

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ДЕЗИНФЕКТОЛОГИИ
(ФБУН НИИДезинфектологии Роспотребнадзора)

УДК
№ Государственной
Инв. номер

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН НИИДезинфектологии
Роспотребнадзора



Н.В. Шестопалов
25 апреля 2019г.

Одобрено на заседании Ученого совета
Научно-исследовательского института
дезинфектологии Роспотребнадзора
Решение № 7 от 25 апреля 2019г.

ОТЧЕТ

О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

«Изучение антимикробной активности основных действующих веществ
дезинфицирующих средств и кожных антисептиков» (тема 4.1.1.)
(промежуточный)

Научный руководитель темы
Д.м.н., профессор
Н.В. Шестопалов

Ответственный исполнитель
Д.м.н., профессор
Л.С. Федорова

Москва – 2019

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Ответственный исполнитель
Руководитель лаборатории
проблем дезинфекции, д. м. н.,
профессор

Л. С. Федорова

Исполнители:

Старший научный сотрудник
Старший научный сотрудник
Младший научный сотрудник
Младший научный сотрудник
Младший научный сотрудник
Младший научный сотрудник
Лаборант-исследователь
Лаборант-исследователь

А.С. Белова
Т.В. Воронцова
Н.К. Федутик
А.В. Ильякова
А.Д. Колбасова
Н.К. Ахмед
А.Р. Абисалов
О.А. Райдару

Руководитель лаборатории проблем
стерилизации, к.м.н., доцент
Старший научный сотрудник, к.м.н.
Лаборант-исследователь

А.Ю. Скопин
Т.Н. Шестопалова
Ф.А. Мукабенов

Руководитель лаборатории химико -
аналитических исследований
Младший научный сотрудник

С.В. Андреев
А.Д. Меркульева

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	
1.Материалы и методы исследований.....	
2. Результаты исследований.....	
2.1 Изучение антимикробной активности действующих веществ дезинфицирующих средств	
2.1.1 Изучение антимикробной активности действующих веществ из группы окислителей	
2.1.2. Изучение антимикробной активности действующих веществ из группы катионных ПАВ	
2.1.3 Изучение антимикробной активности действующих веществ из группы спиртов	
2.1.4. Изучение антимикробной активности действующих веществ из группы альдегидов	
2.2 . Изучение антимикробной активности действующих веществ кожных антисептиков	
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	

ВВЕДЕНИЕ

Антимикробная активность является основным свойством дезинфицирующих средств (ДС). Ее обеспечивают химические соединения обладающие антимикробной активностью - действующие вещества (ДВ), входящие в их состав. В настоящее время наиболее широко применяются действующие вещества из группы хлорактивных соединений, кислородоактивных соединений, катионных поверхностно-активных веществ (КПАВ) – четвертичные аммониевые соединения (ЧАС), третичные алкиламины, производные гуанидина, альдегиды и спирты. В составах кожных антисептиков основными действующими веществами являются спирты.

В состав ДС и кожных антисептиков действующие вещества могут входить как индивидуальное соединение, а также в комплексе с другими ДВ или вспомогательными компонентами, обеспечивающими более высокий антимикробный эффект, благоприятные физико-химические (растворимость, стабильность и др.), и потребительские качества (моющее, чистящее, отбеливающее, дезодорирующее, гомогенизирующее и др.).

Специфические свойства действующих веществ определяют особенности антимикробного действия ДС, в состав которых они входят – спектр антимикробного действия – бактерицидного, вирулицидного, фунгицидного, спороцидного; уровень активности (концентрация и время воздействия) и длительность антимикробного действия. Определение этих показателей проводится в экспериментах *in vitro*, в полупрактическом (условия, приближенные к практике) и практическом (в медицинских организациях, инфекционных очагах и на других объектах) опыте.

Первым этапом исследования антимикробного действия ДС является эксперимент *in vitro*, проводимый суспензионным методом или методом обеззараживания батистовых тест-объектов. При этом определяют уровень антимикробной активности в зависимости от устойчивости микроорганизма, температуры, рН среды, присутствия органических веществ - их вида и количества. Вместе с тем, последние десятилетия эти исследования практически не проводятся, а те исследования, которые были выполнены ранее, касаются небольшого количества ДВ, главным образом хлорактивных, и выполнены методом обеззараживания батистовых тест-объектов. Исследования антимикробной активности современных основных действующих веществ в отношении всего спектра микроорганизмов с определением минимальных эффективных концентраций не проводились ни в России, ни за рубежом. Поэтому была поставлена цель – определить минимальные эффективные концентрации ДВ дезинфицирующих средств в отношении бактерий, вирусов, грибов, спор бацилл В задачи исследования входило:

- выбор метода, действующих веществ и микроорганизмов для проведения исследований;

- исследование бактерицидной, тубекулоцидной, фунгицидной, вирулицидной и спороцидной активности представителей ДВ из каждой химической группы; - определение минимальных эффективных концентраций для каждого ДВ и вида микроорганизма.

