

УДК 648.61+579.66

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

DOI: 10.37903/vsgma.2020.4.6

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ПО СОСТАВУ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ

© Берестина А.В., Бахвалов А.В.

*Обнинский институт атомной энергетики – филиал федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Россия, 249040, Обнинск, Студгородок, 1**Резюме*

Цель. Сравнить эффективности трех дезинфицирующих средств, используемых в учебных чистых помещениях: №1 – на основе активного кислорода, №2 – на основе сочетания четвертичных аммониевых соединений (ЧАС) и глутарового альдегида, №3 – на основе ЧАС.

Методы. Выполнена серия отборов проб после очистки на определение содержания аэрозольных частиц и микроорганизмов. Пробы отбирались в Модуле чистых помещений ИАТЭ НИЯУ «МИФИ», включающего четыре помещения класса чистоты D. Пробы на микробиологическую чистоту отбирались параллельно на две питательные среды (Триптонно-соевый агар для выделения бактерий и Декстрозный агар Сабуро для выделения дрожжей и грибов) и инкубировались в течение 5 дней.

Результаты. Эффективность исследуемых дезинфицирующих средств, определенная по содержанию микроорганизмов в воздухе, снижается в ряду №1 – №2 – №3. Рост спорообразующей микрофлоры в воздухе после проведения уборок чистых помещений данными дезинфицирующими средствами не обнаружен. На рабочих поверхностях рост спорообразующей микрофлоры полностью отсутствует только после очистки кислородосодержащим дезинфицирующим средством №1, так как удаление микроорганизмов с поверхностей – более сложная задача, чем их удаление из воздуха. Прямой зависимости между концентрацией аэрозольных частиц и количеством микроорганизмов в воздухе на данном этапе исследования не выявлено.

Заключение. Наиболее эффективное из рассматриваемых дезинфицирующих средств – на основе активного кислорода (№1), обладающее также спороцидной активностью. Дезинфицирующие средства на основе сочетания ЧАС и глутарового альдегида (№2), а также на основе ЧАС (№3) не имеют выраженной спороцидной активности, но могут быть использованы для проведения ежедневных уборок в чистых помещениях, не загрязненных спорообразующей микрофлорой.

Ключевые слова: чистые помещения, дезинфицирующие средства, аэрозольные частицы, микробиологическая чистота, спорообразующая микрофлора, спороцидная активность

ASSESSING EFFECTIVENESS OF DISINFECTANTS WITH DIFFERENT COMPOSITION

Berestina A.V., Bakhvalov A.V.

*National Research Nuclear University MEPHI (Moscow Engineering Physics Institute) Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering (OINPE), 1, Studgorodok, 249040, Obninsk, Russia**Abstract*

Objective. To compare the efficacy of three disinfectants used in training Cleanrooms: #1 – based on active oxygen, #2 – based on combination of Quaternary ammonium compounds (QACs) and glutaraldehyde, #3 – based on QACs.

Methods. A number of sampling after cleaning was carried out to determine the content of aerosol particles and microorganisms. Samples were taken in the Cleanroom Module of the OINPE NRNU MEPHI, which includes four class D rooms. Samples for microbiological purity were taken in parallel on two nutrient media (Tryptone soya agar for the isolation of bacteria and Sabouraud dextrose agar for the isolation of yeast and fungi) and incubated for 5 days.

Results. The efficacy of the studied disinfectants, determined by the content of microorganisms in the air, is reduced in the range: #1 – #2 – #3. The growth of spore-forming microflora in the air after cleaning of

Cleanrooms with these disinfectants was not detected. On working surfaces, the growth of spore-forming microflora is completely absent only after cleaning with an oxygen-containing disinfectant # 1, as the removal of microorganisms from surfaces is a more difficult task than from the air. According to the results of this stage of the study, direct relationship between the concentration of aerosol particles and the number of microorganisms in the air was not revealed.

