

УДК: 615.281.9:57.083.1

Сравнительная оценка антибактериальной активности двух антисептиков in vivo и in vitro.

Нестерова С.В.-6 курс медико-профилактического факультета ,О.Г. Шаповал-ст.преподаватель, Анохина Т.В.- к.м.н., доцент

Научный руководитель: ст.преподаватель Шаповал О.Г.- ogshapoval@gmail.com

ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им.В.И. Разумовского» Минздрава России

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии; кафедра гигиены медико-профилактического факультета

Ответственные авторы:

Нестерова Светлана Владиславовна e-mail: Swetlana.nesterova2012@yandex.ru

Анохина Татьяна Викторовна e-mail: anohina.tv@mail.ru

Шаповал Ольга Георгиевна e-mail: ogshapoval@gmail.com

Резюме: Антисептические и дезинфицирующие средства имеют важное значение в предотвращении инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Их разнообразие на современном этапе вызывает вопрос о возможных различиях в антимикробной активности, несмотря на отсутствие избирательности действия. Методом двукратных серийных разведений при микробной нагрузке 5×10^5 КОЕ/мл изучена антимикробная активность двух комплексных антисептиков на основе изопропилового спирта («Стериллиум» и «Изосепт») в отношении стандартных штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* FDA 209P, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Установлено, что «Стериллиум» не оказывал бактерицидного действия на опытные штаммы, бактериостатическое проявилось только в отношении штаммов *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* FDA 209P в максимально взятой концентрации 375000 мкг/мл. Изосепт проявил большую антимикробную активность в отношении опытных штаммов: минимальная подавляющая концентрация (бактериостатическая и бактерицидная) для *P.aeruginosa* ATCC 27853 составила 5080 мкг/мл, штаммы *E.coli* ATCC 25922 и *S.aureus* FDA 209P не дали роста во всех опытных концентрациях (МПК \leq 2540 мкг/мл). Количественная эффективность подавления роста микрофлоры кожи рук по результатам смывов, взятых до и после обработки антисептиками у 30 студентов, оказалась для обоих средств одинаковой.

Ключевые слова: антисептик, дезинфицирующие средства.

Comparative assesment of antibacterial activity of two antiseptics in vivo and in vitro.

Nesterova S.V.- the sixth-year student of the medico-prophylactic faculty , Saratov state medical university n.a. Razumovsky, Departament of microbiology, virology and immunology, Department of hygiene of the medico-prophylactic faculty

Shapoval O.G.- senior teacher, Departament of microbiology, virology and immunology Saratov state medical university n.a. Razumovsky

Anohina T.V.- candidate of medical Sciences, associate Professor Department of hygiene of the medico-prophylactic faculty Saratov state medical university n.a. Razumovsky

Summary: Antiseptic agents and disinfectants are important in prevention of health-care associated infections. At present their variety raises the question about probable difference of antimicrobial activity. Antimicrobial activity of the complex based on isopropanol antiseptics (“Sterillium” and “Iosept”) against three standard strains of *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* FDA 209P, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 was tested by serial dilution assay. It was determined that “Sterillium” has not shown bactericidal effect on all tested strains, but bacteriostatic one was in maximal tested concentrations (375000 µg/ml) against *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* FDA 209P. “Iosept” has been more active than “Sterillium” (minimum inhibitory bacteriostatic and bactericidal concentration was 5080µg/ml for *P.aeruginosa* ATCC 27853 and ≤ 2540µg/ml for *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* FDA 209P. Quantitative efficiency of the growth of skin hand microflora inhibition by the antiseptics was tested on 30 students. According to the results of the skin wash-outs inoculation there are no differences in the inhibitory effect of both antiseptics.

Keywords: antiseptic, disinfectants

Одним из важнейших элементов санитарно-эпидемиологического благополучия населения страны составляет ее национальная безопасность - организация и неуклонное проведение комплексных мер по неспецифической профилактике и борьбе с возникновением и распространением случаев инфекционных заболеваний, в т.ч. связанных с оказанием медицинской помощи. В комплексе профилактических и противоэпидемических мер по борьбе с упомянутыми инфекциями входят дезинфектологические технологии[2,3,4].

Усовершенствование качества медицинской помощи, увеличение спектра лечебно-профилактических и диагностических манипуляций, внедрение новых технологических подходов к сохранению здоровья людей одновременно приводит и к возникновению инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). ИСМП представляют серьезную проблему общественного здравоохранения в силу своей распространенности, отрицательного влияния на показатели заболеваемости, смертности и степени тяжести состояния пациентов, а также опасности для медицинских работников и значительного экономического ущерба. В современных условиях проблема ИСМП достаточна актуальна, т.к. заболеваемость во многих странах значительна [1].

По данным государственных докладов “ О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году по Саратовской области”и “ О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году» в медицинских организациях Саратовской области зарегистрировано 43 случая ИСМП, что на 30,6% ниже уровня регистрации в 2015 г. (62 случая). Наибольшее число случаев инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи зарегистрировано в учреждениях родовспоможения 76,7%, что больше на 18,7% по

сравнению с 2015г, в амбулаторно-поликлинических учреждениях – 9,3%, что отмечает снижение на 14,9% , в хирургических стационарах- 9,3%, прочих учреждениях – 4,6% [6].

