000–2025 гг. Методология исследований представляла собой поиск в базах данных электронных библиотек eLIBRARY.RU, CyberLeninka, Google Scholar, ScienceDirect, PubMed с использованием ключевых слов: бактериофаги, bacteriophage, фаги молочнокислых бактерий, phage Lactic acid bacteria, химическая устойчивость бактериофагов молочнокислых бактерий chemical resistance of lactic acid bacteria bacteriophages, дезинфицирующее средство, sanitizer disinfectant, биоцид, biocide, вирулицидная активность биоцидов, virucidal activity of biocides, пероксиуксусная (надуксусная) кислота, peroxyacetic (peracetic) acid, четвертичные аммонийные соединения, quaternary ammonium cation.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее подробно метод исследования активности биоцидов против фагов молочнокислых бактерий (МКБ) описан в работе, выполненной в 2017 г. рамках международного сотрудничества (Ирландия, Италия, Германия, Нидерланды) [11].

В работе применялись общенаучные приемы анализа проблемы использования биоцидов против бактериофагов МКБ: описание, индукция, сравнение, абстрагирование, дедукция, аналогия и обобщение различных подходов, возможностей применения биоцидов для поддержания их безопасного уровня бактериофага с целью контроля фаговой ситуации на молокоперерабатывающих предприятиях, в лабораториях фагодиагностики МКБ, при разработке гигиенических требований к персоналу.

Химические способы предупреждения фаголизиса культур стартовых заквасок МКБ на молочных предприятиях имеют важное значение. Дезинфицирующее средство для молочной промышленности должно соответствовать определенным критериям приемлемости, таким как эффективность, в том числе пролонгированная; низкая стоимость; антимикробная активность; биоразлагаемость и отсутствие коррозионной агрессивности для оборудования; простота применения, в том числе для обработки инвентаря, стен, полов производственных помещений, других поверхностей, дезинфекции воздуха.

В отсутствие бактерии-хозяина единичные фаги годами могут сохраняться в производственной среде и вступать в репродукционный цикл репликации своей ДНК, быстро накапливаясь в больших количествах, при использовании в стартовой культуре гомологичных штаммов вызывать их фаголизис. Бактериофаги могут находиться даже в производственном холодильнике. При температуре 4 °С, в которой не развиваются МКБ, в течение 15 мес. инфекционность фагов уменьшилась всего на 80 %, а при –20 и –80 °С примерно на 30 % [12].

Бактериофаги могут быть обнаружены даже в растворах биоцидов. Для ликвидации фага дезинфекция необходима после каждой мойки оборудования, при этом эффективность инактивации бактериофагов является важным критерием выбора биоцидов [13] и относится к составляющей разработки химических способов борьбы с бактериофагом [14]. В Европе дезинфицирующие средства должны продемонстрировать способность снижать количество фагов по крайней мере на 4 log в рекомендуемых условиях испытаний, прежде чем их можно будет считать пригодными для инактивации фагов [11].

Существует и другой подход, более подходящий для практического обоснования выбора дезинфицирующих средств для стандартной дезинфекции и для условий усиленного варианта контроля за бактериофагом. Так, за летальную концентрацию биоцида международной группой исследователей фагов МКБ предложено принять концентрацию, необходимую для полного устранения обнаруживаемых бактериофагов за определенное время (усиленный вариант контроля) [11].

Также может быть определена сублетальная концентрация, при которой наблюдается по крайней мере снижение на три порядка эффективности бляшкообразования (БОЕ) для большинства фагов при конкретных для данного биоцида возможных условиях (стандартная дезинфекция).

С помощью филогенетического анализа продемонстрировано, что различные биоциды нацелены на разные области структуры фага и что устойчивость к биоцидам скорее обусловлена не небольшими точечными различиями между фагами, а накоплением особенностей и различий между устойчивыми и более восприимчивыми фагами [11].

К наиболее эффективным в отношении бактериофагов дезинфицирующим средствам для промышленного применения относят такие, в составе которых содержатся уксусная и надуксусная (перуксусная) кислоты (НУК) [8, 10]. Производители биоцидов, как правило, рекомендуют использовать НУК для промышленной дезинфекции в концентрации не выше 0,15 % [7, 9]. Достоинством НУК считается широкий спектр активности против фагов МКБ разных видов, при этом присутствие органических веществ, по мнению D. M. Gugliemotti et al., практически не снижает активности биоцида [10].

При 40 °С НУК 0,015–0,15 % быстро инактивировала суспензии лактофагов (количество вирусов ниже предела обнаружения < 10 БОЕ/мл) после 5 мин обработки [15–21]. НУК оказывает свое действие через гидроксильный радикал (OH^\cdot), который реагирует с любым окисляемым соединением, повреждая практически любой вид макромолекулы, связанной с микроорганизмом, и в конечном итоге приводя к его гибели. Во время инактивации бактериофага достигается полный разрыв нуклеиновой кислоты [10].

НУК имеет несколько марок, отличающихся количественным составом [23], но в цитируемых выше исследованиях не приведен точный состав надуксусной кислоты. НУК кроме перекиси водорода может содержать 2–3 функциональных (иногда катализирующих) компонента. Кроме того, в различных исследованиях [11, 20] было продемонстрировано, что воздействие НУК 0,015 % на бактериофаги МКБ является более эффективным, чем НУК 0,15 % другого производителя [20].

Все фаги полностью потеряли активность при воздействии 0,015 % НУК менее чем за 1 мин при комнатной температуре [11].

Такие противоречивые данные, вероятно, обусловлены разным количественным химическим составом биоцидов у разных производителей (% перекиси водорода в НУК и других компонентов), что не указано в протоколах исследований, т. к. зачастую это является коммерческой тайной производителя, а также обусловлено различиями в биоцидной устойчивости конкретных объектов исследования – тестовыми фагами и другими вариативными условиями экспериментов. Концентрация НУК 0,15 % при 20–40 °С в течение не менее 1 мин в некоторых случаях может быть отнесена к стандартному процессу дезинфекции [7, 22]. В случаях фаголизиса частоту обработки и дозировки дезинфицирующего средства рекомендуют увеличить в 2 раза [7].

В соответствии с «Инструкцией по санитарной обработке оборудования, инвентаря и тары на предприятиях молочной промышленности» 1998 г., разработанной специалистами сектора санитарной обработки оборудования, а также рекомендациями производителей моющих средств на ее основе, было предложено проводить разборку и мойку вручную молокоочистителей, сепараторов и другого оборудования не реже 1 раза в мес. Механизированный способ мойки наружных поверхностей оборудования, потолков, стен и полов предусматривает использование «пеногенераторов», а для поверхностей автоматов розлива и фасовки – «пенных пушек» с дезинфицирующим средством⁴.

Дезинфектант Oxi-D (НУК 3–7 %; уксусной кислоты 15–40 %; перекиси водорода 5–10 %; L-октансульфоновой кислоты натриевой соли 3–7 %; октановой кислоты 1–5 %) был наиболее эффективным биоцидом против всех испытанных фагов, его эффективность была взята в качестве эталона против бактериофагов МКБ [13].

Поскольку уксусная и надуксусная кислоты относятся к летучим соединениям, то необходимо строго контролировать их концентрацию в поступающих дезинфицирующих средствах и их рабочих растворах, которые готовят непосредственно на предприятии [14].

⁴Инструкция по санитарной обработке оборудования, инвентаря и тары на предприятиях молочной промышленности [Электронный ресурс]. URL: <https://polygran.nethouse.ru/static/doc/0000/0000/0223/223840.cffmbrfxm.pdf> (дата обращения 17.01.2025).

Бактериофаги способны мутировать, давая вирионы, устойчивые к первоначально сублетальным дозам биоцида [13]. Таким образом, рекомендация использования дезинфицирующих средств только на основе НУК может привести к появлению на молокоперерабатывающем предприятии устойчивых к этому биоциду мутантных фагов.

