

Рус.: УДК: 579.861.2:615.28:579.61:616-078

Изучение чувствительности госпитальных штаммов *S. aureus* к действию дезинфектантов

Пономаренко С. В., Антушева Т. И., Калиниченко С. В.,
Рыжкова Т. А., Ковалева А. А.

Резюме

Была изучена чувствительность штаммов *S. aureus*, выделенных из эпидемически значимых объектов внутренней среды лечебных учреждений (воздуха манипуляционных, смывов с поверхностей медицинского оборудования, смывов со спецодежды) к современным дезинфектантам. Установлено, что наибольшей активностью обладали хлорсодержащие средства, а также средство на основе надуксусной кислоты.

Ключевые слова: госпитальные штаммы, резистентность, дезинфицирующие средства

Eng.: Study of the sensitivity of hospital *S. aureus* strains to the action of disinfectants

Ponomarenko S. V., Antusheva T. I., Kalinichenko S. V., Ryzhkova T. A., Kovaleva A. A.

Abstract

Has been studied the sensitivity of strains of *S. aureus*, isolated from hospitals environmental objects (air of manipulation rooms, swabs from the surfaces of medical equipment, uniforms of the medical staff) to modern disinfectants. It was established that the highest activity possessed chlorine compounds, and means based on peracetic acid.

Keywords: hospital strains, resistance, disinfectants

Вступление.

Проблема развития инфекционных осложнений в условиях лечебно-профилактического учреждения (ЛПУ) в значительной степени зависит от эффективности мер контроля и профилактики внутрибольничных инфекций. Одной из важнейших мер обеспечения дезинфекционного режима является использование современных асептических и антисептических средств. Патогенные микроорганизмы, основным резервуаром которых является человек, перемещаются непосредственно от одного индивидуума к другому. При попадании в окружающую среду они могут длительно сохранять жизнеспособность, а под воздействием неблагоприятных физических, химических и прочих факторов, приобретают дополнительную устойчивость.

Под влиянием химиопрепаратов, антибиотиков и дезинфекционных средств из микроорганизмов, постоянно циркулирующих в стационарных отделениях ЛПУ, особенно хирургического и акушерского профиля, формируются микробные популяции с повышенной резистентностью - так называемые госпитальные штаммы. Госпитальные штаммы микроорганизмов вытесняют собственную микрофлору пациента с нарушенной колонизационной резистентностью, входя в состав его аутомикрофлоры, и становятся причиной эндогенной инфекции. При определенных условиях они также могут быть непосредственной причиной инфекционного осложнения, вызывая экзогенную инфекцию [6, 10]. Для профилактики внутрибольничных инфекций предусмотрено использование одноразовых инструментов, перчаток, катетеров, оборудования, простерилизованных промышленным способом, а также применение современных дезинфицирующих средств, которые должны чередоваться с определенной частотой. Характеристики, на основе которых выбирают эффективное дезинфицирующее средство (ДС), включают в себя прежде всего:

- спектр антимикробной активности с учетом действия не только на бактерии и грибы, а также вирулицидный эффект в отношении вирусов гепатита и иммунодефицита человека;

- коротким временем действия (экспозицией) препарата при отсутствии повреждения материала и коррозии металла, входящих в состав медицинского оборудования;

- способность сохранять активность в присутствии органических веществ (крови, слизи, мочи и т.д.);

- не оказывать токсического и аллергического действия на организм человека (медицинский персонал, пациенты) [4, 7, 9].