В 2016 году в медицинских организациях Российской Федерации случаев ИСМП выявлено на 7,7 % больше, чем в 2015 году (24 771 и 23 006 случаев на 2016 и 2015 года соответственно). Официальная статистика, как правило согласно экспертным оценкам, занижает реальную заболеваемость госпитальными инфекциями. Такая разница возможна из-за несовершенства надзора и учета за ИСМП в большинстве российских медицинских учреждений, своевременного выявления случаев ИСМП и принятия адекватных мер в целях их предупреждения [5].

Наибольшее число случаев ИСМП регистрируется в учреждениях родовспоможения, хирургических стационарах. По данным, представленным в «Национальной Концепции РФ по профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи», разработанной в 2011 г., наблюдаемые в последние годы в России случаи регистрации и внедрения в практику здравоохранения неэффективных антисептических и дезинфекционных средств связаны с нарушениями в экспертной оценке новых средств, и подчеркивается необходимость создания новых методов определения чувствительности госпитальных патогенов к антимикробным препаратам [1,3]. Возникает формирование и широкое распространение в условиях ЛПУ полирезистентных внутрибольничных штаммов условно патогенных микроорганизмов, отличающихся повышенной устойчивостью к воздействию факторов окружающей среды, в том числе и к дезинфицирующим средствам, что нашло отражение в СанПиНе 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность», разделе II «Организация дезинфекционных и стерилизационных мероприятий» (в п. 1.9. указывается, что «в целях предупреждения возможного формирования резистентных к дезинфектантам штаммов микроорганизмов следует проводить мониторинг устойчивости госпитальных штаммов с последующей их ротацией при необходимости»), а также согласно МУ 3.5.1.3439-17 “Оценка чувствительности к дезинфицирующим средствам микроорганизмов, циркулирующих в медицинских организациях” высокой эффективностью мер по предупреждению ИСМП является необходимость проводить эпидемиологический надзор за уровнем и распространенностью ИСМП, микробиологическую диагностику ИСМП, санитарно-бактериологические исследования объектов внутрибольничной среды, оценку чувствительности микроорганизмов к ДС, организацию и проведение мер по повышению эффективности дезинфекционных мероприятий [7, 8].

В настоящее время существует большое количество антисептиков и дезинфектантов под разными торговыми названиями, в основе которых могут находиться химические соединения группы галогенов (в том числе соединения активного хлора), окислители, четвертичные аммониевые соединения (ЧАС), альдегиды, спирты (этанол, изопропиловый спирт). В отличие от антибиотиков они не имеют избирательности действия на бактериальные клетки и эффективно воздействуют на покоящиеся формы.

Однако все чаще стали отмечаться случаи перекрестной резистентности к дезинфицирующим средствам и антибиотикам, что можно объяснить сходством воздействия на мишени в бактериальной клетке. Для предупреждения снижения эффективности дезинфекционных мероприятий необходимо проводить мониторинг устойчивости госпитальных штаммов с последующей их ротацией при необходимости [8].

Современный дезинфектант должен отвечать нескольким основным требованиям, без осуществления которых ни один препарат не может быть рекомендован к применению:

1. Микробиологическая эффективность;
2. безопасность в применении
3. совместимость с обрабатываемыми материалами (за "золотой стандарт" здесь принимается воздействие, которое оказывает на материалы глутаровый альдегид);
4. экономичность;
5. степень устойчивости к органической нагрузке (например, крови);
6. скорость действия (требуемая экспозиция);
7. наличие запаха;
8. отсутствие воспламеняемости и взрывоопасности;
9. простота в использовании [9]

Факторы, оказывающие влияние на антимикробную активность растворов медицинских дезинфектантов:

- достижимость бактерий - должен быть контакт дезинфицирующего средства с микроорганизмами;
- температура - активность всех дезинфектантов повышается при повышении температуры;
- концентрация - должна быть не ниже рекомендованной;
- объем - при одинаковой концентрации антимикробная эффективность дезинфицирующего средства тем выше, чем больше его объем;

- рН - некоторые дезинфектанты чувствительны к изменению рН, например, вещества на основе глутарового альдегида активны только в щелочной среде;
- время - при одинаковых условиях грамположительные бактерии погибают быстрее грамотрицательных[1]

Целью исследования послужило:

1) определение чувствительности стандартных штаммов бактерий к двум антисептикам - «Стериллиуму», содержащему в качестве действующих веществ пропанол в концентрации 75%, и «Изосепту», в составе которого 65% изопропиловый спирт и 0,2% дидецилдиметиламмония хлорид (ЧАС);

2) сравнение эффективности обработки рук двумя антисептиками («Стериллиум» и «Изосепт»).