Результаты исследования антимикробного действия ДВ дезинфицирующих средств помогут:

- определить направления исследований на втором и третьем этапе испытаний ДС и правильно планировать эксперимент;

- определить перспективы и возможную сферу применения нового ДС по его составу;

- целенаправленно создавать новые ДС с ожидаемыми свойствами;

- сравнить результаты суспензионного теста с результатами полупрактических испытаний – режимом применения, и, при возможности, ввести коэффициент корреляции.

1. Материалы и методы исследований

В работе использованы химический и микробиологический методы исследований.

1.1. Характеристика изученных действующих веществ

1.1.1 Алкилдиметилбензиламмоний хлорид (АДБАХ, алкил от C12 до C16). CAS 63449-41-2. Молекулярная масса от 330 до 390 г/моль в зависимости от соотношения гомологов с разной длиной алкильной цепи. Содержание основного вещества определяли методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в соответствии ГОСТ Р 57474-2017 «Дезинфектология и дезинфекционная деятельность. Химические дезинфицирующие средства и антисептики. Методы определения четвертичных аммониевых соединений». Разделение компонентов системы проводили с использованием колонки Thermo Acclaim Surfactant 5 мкм, 4,6×150 мм в режиме градиентного элюирования.

В работе использовались АДБАХ производства Akzo Nobel Surface Chemistry АВ (Швеция, содержание АДБАХ – 50,2 %, из них C12 – 34,0 %, C14 – 14,6 %, C16 – 1,6 %).

1.1.2 Полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГ). CAS 57028-96-3. Идентификация вещества проводилась по времени и УФ-спектру методом гидрофильной высокоэффективной жидкостной хроматографии на колонке Phenomenex Luna NH₂ 5 мкм, 4,6×250 мм. Для определения содержания основного вещества использовался метод двухфазного титрования в щелочной среде с индикатором бромфеноловым синим.

В работе использовался ПГМГ производства Shanghai Rokem International Co. Ltd. (Китай, содержание основного вещества 97,8 %).

1.1.3 N,N-бис(3-аминопропил)додeciламин (ТА, триамин). CAS 2372-82-9. Молекулярная масса 299 г/моль. Для определения содержания основного вещества использовался метод кислотно-основного титрования соляной кислотой с индикатором бромтимоловым синим.

В работе использовался ТА производства Akzo Nobel Surface Chemistry АВ (Швеция, содержание основного вещества 29,8 %).

1.1.4 Натриевая соль дихлороизоциауновой кислоты (ДХЦК). CAS 51580-86-0 (дигидрат). Молекулярная масса 255,98 г/моль (дигидрат). Определение содержания активного хлора проводили с помощью йодометрического титрования по ГОСТ Р 57001-2016 «Дезинфектология и дезинфекционная деятельность. Химические дезинфицирующие средства и антисептики. Метод определения содержания активного хлора».

В работе использовалась ДХЦК производства Taian Huatian Chemical Co., Ltd (Китай, содержание активного хлора 56,0 %).

1.1.5 Хлорамин Б. CAS 304655-80-9. Молекулярная масса 213,62 г/моль. Определение содержания активного хлора проводили с помощью йодометрического титрования по ГОСТ Р 57001-2016 «Дезинфектология и дезинфекционная деятельность. Химические дезинфицирующие средства и антисептики. Метод определения содержания активного хлора».

В работе использовался хлорамин Б производства Schülke CZ S.r.l. (Чехия, содержание активного хлора 28,8 %).

1.1.6 Глутаровый альдегид (ГА). CAS 111-30-8. Молекулярная масса 100,12 г/моль. Для определения содержания основного вещества использовался метод газожидкостной хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием. Идентификация вещества осуществлялась по времени удерживания.

В работе использовался ГА производства Shanghai Shengling Chemical Co. Ltd. (Китай, содержание основного вещества 49,8

1.1.7 Перекись водорода (ПВ). CAS 7722-84-1. Молекулярная масса 34,01 г/моль. Для определения содержания основного вещества использовался метод перманганатометрического титрования по ГОСТ Р 56991-2016 «Дезинфектология и дезинфекционная деятельность. Химические дезинфицирующие средства и антисептики. Метод определения перекиси водорода».

В работе использовалась ПВ производства Solvay Chemicals International S. A. (Финляндия, содержание основного вещества 36,8 %).

1.1.8 1-Пропанол. CAS 71-23-8. Молекулярная масса 60,10 г/моль. Для определения содержания основного вещества использовался ареометрический метод.

В работе использовался 1-пропанол производства АО «Вектон» (Россия, содержание основного вещества не менее 99,0 %).

1.1.9 2-Пропанол. CAS 67-63-0. Молекулярная масса 60,10 г/моль. Для определения содержания основного вещества использовался ареометрический метод.

В работе использовался 2-пропанол производства АО «Вектон» (Россия, содержание основного вещества 99,8 %).

1.1.10 Этанол. CAS 64-17-5. Молекулярная масса 46,07 г/моль. Для определения содержания основного вещества использовался ареометрический метод.

В работе использовался этанол производства с содержанием основного вещества 96,5 %.

1.2. Порядок приготовления рабочих растворов

Растворы готовили по массе с использованием весов специального (I) класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г и высокого (II) класса точности по ГОСТ Р 53228-2008 «Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания».

Для приготовления рабочих растворов использовались субстанции с определенным содержанием основного вещества. Периодичность контроля использованных субстанций приведена в таблице 1.