Одним из механизмов формирования резистентности микроорганизмов к дезинфектантам является изменение проницаемости клеточной стенки и цитоплазматической мембраны за счет ионных каналов. Важную роль в этих процессах играют липиды, которые имеют уникальные физико-химические свойства. Мембранные липиды образуют основной диффузный барьер для низкомолекулярных веществ, которыми являются дезинфектанты. В то же время при соответствующих условиях, определенном количественном и качественном соотношении всех компонентов обеспечивается высокий транспорт этих веществ в клетку. Поэтому изменения в количестве и составе липидов в мембране могут обеспечивать как устойчивость к действию дезинфектантов, так и повышенную чувствительность. По данным литературы выделяют естественную устойчивость микроорганизмов к дезинфицирующим средствам (соответствует зарубежным представлениям о внутренней устойчивости - *Intrinsic, innate resistance*) – генетически закрепленное свойство микроорганизмов, относящихся к одному таксону, что проявляется в устойчивости (снижение чувствительности, нечувствительности)

микроорганизмов к действию некоторых ДС. Это «врожденное» свойство микроорганизмов характерно для всех представителей данного рода и вида. Также описана приобретенная устойчивость микроорганизмов к ДС (*Acquired Resistance*) – адаптация микроорганизмов к действию ДС, характеризующаяся формированием устойчивости к бактерицидным концентрациям одного или нескольких ДС, к которым отсутствует исходная (естественная) устойчивость [2, 9].

Цель работы

Целью исследования стало изучение чувствительности к современным дезинфектантам штаммов *S. aureus*, выделенных из эпидемически значимых объектов внутренней среды стационарных отделений лечебных учреждений.

Материалы и методы:

Изучалась чувствительность 62-х штаммов *S. aureus*, в том числе выделенных из воздуха манипуляционных кабинетов – 7 штаммов, смывов с поверхностей медицинского оборудования – 6 штаммов, смывов с рабочих поверхностей – 36 штаммов, смывов со спецодежды – 13 штаммов. Отбор проб проводился в соответствии с методическими рекомендациями по соблюдению санитарно-эпидемиологического режима в учреждениях здравоохранения, а именно: приказа МОЗ Украины от 04.04.2012 № 236 «Про організацію контролю та профілактики післяопераційних гнійно-запальовальних інфекцій, спричинених мікроорганізмами, резистентними до дії антимікробних препаратів», приказа МОЗ Украины от 10.05.2007 № 234 «Про організацію профілактики внутрішньолікарняних інфекцій в акушерських стаціонарах», приказа МЗ СССР от 17.01.1979 № 60 «О мерах по дальнейшему укреплению и развитию дезинфекционного дела» и Государственных санитарных норм и правил от 11.08.2014 № 552 «Дезінфекція, передстерилізаційне очищення та стерилізація медичних виробів в закладах охорони здоров'я».

Отбор и идентификацию штаммов проводили согласно Методическим указаниям по применению унифицированных микробиологических (бактериологических) методов исследования в клинко-диагностических лабораториях (утверждены приказом МЗ СССР от 22 апреля 1985 г. №535). Для подтверждения принадлежности выделенных культур золотистых стафилококков к госпитальным штаммам в качестве эпидемиологических маркеров использовали внутривидовое фаготипирование с международным набором типовых стафилококковых бактериофагов, а также определяли чувствительность к наиболее значимым антибиотикам. Чувствительность исследуемого штамма к одному или нескольким типовым фагам определяет фаготип штамма, т.е. его фаговую эпидметку [3].

Для определения чувствительности стафилококков к дезинфектантам были взяты хлорсодержащие и бесхлорные растворы дезсредств, которые на сегодняшний день используются в стационарах лечебных учреждений: 0,1 %

и 0,2 % растворы Дезактина, 0,03 % и 0,1 % растворы Неохлора tabs (таблетированный), 1,75 % раствор Солиокаса, 0,02 % раствор Анолита.

Для изучения бактерицидных свойств дезинфекционных средств в настоящее время используют различные методы: метод смывов, метод батистовых тест-объектов, метод отпечатков, метод диффузии, определение МИК [1, 9].

