

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СОВРЕМЕННЫХ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ В ОТНОШЕНИИ МИКРОБИОТЫ КОНСЕРВНОГО ПРОИЗВОДСТВА

The antimicrobial effect of modern disinfectants was studied on the growth of Gram positive strain *St. aureus*, Gram negative strain *E. coli* and sporeforming strain *Bacillus sp.* All disinfectants were found to be effective against non-sporeforming microorganisms with Gram positive strain being more sensitive than Gram negative strain. Traditional lime chloride was more effective against *Bacillus* spores than modern disinfectants.

Соблюдение санитарно-гигиенического режима на пищевых предприятиях является необходимым условием производства микробиологически стабильной и безопасной продукции. Поэтому важнейшей стадией любого пищевого производства является дезинфекция.

Дезинфекция – это процесс, проводимый на пищевых предприятиях с целью профилактики инфицирования и обеспечения выпуска качественных продуктов питания, безопасных для населения в эпидемическом отношении.

Дезинфектанты (дезинфекционные средства, дезсредства) – химические вещества микробицидного действия, используемые с целью дезинфекции.

В настоящее время к применяемым в пищевой промышленности дезинфицирующим средствам предъявляется ряд довольно жестких требований:

- высокая активность в отношении патогенных, потенциально патогенных, санитарно-показательных микроорганизмов, а также микроорганизмов – показателей микробиологической стабильности продукции;
- наличие микробицидного эффекта в низких концентрациях и в короткие сроки;
- медленное формирование (по возможности отсутствие) резистентных штаммов микроорганизмов;
- безопасность для потребителя (персонала предприятий пищевой и перерабатывающей промышленности);
 - экологическая безопасность;
 - стабильность при хранении и транспортировке;
 - низкая агрессивность в отношении конструкционных материалов, предназначенных для производства технологического оборудования, коммуникаций, инвентаря и тары пищевой и перерабатывающей промышленности;
 - отсутствие резкого и неприятного запаха;
 - полное удаление с обработанных объектов после завершения дезинфекционной экспозиции;
 - оптимальное соотношение «эффективность – расходная норма – цена 1 л рабочего раствора» [1].

Среди множества существующих на сегодняшний день химических дезинфектантов выделяют следующие основные классы:

- спирты и фенолы;
- альдегиды;
- кислоты и их производные;
- группа галогенов и галогенсодержащих соединений хлора, йода и брома;
- окислители (перекись водорода и калия перманганат);
- производные хинолина и хиноксалина;
- поверхностно-активные вещества (четвертичные аммониевые соединения (ЧАС) и их аналоги, производные гуанидина, соли аминов, йодофоры, мыла);
- соли металлов (ртути, серебра, меди, цинка, висмута, свинца);
- препараты растительного и животного происхождения;
- красители.

Традиционно в пищевой промышленности используются хлорсодержащие дезинфектанты, в частности хлорная известь. В течение десятков лет Санитарные правила для предприятий, вырабатывающих плодоовощные консервы, сушеные фрукты, овощи и картофель, квашеную капусту и соленые овощи, СП 962-72 [2] устанавливали применение этих средств практически на всех стадиях производства.

Хлорсодержащие дезинфектанты дешевы, высокоактивны в отношении многих видов микроорганизмов. В то же время они не удовлетворяют большинству из перечисленных выше требований: обладают резким запахом, коррозионной активностью, плохо растворимы в воде, что вызывает трудности при подготовке рабочих растворов, нестабильны при хранении, раздражают кожу и слизистые оболочки. Кроме того, хлорактивные дезинфекционные средства представляют определенную экологическую опасность – образуют при взаимодействии с органическим материалом тригалометаны, проявляющие мутагенную активность. Поступление значительных количеств тригалометанов в окружающую среду может способствовать нарушению экологического равновесия в зоне

обитания человека и отрицательно повлиять на здоровье населения [3]. Учитывая последнее, хлорная известь отсутствует в ассортименте дезинфекционных средств промышленно развитых стран. Поэтому интерес представляет поиск новых дезинфицирующих средств для применения в консервной промышленности.