Conclusion. The most effective of the examined disinfectants is based on active oxygen (# 1), which also has sporicidal activity. Disinfectants based on the combination of QACs and glutaraldehyde (# 2), as well as on the basis of QACs (# 3) don't have a significant sporicidal activity, but can be used for routine (daily) cleaning in Cleanrooms that are not contaminated with spore-forming microflora.

Keywords: cleanrooms, disinfectants, aerosol particles, microbiological purity, spore-forming microflora, sporicidal activity

Введение

Использование надлежащих технических приемов очистки и дезинфекции является неотъемлемой частью обеспечения соответствия чистых помещений нормативным требованиям. Под дезинфекцией понимается процедура, направленная на уменьшение количества присутствующих в вегетативной форме микроорганизмов за счет их инактивации или разрушения. Более сложной задачей является удаление спор бактерий и грибов. Для их удаления требуются специальные спороцидные средства.

Дезинфицирующие средства различаются по спектру активности, механизму действия и эффективности [9]. Согласно Приказу Минпромторга №916, для уборки чистых помещений должны применяться несколько типов дезинфицирующих средств. Требование использовать не менее двух дезинфицирующих средств, различающихся механизмом действия, также закреплено в европейских требованиях GMP [8].

Даже если дезинфицирующее средство успешно прошло испытания на эффективность в лабораторных условиях, это не означает, что оно будет также хорошо работать в чистых помещениях [10]. Например, во время исследований в лаборатории проблематично учесть такой фактор, как кратность воздухообмена. От кратности воздухообмена зависит время экспозиции, которое, в свою очередь, влияет на эффективность дезинфицирующего средства, так как после высыхания его воздействие на микроорганизмы прекращается. Это особенно важно для спороцидных средств, поскольку для уничтожения спор требуется достаточно длительное воздействие дезинфицирующего средства. Кроме того, каждый комплекс чистых помещений характеризуется своей уникальной микрофлорой. Это обусловлено режимом проведения уборок, работающим персоналом, качеством подаваемой воды и другими факторами.

Известно, что грамположительные бактерии уничтожить легче, чем грамотрицательные, а бактерии менее устойчивы, чем грибы. Наибольшей устойчивостью обладают бактерии, образующие эндоспоры [8]. Таким образом, перед выбором дезинфицирующих средств необходимо провести комплекс мероприятий по определению видового состава микрофлоры чистых помещений, в которых планируется эти средства использовать. Таким образом, оценка эффективности дезинфицирующих средств, выполненная непосредственно в чистых помещениях, позволяет дополнить результаты лабораторных исследований и сделать правильный выбор дезинфицирующих средств, которые будут применяться.

Рассматриваемые дезинфицирующие средства имеют следующий состав: №1 – 95,8% монопероксифталата гексагидрат (пероксид). №2 – 12,5% алкилдиметилбензиламмония хлорид (ЧАС), 2,5% дидецилдиметиламмония хлорид (ЧАС) и 2% глутаровый альдегид. №3 – 50% алкилдиметилбензиламмония хлорид (ЧАС). Кислородосодержащие дезинфицирующие средства (пероксиды) разрушают стенку микробной клетки, вызывая вытекание цитоплазмы, денатурируют ферменты клетки путем окисления. Обычно используются в чистых помещениях качестве спороцидов. Альдегиды вызывают денатурирование и свертывание белков микробной клетки. Обладают низкой бактерицидной активностью в отношении кислотоустойчивых бактерий и бактериальных спор. Альдегиды широко используются для дезинфекции и стерилизации медицинских изделий. Четвертичные аммониевые соединения (ЧАС) взаимодействуют с фосфолипидами клеточной мембраны, вызывая вытекание и свертывание цитоплазмы. Имеют широкий спектр действия в отношении микроорганизмов, но не действуют на бактериальные споры. Это наиболее часто применяемые в фармацевтической промышленности дезинфицирующие средства. Комбинации действующих веществ используют для улучшения

свойств дезинфицирующих средств. Это позволяет добиться более широкого спектра действия, низкой токсичности, стабильности и совместимости с другими средствами.