Исследования проводили с помощью количественного суспензионного теста методом батистовых тест-объектов (биотестов) [1]. Для получения микробной суспензии делали смыв суточной культуры выделенного и оттипированного штамма *S. aureus* стерильной водой, доводили до концентрации 2 млрд. микробных клеток в 1 мл взвеси по оптическому стандарту мутности и добавляли 10 % инактивированной лошадиной сыворотки. Из полученной взвеси микроорганизмов готовили тест-объекты: специально подготовленные и простерилизованные кусочки батистовой ткани размером 0,5x1,0 см заливали в стерильной чашке Петри микробной взвесью на 15-20 минут, после чего высушивали в термостате между стерильными листами фильтровальной бумаги в течение 20 минут при 37°C. Таким образом были приготовлены по 26 биотестов из каждого выделенного штамма стафилококков. Подсушенные тест-объекты перед постановкой опыта раскладывали по 2 шт. Для проведения опыта по определению чувствительности одного штамма к одному раствору дезинфектанта готовили 4 ряда пробирок по 6 штук в каждом: 1 ряд – во все пробирки наливали по 5,0 мл нейтрализатора (0,5% раствора гипосульфита натрия) для хлорсодержащих дезинфектантов или дистиллированную воду для других средств; 2 ряд - по 5 мл стерильной водопроводной воды; 3 и 4 ряд - по 3,0 мл питательного бульона и 2 контрольные пробирки - контроль культуры и контроль питательного бульона. Для контроля культуры 2 тест-объекта с культурой помещали в пробирку с 5,0 мл стерильной водопроводной воды, а в конце опыта переносили по одному тест-объекту в 2 пробирки с 3,0 мл питательного бульона.

Ход определения: приготовленные биотесты помещали в чашку Петри с соответствующим дезинфектантом из расчета по 0,5 мл ДС на один тест-объект. Через каждые 5, 10, 20, 30, 40 и 60 минут в течение часа извлекали петлей по 2 тест-штамма, опускали в пробирки первого ряда – в раствор нейтрализатора или воды (по критерию содержания хлора), через 5 минут переносили биотесты в пробирки 2-го ряда, содержащие стерильную водопроводную воду и еще через 5 минут – в пробирки 3-го ряда с питательным бульоном, которые инкубировали в термостате при 37°C 48 часов. Затем делали висев на соответствующие среды (кровяной агар и желточно-солевой агар), при росте микроорганизмов проводили их идентификацию. Для контроля культуры 2 биотеста выдерживали в течение всего времени опыта в пробирке с водой, затем переносили в бульон и после

термостатирования высевали на те же среды – наблюдался рост *S. aureus*. Высев чистого (незасеянного) бульона должен быть стерильным.

Критерии оценки результата: при росте после выдержки менее 5 минут - культура чувствительна к данному дезинфектанту, от 10 до 15 минут - культура слабо-чувствительная; более 20 минут - культура не чувствительна (штамм устойчив).

Результаты исследования.

При изучении чувствительности к дезсредствам культур *S. aureus*, выделенных из объектов окружающей среды лечебных учреждений, было отфаготипировано 88,2 % штаммов. Среди них 30,6 % принадлежали к II литической группе, 29,9 % к III литической группе, 16,1 % к IV литической группе. Вне литических групп типировалось 11,6 % выделенных штаммов стафилококков. Штаммы, выделенные из одного лечебного учреждения, принадлежали, как правило, к одной литической группе, и имели идентичную чувствительность к антибиотикам при определении антибиотикограммы *in vitro*.

Результаты, полученные при изучении дезрезистентности выделенных стафилококков к дезсредствам, используемым в условиях стационара, свидетельствуют о наибольшей чувствительности штаммов, выделенных из воздуха, к хлорсодержащим растворам, а штаммов, выделенных с рабочих поверхностей методом смывов – к ДС на основе надуксусной кислоты (табл. 1).