Длительное время в практике дезинфекции используется перекись водорода (ПВ) и препараты на ее основе. ПВ обладает высокими бактерицидными, фунгицидными и спороцидными свойствами, хорошо растворяется в воде. Растворы перекиси водорода не имеют запаха, инертны к изделиям из пластмассы и резины, разлагаются в окружающей среде на нетоксичные продукты – молекулярный кислород и воду, не вызывают аллергии [4].

Около ста лет известна как прекрасный биоцидный агент надуксусная кислота (НУК). Однако широкое распространение препараты на ее основе получили лишь в 70-х годах прошлого столетия благодаря внедрению современной безопасной технологии их получения и более глубокому изучению потребительских свойств. Эти современные дезинфектанты представляют собой оптимизированный четырехкомпонентный стабилизированный продукт уксусной кислоты, воды, перекиси водорода и надуксусной кислоты. В отработанных растворах составляющие компоненты разлагаются на воду, кислород и уксусную кислоту, следы которой легко смываются с поверхности оборудования [5]. Препараты на основе НУК обладают очень высоким бактерицидным, спороцидным и фунгицидным действием по отношению к широкому спектру

микроорганизмов и относятся к ограниченному кругу дезинфицирующих препаратов, способных одновременно воздействовать на аэробные и анаэробные микроорганизмы.

В последние годы большой интерес представляет новый класс дезинфектантов – дезсредства на основе полигуанидина, эффективные против большинства патогенных микроорганизмов, вызывающих гнойные, респираторные, кишечные и другие заболевания, и обладающие пролонгированным антисептическим эффектом [6].

В связи с вышесказанным в качестве объектов исследований в данной работе были выбраны следующие дезинфектанты отечественного и российского производства: средство на основе перекиси водорода Абсолют-окси (концентрация рабочего раствора $W_p = 1\%$), дезсредство на основе полигексаметиленгуанидина гидрохлорида Инкрасепт-10А ($W_p = 1\%$), дезинфектант на основе надуксусной кислоты ($W_p = 0,1\%$ по НУК) и раствор хлорной извести ($W_p = 150\text{--}200$ мг/л активного хлора). Рабочие растворы дезинфектантов готовились по прописям путем разведения концентратов в стерильной водопроводной воде.

В табл. 1 приведена характеристика некоторых потребительских свойств исследуемых дезсредств.

В качестве тест-микроорганизмов были выбраны штаммы санитарно-показательных микроорганизмов *E. coli* ATCC 11229 и *St. aureus* ATCC 6538, а также представитель остаточной микробиоты консервов – штамм *Bacillus sp.*, выделенный из плодового пюре для детского питания.

Таблица 1
Сравнительная характеристика потребительских свойств исследуемых дезсредств

Показатель	Абсолют-окси	Инкрасепт-10А	НУК	Хлорная известь
Внешний вид	Порошок белого цвета	Жидкость голубого цвета без запаха	Жидкость с выраженным резким запахом	Порошок с резким запахом хлора белого цвета
Растворимость в воде	Хорошая	Неограниченная	Неограниченная	Плохая
Характеристика рабочего раствора	Прозрачный, бесцветный, не имеет резкого запаха	Прозрачный, бесцветный, не имеет запаха	Прозрачный, бесцветный, с выраженным запахом	Прозрачный, бесцветный, с резким запахом
Низкая токсичность	+	+	+	–
Срок хранения рабочих растворов	5 суток	14 суток	5 суток	Не хранится
Коррозионная активность	Несовместим с латуной, цинком, медью, никелем, серебром	Неагрессивен ко всем видам материалов	Неагрессивен ко многим материалам	Коррозионно активен
Возможность многократного использования	+	+	+	–

Исследования бактерицидной эффективности дезинфектантов проводились диффузионным, суспензионным и поверхностным методами.

Диффузионным методом определялось наличие бактерицидного эффекта дезсредств в отношении тест-микроорганизмов. На поверхности питательного агара, засеянной тест-микроорганизмом, асептически высверливались лунки одинакового размера, в которые вносилось 0,05 мл дезсредства. Об эффективности дезинфектанта судили по диаметру зоны ингибирования роста микроорганизмов.