Цель исследования – сравнение эффективности трех дезинфицирующих средств, используемых в учебных чистых помещениях: №1 – на основе активного кислорода, №2 – на основе сочетания четвертичных аммониевых соединений (ЧАС) и глутарового альдегида, №3 – на основе ЧАС.

Методика

Для оценки эффективности дезинфицирующих средств была выполнена серия отборов проб после очистки на определение содержания аэрозольных частиц и микроорганизмов в воздухе и на поверхностях. Пробы отбирались в Модуле чистых помещений ИАТЭ НИЯУ «МИФИ». Данный Модуль предназначен для учебной и исследовательской работы и включает в себя четыре помещения класса чистоты D. В помещениях в соответствии с ГОСТ Р ИСО 14644-1-2017 равномерно распределены точки отбора для определения содержания аэрозольных частиц в воздухе (21 точка) [2]. Точки микробиологического контроля определены с учетом критичности для производственного процесса: 6 точек для контроля воздуха и 11 точек для контроля поверхностей.

Для определения концентрации частиц использовался счетчик Met One 3400 (АТН), для отбора проб воздуха применялся аспиратор ПУ-1Б (Химко). Микробиологический контроль поверхностей выполнялся методом отпечатка с помощью контактных пластин. Пробы на микробиологическую чистоту отбирались параллельно на две питательные среды. Для выделения бактерий использовался триптонно-соевый агар (определяемый показатель – общее количество аэробных микроорганизмов), температура инкубации 30-35°C. Для выделения дрожжей и грибов использовался декстрозный агар Сабуро (показатель общее количество дрожжевых и плесневых грибов), температура инкубации 20-25°C [4]. Затем эти показатели суммировались для получения значения общего микробного числа (ОМЧ). Пробы инкубировались в течение 5 дней.

Отбор проб в каждой точке выполнялся однократно и был повторен трижды для каждого дезинфицирующего средства. Таким образом, получено 9 наборов данных, по которым рассчитывалось среднее значение и стандартное отклонение, представленные на рисунке. Статистическая обработка результатов проводилась при использовании программного обеспечения Microsoft Excel 2010.

Результаты исследования и их обсуждение

Для правильного выбора дезинфицирующих средств, необходимо в первую очередь определить характерную для чистых помещений микрофлору [7]. Согласно накопленным данным микробиологического мониторинга, в исследуемом Модуле чистых помещений количественно преобладают представители нормальной микрофлоры человека – грамположительные кокки (*Micrococcus* spp., *Staphylococcus* spp.), для устранения которых достаточно использовать дезинфицирующее средство, эффективное против бактерий в вегетативной форме [6]. Такой активностью обладают все испытываемые дезинфицирующие средства [7]. Были выделены также более устойчивые к действию дезинфицирующих средств грамотрицательные бактерии (*Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp.). А.Ю. Поповым (2003) показано, что четвертичные аммониевые соединения, к которым относится средство №3, малоэффективны против грамотрицательной микрофлоры [5]. Наиболее устойчивыми представителями микрофлоры исследуемых чистых помещений являются спорообразующие бактерии (*Bacillus* spp.), а также плесневые грибы, присутствие которых предполагает регулярное использование спороцидных средств [6]. Согласно данным по микробиологической эффективности различных дезинфицирующих средств, наиболее эффективными являются средства на основе активного кислорода, обладающие выраженной спороцидной активностью [6, 7]. Четвертичные аммониевые соединения, а также ЧАС с добавкой альдегида (когда концентрация альдегида ниже концентрации ЧАС), не обладают достаточной активностью против спор, несмотря на высокую эффективность альдегидов против микроорганизмов в вегетативной форме [3, 6, 7].

По результатам проведенного исследования установлено, что эффективность дезинфицирующих средств против микроорганизмов, содержащихся в воздухе, снижается в ряду №1 – №2 – №3. Результаты контроля (средние значения ОМЧ) воздуха, отобранного после проведения очисток рассматриваемыми дезинфицирующими средствами, представлены на рисунке.