Материалы и методы: 1) чувствительность 3 штаммов (*Escherichiacoli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* FDA 209P, *Pseudomonasaeruginosa* ATCC 27853) определяли методом двукратных серийных разведений в бульоне Мюллера-Хинтона при микробной нагрузке 5×10^5 КОЕ/мл. Посевы инкубировали при 37°C в течение суток, после чего при наличии видимого роста в контроле (питательная среда без антисептика) определяли минимальную подавляющую концентрацию (МПК), для установления характера которой (бактерицидная или бактериостатическая) осуществляли высев на мясо-пептонный агар.

2) у 30 студентов стерильными ватными тампонами, смоченными в физиологическом растворе, тщательно протирали околоногтевые и межпальцевые пространства обеих рук. После отбора проб засеивали чашки Петри с мясопептонным агаром. Спустя 15 минут брали повторный смыв с рук испытуемого. Посевы инкубировали при температуре 37°C в течение 24 ч и затем подсчитывали количество выделенных колоний.

Результаты и выводы: Установлено, что: 1) «Стериллиум» во всех разведениях не оказывает бактерицидного действия на штаммы *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* FDA 209P, что не исключает его наличие при отсутствии разведения. Бактериостатическое действие его в отношении упомянутых штаммов проявилось только в первом двукратном разведении (концентрация 375000 мкг/мл). Бактерицидного и бактериостатического действия на штамм *P.aeruginosa* ATCC 27853 данный антисептик во взятых разведениях не оказал. Антисептик «Изосепт» проявил большую антимикробную активность в отношении опытных штаммов: его МПК (бактериостатическая и бактерицидная) для *P.aeruginosa* ATCC 27853 составила

5080мкг/мл, что соответствует разведению в 128раз. На штаммы кишечной палочки и золотистого стафилококка все опытные разведения оказали бактериостатическое и бактерицидное действие, т.е. МПК \leq 2540 мкг/мл.

Согласно данным литературы концентрация антисептика - хлоргексидина составляет 8мкг/мл, что значительно меньше значений, полученных нами.[1] Это можно объяснить тем, что антисептические растворы, взятые в опыт, имеют иную химическую структуру и комплексный состав, т.е. кроме действующего агента содержат отдушки, смягчающие средства для кожи, которые могут нарушать действие препарата при испытании *invitro*.

2) Установлено, что до проведения обработки количество микроорганизмов – представителей микрофлоры кожи указанных биотопов у разных студентов различно, что во многом связано с соблюдением правил личной гигиены, состоянием противомикробной резистентности. Следует отметить, что правая рука у большинства обследуемых-правшей оказалась более контаминированной по сравнению с левой, что, очевидно, связано с большим содержанием транзитной микрофлоры на ней как на «рабочей». После обработки дезинфицирующими средствами смывы, взятые у всех обследуемых, не дали видимого роста или показали рост единичных колоний. Несмотря на то, что в условиях опыта *invitro* антисептики проявили разную активность, по количественной эффективности обработки рук они не уступали друг другу.

Таким образом, согласно полученным результатам «Изосепт» в условиях нашего опыта проявил большую антимикробную активность в отношении стандартных штаммов бактерий, чем «Стерилиум». Однако результаты могут измениться при тестировании химически чистых веществ, а не комплексных препаратов.

Таким образом, дезинфектанты и антисептики - неотъемлемая часть клинической медицины и широко используются для предотвращения распространения внутрибольничных патогенов в условиях стационара.

Список литературы:

1. Детушева Е.В. Моделирование биопленки у бактерий на плотной питательной среде и изучение закономерностей формирования устойчивости к тризоклану: дис. ... кандидата биологических наук / Е.В. Детушева; Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. Оболенск, 2016 г. 157с.
2. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности. Р 4.2.2643-10. Введ. 2010-06-01.
URL:<http://docs.cntd.ru/document/1200086231>
3. Национальная Концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Введ. 2011-11-06.
URL:<http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70000121/#70000121>
4. О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения: Федер.закон [принят Гос.Думой 12.03.1999]

URL:<http://www.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req=doc&base=LAW&n=219307&fld=134&dst=1000000001,0&rnd=0.21031415003995663#0>.
5. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году: Государственный доклад.-М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017
URL:<http://niisg.ru/files/gosudarstvennyy-doklad-2016.pdf>
6. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году по Саратовской области: М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017

URL:<http://64.rospotrebnadzor.ru/documents/10156/115123/О+санитарно-эпидемиологической+обстановке+в+Саратовской+области+в+2016+г.>
7. Оценка чувствительности к дезинфицирующим средствам микроорганизмов, циркулирующих в медицинских организациях. МУ 3.5.1.3439-17. Введ. 2017-03-13
8. Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность. СанПиН 2.1.3.2630-10. Введ. 2010-05-18.

URL:<http://docs.cntd.ru/document/902217205>.

9. Современный подход к выбору дезинфицирующих средств в системе профилактики ВБИ)
/ И.Ф. Веткина [и др.] // ФАРМиндекс-Практик. 2005. Вып.7. С.13-20