Таблица 1 - Периодичность контроля использованных действующих веществ

№ п/п	Вещество	Периодичность контроля
1	Алкилдиметилбензиламмоний хлорид	1 раз в 3 месяца
2	Полигексаметиленгуанидин гидрохлорид	1 раз в 3 месяца
3	N,N-бис(3-аминопропил)додециламин	1 раз в 3 месяца
4	Натриевая соль дихлороизоциануровой кислоты	Для каждой партии
5	Хлорамин Б	1 раз в 3 месяца
6	Глутаровый альдегид	1 раз в месяц
7	Перекись водорода	1 раз в месяц
8	1-Пропанол	1 раз в 3 месяца
9	2-Пропанол	1 раз в 3 месяца
10	Этанол	1 раз в 3 месяца

Для приготовления растворов использовали стерильную дистиллированную воду, предоставленную отделением приготовления питательных сред.

Выполнено 1211 исследований по определению количества ДВ и приготовлению рабочих растворов.

1.3. Метод испытания антимикробной активности

Исследования по изучению антимикробной активности действующих веществ проводили *in vitro* с использованием модифицированного суспензионного метода.

В качестве тест-микроорганизмов использовали микроорганизмы из рабочей коллекции ФБУН НИИДезинфектологии Роспотребнадзора, соответствующие по устойчивости к дезинфицирующим средствам установленным требованиям в соответствии с Р 4.2.2643-10:

Escherichia coli (штаммы ATCC 10536);

Pseudomonas aeruginosa (штамм ATCC 15442);

Staphylococcus aureus (штаммы ATCC 6538-P);
Mycobacterium terrae (штамм DSM 43227);
Candida albicans (штаммы ATCC 10231);
Trichophyton mentagrophytes (штамм ATCC 9533);
Aspergillus brasiliensis (штамм ATCC 16404);
Bacillus cereus (штаммы ATCC 10876);
Poliovirus типа I Sabin (вакцинный штамм LSc2ab);
Adenovirus 5 типа.

В качестве нейтрализаторов действующих веществ из различных химических групп использовали:

для алкилдиметилбензиламмония хлорида, полигексаметиленгуанидин гидрохлорида, третичного амина – 0,5% сульфол или универсальный нейтрализатор (твин 80 – 3%, сапонин – 3%, гистидин – 0,1%, цистеин – 0,1%, лецитин – 0,1%); глутарового альдегида – универсальный нейтрализатор;

для перекиси водорода, хлорамина, натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты – 1,0% раствор тиосульфата натрия;

для спиртов – универсальный нейтрализатор.

Рабочую суспензию тест-микроорганизма готовили из культуры данного тест-штамма, выращенного на плотной питательной среде при температуре и в течение времени, оптимальных для данного тест-микроорганизма. Для приготовления микробной взвеси культуру смывали с агара стерильным физиологическим раствором. Полученную взвесь фильтровали через стерильный ватно-марлевый фильтр и разводили стерильным физиологическим раствором до концентрации $\sim 1 \cdot 10^9$ клеток в 1 мл, соответствующей 3 единицам по стандарту Мак-Фарланда, определяемых с помощью денситометра.

Приготовление рабочей культуры тест-вируса и постановку эксперимента по изучению вирулицидной активности проводили в соответствии с методикой, изложенной в п. 5.7.3 Руководства Р 4.2.2643-10.

В стерильные химические пробирки (количество пробирок соответствовало количеству концентраций) разливали по 4,5 мл раствора ДВ с соответствующей концентрацией, в которые добавляли по 0,5 мл взвеси тест-микроорганизма, содержащей $1 \cdot 10^9$ мк/мл, и тщательно перемешивали.

Через определенные интервалы времени в пробирку, содержащую смесь «тест-микроорганизм+ДВ» соответствующей концентрации добавляли 5 мл нейтрализатора и перемешивали.

Время экспозиции устанавливали в зависимости от средней устойчивости микроорганизмов к основным группам дезинфицирующих средств:

для наиболее чувствительных микроорганизмов (бактерий в вегетативной форме) – 15 мин;

для умеренно устойчивых (грибов, кроме плесневых), микобактерий и вирусов) – 30 мин;

для устойчивых (плесневых грибов) – 60 мин;

для наиболее устойчивых (бактерий в споровой форме) – 120 мин.

Для установления времени экспозиции при изучении МЭК ДВ, применяемых для создания кожных антисептиков, учитывали требования, предъявляемые к ним (Р 4.2.2643-10), а именно – необходимость обладать широким спектром антимикробного действия за короткое время (с учетом устойчивости тест-микроорганизмов к спиртам):

для наиболее чувствительных микроорганизмов (бактерий в вегетативной форме) – 0,5 мин;

для умеренно устойчивых (грибов) – 1,0 мин;

для устойчивых (микобактерий и вирусов) – 2,0 мин.