Удаление микроорганизмов с поверхностей – более сложная задача, чем из воздуха. Некоторые микроорганизмы способны образовывать на поверхностях крайне устойчивые биопленки. Кроме того, при старении поверхностей могут образовываться трещины и царапины, за счет которых микроорганизмы проникают глубже, что сказывается на эффективности дезинфицирующих средств. Так, в ходе эксперимента получено, что среднее содержание микроорганизмов на рабочих поверхностях составило: менее 1 КОЕ/пластина после использования дезинфицирующего средства №1 и 1 КОЕ / пластина после использования дезинфицирующих средств №2 и №3.

Таким образом, наиболее эффективным средством для удаления микроорганизмов как с поверхностей, так и из воздуха, является дезинфицирующее средство на основе активного кислорода. Средства №2 и №3 показали меньшую эффективность, но также обеспечили снижение бактериальной нагрузки исследуемых чистых помещений.

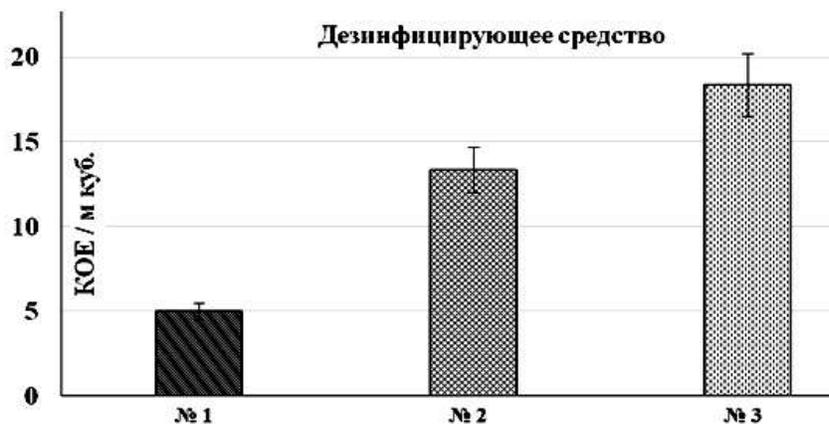


Рис. Содержание микроорганизмов в воздухе чистых помещений, отобранном активным методом

Аналогичные результаты для кислородосодержащего дезинфицирующего средства и средства на основе ЧАС были получены в работе Ангановой Е.В. и соавт. (2016), выполнивших тестирование различных по составу дезинфицирующих средств в отношении бактериального загрязнения [1]. К кислородосодержащему дезинфицирующему средству оказались чувствительны более 85% микроорганизмов, в то время как к дезинфицирующему средству на основе ЧАС полная чувствительность была установлена только в 54% случаев.

Рост спорообразующей микрофлоры в воздухе, отобранном после проведения очисток исследуемыми дезинфицирующими средствами, не обнаружен. На рабочих поверхностях рост спорообразующей микрофлоры полностью отсутствует только после очистки кислородосодержащим дезинфицирующим средством №1. Использование дезинфицирующих средств №2 (ЧАС и глутаровый альдегид) и №3 (ЧАС) не привело к полному уничтожению спор на поверхностях. Так, рост единичных колоний плесени и спорообразующих бактерий был обнаружен в точках с наиболее сильным и трудноудаляемым микробным загрязнением – дренажная решетка, пол, раковина. Таким образом, в данном исследовании подтвердилось, что дезинфицирующие средства №2 (на основе ЧАС и глутарового альдегида) и №3 (на основе ЧАС) малоэффективны в отношении спор.

В таблице приведены результаты (средние значения) по оценке содержания аэрозольных частиц в воздухе. Отбор проб проводился для поиска возможной зависимости между концентрацией аэрозольных частиц в воздухе и его микробным загрязнением.

