

УДК 613.14/15:62:579

© С.В. Козуля, 2013.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА «СУРФАНИОС» МЕТОДОМ, ИМИТИРУЮЩИМ НАЛИЧИЕ БИОПЛЕНКИ

С.В. Козуля

Кафедра общей гигиены с экологией (зав. кафедрой - проф. С.Э. Шибанов), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь.

### RESULTS OF DISINFECTANT «SURFANIOS» EFFICIENCY STUDY BY METHOD, IMITATING PRESENCE OF BIOFILM

S.V. Kozulya

#### SUMMARY

The structure of biofilm and physiological features of constituents of its cells provide high stability of bacterial association to the disinfectants, it is therefore necessary to conduct disinfection after its removing from the processed object. However, in a number of cases, it is impossible on technical reasons and results in the necessity of increase of concentration of disinfectant. The modified method of study of disinfectant's efficiency, imitating the presence of biofilm on the processed objects, allows to define a time of application and concentration of disinfectants, intended for treatment of objects, covered a biofilm.

### РЕЗУЛЬТАТИ ВИВЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ДЕЗИНФІКУЮЧОГО ЗАСОБУ «СУРФАНІОС» МЕТОДОМ, ЯКИЙ ІМІТУЄ НАЯВНІСТЬ БІОПЛІВКИ

С.В. Козуля

#### РЕЗЮМЕ

Структура біоплівки і фізіологічні особливості мікробних клітин, що її складають, забезпечують високу стійкість бактерійного співтовариства до дезінфікуючих засобів, тому дезінфекцію слід проводити після її видалення з об'єкту, підлягаючого обробці. Проте, у ряді випадків це неможливо за технічних обставин і приводить до необхідності збільшення концентрації дезінфікуючого засобу. Модифікована методика вивчення ефективності дезінфікуючих засобів, що імітує наявність біоплівки на об'єктах, які обробляються, дозволяє визначити ефективну експозицію і концентрацію дезінфікуючих засобів, призначених для обробки об'єктів, покритих біоплівкою.

**Ключевые слова:** гигиена, микрофлора воздуха помещений, системы кондиционирования воздуха.

В 80-х годах XX века внимание исследователей привлекла специфическая, фиксированная на поверхностях как живых, так и неживых объектов, форма существования микроорганизмов, названная «биопленкой» [2].

Полисахариды и другие экзополимеры, продуцируемые микрофлорой, обуславливают не только прикрепление клеток к субстрату [4], но и функционирование сообществ биопленки, создавая стабильную архитектуру. Сложная комплексная трехмерная структура биопленок обеспечивает возможность метаболической кооперации клеток и создает условия, способствующие симбиотическим взаимоотношениям между бактериями разных видов [5,6].

Структура биопленки и физиологические особенности составляющих ее микробных клеток обеспечивают высокую устойчивость бактериального сообщества к дезинфицирующим средствам. Такой способ существования бактерий создает определённые санитарные проблемы и делает необходимой разработку соответствующих дезинфекционных тех-

нологий, направленных на борьбу с биопленкой [3].

Целью работы было изучение эффективности дезинфицирующего средства «Сурфаниос» методом, имитирующим наличие биопленки на обрабатываемом объекте.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Первым этапом работы была модификация метода исследования бактерицидной эффективности дезинфицирующих средств, предназначенных для обеззараживания поверхностей [1]. Метод-прототип предполагает тестирование дезинфицирующего средства на тонкой пленке подсушенной взвеси тест-штаммов, которые, из-за такой обработки, находятся в состоянии пониженной физиологической активности и более чувствительны к дезинфицирующим средствам. Кроме того, по закону осмоса, в частично обезвоженную клетку дезинфицирующее средство будет проникать легче, что также исказит результаты исследования. В связи с тем, что визуализация результатов исследования происходит после

отмывания тест-поверхности с дальнейшим посевом промывной жидкости, существует риск ложно-отрицательного результата при незначительном количестве микроорганизмов, оставшихся жизнеспособными.

Модифицированная методика, предназначенная для изучения эффективности дезинфицирующих средств, применяемых для объектов внешней среды, покрытых биопленкой, состоит из нескольких этапов:

1. Стерильной мерной пробиркой отмеряется 3 см<sup>3</sup> сваренной или растопленной плотной питательной среды, приготовленной согласно рецептуре, рекомендованной для используемого штамма микроорганизмов, наносится на стерильные предметные стекла 30x75 мм и выдерживается до застывания.