Через 10 мин из пробирки, содержащей смесь «тест-микроорганизм+ДВ+нейтрализатор», делали посевы по 1 мл в 2 пробирки с жидкой и по 0,1 мл на 2 чашки с плотной питательной средой в зависимости от используемого тест-микроорганизма:

Escherichia coli – питательная среда для выделения энтеробактерий (агар Эндо-ГРМ) и питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-бульон);

Pseudomonas aeruginosa и *Staphylococcus aureus* – питательный агар для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-агар) и питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-бульон);

Mycobacterium terrae – среда Левенштейна-Йенсена и картофельно-глицериновый бульон;

Candida albicans, *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus brasiliensis* – питательная среда № 2 ГРМ (Сабуро) и питательная среда для культивирования дрожжей и грибов сухая (бульон Сабуро сухой);

Bacillus cereus (вегетативная форма) – питательный агар для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-агар) и питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-бульон);

Poliovirus типа I Sabin (вакцинный штамм LSc2ab) – среда Игла MEM с двойным набором аминокислот и с глутамином;

Adenovirus 5 типа – среда Игла MEM с двойным набором аминокислот и с глутамином.

В контрольных опытах вместо растворов ДВ использовали стерильную водопроводную воду, а посевы делали аналогично опытному.

Температуру инкубирования посевов в термостате, сроки учета результатов опыта устанавливали в зависимости от используемого тест-микроорганизма:

Escherichia coli, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* – (+37⁰С) – 48 часов (на плотной среде), 7 суток (на жидкой среде);

Mycobacterium terrae – (+37⁰С) – 21 сутки;

Candida albicans – (+27⁰С) – 48 часов (на плотной среде), 10 суток (на жидкой среде);

Trichophyton mentagrophytes – (+27⁰C) – 28 суток;
Aspergillus brasiliensis – (+37⁰C) – 48 часов (на плотной среде), 10 суток (на жидкой среде);
Bacillus cereus – (+37⁰C) – 48 часов (на плотной среде), 7 суток (на жидкой среде);
Poliovirus muna I Sabin (вакцинный штамм LSc2ab) – (+36⁰C), 5 суток (1 пассаж)
Adenovirus – 5 типа – (+36⁰C) – 5 суток (1 пассаж).

Результаты опыта оценивали по наличию или отсутствию роста микроорганизмов в жидкой и на плотной питательной среде. Сравнение проводили с контролем опыта.

Эффективной считали концентрацию средства, при которой трижды повторенный опыт при определенном времени воздействия давал отрицательный результат (отсутствие роста микроорганизмов) при наличии типичного роста тест-культуры в контроле.

Всего выполнено 2952 микробиологических исследования дезинфицирующих средств и кожных антисептиков.

2. Результаты исследований

2.1 Изучение антимикробной активности действующих веществ дезинфицирующих средств

2.1.1 Изучение антимикробной активности действующих веществ из группы окислителей

Из группы окислителей испытания были проведены в отношении кислородоактивного соединения – перекиси водорода и хлорактивных соединений – хлорамина и натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты. Результаты изучения антимикробного действия и определения минимальной эффективной концентрации перекиси водорода представлены в таблице 2.

Таблица 2- Минимальные эффективные концентрации перекиси водорода

	Вид микроорганизма ²	Время гибели тест-микроорганизма, мин	Минимальная эффективная концентрация, %
1.	<i>Escherichia coli</i> (штамм ATCC 10536)	15	2,0
2.	<i>Staphylococcus aureus</i> (штамм ATCC 6538-P)	15	3,0
3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (штамм ATCC 15442)	15	2,0
4.	<i>Mycobacterium terrae</i> (штамм DSM 43227)	30	5,0
5.	<i>Candida albicans</i> (штаммы ATCC 10231)	30	4,0
6.	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> (штамм ATCC 9533)	30	5,0
7.	<i>Aspergillus brasiliensis</i> (штамм ATCC 16404)	60	6,0
8.	<i>Bacillus cereus</i> (штамм ATCC 10876)	120	6,0
9.	Poliovirus типа 1 Sabin (вакцинный штамм Sabin (LSc2ab))	30	2,0
10.	Adenovirus 5 типа (штамм Аденоид 75)	30	1,0

Установлено, что минимальные эффективные концентрации перекиси водорода в отношении бактерий при времени воздействия 15 мин находятся в пределах 2,0-3,0%, наиболее чувствительным видом бактерий среди изученных была *Escherichia coli*. Для *Mycobacterium terrae*, а также грибов *Candida albicans* и *Trichophyton mentagrophytes* минимальная эффективная концентрация составляла 4,0-5,0% при времени воздействия 30 мин. Наиболее чувствительным микроорганизмом среди них была *Candida albicans*. Минимальная вирулицидная концентрация была в пределах 1,0-2,0 при времени воздействия 30 мин. Большую устойчивость проявлял вирус полиомиелита в сравнении с аденовирусом. Самыми устойчивыми к воздействию перекиси водорода были *Aspergillus brasiliensis*, минимальная эффективная концентрация для которого составляла 6,0% при времени воздействия 60 мин, и споры *Bacillus cereus*, минимальная эффективная концентрация для которых составляла 6,0% при времени воздействия 120 мин.