Таблица. Средняя концентрация аэрозольных частиц в 1 м³ воздуха чистых помещений, отобранном активным методом

Дезинфицирующее средство	Концентрация частиц размером 0,3 мкм	Концентрация частиц размером 0,5 мкм	Концентрация частиц размером 3,0 мкм	Концентрация частиц размером 5,0 мкм	Концентрация частиц размером 10,0 мкм
№1	1056038	125774	17883	11535	13546
№2	1223224	182239	9890	3717	2325
№3	705751	60766	5708	2622	3512

По результатам отбора установлено, что все помещения Модуля соответствуют заявленному классу чистоты D по содержанию аэрозольных частиц в воздухе [2]. Однако в течение эксперимента не выявлено корреляции между концентрацией частиц и количеством микроорганизмов. Высокое содержание частиц после очистки дезинфицирующим средством №1 по сравнению с двумя другими исследуемыми средствами, вероятно, обусловлено его свойствами. Дезинфицирующее средство №1 имеет тенденцию к образованию кристаллов после высыхания дезинфицирующего раствора, что может создать дополнительное выделение частиц в воздух помещения.

Таким образом, в результате данного исследования продемонстрировано, что наиболее эффективным является кислородосодержащее дезинфицирующее средство (№1). Дезинфицирующее средство №2 (ЧАС и глутаровый альдегид) обладает меньшей эффективностью, а самую низкую эффективность в отношении микробного загрязнения имеет дезинфицирующее средство №3 (ЧАС). Дезинфицирующие средства №2 (на основе ЧАС и глутарового альдегида) и №3 (на основе ЧАС) оказались недостаточно эффективными для обработки против спор.

Заключение

Дезинфицирующее средство №1 (на основе активного кислорода) характеризуется самой высокой эффективностью из трех рассматриваемых. Средства с подобным составом могут быть рекомендованы к использованию даже при возникновении значительных загрязнений в чистых помещениях, а также обнаружении спорообразующей микрофлоры при микробиологическом мониторинге. Дезинфицирующие средства №2 (сочетание ЧАС и глутарового альдегида) и №3 (ЧАС) не имеют выраженной спороцидной активности. Они могут быть использованы для проведения ежедневных уборок в чистых помещениях, не загрязненных спорообразующей микрофлорой. Понимание особенностей распространения и методов борьбы с микроорганизмами, характерными для чистых помещений, должно учитываться при выборе дезинфицирующих средств. В исследуемом Модуле регулярно обнаруживается спорообразующая микрофлора, что говорит о необходимости систематического использования спороцидных средств для удержания микробного загрязнения на известном и контролируемом уровне. Возможны следующие схемы чередования рассматриваемых дезинфицирующих средств: №1/№2; №1/№3 или №1/№2/№1/№3.

В случае, когда чистые помещения имеют низкий уровень микробного загрязнения, а спорообразующая микрофлора в них не обнаруживается, допустимо чередовать дезинфицирующие средства №2 и №3 для ежедневных уборок, а спороцидное средство №1 использовать для генеральных уборок (например, раз в месяц). Кроме того, важно не только подобрать надлежащий режим дезинфекции, но и проводить регулярный микробиологический мониторинг чистых помещений, что позволит периодически проверять эффективность используемых дезинфицирующих средств.

Литература (references)

1. Анганова Е.В., Крюкова Н.Ф. Устойчивость к дезинфектантам микроорганизмов, выделенных из внешней среды хирургического стационара // Микробиология и вирусология. – 2016. – Т.1, №3 (109). – С. 55-59. [Anganova E.V., Kryukova N.F. *Mikrobiologiya i virusologiya*. Microbiology and Virology. – 2016. – V.1, N3(109). – P. 55-59. (in Russian)]
2. «ГОСТ Р ИСО 14644-1-2017. Национальный стандарт Российской Федерации. Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды. Часть 1. Классификация чистоты воздуха по концентрации частиц» (утв. и введен в действие Приказом Росстандарта от 18.10.2017 N1442-ст) / Информационно-справочная система «Консультант-Плюс» [«GOST R ISO 14644-1-2017. Natsional'nyi standart Rossiiskoi Federatsii. Chistye pomeshcheniya i svyazannye s nimi kontroliruemye sredy. Chast' 1. Klassifikatsiya chistoty vozdukha po kontsentratsii chastits». «GOST R ISO 14644-1-2017. National standard of the Russian Federation. Cleanrooms and associated controlled environments – Part 1: Classification of air cleanliness by particle concentration» (approved and put into effect by Rosstandart's Order 18.10.2017 N 1442-st) / Information and reference system «Consultant Plus». (in Russian)]
3. Канищев В.В., Морозов А.С., Лакомов В.П. и др. Использование зарегистрированных в России дезинфицирующих средств войсками РХБ защиты в чрезвычайных ситуациях биологического характера // Вестник войск РХБ защиты. – 2018. – Т.2, №3. – С. 57-67. [Kanishchev V.V., Morozov A.S., Lakomov