Таблица 1 - Чувствительность госпитальных штаммов *S. aureus* к различным дезинфектантам

Объект выделения <i>S. aureus</i>	Раствор дезинфектанта	Чувствительные		Слабо-чувствительные		Устойчивые	
		Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%
Воздух манипуляционных кабинетов (n=7)	Дезактин 0,1 %	3	42,9	4	57,1	-	-
	Дезактин 0,2 %	5	71,4	2	28,6	-	-
	Неохлор tabs 0,03 %	2	28,6	3	42,9	2	28,6
	Неохлор tabs 0,1 %	4	57,1	3	42,9	-	-
	Солиокс 1,75 %	4	57,1	3	42,9	-	-
	Анолит 0,02 %	5	71,4	2	28,6	-	-
Смывы рабочих поверхностей (n=36) с	Дезактин 0,1 %	13	36,1	19	52,8	5	-
	Дезактин 0,2 %	21	58,3	15	41,7	-	-
	Неохлор tabs 0,03 %	11	30,6	16	44,4	9	25,0
	Неохлор tabs 0,1 %	23	63,9	13	36,1	-	-
	Солиокс 1,75 %	25	69,4	11	30,6		
	Анолит 0,02 %	24	66,7	12	33,3		
Смывы спецодежды (n=13) со	Дезактин 0,1 %	5	38,5	6	46,2	2	15,4
	Дезактин 0,2 %	8	61,5	5	38,5	-	-
	Неохлор tabs 0,03 %	3	23,1	7	53,8	3	23,1

	Неохлор tabs 0,1 %	7	53,8	6	46,2	-	-
	Солиокс 1,75 %	9	69,2	4	30,8		
	Анолит 0,02 %	8	61,5	5	38,5		
Смывы с медицинского оборудования (n=6)	Дезактин 0,1 %	3	50,0	3	50,0	-	-
	Дезактин 0,2 %	4	66,7	2	33,3	-	-
	Неохлор tabs 0,03 %	1	16,7	3	50,0	2	33,3
	Неохлор tabs 0,1 %	3	50,0	3	50,0	-	-
	Солиокс 1,75 %	4	66,7	2	33,3	-	-
	Анолит 0,02 %	4	66,7	2	33,3	-	-

Проведенные исследования показали, что ДС Дезактин оказывал бактерицидное действие в концентрации 0,1 % на 42,9 % штаммов *S. aureus*, выделенных из воздуха манипуляционных; на 36,1% штаммов *S. aureus*, выделенных из смывов с рабочих поверхностей; на 38,5% штаммов *S. aureus*, выделенных из смывов со спецодежды медицинского персонала; на 50,0 % штаммов *S. aureus* из смывов с медицинского оборудования. Слабо-чувствительными к действию Дезактина в концентрации 0,1 % оказались 57,1 % *S. aureus*, выделенные из воздуха манипуляционных, 52,8 % *S. aureus*, выделенных из смывов с рабочих поверхностей, 46,2 % штаммов *S. aureus*, выделенных из смывов со спецодежды и 50,0 % штаммов *S. aureus* из смывов с медицинского оборудования. Устойчивыми к действию 0,1 % Дезактина были только 15,4 % *S. aureus*, выделенные из смывов со спецодежды, резистентных штаммов из других обследованных экотопов не выявили.

Раствор Дезактина в концентрации 0,2 % имел наибольшую бактерицидную активность на 71,4 % стафилококков, изолированных из воздуха манипуляционных, на 58,3 % *S. aureus* из смывов с рабочих поверхностей, на 61,5 % *S. aureus*, выделенных из смывов со спецодежды и на 66,7 % *S. aureus* из смывов с медицинского оборудования. Слабо - чувствительными к действию 0,2 % раствора Дезактина были 28,6 % культур *S. aureus*, выделенных из воздуха манипуляционных, 41,7 % стафилококков из смывов с рабочих поверхностей, 38,5 % штаммов из смывов со спецодежды и 33,3 % *S. aureus* из смывов с медицинского оборудования. Резистентных культур к действию 0,2% раствора Дезактина выявлено не было.