Результаты изучения антимикробного действия и определения минимальной эффективной концентрации хлорамина представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Минимальные эффективные концентрации хлорамина

	Вид микроорганизма ²	Время гибели тест-микроорганизма, мин	Минимальная эффективная концентрация (препарат/активный хлор), %%
1.	<i>Escherichia coli</i> (штамм ATCC 10536)	15	0,3/0,08
2.	<i>Staphylococcus aureus</i> (штамм ATCC 6538-P)	15	0,4/0,1
3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (штамм ATCC 15442)	15	0,3/0,08
4.	<i>Mycobacterium terrae</i> (штамм DSM 43227)	30	>20,0/5,0
5.	<i>Candida albicans</i> (штаммы ATCC 10231)	30	1,5/0,4
6.	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> (штамм ATCC 9533)	30	2,0/0,5
7.	<i>Aspergillus brasiliensis</i> (штамм ATCC 16404)	90	15,0/4,0
8.	<i>Bacillus cereus</i> (штамм ATCC 10876)	360	>20,0/5,0
9.	<i>Poliovirus</i> типа 1 Sabin (вакцинный штамм Sabin (LSc2ab))	30	0,3/0,08
10.	<i>Adenovirus</i> 5 типа (штамм Аденоид 75)	30	0,1/0,025

Установлено, что минимальные бактерицидные концентрации хлорамина составляют 0,08-0,1% по активному хлору (АХ), наиболее чувствительной была *Escherichia coli*. *Mycobacterium terrae* не погибали от воздействия раствора хлорамина в концентрации 5% по АХ в течение 30 мин, а *Bacillus cereus* - 360 мин воздействия. Минимальные фунгицидные концентрации составляли 0,4-0,5% по АХ при времени воздействия 30 мин, а вирулицидные - 0,08-0,025% АХ при том же времени воздействия. Более чувствительным к воздействию растворов хлорамина был *Adenovirus*.

Результаты изучения антимикробного действия и определения минимальной эффективной концентрации натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты представлены в таблице 4.

Таблица 4 - Минимальные эффективные концентрации натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты (Na соль ДХЦК)

	Вид микроорганизма ²	Время гибели тест-микроорганизма, мин	Минимальная эффективная концентрация (по активному хлору), %%
1.	<i>Escherichia coli</i> (штамм ATCC 10536)	15	0,02
2.	<i>Staphylococcus aureus</i> (штамм ATCC 6538-P)	15	0,05
3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (штамм ATCC 15442)	15	0,03
4.	<i>Mycobacterium terrae</i> (штамм DSM 43227)	30	0,3

5.	<i>Candida albicans</i> (штамм ATCC 10231)	30	0,07
6.	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> (штамм ATCC 9533)	30	0,1
7.	<i>Aspergillus brasiliensis</i> (штамм ATCC 16404)	90	1,0
8.	<i>Bacillus cereus</i> (штамм ATCC 10876)	180	2,0
9.	<i>Poliovirus</i> типа 1 Sabin (вакцинный штамм Sabin (LSc2ab))	30	0,05
10.	<i>Adenovirus</i> 5 типа (штамм Аденоид 75)	30	0,03

Растворы натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты были более активными, чем растворы хлорамина, особенно в отношении средне устойчивых и сильно устойчивых видов микроорганизмов. Минимальные бактерицидные концентрации растворов Na соли ДХЦК составляли 0,02-0,05% АХ при времени воздействия 15 мин, туберкулоцидная концентрация составляла - 0,3% АХ, фунгицидные – 0,07-0,1% АХ, вирулицидные 0,03-0,05% АХ при времени воздействия 30 мин. Наиболее устойчивыми были *Aspergillus brasiliensis*, для которого минимальная эффективная концентрация была 1,0% АХ при времени воздействия 90 мин, и споры *Bacillus cereus*, для которых минимальная эффективная концентрация была 2,0% АХ при времени воздействия 180 мин.

2.1.2. Изучение антимикробной активности действующих веществ из группы катионных ПАВ

Результаты изучения антимикробного действия и определения минимальной эффективной концентрации алкилдиметилбензиламмония хлорида (АДБАХ) представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Минимальные эффективные концентрации алкилдиметилбензил аммония хлорида (АДБАХ)

	Вид микроорганизма	Время гибели тест-микроорганизма, мин	Минимальная эффективная концентрация, %%
1.	<i>Escherichia coli</i> (штамм ATCC 10536)	15	0,3
2.	<i>Staphylococcus aureus</i> (штамм ATCC 6538-P)	15	0,2
3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (штамм ATCC 15442)	15	0,3
4.	<i>Mycobacterium terrae</i> (штамм DSM 43227)	30	>5,0
5.	<i>Mycobacterium terrae</i> (штамм DSM 43227)с дополнительным отмывом водой	30	>10,0
6.	<i>Mycobacterium terrae</i> (штамм DSM 43227) (метод батистовых тест-объектов)	30	>20,0
7.	<i>Candida albicans</i> (штамм ATCC 10231)	30	0,3
8.	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> (штамм ATCC 9533)	30	0,5
9.	<i>Aspergillus brasiliensis</i> (штамм ATCC 16404)	60	1,0
10.	<i>Bacillus cereus</i> (штамм ATCC 10876)	60	>30,0
11.	<i>Poliovirus</i> типа 1 Sabin (вакцинный штамм Sabin (LSc2ab))	30	0,5
12.	<i>Adenovirus</i> 5 типа (штамм Аденоид 75)	30	0,1

Минимальные бактерицидные концентрации АДБАХ составляли 0,2-0,3%, фунгицидные концентрации – 0,3-0,5%, вирулицидные 0,1-0,5%. В отношении *Aspergillus brasiliensis* МЭК составляла 1%. Туберкулоцидный эффект не достигался при различных модификациях метода при воздействии концентраций 5,0, 10,0 и 20,0%. Спороцидный эффект отсутствовал при воздействии растворов до 30%.