Описаны также случаи, когда использование тех или иных биоцидов на молочных заводах может способствовать появлению ситуации, в которой необходимы альтернативные стратегии дезинфекции, обоснованная ротация дезинфицирующих средств.

Эффективность дезинфицирующих средств против бактерий, дрожжей, плесени, включая патогены, обычно хорошо документирована в спецификациях поставщиков, но информация об эффективности против фагов недоступна.

В открытых информационных источниках, цитируемых ниже, описаны исследования по изучению инактивирующей активности против фагов МКБ, следующих химических веществ (кроме НУК) и их композиций:

- четвертичные аммониевые соединения (ЧАС): аммония алкилдиметилхлорид, бензалкония хлориды (группа ЧАС, получаемая кватернизацией третичных аминов бензилхлоридом) и др.;
- монопсульфат калия;
- моющие средства гидроксид натрия, неорганические и органические кислоты с использованием других биоцидов совместно;
- пероксид водорода;
- поливинилпирролидон-йод (ПВП) – комплексное соединение йода с поливинилпирролидоном;
- хлорокислительные антисептики: гипохлорит натрия, хлорит натрия, дихлоризоцианурат натрия и др.;
- перкарбонат натрия – кристаллосольват карбоната натрия и пероксида водорода;
- бром-хлор-диметилгидантоин;
- спирты;
- ультрафиолетовое (УФ) излучение и др.

Четвертичные аммониевые соединения (ЧАС) давно используются в качестве дезинфицирующих поверхностно-активных веществ [9]. ЧАС являются, по мнению некоторых исследователей, одним из наиболее эффективных дезинфицирующих средств против бактериофагов МКБ как среди чистых соединений, так и среди коммерческих смесей [22, 24, 25].

Полная инактивация фаговых препаратов была достигнута при концентрации четвертичного аммония в концентрации 200 частей на миллион (или 0,002 %) за 15 с [26].

Бензалкония хлорид – четвертичное аммониевое соединение, был наиболее эффективным чистым соединением в документированном исследовании [11] и привел к полному устранению обнаруживаемых фагов при концентрации 0,1 % через 30 мин. Сублетальная концентрация для этого соединения составила 0,08 % и вызвала снижение титра фагов по крайней мере на 4 log для большинства фагов (рис. 1а), при этом обнаружен один фаг (G), проявивший существенную устойчивость, снизив титр менее, чем на 2 log после 30 мин воздействия.

Однако позже Sanitizer D (биоцид на основе ЧАС, содержащий дополнительно этанол, 10 %; диглюконат хлоргексидина, 10 %; бромид тетрадецилтриметиламмония, < 1 %) оказался неэффективным в исследованных концентрациях, даже за пределами значений, предложенных поставщиком дезинфицирующего средства [13]. Цетилтриметиламмоний бромид из класса алифатических четвертичных аммониевых соединений также показал невысокую активность против фагов [27].

Эти факты показали, что не все биоциды на основе ЧАС подходят для инактивации молочных фагов.

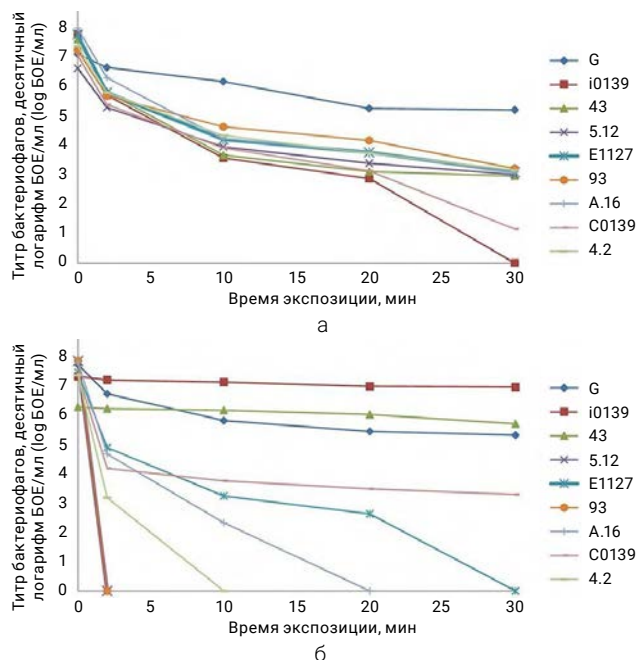


Рисунок 1. Инактивация девяти бактериофагов при обработке:
а) бензалкония хлоридом 0,08 %; б) 0,1 % раствором дезинфектанта на основе гидроксида натрия

P. I. Priya et al. протестировали соединения бензалкила, додецила, диоктила и октилдецилдиметиламмония и обнаружили, что в целом ЧАС с более короткой длиной алкильной цепи, т. е. более гидрофильные соединения, были более ингибирующими [28].

В литературе есть данные о снижении выживаемости микроорганизмов на поверхностях, контактирующих с пищевыми продуктами, с помощью распыляемого полимеризованного четвертичного аммониевого соединения [29], для фагов МКБ таких опубликованных данных нет.

Рост обеспокоенности относительно остатков ЧАС в цепочке производства молока и молочных продуктов [30] может служить основанием для осторожного подхода применения этого биоцида. Кроме того, ЧАС не проявляют спороцидной активности, избирательно и только в высоких концентрациях инактивируют гидрофильные вирусы, не эффективны по отношению к микобактериям и др., и в целом, не рекомендуются для применения в пищевой промышленности⁵. Является актуальным производство ЧАС с высокой селективностью, применение стратегий, основанных на молекулярной самосборке, введении биосовместимых элементов для снижения токсического побочного эффекта и повышения способности ЧАС к самосборке для поддержания высокой антимикробной и противовирусной активности, в том числе применительно к молочной промышленности [30]. ЧАС нового поколения относятся к биоразлагаемым поверхностно-активным веществам.

Биоцид с окислителем моноперсульфат калия оказался неэффективным в концентрациях, рекомендованных поставщиком [11]. Гидроксид натрия считается моющим средством и только в композиции с другими биоцидами (с гипохлоритом натрия и др.) – дезинфектантом. Смесь, содержащая 30–60 % гидроксида натрия, при рекомендуемой производителем концентрации ее применения 0,5–2 %, в исследованиях [11] показала эффективность против фагов МКБ в концентрации ниже, рекомендуемой производителем, – 0,1 % (или менее 0,06 % по гидроксиду натрия).

В другом исследовании фаги были быстро инаktivированы 0,2 % гидроксидом натрия, а также высокими концентрациями молочной кислоты (2,7 %) [21].

При этом кислоты, как и щелочи, способствуя сдвигу pH, могут усиливать противофаговый эффект многокомпонентных дезинфектантов.

После инкубации бактериофагов в кислой среде с pH = 3 в течение 30 мин не обнаруживались вирулентные формы фага, однако при pH = 10 в течение такого же времени вирулентность снизилась только на величину чуть больше 20 % по сравнению с нейтральной средой [12].

Исследования моюще-дезинфицирующего средства на основе гидроксида натрия D. Sanitizer [11], подтвердившие выводы об эффективности гидроксида натрия как вирулицидного агента совместно с другими компонентами (рис. 1б), продемонстрировали также сильные повреждения фагов различного характера (рис. 2). Другое дезинфицирующее средство, содержащее 5–10 % гидроксида натрия, 2–5 % гипохлорита натрия, устранило все обнаруживаемые фаги при концентрации 0,15 %, что намного ниже рекомендаций производителя.