При исследовании противомикробной активности дезсредств суспензионным методом по 1 мл суспензии суточной культуры микроорганизмов в физрастворе (концентрацией порядка 10^7 – 10^8 кл./мл) вносили в пробирки с 9 мл исследуемых дезсредств различной температуры. Через определенные промежутки времени 0,2 мл суспензии из дезраствора переносилось в пробирку, содержащую 1,8 мл нейтрализатора, и выдерживалось в течение 10 мин, после чего по 0,5 мл суспензии высевалось в 5 мл питательного бульона. Для количественных исследований динамики гибели микроорганизмов производился посев 1 мл суспензии на питательный агар. В контрольном опыте вместо дезсредства использовалась стерильная водопроводная вода.

Для исследования предположительного антимикробного действия дезсредств в производственных условиях в качестве экспериментальной имитации поверхности оборудования использовались три пластины размером 10×15 см, изготовленные из нержавеющей стали. Пластины обрабатывались спиртом, фламбировались и помещались в стерильные емкости, закрывающиеся крышкой для предотвращения попадания посторонней микрофлоры. Суспензии микроорганизмов в физиологическом растворе или яблочном пюре рав-

номерно распределяли по поверхности пластин и подсушивали на воздухе около получаса. Тестируемые пластины заливали 100 мл дезинфицирующего средства комнатной температуры, контрольную – стерильной водопроводной водой. По истечении 30 мин жидкость из всех емкостей сливали и пластины в течение 10 мин промывали стерильной водопроводной водой в количестве 200 мл. По окончании обработки производили смывы с пластин с последующим высевом на плотные дифференциальные среды для подсчета выживших микроорганизмов.

Результаты исследований диффузионным методом продемонстрировали наличие антимикробного действия всех исследуемых дезсредств в отношении тест-культур, что выразилось в наличии зон ингибирования роста микроорганизмов. При этом в случае со споровыми микроорганизмами рода *Bacillus* зоны ингибирования были значительно меньших диаметров, чем в случае с неспоровой микробиотой, что свидетельствует о большей устойчивости к дезинфектантам спорообразующих бактерий.

Исследования показали наибольшую эффективность дезсредств в отношении грамположительных микроорганизмов *St. aureus* по сравнению с действием на грамотрицательные *E. coli*. Диаметр зоны ингибирования роста микроорганизмов в первом случае значительно превышал таковой во втором.

Результаты суспензионного теста показали, что гибель неспоровой микробиоты наступала уже в первые минуты действия исследуемых дезсредств, что выражалось в отсутствии роста микроорганизмов в посевах на питательном бульоне (табл. 2). Однако наличие роста микроорганизмов в тестах с *Bacillus sp.* обусловило необходимость проведения количественных исследований с целью выявления динамики гибели микроорганизмов под воздействием дезинфектантов.

Таблица 2

Эффективность дезсредств в отношении тест-микроорганизмов

Тест-микроорганизм	Инкрасепт-10А			Абсолютцид-окси			НУК			Хлорная известь			Вода		
	Время выдержки, мин														
	5	10	20	5	10	20	5	10	20	5	10	20	5	10	20
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>St. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Bacillus sp.</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+

Примечание. «+» – наличие роста в посевах, «-» – отсутствие роста в посевах.