Результаты изучения антимикробного действия и определения минимальной эффективной концентрации полигексаметиленгуанидин гидрохлорида (ПГМГ-х) представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Минимальные эффективные концентрации полигексаметиленгуанидин гидрохлорида (ПГМГ-х)

	Вид микроорганизма	Время гибели тест-микроорганизма, мин	Минимальная эффективная концентрация, %%
1.	<i>Escherichia coli</i> (штамм ATCC 10536)	15	0,04
2.	<i>Staphylococcus aureus</i> (штамм ATCC 6538-P)	15	0,04
3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (штамм ATCC 15442)	15	0,05
4.	<i>Mycobacterium terrae</i> (штамм DSM 43227)	30	>20,0
5.	<i>Candida albicans</i> (штаммы ATCC 10231)	30	0,6-
6.	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> (штамм ATCC 9533)	30	0,9
7.	<i>Aspergillus brasiliensis</i> (штамм ATCC 16404)	60	5,0
8.	<i>Bacillus cereus</i> (штамм ATCC 10876)	60	>30,0
9.	Poliovirus типа 1 Sabin (вакцинный штамм Sabin (LSc2ab))	30	0,3
10.	Adenovirus 5 типа (штамм Аденоид 75)	30	0,2

МЭК в отношении бактерий составляли 0,04-0,05%; в отношении грибов – 0,6-0,9%, вирусов – 0,3-0,2%. Для плесневых грибов была эффективна концентрация 5,0%. В отношении *Mycobacterium terrae* были не эффективны растворы ПГМГ-х в концентрации до 20%, а в отношении *Bacillus cereus* – до 30%.

Результаты изучения антимикробного действия и определения минимальной эффективной концентрации N,N-бис(3-аминопропил)додeciламина (третичный амин) представлены в таблице 7

Таблица 7 - Минимальные эффективные концентрации N,N-бис(3-аминопропил)додeciламина (третичный амин)

	Вид микроорганизма	Время гибели тест-микроорганизма, мин	Минимальная эффективная концентрация, %%
1.	<i>Escherichia coli</i> (штамм ATCC 10536)	15	0,1
2.	<i>Staphylococcus aureus</i> (штамм ATCC 6538-P)	15	0,07

3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (штамм ATCC 15442)	15	0,1
4.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (штамм ATCC 27853)	15	0,5
5.	<i>Mycobacterium terrae</i> (штамм DSM 43227)	30	1,0
6.	<i>Candida albicans</i> (штаммы ATCC 10231)	30	0,5
7.	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> (штамм ATCC 9533)	30	0,8
8.	<i>Aspergillus brasiliensis</i> (штамм ATCC 16404)	60	2,0
9.	<i>Bacillus cereus</i> (штамм ATCC 10876)	60	>30,0
10.	Poliovirus типа 1 Sabin (вакцинный штамм Sabin (LSc2ab))	30	0,05
11.	Adenovirus 5 типа (штамм Аденоид 75)	30	0,02

Эффективные концентрации третичного амина для бактерий составляли 0,07- 0,1%. *Pseudomonas aeruginosa* (штамм ATCC 27853) была наиболее устойчивой и для нее МЭК составляла 0,5%. Эффективная туберкулоцидная концентрация была равна 1,0%, вирулицидные концентрации 0,02-0,05%, фунгицидные концентрации составляли 0,5-0,8%, для плесневых грибов – 2,0%. *Bacillus cereus* не погибала под воздействием растворов 30% концентрации триамина.

2.1.3 Изучение антимикробной активности действующих веществ из группы спиртов

Результаты определения минимальной эффективной концентрации в отношении спиртов представлены в таблицах 8-9.

Таблица 8 – Минимальные эффективные концентрации этилового спирта

	Вид микроорганизма	Время гибели тест-микроорганизма, мин	Минимальная эффективная концентрация, %%
1.	<i>Escherichia coli</i> (штамм ATCC 10536)	15	40,0
2.	<i>Staphylococcus aureus</i> (штамм ATCC 6538-P)	15	60,0
3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (штамм ATCC 15442)	15	50,0
4.	<i>Mycobacterium terrae</i> (штамм DSM 43227)	30	60,0
5.	<i>Candida albicans</i> (штаммы ATCC 10231)	30	40,0
6.	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> (штамм ATCC 9533)	30	50,0
7.	<i>Aspergillus brasiliensis</i> (штамм ATCC 16404)	60	>93,0 >70,0
8.	<i>Bacillus cereus</i> (штамм ATCC 10876)	60	>93,0 >70,0
9.	Poliovirus типа 1 Sabin (вакцинный штамм Sabin (LSc2ab))	30	50,0
10.	Adenovirus 5 типа (штамм Аденоид 75)	30	40,0

Установлено, что в отношении бактерий при времени воздействия 15 мин минимальная эффективная концентрация этилового спирта равна 40-60%. Наиболее устойчивым среди бактерий оказался *Staphylococcus aureus*. Минимальная эффективная концентрация для *Mycobacterium terrae* при

времени воздействия 30 мин составляла 60%. Минимальные фунгицидные концентрации составляли 40-50%. Более устойчив был *Trichophyton mentagrophytes* в сравнении с *Candida albicans*. Минимальные вирулицидные концентрации были в пределах 40-50%, более устойчивым был полиовирус. В отношении *Aspergillus brasiliensis* и *Bacillus cereus* этиловый спирт в концентрации 70- 93% и времени воздействия 60 мин был не эффективен.