Кроме молочной кислоты [21] против бактериофагов МКБ испытывались кислоты: азотная, фосфорная и др. в различных сочетаниях и в композиции с другими биоцидами. При обработке фагов кислотным антисептиком (30 % азотной кислоты, 5 % ортофосфорной кислоты) значительные уровни инфекционных фагов были обнаружены после обработки в концентрации и экспозиции, превышающей рекомендованную поставщиками [11]. Бактериофаги, инфекционные для *Leuconostoc*, были полностью инаktivированы через 2 мин фосфорной кислотой с поверхностно-активным веществом – этоксилированным нонилфенолом 0,8 % при 25 °C [28].

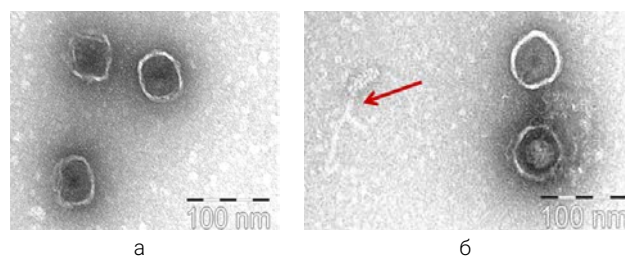


Рисунок 2. Микроэлектронные фотографии, демонстрирующие биоповреждения фагов с отрывом хвостовой части при использовании: а) 0,1 % средства на основе гидроксида натрия; б) 0,5 % средства на основе гидроксида натрия, с возможным протеином-лентой, оставшимся после деградации основного белка хвоста, указанного красной стрелкой [11]

⁵ Федеральные клинические рекомендации по выбору химических средств...

Фаги являются биокolloидами, и их поверхностный заряд зависит от pH в полярных средах, а заряд раствора суспензии фага относительно их изоэлектрической точки влияет на их электростатические взаимодействия, на их подвижность, химическую устойчивость. Из-за экстремальных значений pH (значения $\text{pH} < 2$ и > 12) дезинфицирующих средств со щелочами или кислотами, их инактивирующая способность может быть обусловлена не только их компонентами, но и самим значением pH [13, 32].

Перекись водорода в чистом виде проявила себя как менее эффективное вирулицидное средство и требовала высокой концентрации и длительного времени выдержки, чтобы вызвать полную инактивацию всех тестируемых фагов. Однако у большинства фагов наблюдалось снижение титра на 3–5 десятичных логарифма при 14 % концентрации пероксида водорода через 30 мин [11].

Поливинилпирролидон-йод (ПВП) представляет собой комплекс йодофора, содержащий приблизительно 9–12 % доступного йода в форме растворимого порошка. Для достижения полной инактивации всех репрезентативных фагов требовалась концентрация 4 % ПВП. Было обнаружено, что один фаг лактококков с изометрической головкой устойчив к 3 % ПВП с уменьшением менее чем на один логарифм, однако все другие исследованные 35 фагов были устранены в течение 20 мин. ПВП не обладает коррозионным действием. Биоповреждения фагов под действием ПВП представляли собой, возможно, отрыв базальных пластин и повреждение ДНК (рис. 3) [11]. Интересно, что в этом же исследовании, в котором ПВП в виде 4 % раствора проявил себя как эффективное против фаговое средство, коммерческое промышленное дезинфицирующее средство на его основе оказалось неэффективным в концентрациях, в том числе за пределами значений, рекомендованных поставщиком. Это еще одно свидетельство того, что не указанные в протоколах исследований компоненты коммерческой тайны производителя могут снижать эффективность биоцида.

Хороший ингибирующий эффект был получен с помощью гипохлорита натрия в фосфатном буфере при его концентрации от 0,01 до 0,03 % и pH 7 [15], однако наблюдался слабый эффект для фагов типа 936 даже при 0,08 % гипохлорита натрия [21]. Были выявлены значительные различия в устойчивости к действию биоцида среди разных групп фагов.

В исследовании, проводимом в присутствии питательной среды, существенный эффект против лактофагов получен только при концентрации гипохлорита натрия от 0,2 до 0,5 % [26].

Фаг *Lacticaseibacillus casei* (прежнее название *Lactobacillus casei*) требовалось 0,07 % гипохлорита натрия в течение 30 мин для достижения полной инактивации [20]. Кроме того, была протестирована эффективность инактивации гипохлоритом натрия фагов *Leuconostoc*, для инактивации наиболее чувствительных фагов требовалось 0,06 % в течение 30 мин, в то время как для достижения полной инактивации наиболее устойчивых фагов требовались концентрации от 0,14 до 0,16 % [31]. Для фагов термофильного стрептококка гипохлорит натрия (0,01 % активного хлора) оказался эффективным, частицы фага не были обнаружены после 5 мин обработки [31]. Кроме того, полная инактивация достигалась в присутствии 0,01 и 0,02 % гипохлорита натрия по активному хлору в течение 30 мин для фагов лактобацилл [13].

Экстремальные концентрации гипохлорита натрия (от 0,2 до 0,5 %) потребовались для снижения на 6 и 7 порядков начальных концентраций лактококковых фагов, при этом биоцид был разбавлен в бульоне M17. Необходимость использования высоких концентраций могла быть обусловлена окислительным эффектом гипохлорита натрия [33].

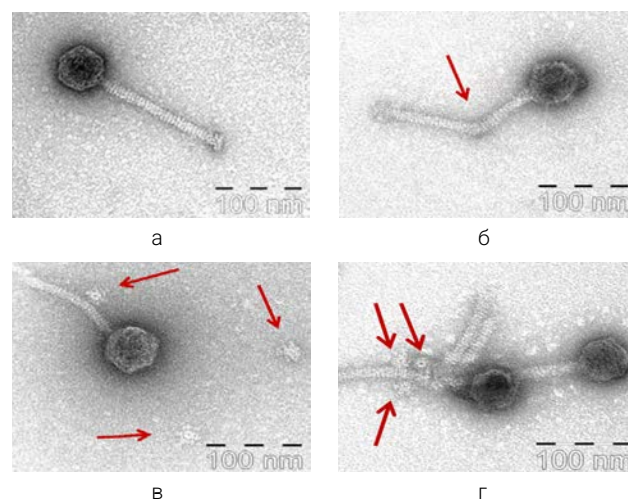


Рисунок 3. Микрoэлектронные фотографии, демонстрирующие биоповреждения фагов при использовании ПВП:

- а) контрольный образец, без обработки ПВП;**
- б) 1 % ПВП с точкой разрыва хвоста, указанной красной стрелкой;**
- в) 1 % ПВП с возможной ДНК фага, указанной красной стрелкой;**
- г) 1 % ПВП с возможными отрывами базальных пластин, показано красными стрелками [11]**

Очень высокие концентрации гипохлорита натрия (0,8 % в течение 30 мин), которые были необходимы для инактивации некоторых фагов *Lb. casei*, *Lactocaseibacillus paracasei* (прежнее название *Lactobacillus paracasei*), *Lactiplantibacillus plantarum* (*Lactobacillus plantarum*) позволили исследователям сделать вывод, что этот биоцид может быть использован для инактивации таких фагов только в лабораторных условиях [10].

Окислитель перкарбонат натрия (0,02 и 0,05 %) был эффективен только после длительного времени контакта (15 мин) [10]. Этанол, изопропанол, перкарбонат натрия, хлорит натрия и дихлоризоцианурат натрия оказались неэффективными агентами против репрезентативных фагов с изометрической головкой, при этом наблюдалось снижение менее чем на 1 log через 30 мин экспозиции при всех исследованных концентрациях [13, 21]. Перкарбонат натрия также оказался неэффективными средствами против коллекции фагов с изометрической головкой [11, 21].

Влияние бромхлордиметилгидантоина (BCDMH), обычно используемого в качестве дезинфицирующего средства для воды, в концентрации 0,01 % в присутствии 1 % молока показало себя достаточно вирулицидным. Через 2 мин воздействия титр фагов *St. thermophilus* снизился примерно на 4 логарифмических порядка, что свидетельствует об эффективности BCDMH [13], однако этот биоцид не разрешен в пищевой промышленности и может быть применен только в лаборатории.