2. На поверхность среды наносится 0,1 мл точной бульонной культуры тест-штамма, разведенного по стандарту мутности 10 международных еди-

ниц, что соответствует  $0,93 \cdot 10^9$  клеток в мл, после чего предметное стекло оставляется на 15 минут при комнатной температуре для удаления избытка влаги с поверхности среды.

3. Установленное на подставку предметное стекло обрабатывается дезинфицирующим раствором. После экспозиции остаток дезинфицирующего средства удаляется путем орошения стерильной водопроводной водой. В целях повышения достоверности результата, оценка эффективности дезинфицирующих средств, проводится одновременно на двух стёклах.

4. Для предотвращения высыхания предметные стёкла укладываются по две штуки в чашку Петри (рисунок 1), которая термостатируется при температуре 37°C в течение 1-2 суток в зависимости от тест-культуры.

5. Учет результатов проводится путем подсчета колоний на питательной среде.

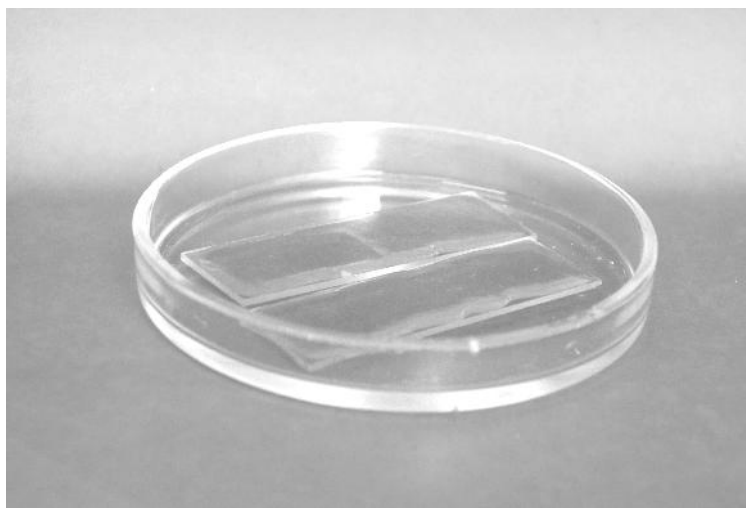


Рис.1. Предметные стёкла со средой в чашке Петри.

Для объективной оценки эффективности этой методики были проведены параллельные исследования эффективности дезинфицирующего средства «Сурфаниос», произведенного ООО «Дезант», Украина (свидетельство о государственной регистрации дезинфицирующего средства №05.03.02-08/66 от 01.12.2011) по методике-прототипу и модифицированной методике. В обоих случаях время воздействия дезинфицирующего средства на микрофлору, то есть экспозиция, составляла 15 минут. По методике-прототипу в качестве нейтрализатора применялся раствор 0,5% лаурилсульфата натрия (сульфонол, ТУ 07510508. 135-98, производство ООО «Югсинтез», Днепропетровск). Для повышения достоверности каждое исследование проводилось в двух повторах. Также, в обязательном порядке, проводился контроль стерильности среды и ростовых качеств тест-культуры.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты оценки эффективности дезинфици-

рующего средства «Сурфаниос» по воздействию на три тест-штамма: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* приведены в таблице 1.

Как видно из представленных данных, моделирование условий биоплёнки предъявляет к дезинфицирующему средству более жесткие требования. При проведении исследований методом-прототипом «Сурфаниос» проявлял бактерицидный эффект в отношении *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* до 0,25% разведения включительно. Единичные колонии отмечались в 0,2% разведении. В отношении *Pseudomonas aeruginosa* дезинфектант показал более высокую эффективность - рост микрофлоры угнетался до концентрации 0,2% включительно, а единичные колонии регистрировались начиная с 0,15% разведения. При применении более низких концентраций, до 0,125% отмечался сплошной рост.