Таблица 9– Минимальные эффективные концентрации изопропилового спирта

	Вид микроорганизма	Время гибели тест-микроорганизма, мин	Минимальная эффективная концентрация, %
1.	<i>Escherichia coli</i> (штамм ATCC 10536)	15	30,0
2.	<i>Staphylococcus aureus</i> (штамм ATCC 6538-P)	15	40,0
3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (штамм ATCC 15442)	15	40,0
4.	<i>Mycobacterium terrae</i> (штамм DSM 43227)	30	40,0
5.	<i>Candida albicans</i> (штаммы ATCC 10231)	30	30,0
6.	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> (штамм ATCC 9533)	30	40,0
7.	<i>Aspergillus brasiliensis</i> (штамм ATCC 16404)	60	>93,0 >70,0
8.	<i>Bacillus cereus</i> (штамм ATCC 10876)	60	>93,0 >70,0
9.	<i>Poliovirus</i> типа 1 Sabin (вакцинный штамм Sabin (LSc2ab))	30	50,0
10.	<i>Adenovirus</i> 5 типа (штамм Аденоид 75)	30	40,0

Изопропиловый спирт был незначительно более активен в отношении бактерий, чем этиловый и его минимальные бактерицидные концентрации составляли 30-40%; минимальная туберкулоцидная концентрация – 40%. Фунгицидные и вирулицидные минимальные концентрации были аналогичны этиловому спирту и составляли – 40-50%. В отношении *Aspergillus brasiliensis* и *Bacillus cereus* изопропиловый спирт, также как этиловый спирт, в концентрации 70- 93% и времени воздействия 60 мин был не эффективен.

2.1.4. Изучение антимикробной активности действующих веществ из группы альдегидов

Для определения минимальной эффективной концентрации из группы альдегидов был выбран наиболее часто применяемый для дезинфекции глутаровый альдегид. Результаты исследования представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Минимальные эффективные концентрации глутарового альдегида

	Вид микроорганизма ²	Время гибели тест- микроорганизма, мин	Минимальная эффективная концентрация, %%
1.	<i>Escherichia coli</i> (штамм ATCC 10536)	15	0,05
2.	<i>Staphylococcus aureus</i> (штамм ATCC 6538-P)	15	0,08
3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (штамм ATCC 27853)	15	0,05
4.	<i>Mycobacterium terrae</i> (штамм DSM 43227)	30	2,0
5.	<i>Candida albicans</i> (штаммы ATCC 10231)	30	0,2
6.	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> (штамм ATCC 9533)	30	0,3
7.	<i>Aspergillus brasiliensis</i> (штамм ATCC 16404)	120	2,0
8.	<i>Bacillus cereus</i> (штамм ATCC 10876)	720	2,0
9.	Poliovirus типа 1 Sabin (вакцинный штамм Sabin (LSc2ab))	30	2,0
10	Adenovirus 5 типа (штамм Аденоид 75)	30	0,5

Минимальные эффективные концентрации для бактерий при времени воздействия 15 мин составляли 0,05-0,08%, наиболее устойчивым оказался *Staphylococcus aureus*. Фунгицидные концентрации составляли 0,2-0,3% при 30 мин воздействия. Для *Mycobacterium terrae* и вирусов минимальная концентрация была значительно выше – 2,0% при времени воздействия 30 мин. Наиболее устойчивыми к воздействию глутарового альдегида были *Aspergillus brasiliensis* и *Bacillus cereus*, для гибели которых требовалось воздействие 2,0% раствора при времени воздействия 120 и 720 мин соответственно.

2.2 . Изучение антимикробной активности действующих веществ кожных антисептиков

Из группы действующих веществ кожных антисептиков испытания были проведены в отношении изопропанола, пропанола, этанола, алкилдиметилбензиламмония хлорида (АДБАХ). Результаты изучения антимикробного действия и определения минимальной эффективной концентрации действующих веществ кожных антисептиков представлены в таблице 11.