Спирты (этанол и изопропанол) слабо влияли на активность против многих фагов МКБ. Раствор этанола в концентрациях 75 и 100 % давали значимую инактивацию фагов *Leuconostoc*, в то время как более низкие концентрации (10 и 50 %) не проявили значительных эффектов [16, 27]. В некоторых случаях концентрация этанола 75 % была самой эффективной, полная инактивация достигалась в течение 5–15 мин обработки, фаговых частиц (< 10 БОЕ/мл) не было обнаружено за исключением отдельных фагов [16]. В другом исследовании [15] выявлены бактериофаги МКБ, для частичной инактивации которых (на 3,2 логарифмических порядка) обработка 75 % этанолом была достаточна в течение 45 мин. Изопропанол (50 и 100 %) позволял получить неопределяемое количество фага через 15 мин, для некоторых фагов он не оказывал влияния на жизнеспособность. Два тест-фага, специфичных для *Lb. helveticus*, были полностью

инактивированы 50 и 100 % изопропанолом соответственно в течение 5 мин, тогда как полная инактивация третьего была достигнута в присутствии 100 % изопропанола через 45 мин [33]. Антибактериальное свойство спиртов в основном обусловлено изменениями в липидной фракции плазматической мембраны, по причине отсутствия которой фаги более устойчивы к воздействию спиртов, чем бактерии [10].

Применение композиционных растворов, содержащих смесь биоцидов, в некоторых случаях продемонстрировало синергетический эффект, было более эффективным против фагов МКБ, а в некоторых, как было показано исследованиями [11, 13], уменьшало ожидаемую эффективность.

Несколько работ выявили защитный эффект органических соединений на инактивацию фагов. Например, для снижения инфекционности фагов на 6 логарифмических порядков в течение 15 мин в отсутствие органических соединений требовалось воздействие 0,56 % гипохлорита натрия при комнатной температуре. Однако для получения той же инактивации (аналогичное снижение, температура и время контакта, что и при инактивации в отсутствие органических соединений), требовались концентрации 1,4 и 3,2 %, в присутствии сыворотки и молока соответственно [13].

К химическим способам борьбы с бактериофагами относят также обработку биоцидами воздуха [28]. Уровень загрязнения воздуха на молокоперерабатывающем заводе может достигать 10^8 БОЕ/м³ [5, 34]. Брызги жидкости и перемещение воздуха вокруг чанов и других загрязненных поверхностей приводят к образованию аэрозолей, которые остаются в воздухе в течение длительного времени и считаются основным путем распространения фагов на молочных заводах [13, 32].

Дезинфекция воздуха производственных помещений реагентами с использованием выше-названных биоцидов с помощью фумигационных установок, генераторов тумана может производиться как силами молокоперерабатывающего предприятия, так и с привлечением сотрудников Центров государственного санитарно-эпидемиологического надзора [8].

Тема «фаги молочнокислых бактерий», химические и физические способы их инактивации широко освещалась в течение последних 25 лет, при этом и суще-

ственно эволюционировали методы определения фагов с использованием молекулярно-биологических исследовательских инструментов, однако микробиологические способы при фаговом мониторинге не утратили своего значения и остаются актуальными [35]. В исследованиях с лабораторным определением бактериофагов микробиологическими способами, в целом может быть использован более широкий спектр биоцидов, включая те, которые не применимы по некоторым критериям для молочной промышленности, например спирты, ПВП, BCDMH, перкарбонат натрия, рассмотренные выше.

Исследования такого характера должны проводиться с соблюдением правил [36]:

- работы, связанные с определением бактериофагов, должны проводить сотрудники, не контактирующие с заквасками;
- посуду с питательными средами (на которых проводят определение бактериофага), а также использованные в работе пипетки и прочие инструменты перед мойкой обеззараживают стерилизацией в автоклаве при 121 ± 1 °C в течение $1,2 \pm 0,2$ ч;
- по окончании работ с бактериофагом необходимо рабочее место тщательно продезинфицировать эффективным против бактериофага биоцидом с достаточной концентрацией и экспозицией, атмосферу рабочего помещения подвергнуть УФ-обработке в течение 45 ± 15 мин при дозе облучения не менее $2,5$ Вт/м³;
- микробиологический бокс, в котором проводятся исследования бактериофага, должен быть отделен предбоксником (санитарной зоной) и иметь отдельную систему вентиляции с бактерицидным фильтром, так называемая воздушно-тепловая завеса будет мало эффективна без применения материала такого типа, который обладает эффектом «самостерилизации».

К таким материалам «самостерилизации» относятся, например, углеродные нанотрубки (УНТ) [37]. УНТ представляют собой графеновые однослойные (SWNT – одиночная трубка), либо многослойные (MWNT – несколько упакованных трубок) листы. УНТ с использованием микропористой мембраны на основе поливинилиденфторида при испытаниях модельного бактериофага диаметром 27 нм показали полное удаление частиц бактериофага, удаляя 10^7 вирусных частиц на 1 мл [38]. Двойной фильтр показал более высокие результаты, чем однослойный фильтр, и эффективность против широкого спектра бактериофагов [39].



Источник изображения: freepik.com

Поскольку результаты показали, что ДНК лактококковых фагов были извлечены в вентиляции без нано-фильтра с каждым пробоотборником, совершенствование системы вентиляции на молочном заводе является одним из критических параметров для надлежащего контроля за распространением фагов [1, 40].

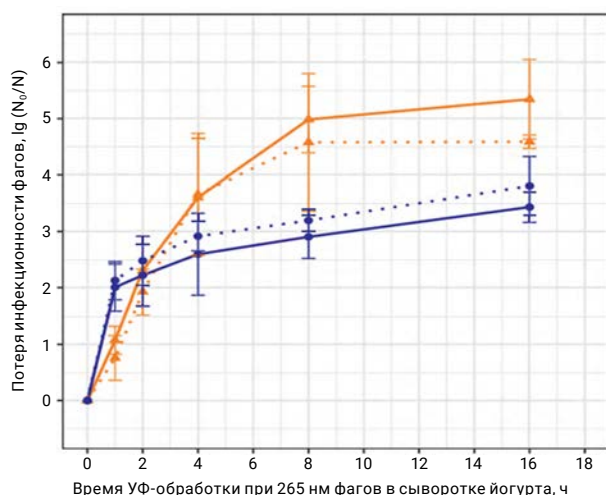
Дополнительно может быть применено УФ-излучение (200–280 нм), которое обладает высокой бактерицидной эффективностью против широкого спектра микроорганизмов, включая бактериофаги [41, 42].

Наиболее эффективно УФ-обеззараживание воздушной среды при длине волны 265 нм, являющейся пиком поглощения ультрафиолета ДНК микроорганизмами, бактериофагами, при этом последние подвергаются образованию пиримидиновых димеров в ДНК.

Было также обнаружено, что УФ-обработка для микробной инактивации оказывает эффект, эквивалентный термической пастеризации, не оказывая или оказывая незначительное влияние на качественные характеристики молочных продуктов [43–45]. Таким образом, УФ-обработка может служить не только для дезинфекции воздуха, но и дополнением к тепловой или химической инактивации фагов в молочной сыворотке, на полу производственных помещений и других поверхностях. УФ-излучение 280–315 нм инактивирует клетки так же, как и УФ-обработка 200–280 нм, но повреждает белки / ферменты, поскольку соответствует пику поглощения белков. Ультрафиолет 315–400 нм инактивирует клетки за счет генерации активных форм кислорода, которые повреждают липиды и белки клеточной мембраны, ферменты и ДНК [41, 42].