При определении дезинфекционной резистентности золотистых стафилококков к 0,03 % раствору Неохлор tabs определено, что чувствительностью к нему обладали 28,6 % культур *S. aureus* из воздуха манипуляционных, 30,6 % - из смывов с поверхностей, 23,1 % - из смывов со спецодежды и 16,7 % из смывов с медицинского оборудования. Слабо чувствительными были 42,9 % штаммов *S. aureus* выделенных из воздуха манипуляционных, 44,4 % культур *S. aureus* из смывов с поверхностей, 23,1 % *S. aureus* выделенных из смывов со спецодежды. Резистентность проявляли к 0,03 % раствору Неохлор tabs 28,6 % штаммов *S. aureus* из воздуха манипуляционных, 25,0 % *S. aureus* из смывов с рабочих поверхностей, 23,1 %

культур *S. aureus*, выделенных из смывов со спецодежды медицинских работников и 33,3 % - из смывов с медицинского оборудования.

Бактерицидная активность 0,1 % раствора Неохлор tabs была высокой для 57,1 % культур *S. aureus*, изолированных из воздуха манипуляционных, 63,9 % *S. aureus* из смывов с поверхностей, 53,8 % *S. aureus*, выделенных из смывов со спецодежды и 50,0 % *S. aureus* - из смывов с медицинского оборудования. Слабо чувствительными культурами к 0,1% раствору Неохлор tabs было 42,9 % *S. aureus*, изолированных из воздуха манипуляционных, 36,1 % *S. aureus* из смывов с поверхностей, 46,2 % *S. aureus* из смывов со спецодежды и 50,0 % *S. aureus* из смывов с медицинского оборудования. Резистентных культур к раствору Неохлор tabs 0,1 % не было.

При изучении бактерицидной активности дезинфектанта Солиокс (1,75 % раствора) чувствительными оказались культуры *S. aureus*, изолированные из воздуха манипуляционных – 57,1 %, 69,4 % – из смывов с рабочих поверхностей, 69,2 % – из смывов со спецодежды и 66,7% – из смывов с медицинского оборудования. Слабо чувствительными к действию раствора Солиокс 1,75 % были 42,9 % изолятов *S. aureus* из воздуха манипуляционных, 30,6 % – из смывов с поверхностей, 30,8 % – из смывов со спецодежды и 33,3 % из смывов с медицинского оборудования. Резистентных штаммов к 1,75 % Солиоксу также, как и к 0,2 % раствору Дезактина и 0,1 % раствору Неохлора tabs выявлено не было.

По результатам исследования дезрезистентности штаммов *S. aureus* к 0,02 % раствору Анолита высокую чувствительность имели стафилококки из воздуха манипуляционных кабинетов (они составили 71,4 %) На долю чувствительных штаммов, выделенных из смывов с поверхностей, со спецодежды и со смывов с медицинского оборудования приходится по 66,7 % соответственно. Резистентности к 0,02 % раствору Анолита исследуемые госпитальные штаммы золотистого стафилококка не проявляли.

Наибольшая чувствительность у исследуемых штаммов *S. aureus* была к действию 0,2 % Дезактина, 0,02 % раствора Анолита и 1,75 % раствора Солиокса (рис.1).