- V.P. i dr. *Vestnik voisk RKhB zashchity*. Bulletin of the RCB defense forces. – 2018. – V.2, N3. – P. 57-67 (in Russian)]
4. «МУК 4.2.734-99.4. Методы контроля. Микробиологический мониторинг производственной среды. Методические указания» (утв. Минздравом России 10.03.1999) / Информационно-справочная система «Консультант-Плюс» [«МУК 4.2.734-99. 4. *Metody kontrolya. Mikrobiologicheskii monitoring proizvodstvennoi sredy. Metodicheskie ukazaniya*». «МУК 4.2.734-99.4. Methods of control. Microbiological monitoring of production environment. Methodological instructions» (approved by the Ministry of Health of Russia 10.03.1999) / Information and reference system «Consultant Plus» (in Russian)]
 5. Попов А.Ю. Дезинфекция чистых помещений. Современные требования // Чистые помещения и технологические среды. – 2003. – №4. – С. 38-40. [Popov A.Yu. *Chistye pomeshcheniya i tekhnologicheskie sredy*. Cleanrooms and technological environments. – 2003. – N4. – P. 38-40 (in Russian)]
 6. Стейнхауэр К. Проблемы выбора биоцидов // Чистые помещения и технологические среды. – 2013. – №1 (45). – С. 37-39. [Steinkhauer K. *Chistye pomeshcheniya i tekhnologicheskie sredy*. Cleanrooms and technological environments. – 2013. – N1(45). – P. 37-39. (in Russian)]
 7. Стрикленд Л. Дезинфекция начинается с правильного выбора средств // Чистые помещения и технологические среды. – 2010. – №2(34). – С. 32-36. [Striklend L. *Chistye pomeshcheniya i tekhnologicheskie sredy*. Cleanrooms and technological environments. – 2010. – N2(34). – P. 32-36 (in Russian)]
 8. Сэндл Т. Очистка чистых помещений // Чистые помещения и технологические среды. – 2011. – №2. – С. 32-36. [Sandle T. *Chistye pomeshcheniya i tekhnologicheskie sredy*. Cleanrooms and technological environments. – 2011. – N2. – P. 32-36. (in Russian)]
 9. Сэндл Т. Передовая практика санитарной обработки в фармацевтическом производстве // Чистые помещения и технологические среды. – 2016. – №3(59). – С. 44-48. [Sandle T. *Chistye pomeshcheniya i tekhnologicheskie sredy*. Cleanrooms and technological environments. – 2016. – N3 (59). – P. 44-48. (in Russian)]
 10. Сэндл Т. Риск загрязнения спорами микроорганизмов в чистых помещениях. Часть 2: Выбор спороцидных дезинфицирующих средств // Технология чистоты. – 2018. – №2. – С. 17-20. [Sandle T. *Tekhnologiya chistoty*. Technology of Cleanliness. – 2018. – N2. – P. 17-20. (in Russian)]

Информация об авторах

Берестина Анастасия Владимировна – студент Обнинского института атомной энергетики – филиала федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ». E-mail: aberestina@mail.ru

Бахвалов Андрей Витальевич – кандидат биологических наук, доцент кафедры Фармацевтической и радиофармацевтической химии Обнинского института атомной энергетики – филиала федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ». E-mail: andrewbakhvalov@gmail.com

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.