При использовании модифицированной методики оценки эффективности дезинфицирующих

средств, предназначенных для объектов, покрытых биопленкой, дезинфицирующее средство закономерно демонстрировало меньшую эффективность. Рост *Staphylococcus aureus* угнетался до концентрации 0,325% включительно. При применении 0,3% раствора наблюдались поддающиеся подсчету колонии, переходящие в сплошной рост при concentra-

ции 0,25%. В отношении *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* бактерицидный эффект сохранялся до концентрации 0,25% включительно. При использовании 0,2% раствора дезинфицирующего средства отмечалось поддающееся подсчету число колонии, переходящее в сплошной рост при использовании 0,15% концентрации средства «Сурфаниос».

Таблица 1

**Воздействие различных концентраций дезинфицирующего средства «Сурфаниос» на тест-штаммы, количество колоний на поверхности среды**

тест-штамм	концентрация дезинфицирующего средства, %						
	0,35	0,325	0,3	0,25	0,2	0,15	0,125
Способ – прототип, колоний на поверхности среды							
<i>Escherichia coli</i>	-/-	-/-	-/-	-/-	12/15	25/27	34/38
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	4/5	20/27
<i>Staphylococcus aureus</i>	-/-	-/-	-/-	-/-	52/57	73/75	98/99
Предлагаемая методика, колоний на поверхности среды							
<i>Escherichia coli</i>	-/-	-/-	-/-	-/-	42/53	СР	СР
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-/-	-/-	-/-	-/-	80/73	СР	СР
<i>Staphylococcus aureus</i>	-/-	-/-	40/50	СР	СР	СР	СР

Примечание: «СР»- сплошной рост, подсчету не поддается.

Таким образом, предлагаемый метод наглядно продемонстрировал, что для уничтожения биопленок *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* на объектах, которые, в силу ряда причин, предварительно невозможно от них очистить (например, в некоторых узлах систем водоснабжения и кондиционирования воздуха), необходимо использовать «Сурфаниос» в концентрации 0,325% и более. Используя для данной цели метод прототип, мы могли бы сделать ошибочный вывод о достаточности 0,25% концентрации данного дезинфицирующего средства, что привело бы к недостаточной эффективности дезинфекционных мероприятий.

#### ВЫВОДЫ

1. Дезинфекцию следует проводить после удаления биопленки с обрабатываемого объекта. Однако, в ряде случаев это невозможно по техническим причинам и приводит к необходимости увеличения концентрации дезинфицирующего средства.
2. Модифицированная методика изучения эффективности дезинфицирующих средств, имитирующая наличие биопленки на обрабатываемых объектах, позволяет определить экспозицию и концентрацию дезинфицирующих средств, предназначенных для обработки объектов, покрытых биопленкой.
3. Данная модификация методики может найти применение в бактериологических лабораториях и быть использована для оценки эффективности дезинфицирующих средств, предназначенных для объектов внешней среды, покрытых биопленкой.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности Р 4.2.2643-10 – Офиц. Изд. – М. : Государственная система санитарно-эпидемиологического нормирования Российской Федерации, 2010г. – С. 144-147. – (Нормативный документ Государственной системы санитарно-эпидемиологического нормирования Российской Федерации. Руководство)
2. Моносахаридный состав экзополимерного комплекса бактерий-деструкторов защитных покрытий / В.В. Занина, Ж.П. Коптева, Ю.М. Юмына [и др.] // Микробиологический журнал. – 2009. – Т. 71. – №4. – С. 21-27.
3. Предупреждение формирования биопленки в гидравлической системе стоматологической установки: материалы конф. [«Актуальні питання дезінфекційної справи»] / [Морозова Н.С., Мариевский В.Ф., Куцевляк С.В.]. – Лівів, 2008. – С. 60-61.
4. Danese P.N. Exopolysaccharide production is required for development of *Escherichia coli* K-12 biofilm architecture / P.N. Danese, L.A. Pratt, R. Colter // *J. Bacteriol.* – 2000. – Vol. 182, N 12. – P. 3593–3596.
5. Novak J.S. Heteropolysaccharides formation by *Arthrobacter viscosus* grown on xylose and xylose oligosaccharides / J.S. Novak, S.W. Tanenbaum, J.P. Nakas // *Appl. And Environ. Microbiol.* – 1992. – Vol. 58, N 11. – P. 3501–3507.
6. Sutherland I.W. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework / I.W. Sutherland // *J. Microbiol.* – 2001. – №147. – P. 3–9.