В исследовании, проведенном в Дании, на примере двух фагов Р680 и Р008 выявлена гетерогенность по отношению к УФ-обработке [43]. Согласно другому исследованию [44], фаги с наименьшими размерами генома являются наиболее устойчивыми к УФ-излучению. Удалось достичь снижения на 3–5 порядков исходной популяции Р680 и Р008 в водной суспензии (рис. 4) [43]. В этом исследовании толщина обрабатываемого слоя сыворотки составляла 10 мм, доза УФ-излучения – 17 мДж/см² [43]. Результаты продемонстрировали, что среди 265 нм, 285 нм и 365 нм светодиоды, излучающие при 265 нм, достигли самой высокой инактивации фагов при схожих дозах УФ-излучения. Воздействие 365 нм практически не уменьшало популяцию фагов. Интересно, что иногда наблюдалось больше выживших, устойчивых к УФ-излучению фагов при повторном воздействии УФ-излучения, что указывает на потенциальный отбор для более устойчивых к нему субпопуляций [43].

На предприятиях зарубежной и отечественной молочной промышленности против бактериофагов применяют УФ-обработку, фотокатализ⁶ [46, 44]. Фотокатализ предусматривает использование не только УФ, как в УФ-рециркуляторах, но и фотокаталитических элементов с определенными катализаторами. Индукция фотолитической реакции,



Примечание: pH 5,5 (сплошная линия) и pH 7,0 (пунктирная линия) для фага Р680 (устойчивый к нагреванию фаг: синий цвет) и фага Р008 (чувствительный к нагреванию фаг: оранжевый цвет)

Рисунок 4. Инактивация УФ-излучением фагов, представленная как потеря инфекционности в $\lg(N_0/N)$, где N_0 – БОЕ/мл контрольных образцов, а N – БОЕ/мл образцов, подвергнутых воздействию УФ-излучения [43]

генерирующей высокоокисляющие виды при воздействии ультрафиолетового света [18] показала, что два фага типа 936 полностью уничтожаются в течение 120 и 60 мин. Кинетика инактивации ультрафиолетовым излучением показала, что фаг с кольцевой ДНК был более чувствительным к УФ, а с линейной ДНК – более устойчивым [46]. Исследование также продемонстрировало, что требуемые уровни облучения не оказывают негативного влияния на здоровье человека. При правильной конструкции, УФ-рециркуляторы, или бактерицидные фотокаталитические облучатели закрытого типа могут постоянно быть включенными на перерабатывающем предприятии для уменьшения общего количества фагов и минимизации распространения фагов между поверхностями, персоналом и по воздуху. Облучение, допустимое в отсутствие людей, может быть использовано в нерабочее время с последующим включением вытяжной вентиляции [46, 44].

Однако у фагов, инактивированных ультрафиолетовым излучением, была подтверждена фотореактивация. Этот светозависимый механизм, опосредованный ферментом фототиазой, позволяет эффективно восстанавливать способность фага к заражению бактериального хозяина и размножению в течение нескольких часов после УФ-обработки различными типами ламп [44].

Необходимы дальнейшие исследования в этой области, чтобы определить оптимальные условия для производства безопасной ферментированной молочной продукции с точки зрения комбинированного использования химической и физической инактивации бактериофага в молочной промышленности [48].

НУК в ранее рекомендуемой концентрации 0,015–0,040 % не обладает летальным эффектом при экспозиции 60 мин при комнатной температуре, по крайней мере к некоторым бактериофагам с изометрической головкой [22]. Открыты также фаги, НУК для которых в самой высокой использованной концентрации (0,45 %) привела только к сокращению фага на четыре порядка в течение 60 мин [48]. Любое дезинфицирующее средство будет менее эффективным, если дезинфицируемые поверхности не очищены или сохранились клетки бактерий, живущие в биопленке [49].

⁶Применение УФ-оборудования для обеззараживания воздуха и поверхностей на предприятиях молокоперерабатывающей промышленности [Электронный ресурс]. URL: <https://www.milkbranch.ru/publ/view/1009.html> (дата обращения 17.01.2025).

При механизированном способе санитарной обработки в пищевой промышленности нанесение дезинфицирующего раствора на поверхности технологического оборудования, полов, стен и т. д. рекомендуется путем распыления из установок РЗ-ФДМ, УДП-М, импортных установок высокого давления, краско- или гидропультов, моечной установки ЦКБ-1112 машинами ЛСД, ДУК или других установками с разбрызгивающими устройствами, а также путем применения пеногенератора⁷.

Целесообразно проверить эффективность новых дезинфицирующих средств и способов их активации, в частности на основе диоксида хлора⁸, с электроактивацией дезинфицирующего средства [51] и других способов и режимов дезинфекции применительно к конкретным условиям производства или лаборатории для организации ротации биоцидов и их эффективного сочетания с физическими способами инактивации фагов МКБ.

Выводы

Очевидно, что резистентность фагов к биоцидам в молочной промышленности является проблемой, которую необходимо тщательно отслеживать при разработке эффективных процедур инактивации фагов на молочных заводах, программ нормального и усиленного режимов мойки и дезинфекции на конкретном предприятии против появляющихся новых устойчивых фагов. Необходима ротация способов дезинфекции.

Дезинфектологическая экспертиза дезинфицирующих средств в России проводится для подтверждения их безопасности и эффективности, а также для получения государственной регистрации, однако она не предусматривает испытания против бактериофагов молочнокислых бактерий (МКБ). За рубежом [11, 22] в качестве такого испытания предложено определять сублетальную концентрацию, при которой наблюдается по крайней мере снижение на 3–4 порядка эффективности бляшкообразования для большинства фагов МКБ при конкретных для данного биоцида условиях, приближенных к возможным для конкретного способа и объекта обработки: технологическое

оборудование, производственные или лабораторные помещения, использование CIP (Cleaning In Place) или ручной мойки и т. п.

Новизной исследования заявлена попытка определить место фагов МКБ в существующей системе классов и рангов устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам⁹. Однако в действительности в совокупности достоверно сложно сравнивать эффективность многих представленных в обзоре биоцидов, поскольку методологии различаются в разных исследованиях. Факторы, влияющие на эффективность дезинфицирующих средств, которые реально встречаются в среде перерабатывающего предприятия, такие как органические и неорганические (жесткая вода) вещества, не всегда включены в эти протоколы инактивации фагов, не во всех случаях указывается температура, при которой проводилась обработка, и точный химический состав композиционных дезинфицирующих средств. Ни в одном из исследований не проводилась сравнительная оценка эффективности одного и того же биоцида с использованием одних и тех же тестовых фагов для нескольких способов применения данного продукта: циркулирование, погружение, генерирование пены, тумана, ручное натирание (для небольших поверхностей) и др. Коммерческая тайна часто используется производителями дезинфицирующих средств как оправдание для нераскрытия информации о составе продуктов, включая добавление поверхностно-активных веществ и других компонентов, предназначенных для борьбы с биопленками, что затрудняет объективную оценку их эффективности.

К основному концептуальному выводу проведенного анализа применительно к молокоперерабатывающей промышленности можно отнести следующее: НУК (0,15 % при температуре 40 °С) может быть использована при стандартной дезинфекции против бактериофагов МКБ. Стандартной может считаться дезинфекция для молочных предприятий с продолжительностью воздействия на рабочие площади в течение 15 минут, периодически обработки 1 раз в 1–2 недели в зависимости от сложности фаговой ситуации и других показателей микробиологической безопасности [8].

⁷Инструкция по санитарной обработке технологического оборудования и производственных помещений на предприятиях мясной промышленности [Электронный ресурс]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200070076> (дата обращения 17.01.2025).

⁸За 2018–2022 гг. производство сыров в России увеличилось на 54% и достигло 717 тыс т. [Электронный ресурс]. URL: <https://businessstat.ru/news/cheese/> (дата обращения 17.02.2024).

⁹Федеральные клинические рекомендации по выбору химических средств...