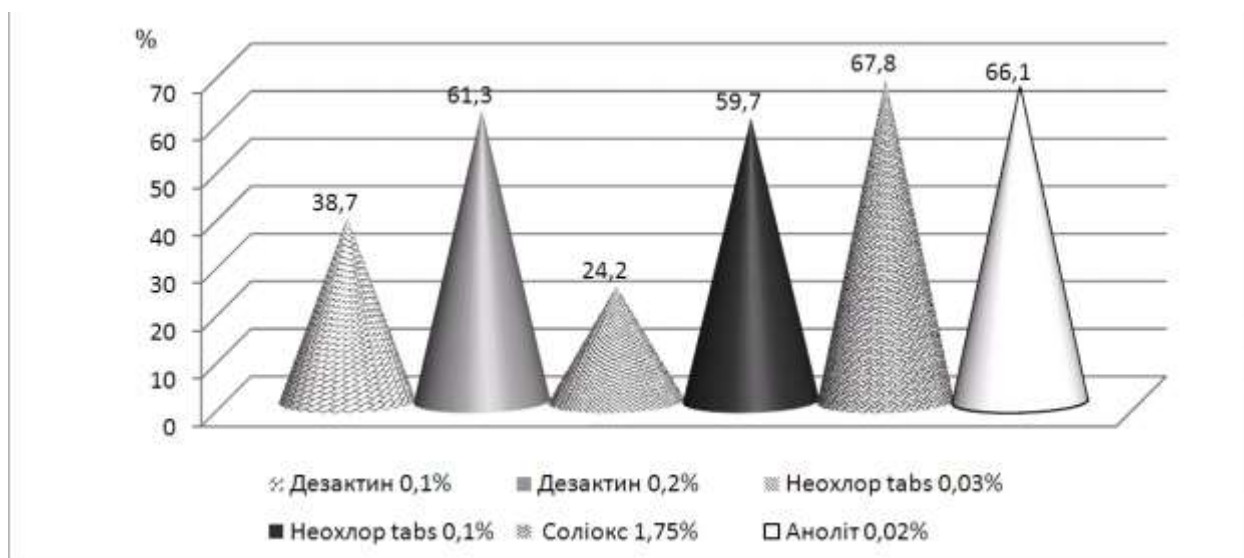


Рисунок 1. Сравнительная характеристика чувствительности *S. aureus* к дезинфектантам.

Установлено, что среди исследуемых госпитальных штаммов золотистых стафилококков 66,7% являются чувствительными к 0,02% раствору Анолита, 65,6% - к 0,2% раствору Дезактина и 66,2% - к 1,75% раствору Солиокса. Таким образом, можно говорить о том, что эти ДС обладают наибольшей дезинфекционной активностью по отношению к золотистым стафилококкам.

Выводы.

При изучении чувствительности штаммов *S. aureus*, выделенных из эпидемически значимых объектов внутренней среды лечебных учреждений, к действию современных дезинфектантов установлено, что наибольшей активностью обладали хлорсодержащие средства (0,02 % раствор Анолита и 0,2 % раствор Дезактина), а также средство на основе надуксусной кислоты (1,75 % раствор Солиокса), бактерицидное действие которых на исследуемые штаммы наблюдалось при экспозиции 5 минут. Резистентность стафилококков, выделенных из всех эпидемически значимых объектов стационаров, наблюдалась к 0,03 % раствору Неохлор tabs.

Данные исследования имеют важное практическое значение для своевременной ротации дезинфекционного препарата, обеспечивая эффективную профилактику внутрибольничных инфекций.

Список литературы

1. Визначення чутливості/стійкості мікроорганізмів до дезінфікуючих засобів. Методичні рекомендації. – К., Знання України, 2008. – 12 С.
2. Возрастающая угроза развития антимикробной резистентности. Возможные меры : Всемирная организация здравоохранения, 2013. – 130 с. ISBN 978 92 4 450318 8