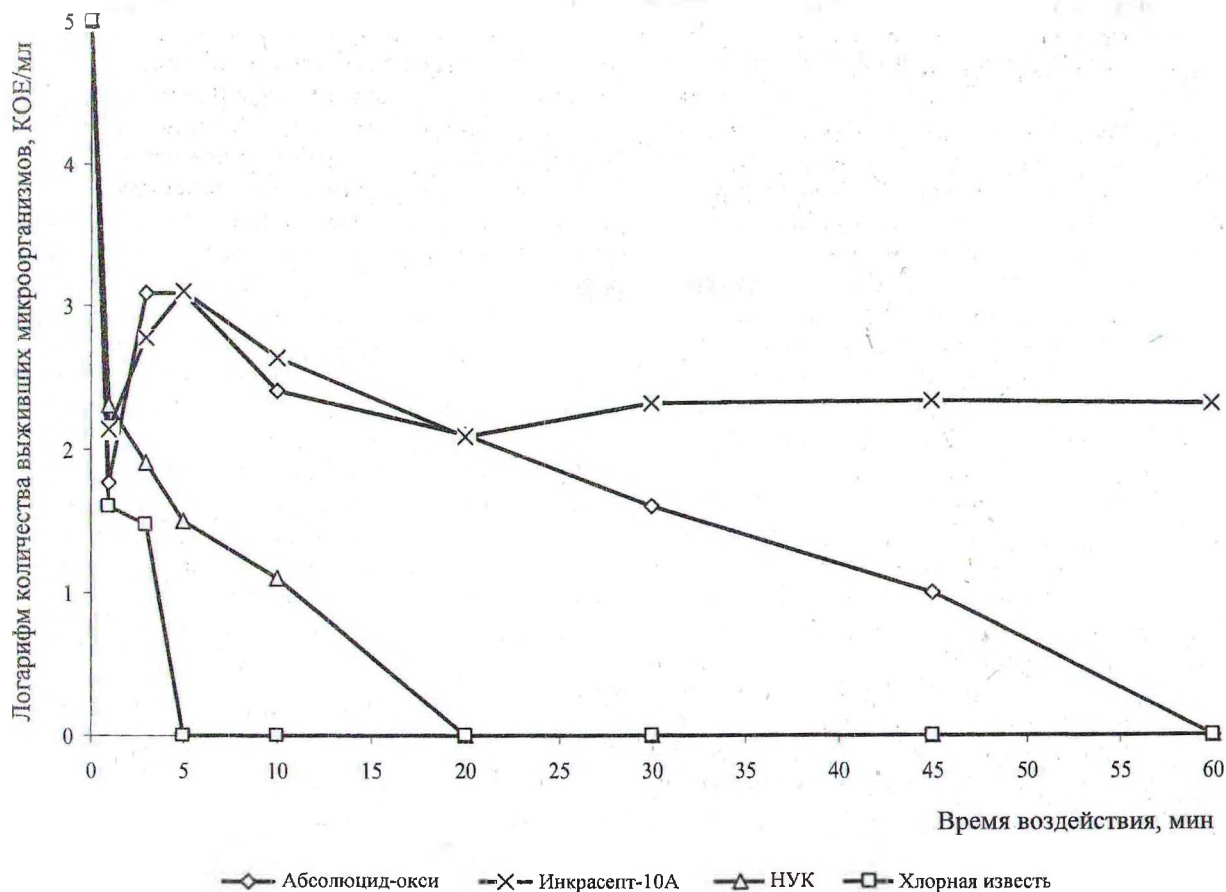


Рисунок. Динамика гибели спорообразующих микроорганизмов под действием дезинфицирующих средств (суспензионный тест)

На рисунке представлена динамика гибели споровых микроорганизмов рода *Bacillus* в процессе обработки суспензии дезрастворами. Как видно из изображенных на рисунке кривых гибели микроорганизмов, наибольший эффект все дезинфицирующие средства оказывали в первые минуты воздействия, дальнейшая гибель микроорганизмов происходила более медленно. Такая картина помимо других факторов была обусловлена наличием в исследуемой суспензии как вегетативных клеток, так и спор микроорганизмов — в первую очередь погибали вегетативные клетки, затем, более медленно, происходило отмирание спор.

Неуклонное снижение количества выживших микроорганизмов наблюдалось при действии раствора хлорной извести и дезинфектантов на основе надуксусной кислоты и перекиси водорода. При этом наибольший спороцидный эффект в исследованиях отмечался у раствора хлорной извести, несколько менее сильный — у средства на основе надуксусной кислоты. Гибель всех микроорганизмов наблюдалась уже через 5 и 20 мин соответственно.

Еще меньший спороцидный эффект в проведенных исследованиях проявило средство Абсолюцид-окси: лишь через 60 мин воздейст-

вия дезинфектанта микроорганизмы в посевах не обнаруживались.