Таблица 11 - Минимальные эффективные концентрации действующих веществ кожных антисептиков

Тест-микроорганизм	Время гибели тест-микроорганизма, минуты	% действующих веществ (массовая доля)			
		Изопропанол	Пропанол	Этанол	АДБАХ
		Минимальные эффективные концентрации действующих веществ, % (по массе)			
<i>E. coli</i>	0,5	60,0	40,0	70,0	До 0,2 неэффективно
<i>S. aureus</i>	0,5	60,0	40,0	70,0	0,2
<i>P. aeruginosa</i>	0,5	60,0	40,0	70,0	До 0,2 неэффективно
<i>M. terrae</i>	2,0	50,0	30,0	60,0	До 0,2

					неэффективно
<i>C. albicans</i>	1,0	60,0	30,0	70,0	До 0,2 неэффективно
<i>T. mentagrophytes</i>	1,0	60,0	40,0	70,0	До 0,2 неэффективно
<i>Adenovirus 5</i> типа	2,0	50,0	50,0	30,0	До 0,2 неэффективно
<i>Poliovirus</i>	2,0	До 60,0 неэффективно	60,0	50,0	До 0,2 неэффективно

Установлено, что минимальной эффективной концентрацией изопропанола в отношении бактерий, грибов, аденовируса является 60% при времени воздействия 0,5-2,0 минуты; вирулицидной активностью в отношении тест-микроорганизма *Poliovirus* изопропанол не обладает при концентрации до 60% включительно и при времени воздействия до 2,0 минут.

Минимальной эффективной концентрацией пропанола в отношении бактерий, грибов, вирусов является 60% при времени воздействия 0,5-2,0 минуты.

Минимальной эффективной концентрацией этанола в отношении бактерий, грибов, вирусов является 70% при времени воздействия 0,5-2,0 минуты.

АДБАХ в изученной концентрации (0,2%) не обладает достаточной антимикробной активностью. Концентрации АДБАХ выше 0,2% не изучались в связи с наличием у более концентрированных растворов кожно-раздражающего действия, что является противопоказанием к использованию их в качестве кожного антисептика.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведены масштабные исследования антимикробного действия 10 основных ДВ, вводимых в состав ДС, в отношении коллекционных штаммов бактерий, в том числе микобактерий, вирусов, грибов, спор бацилл. Определены уровень, спектр антимикробного действия и МЭК для каждого из них. Полученные данные показали, что туберкулоцидным действием не обладают ЧАС, ПГМГ-х, хлорамин; спороцидным действием не обладают ЧАС, ПГМГ-х, третичные амины, хлорамин, спирты.

Для действующих веществ кожных антисептиков установлена возможность применения в отношении требуемого широкого спектра микроорганизмов в соответствии с Р.4.2.2643-10 этилового спирта в концентрации не менее 70%, для пропилового спирта – не менее 60%, для изопропилового спирта – не менее 60%. Водные растворы АДБАХ в концентрации до 0,2% антимикробное действие не оказывают.

Анализ научной литературы и нормативно-методической документации показал, что полученные результаты коррелируют с имеющимися зарубежными данными (Russell, Hugo & Ayliffe's «Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization». 5th edition. 2013 by Blackwell Publishing Ltd.; Centers for Disease Control and Prevention, CDC, USA Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, 2008. Last update: February, 15, 2017 и др.), а также отечественными нормативно-методическими документами («Федеральные клинические рекомендации по выбору химических средств дезинфекции и стерилизации для использования в медицинских организациях», М., 2015. 67с.; Санитарно-эпидемиологическими правилами и нормативами СанПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность»).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1.Шестопалов Н.В., Гололобова Т.В. «Роль дезинфектологических технологий в профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи» 17 научно-практич. Конф. «Внутрибольничные инфекции в медицинских учреждениях различного профиля, риски, профилактика, лечение осложнений» М. 2019.- С.63-64.
- 2.Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы СанПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность».
- 3.Руководство Р.4.2.2643-10 «Методы лабораторных исследований дезинфицирующих средств для оценки их эффективности и безопасности» М.: ФЦГиЭ РПН, 2010.- 615с.
- 4.«Федеральные клинические рекомендации по выбору химических средств дезинфекции и стерилизации для использования в медицинских организациях», М., 2015. 67с
- 5.Руководство по вирусологии: Вирусы и вирусные инфекции человека и животных / Под ред.акад. РАН Д.К. Львова. – М.: Медицинские информационные агентства, 2013. – 1197с.
- 6.Носик Н.Н., Носик Д.Н., Дерябин П.Г. Ивонова Е.Б. Современные подходы к изучению и оценке вирулицидной активности дезинфицирующих средств // Дезинфекционное дело. – 2004 - №1 – С 54-57.
- 7.Канищев В.В., Еремеева Н.И. Проблемы выбора и применение современных дезинфицирующих средств / В.В. Канищев, Н.И. Еремеева. (Электронный ресурс) : URL: http://niid.ru/s/210/files/press/release/125515_478/pdf.
- 8.Russell, Hugo & Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization. 5TH EDITION. 2013 by Blackwell Publishing Ltd.
- 9.Handbook of Disinfectants and Antiseptics / Под ред. J. M. Ascenzi.CRC Press, 1995.
- 10.Райнбабен Фридрих фон Основы противовирусной дезинфекции. М.: Летний сад, 2014.
- 11.Гигиена рук в здравоохранении / Под ред. Кампф Г. - Киев: Здоровья, 2005.
- 12.Руководство ВОЗ по гигиене рук в здравоохранении: Резюме. Всемирная организация здравоохранения, 2013 г.

13. MacDougall K.D., Morris C. Optimizing disinfectant application in healthcare facilities. *Infect/ control/ Today*, 2006, june, P. 62-67.