3. Коробкова, І. В. та ін. Видова диференціація та епідеміологічне маркування штамів *Staphylococcus aureus* у лікувальних закладах Південної залізниці // Санітарно-епідемічний нагляд. – 2011. -№3. – С. 85-88.
4. Морозова, Н. С., Марієвський, Е. Ф. Основи дезінфектології. // Харків, 2009. -144 с.
5. Подсвірова, І. А. Мікробіологічний моніторинг патогенів гнійно-воспалительних захворювань в хірургічних відділеннях і відділенні реанімації і інтенсивної терапії в багатопрофільному стаціонарі // Автореф. дисс. кандидата мед. наук – М.: 2014.- 24с.
6. Покровський, В. І. Проблеми внутрібольничних інфекцій // Ж. епідеміологія і інфекційні захворювання. - 1996. - № 2. - С. 4-9.
7. Прискока, В. А. та ін. Про особливості аерозольної дезінфекції приміщень та поновлення популяції мікроорганізмів після неї // Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин та Держ. н.-д. контрол. ін-ту ветпрепаратів та корм. добавок. - 2010. - Вип. 11, N 2/3. - С. 278-282. - Бібліогр.: 3 назв. - укр.
8. Пунченко, О. Е. и др. Исследование микробиоты воздуха в многопрофильном стационаре Санкт-Петербурга // Гигиена и санитария : двухмесячный научно-практический журнал. - 2014. - Том 93, N 5. - С. 33-36.
9. Сурмашева, О. В. та ін. Актуальні питання оцінки специфічної активності дезінфікуючих засобів // Гігієна населених місць : зб. наук. пр. – К., 2008. – Вип. 51. – С. 191-199.
10. Шкодин, С. В. и др. Некоторые аспекты нозокомиальной инфекции. // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация – 2013. №4 (147). – С. 45-48.

Spisok literatury

1. Vznachennya chutlivosti/stijkosti mikroorganizmiv do dezinfikuyuchix zasobiv. Metodichni rekomendacii. – К., Znannya Ukraïni, 2008. – 12 S.
2. Vozrastayushhaya ugroza razvitiya antimikrobnoj rezistentnosti. Vozmozhnye mery : Vsemirnaya organizaciya zdravooxraneniya, 2013. – 130 s. ISBN 978 92 4 450318 8
3. Korobkova, I. V. ta in. Vidova diferenciaciya ta epidemiologichne markuvannya shtamiv *Staphylococcus aureus* u likuval'nix zakladax Pivdennoï zaliznici // Sanitarno-epidemichnij naglyad. – 2011. -№3. – S. 85-88.
4. Morozova, N. S., Marievskij, E. F. Osnovy dezinfektologii. // Har'kov, 2009. -144 s.
5. Podsvirova, I. A. Mikrobiologicheskij monitoring patogenov gnojno-vospalitel'nyx zabojevanij v xirurgicheskix otdeleniyax i otdelenii reanimacii i intensivnoj terapii v mnogoprofil'nom stacionare // Avtoref. diss. kandidata med. nauk – М.: 2014.- 24s.

6. Pokrovskij, V. I. Problemy vnutribol'nichnyx infekcij // Zh. e'pidemiologiya i infektionnye bolezni. - 1996. - № 2. - S. 4-9.
7. Priskoka, V. A. ta in. Pro osoblivosti aerazol'noï dezinfekcii primishhen' ta ponovlennya populyacii mikroorganizmiv pislya neï // Nauk.-texn. byul. In-tu biologii tvarin ta Derzh. n.-d. kontrol. in-tu vetpreparativ ta korm. dobavok. - 2010. - Vip. 11, N 2/3. - S. 278-282. - Bibliogr.: 3 nazv. - ukr.
8. Punchenko, O. E. i dr. Issledovanie mikrobioty vozduxa v mnogoprofil'nom stacionare Sankt-Peterburga // Gigiena i sanitariya : dvuxmesyachnyj nauchno-prakticheskij zhurnal. - 2014. - Tom 93, N 5. - S. 33-36.
9. Surmasheva, O. V. ta in. Aktual'ni pitannya ocinki specifichnoï aktivnosti dezinfikuyuchix zasobiv // Gigiena naselenix misc' : zb. nauk. pr. – K., 2008. – Vip. 51. – S. 191-199.
10. Shkodin, S. V. i dr. Nekotorye aspekty nozokomial'noj infekcii. // Nauchnye vedomosti BelGU. Seriya: Medicina. Farmaciya – 2013. №4 (147). – S. 45-48.