Что касается дезсредства Инкрасепт-10А (на основе полигексаметиленгуанидина гидрохлорида), то в проведенных исследованиях наблюдалось снижение количества выживших микроорганизмов в первые полчаса воздействия, однако в дальнейшем видимых изменений не происходило. В связи с тем, что тест-культура содержала микроорганизмы и в споровой, и в вегетативной форме, нельзя сделать однозначное заключение о спороцидном действии данного дезинфектанта.

Исследования возможного микробоцидного эффекта дезинфицирующих средств в условиях, имитирующих производственные, проводились поверхностным методом. При этом интерес представляло изучение противомикробного эффекта в отношении микроорганизмов, суспендированных не только в физиологическом растворе, но и в продукте, так как с одной стороны, продукт может оказывать защитное действие на микроорганизмы, с другой — создавать условия, усиливающие эффективность дезсредства (например, обеспечивая низкий рН среды).

Действие дезинфицирующих средств на *Bacillus sp.* (поверхностный тест)

Основа суспензии	Исходная концентрация, КОЕ/мл	Количество микроорганизмов в смывах с обработанных пластин, КОЕ/см ²				
		Инкрасепт-10А	Абсолютид-окси	НУК	Хлорная известь	Контроль
Физраствор	$2,4 \cdot 10^8$	$3,1 \cdot 10^1$	$1,7 \cdot 10^1$	0	0	$4,2 \cdot 10^1$
Пюре	$9,3 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^2$	$1,2 \cdot 10^2$	$0,07 \cdot 10^0$	0	$5,0 \cdot 10^2$

В проведенных исследованиях все дезинфицирующие средства проявили выраженный бактерицидный эффект в отношении *E. coli* и *St. aureus*, вызвав полное уничтожение микроорганизмов, суспендированных как в физрастворе, так и в пюре. Результаты обработки пластин, контаминированных споровыми микроорганизмами, представлены в табл. 3.

Как видно из приведенных данных, в результате дезинфекции пластин во всех случаях наблюдалось снижение количества микроорганизмов по сравнению с исходным. Но уверенно говорить о проявленном спороцидном эффекте можно лишь в случаях с растворами хлорной извести и надуксусной кислоты. Что касается роли продукта, то его воздействие можно оценивать как мешающее дезинфекции.

Таким образом, все исследованные дезсредства обладали выраженным бактерицидным действием на *St. aureus* и *E. coli*, при этом *St. aureus* показал наименьшую устойчивость к дезинфектантам. В отношении споровых микроорганизмов рода *Bacillus* наиболее выраженным бактерицидным действием из исследованных дезинфицирующих средств обладают хлорная известь и надуксусная кислота. Спороцидный эффект средства на основе полигексаметиленгуанидина гидрохлорида в условиях эксперимента явно выражен не был. Действие дезсредств на микроорганизмы, суспендированные в плодовом пюре, проявлялось слабее, нежели на суспензию в физиологическом растворе.

Литература

1. Гудзь О. В. Порядок применения дезинфекционных средств в пищевой и перерабатывающей промышленности // Провизор. – 2001. – № 10. – http://www.provisor.com.ua/archive/2001/N10/art_39.htm.
2. СП 962-72. Санитарные правила для предприятий, вырабатывающих плодоовощные консервы, сушеные фрукты, овощи и картофель, квашеную капусту и соленые овощи.
3. Гудзь О. В. Современные подходы к применению хлорактивных дезинфекционных средств в учреждениях здравоохранения // Провизор. – 2001. – № 11. – http://www.provisor.com.ua/archive/2001/N11/art_37.htm.
4. Канищев В. В., Буянов В. В., Литусов Н. В. и др. Спороцидная активность дезинфицирующих средств на основе пероксида водорода // Вестник российской академии медицинских наук. – 2004. – № 1. – С. 23–30.
5. Куликовский А. В. Структурные и функциональные основы механизма действия дезинфицирующих средств на бактерии и споры: Автореф. дис. ... д-ра вет. наук. 03.00.07 // М.: ВНИИ вет. санитарии, 1979. – 50 с.
6. Ефимов К. М., Гембицкий П. А., Снежко А. Г. Полигуанидины – класс малотоксичных дезсредств пролонгированного действия // Дезинфекционное дело. – 2000. – № 4. – <http://medi.ru/doc/6100406.htm>.