Более устойчивыми к действию биоцидов считаются фаги с изометрической головкой. Исходя из концептуального вывода, большинство фагов МКБ в существующей системе классов устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам¹⁰ можно, предположительно, отнести ко 2 классу устойчивости (различного ранга среднеустойчивым). Из этого следует, что, например, химические средства и режимы дезинфекции, эффективные в отношении споровых форм бактерий, будут эффективны в отношении всех бактериофагов МКБ.

Исходя из анализа мирового опыта по эффективности биоцидов против бактериофагов, при разработке профилактических мероприятий на молочном заводе или в лаборатории необходимо учитывать нижеперечисленные факторы и дополнительные меры, дополняющие стандартную дезинфекцию:

- наблюдаются большие различия несхожих фагов МКБ в устойчивости к биоцидной активности, при этом бактериофаги способны мутировать, давая вирионы, устойчивые к первоначально сублетальным дозам биоцида, выявлены признаки адаптации фагов, снижение чувствительности к дезинфицирующим средствам, таким как гипохлорит натрия, НУК и др., что вынуждает предприятия и лаборатории применять различные ротационные программы в области санитарии;
- рекомендуется тщательное и регулярное изучение доступных биоцидов против появляющихся новых фагов, и включение новых наиболее эффективных в систему ротации биоцидов на конкретном предприятии, актуальность этого обусловлена не только реальной возможностью мутации фагов, но и тем, что вирулицидная активность определяется по отношению к некоторой выборке коллекционных фагов;
- представление о том, что где нет бактерий, там нет фагов, не является верным, бактериофаг может сохраняться на различных поверхностях годами без репликации, пока на производстве не появится гомологичная культура, которую он сможет инфицировать;
- дезинфекция технологических линий производится после каждой выработки, фаги, устойчивые к дезинфицирующим веществам, как правило, обладают устойчивостью к более чем одному соединению, поэтому химические способы уменьшения количества фага необходимо сочетать с другими противофаговыми мероприятиями завершения технологического процесса;

- дезинфицирующие средства могут быть менее эффективны против фагов в присутствии мешающих белков (молоко или сыворотка) или жесткой воды, указанный эффект делает необходимым при тестировании биоцидов дополнительное определение эффективности дезинфицирующего препарата в присутствии молочной сыворотки или молока, удаление органических и неорганических остатков на производстве перед мойкой и дезинфекцией, проверку противофаговой активности коммерческих дезинфицирующих средств в условиях, аналогичных тем, в которых они используются;
- при использовании биоцидов для дезинфекции помещения, оборудования, спецодежды необходимо учитывать, что дезинфицирующие средства не обладают быстроедействием против фагов и должны контактировать с обрабатываемой поверхностью продолжительное время;
- факторами, влияющими на эффективность дезинфицирующего средства, являются: концентрация, pH, температура и время воздействия, среди которых наиболее важным является концентрация активных веществ;
- pH биоцила может влиять на химическую инактивацию фагов МКБ, поэтому кислотность дезинфицирующих средств контролировать обязательно;
- противофаговая активность большинства дезинфицирующих средств улучшается при повышении температуры, поэтому при низких температурах и / или в присутствии белков следует увеличивать концентрацию дезинфицирующего средства и / или время контакта;
- при определенных условиях частицы фагов могут существовать в виде агрегатов, поэтому добавление к биоциду ПАВ, снижающих такую агрегацию, может повысить эффективность химической инактивации бактериофагов, новые дезинфицирующие средства представляют собой комбинацию нескольких биоцидов;
- дополнительным к биоциду на основе НУК может быть многокомпонентное дезинфицирующее средство на основе гидроксида натрия или кислот, или пероксида водорода, или поливинилпирролидон-йода, или перкарбоната натрия, или бромхлордиметилгидантоина, или хлорокислительных антисептиков, или спиртов, или нескольких из них в концентрациях зависимости от свойств и площади обрабатываемой поверхности, летальная или сублетальная доза биоцида необходима, данных о биоцидной устойчивости бактериофагов на конкретном производстве, если таковые имеются;

¹⁰ Федеральные клинические рекомендации по выбору химических средств...

- использование системы вентиляции, предотвращающей попадание фагов извне, а также применение ультрафиолетового облучения (в щадящем режиме в присутствии персонала и в интенсивном режиме, летальном для фагов, в отсутствие людей) представляют собой дополнительные меры к химическим методам контроля развития и распространения бактериофагов на молочном заводе;
- рекомендуется комбинировать указанные технологии химических и физических способов контроля бактериофагов при умеренной интенсивности в сублетальных дозах, а не использовать их по отдельности в экстремальных условиях;
- обработка помещений с помощью генератора тумана с противофаговыми биоцидами может проводиться при остановке производства на дезинфекцию в чрезвычайных случаях фаголизиса и при переходе к стратегии усиленного варианта контроля за бактериофагом.

По простоте, универсальности применения и стоимости биоцидов, исследованных против фагов в молочной промышленности, для СІР наиболее эффективными показали себя дезинфицирующие средства, изготовленные на основе перуксусной (надуксусной) кислоты, гипохлорита натрия. По экологическим параметрам, способности к биоразложению (способности разлагаться не менее, чем на 70 % за 28 дней) – форбицид, «БИОПАГ-Д» и др. Для экологических дезинфицирующих средств из группы производных гуанидина, например «Полисепт», эффективность против бактериофагов МКБ не изучалась. Примерами средств дезинфекции, разрешенными и подходящими по потребительским свойствам для дезинфекции оборудования, инвентаря, тары и поверхностей производственных помещений на пищевых предприятиях могут быть: средства на основе надуксусной кислоты или перуксусной кислоты (ПАК, НУК-5, НУК-12, НУК-15, Криодез, Ecolab РЗ-Oxonia Active и др.), хлорактивных соединений (Гипохлорид натрия, SONIX 20), четвертичных аммониевых соединений (Ника-2, Санифект, Ультрадез, ОКСИ-плюс-мед и др.), полигексаметиленгуанидина гидрохлорида (биопаг-Д), а также поликомпозиционные дезинфектанты из 3–4-х групп активных ингредиентов (форбицид, и др.).

Применение УФ-технологии в сочетании с другими методами дезинфекции требует дополнительных исследований для определения оптимальных условий. Для эффективности исследованных на активность против бактериофагов



Источник изображения: freerik.com

дезинфицирующих средств необходимо соблюдать правильные протоколы применения, в первую очередь дозировку, время контакта. Необходим регулярный пересмотр и обновление этих протоколов, а также обучение всего персонала предприятия, а не только отвечающего за мойку и дезинфекцию т. к. бактериофаг легко распространяется по воздуху.

В статье обобщены литературные данные об эффективности использования различных биоцидов на бактериофаги МКБ. Некоторое снижение научного интереса к теме использования дезинфицирующих средств против фагов МКБ в последнее десятилетие обусловлено значительным прогрессом в этой области в 2000–2015 гг, а также предшествующим открытием, что фаги способны мутировать, давая вирионы, устойчивые к первоначально сублетальным дозам биоцида. Результаты проведенного анализа показывают, что процедуры санитории, применяемые в условиях молочной промышленности, обладают разнообразной и специфичной для фагов способностью снижать инфекционность фагов МКБ.

Пересмотр санитарных правил для предприятий молочной промышленности, разработка инструкции по санитарной обработке технологического оборудования, производственных и лабораторных помещений и т. п. желателен с проведением валидации новых биоцидов по отношению к бактериофагам применяемых стартовых культур.

При выборе дезинфицирующих средств для санитарной обработки в молочной промышленности необходимо учитывать несколько моментов: антимикробную и вирулицидную активность, простоту применения, низкую стоимость, отсутствие негативного воздействия на конечный продукт и разложение на безвредные соединения.

Однако к настоящему времени классификация противофаговых дезинфицирующих средств для молочной промышленности с учетом интеграции всех значимых факторов невозможна без дополнительных исследований. Поскольку при выборе режимов дезинфекции (концентрация, время дезинфекционной выдержки) различных объектов, контаминированных микроорганизмами, учитывают, что, если средство эффективно в отношении более устойчивых микроорганизмов, то оно будет эффективно и в отно-

шении менее устойчивых микроорганизмов [8], можно предположить, что дезинфицирующие средства и режимы дезинфекции, эффективные против споровых форм бактерий, будут эффективны в отношении всех бактериофагов МКБ.

Рекомендуется тщательное и регулярное изучение доступных биоцидов против появляющихся новых фагов, а также внедрение системы ротации применяемых биоцидов с целью повышения эффективности дезинфекции. ■

Поступила в редакцию: 03.03.2025

Принята в печать: 19.09.2025

ANTIPHAGE EFFICIENCY OF BIOCIDES AT DAIRY PLANTS

Irina S. Polyanskaya

Vologda State Dairy Farming Academy, Molochnoye

REVIEW ARTICLE

The phagolysis of starter microbiota poses a serious threat to dairy safety and quality. Virucidal activity of commercial disinfectants in the dairy industry remains a less popular topic than their antibacterial activity. New effective phage inactivation procedures require new procedures for normal and enhanced disinfection. New biocide rotation selection methods include phage diagnostics and studies of various lactic acid bacteria bacteriophages. They also make it possible to develop more effective phage inactivation procedures for scientific laboratories. This review focuses on the feasibility of targeted preventive antiphage disinfection measures to develop new sanitization procedures for dairy plants and laboratories. The review covered articles in Russian and English registered in eLIBRARY.RU, CyberLeninka, Scholar Google, Science Direct, and PubMed. Regarding the virucidal activity of disinfectants, the unresolved issues include evaluation of available biocides against new phages, as well as using a biocide rotation system at specific facilities. The data obtained can be used to develop targeted preventive antiphage measures in the dairy industry, to revise sanitary standards, to develop new sanitization procedures, and to design new sanitary regulations for research laboratories that work with lactic acid bacteria bacteriophages.

Keywords: dairy products, lactic acid bacteria, bacteriophages, biocides, disinfection, peracetic acid, quaternary ammonium compounds, polyvinylpyrrolidone iodine, UV treatment

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Просеков, А. Ю.** Инновационный менеджмент биотехнологий заквасочных культур / А. Ю. Просеков, Л. А. Остроумов // Техника и технология пищевых производств. 2016. Т. 43. № 4. С. 64–69. <https://elibrary.ru/xelelb>
2. **Novoselova, M. V.** Technological options for the production of lactoferrin / M. V. Novoselova, A. Yu. Prosekov // Foods and Raw Materials. 2016. Vol. 4(1). P. 90–101. <https://doi.org/10.21179/2308-4057-2016-1-90-101>; <https://elibrary.ru/wbjzwf>
3. **Курбанова, М. Г.** Белковые гидролизаты с биологически активными пептидами / М. Г. Курбанова, И. С. Разумникова, А. Ю. Просеков // Молочная промышленность. 2010. № 9. С. 70–71. <https://elibrary.ru/mvpfzb>
4. **Жданов, В. М.** Место вирусов в биосфере / В. М. Жданов, Д. К. Львов, А. Д. Забережный // Вопросы вирусологии. 2012. № S1. С. 21–32. <https://elibrary.ru/qjanrt>
5. **Van Regenmorte, M. H. V.** Introduction to the species concept in virus Taxonomy / M. H. V. Van Regenmorte // Virus Taxonomy. Seven Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Ed. by H. V. Van Regenmortel [et al.]. – Elsevier Academic Press, 2000. – P. 3–19. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384890-1.00001-7>
6. **Смыков, И. Т.** Дайджест передовых молочных технологий / И. Т. Смыков // Молочная промышленность. 2023. № 5. С. 25–29. <https://elibrary.ru/mwsxoy>
7. **Лапшевич, И.** Бактериофаги - невидимый враг молочных продуктов / И. Лапшевич // Молочная промышленность. 2020. № 10. С. 33–35. <https://elibrary.ru/izpseq>
8. **Ганина, В. И.** Исследование бактериофагов, лизирующих молочнокислые бактерии / В. И. Ганина, Н. Г. Машенцева, И. И. Ионова // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52, № 2. С. 361–374. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-2-2371>; <https://elibrary.ru/vkfrcf>
9. **Verreault, D.** Detection of airborne lactococcal bacteriophages in cheese manufacturing plants. / D. Verreault [et al.] // Applied and Environmental Microbiology. 2011. Vol. 77. P. 491–497. <https://doi.org/10.1128/AEM.01391-10>
10. **Guglielmotti, D. M.** Efficiency of physical and chemical treatments on the inactivation of dairy bacteriophages / D. M. Guglielmotti [et al.] // Frontiers in Microbiology. 2012. Vol. 2. P. 282. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00282>
11. **Hayes, S.** Biocidal Inactivation of *Lactococcus lactis* Bacteriophages: Efficacy and targets of commonly used sanitizers / S. Hayes [et al.] // Frontiers in Microbiology. 2017. Vol. 8. 107. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00107>
12. **Capra, M. L.** Characterization of a new virulent phage (MLC-A) of *Lactobacillus paracasei* / M. L. Capra [et al.] // Journal of Dairy Science. 2006. Vol. 89. P. 2414–2423. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72314-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72314-1)
13. **Marcó, M. B.** Inactivation of Dairy Bacteriophages by Thermal and Chemical Treatments / M. B. Marcó [et al.] // Viruses. 2019. Vol. 11(5). P. 480. <https://doi.org/10.3390/v11050480>
14. **Ганина, В. И.** Бактериофаги и способы снижения их количества / В. И. Ганина // Молочная промышленность. 2016. № 2. С. 41–43. <https://www.elibrary.ru/vkzrmt>
15. **Suárez, V. B.** Effectiveness of thermal treatments and biocides in the inactivation of Argentinian *Lactococcus lactis* phages / V. B. Suárez, J. A. Reinheimer // Journal of Food Protection. 2002. Vol. 65(11). P. 1756–1759. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-65.11.1756>

16. **Quiberoni, A.** Inactivation of *Lactobacillus delbrueckii* bacteriophages by heat and biocides / A. Quiberoni, D. M. Guglielmotti, J. A. Reinheimer // International Journal of Food Microbiology. 2003. Vol. 84(1). P. 51–62. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(02\)00394-x](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(02)00394-x)
17. **Capra, M. L.** Thermal and chemical resistance of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus paracasei* bacteriophages / M. L. Capra, A. Quiberoni, J. A. Reinheimer // Letters in Applied Microbiology. 2004. Vol. 38(6). P. 499–504. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01525.x>
18. **Briggiler M. M.** Thermal, chemical, and photocatalytic inactivation of *Lactobacillus plantarum* bacteriophages // M. M. Briggiler [et al.] // Journal of Food Protection. 2009. Vol. 72(5). P. 1012–1019. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-72.5.1012>
19. **Ebrecht, A. C.** Temperate and virulent *Lactobacillus delbrueckii* bacteriophages: Comparison of their thermal and chemical resistance / A. C. Ebrecht [et al.] // Food Microbiology. 2010. Vol. 27(4). P. 515–520. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.12.012>
20. **Mercanti, D. J.** Resistance of two temperate *Lactobacillus paracasei* bacteriophages to high pressure homogenization, thermal treatments and chemical biocides of industrial application / D. J. Mercanti [et al.] // Food Microbiology. 2012. Vol. 29(1). P. 99–104. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.09.003>
21. **Murphy, J.** Impact of thermal and biocidal treatments on lactococcal 936-type phages / J. Murphy [et al.] // International Dairy Journal. 2014. Vol. 34(1). P. 56–61. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.06.011>
22. **Campagna, C.** Inactivation of dairy bacteriophages by commercial sanitizers and disinfectants / C. Campagna [et al.] // International Journal of Food Microbiology. 2014. Vol. 171. P. 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.012>
23. **Дементьева, А. А.** Методы оценки качества дезинфектантов на основе НУК / А. А. Дементьева [и др.] // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2024. № 3(51). С. 320–326. <https://doi.org/10.36871/vet.san.hyg.ecol.202403001>; <https://elibrary.ru/uhkmzy>
24. **Naumenko, O. V.** Influence of physico-chemical factors on phages isolated in dairy processing plants of Ukraine / O. V. Naumenko [et al.] // Mikrobiologichnyi Zhurnal. 2020. Vol. 82(6). P. 84–93. <https://doi.org/10.15407/microbiolj82.06.084>
25. **Suárez, V. B.** Biocides for dairy bacteriophage inactivation / V. B. Suárez, D. M. Guglielmotti // Bacteriophages in dairy processing. Ed. by A. Quiberoni, J. Reinheimer. – NY: Nova Science Publishers, 2012. – P. 175–197.
26. **Parker, R. B.** Destruction of lactic acid streptococcus Bacteriophage. By hypochlorite and quaternary ammonium compounds / R. B. Parker, P. R. Elliker // Journal of Food Protection. 1951. Vol. 14(2). P. 52–54. <https://doi.org/10.4315/0022-2747-14.2.52>
27. **Ly-Chatain, M. H.** Antiviral effect of cationic compounds on bacteriophages / M. H. Ly-Chatain [et al.] // Frontiers in Microbiology. 2013. Vol. 4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00046>
28. **Priya, P. I.** Increased Use of Quaternary Ammonium Compounds during the SARS-CoV-2 Pandemic and Beyond: Consideration of Environmental Implications // P. I. Priya [et al.] // Environmental Science & Technology. 2020. Vol. 7. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.estlett.0c00437>
29. **Lee, J.** Reduction in microbial survival on food contact surfaces by a spray coated polymerized quaternary ammonium compound / J. Lee, M. A. Pascal // Food Science & Nutrition. 2020. Vol. 8(5). P. 2472–2477. <https://doi.org/10.1002/fsn3.153727>
30. **Zhou, C.** Structure–activity relationship of cationic surfactants as antimicrobial agents / C. Zhou, Y. Wang // Current Opinion in Colloid & Interface Science. 2020. Vol. 45. P. 28–43. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2019.11.009>
31. **Pujato, S. A.** Leuconostoc bacteriophages from blue cheese manufacture: Long-term survival, resistance to thermal treatments, high pressure homogenization and chemical biocides of industrial application / S. A. Pujato [et al.] // International Journal of Food Microbiology. 2014. Vol. 177. P. 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.01230>
32. **Binetti, A. G.** Thermal and chemical inactivation of indigenous *Streptococcus thermophilus* bacteriophages isolated from Argentinian dairy plants / A. G. Binetti, J. A. Reinheimer // J Journal of Food Protection. 2000. Vol. 63(4). P. 509–515. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-63.4.509>
33. **Avsaroglu, D. M.** Hypochlorite inactivation kinetics of lactococcal bacteriophage / D. M. Avsaroglu [et al.] // LWT-Food Science and Technology. 2007. Vol. 40. P. 1369–1375. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.10.006>
34. **Atamer, Z.** Review: Elimination of bacteriophages in whey and whey products / Z. Atamer [et al.] // Frontiers in Microbiology. 2013. Vol. 4. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00191>
35. **Park, W. J.** Kimchi bacteriophages of lactic acid bacteria: population, characteristics, and their role in watery kimchi / W. J. Park, S. J. Kong, J. H. Park // Food Science and Biotechnology. 2021. Vol. 30(7). P. 949–957. <https://doi.org/10.1007/s10068-021-00930-y32>
36. **Полянская, И. С.** Фаговый мониторинг на молочном производстве / И. С. Полянская, В. Ф. Семенихина // Молочная промышленность. 2018. № 9. С. 40–42. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2018-9-40-41>; <https://elibrary.ru/yamlfb>
37. **Al-Jumaili, A.** Review on the antimicrobial properties of Carbon nanostructures / A. Al-Jumaili [et al.] // Materials. 2017. Vol. 10(9). 1066. <https://doi.org/10.3390/ma10091066>
38. **Brady-Estévez, A. S.** SWNT-MWNT hybrid filter attains high viral removal and bacterial inactivation / A. S. Brady-Estévez [et al.] // Langmuir. 2010. Vol. 26(24). P. 19153–19158. <https://doi.org/10.1021/la103776y36>
39. **Karczewska, M.** How to Tackle Bacteriophages: The Review of Approaches with Mechanistic Insight / M. Karczewska [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. 2023. Vol. 24(5). P. 4447. <https://doi.org/10.3390/ijms24054447>
40. **Chmielewska-Jeznach, M.** Molecular, physiological and phylogenetic traits of Lactococcus 936-type phages from distinct dairy environments / M. Chmielewska-Jeznach, J. K. Bardowski, A. K. Szczepankowska // Scientific Reports. 2018. Vol. 1(8). 12540. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30371-3>
41. **Kebbi, Y.** Recent advances on the application of UV-LED technology for microbial inactivation: progress and mechanism / Y. Kebbi [et al.] // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2020. Vol. 19. P. 3501–3527. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.1264539>
42. **Li, X.** Evaluation survey of microbial disinfection methods in UV-LED water treatment systems / X. Li [et al.] // Science of The Total Environment. 2019 Vol. 659. P. 1415–1427. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.344>
43. **Vitzilaoui, E.** UV tolerance of *Lactococcus lactis* 936-type phages / E. Vitzilaoui [et al.] // International Journal of Food Microbiology Volume. 2022. Vol. 2(378). 109824 <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109824>
44. **Buhler, S.** UV irradiation as a comparable method to thermal treatment for producing high quality stabilized milk whey / Buhler, S [et al.] // LWT-Food Science and Technology. 2019. Vol. 105. P. 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.051>
45. **Michel, C.** Orthogonal processing strategies to create “phage-free” whey – membrane filtration followed by thermal or ultraviolet C treatment for the reduction of *Lactococcus lactis* bacteriophages / C. Michel [et al.] // International Dairy Journal. 2021. Vol. 122. P105149, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105149>
46. **Mahony, J.** Phages of lactic acid bacteria: the role of genetics in understanding phage-host interactions and their co-evolutionary processes. / J. Mahony [et al.] // Virology. 2012. Vol. 434(2). P.143–150. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2012.10.008>
47. **Rodríguez, R. A.** Photoreactivation of bacteriophages after UV disinfection: role of genome structure and impacts of UV source. / R. A. Rodríguez [et al.] // Water Research. 2014. Vol. 15(55). P. 143–149. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.01.065>
48. **Chawla, A.** UV Light Application as a Mean for Disinfection / A. Chawla [et al.] // Applied Sciences. 2021. Vol. 11. 7285. <https://doi.org/10.3390/app1116728546>
49. **Chen, X.** Thermal and chemical inactivation of *Lactobacillus virulent* bacteriophage / X. Chen [et al.] // Journal of Dairy Science. 2017. Vol. 100. P. 7041–7050. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-1245148>
50. **Szczepankowska, A. K.** Bacterial starter cultures for foods / A. K. Szczepankowska // Lactic Acid Bacteria - R & D for Food, Health and Livestock Purposes. Ed. by M. Kongo. – InTech, 2013. – <https://doi.org/10.5772/51541>
51. **Кравченко, В. Н.** Способ дезинфекции оборудования на молочных фермах и комплексах / В. Н. Кравченко, Ю. В. Мазаев, Д. А. Панахов // Вестник Всероссийского научно-исследовательского института механизации животноводства. 2019. № 3(35). С. 118–122. <https://elibrary.ru/etyurx>