

Эффективность дезинфектантов на основе Глюкопротамин[®] против различных видов атипичной микобактерии.

B. Meyer, C. Kluin

Henkel-Ecolab GmbH & Co OHG, Düsseldorf

Дезинфектанты на основе Глюкопротамин[®] были протестированы на эффективность в отношении различных видов атипичной микобактерии суспензионным методом. Снижение количества всех протестированных микроорганизмов составило $>4 \log$ при концентрации Глюкопротамин[®] 2500 мг/л* и экспозиции 15 минут, за исключением устойчивой к глютаровому альдегиду *Mycobacterium chelonae*. Для достижения максимальной эффективности в отношении этой микобактерии необходима концентрация Глюкопротамин[®] 2500 мг/л в течение 60 минут или 5000 мг/л в течение 15 минут. Штамм, устойчивый к глютаровому альдегиду, проявляет устойчивость и к смеси разных альдегидов.

Введение

Несмотря на то, что за последние десятилетия уровень заболеваемости и смертности от туберкулеза значительно сократился в развитых странах, это заболевание продолжает вызывать беспокойство в научных кругах. В некоторых странах снижение уровня заболеваемости уже приостановилось. Из-за высоких показателей заболевания в развивающихся странах, микобактерии туберкулеза остаются самой частой причиной смерти по всему миру. Помимо этого, инфекции, вызванные атипичными микобактериями (*M. avium-intracellulare*, *M. xenopi* и др.), играют все возрастающую роль как оппортунистические инфекции у людей с пониженным иммунитетом. В связи с тем, что микобактерии находятся в окружающей среде, они могут вызвать заболевание у пациентов лечебных учреждений и передаются через воздух, инокуляцию или глотание.

Дезинфекция оборудования и поверхностей играет главную роль в предотвращении распространения микобактерий в больничной среде. Микобактерии считаются самыми стойкими бактериальными организмами за исключением спор. Стойкость микобактериям придает особая структура и низкая проницаемость клеточной стенки. При проведении тестов в моечных машинах для эндоскопов, не использовались штаммы *M. chelonae*, устойчивые к 2% глютаровому альдегиду, и штаммы, устойчивые к надуксусной кислоте. Перечисленные активные вещества используются для дезинфекции медицинского оборудования, например, гибких эндоскопов. Достоверно не известно, является ли такая устойчивость изначально свойственной некоторым штаммам *M. chelonae* или приобретенной.

В связи с возросшим интересом к атипичным микобактериям была разработана относительно новая производная амина – Глюкопротамин[®]. Это действующее вещество используется в дезинфектантах против различных штаммов микобакте-

* Концентрация активного вещества 1 мг/л (1 ppm) = 0,001 ‰ = 0,0001 ‰ = 10^{-6}
Таким образом, 2500 мг/л = 0,25%, 5000 мг/л = 0,5%.

рий. Целью исследования было оценить эффективность этого вещества в отношении микобактерий.

Материалы и методы

Глюкопротамин® – продукт реакции L-глутаминовой кислоты и коко(C_{12/14}) алкилпропилен-1,3-диамин. Он не летуч и был протестирован в растворе (Sekusept PLUS), содержащем, помимо 25% активного вещества, неионные моющие вещества, растворители, составной компонент, ингибиторы коррозии, краситель и отдушку. Штамм из Нидерландов, устойчивый к глютаровому альдегиду, был протестирован в отношении 2% щелочного глютарового альдегида (pH 8) и средства, содержащего 11,1% формальдегида, 3,75% глютарового альдегида, 12,0% глиоксаля и 2,7% диметилалкил (C₁₂₋₁₄) бензиламмоний хлорида (ЧАС). Этот продукт, помимо активных ингредиентов, также содержал неионные моющие вещества, ингибиторы коррозии, растворитель, краситель и отдушку.

Суспензионные тесты проводились с целью подтвердить микобактерицидную эффективность в соответствии с нормами Комиссии по дезинфектантам Немецкого общества гигиены и микробиологии. Количественные суспензионные тесты проводились на *Mycobacterium terrae* для определения эффективности средств для дезинфекции инструментов.

Тест-организмы

M. smegmatis CIP 7326 и *M. terrae* ATCC 15755 использовались в качестве эталонных штаммов из этой группы бактерий. Также тестировались следующие бактериальные культуры: *M. chelonae*, полученная от инфицированного голландского пациента (была предоставлена Национальным институтом здоровья общества, Билтовен, Нидерланды), *M. chelonae*, *M. avium*, *M. xenopi*, *M. fortuitum* и *M. kansasii*, предоставленные Немецким референс-центром по микобактериям, Борстель.

Подготовка тест-культур и суспензий

Тест-культура выращивается на питательном агаре (7H10, с глицерином и OADC обогащением) из маточной культуры при -80°C и культивируется при 37°C в течение 7-8 дней для быстрорастущих микобактерий (*M. smegmatis*, *M. chelonae* и *M. fortuitum*) и в течение 21 дня для медленно растущих микобактерий (*M. terrae*, *M. avium* и *M. kansasii*). Бактериальный рост поддерживается путем добавления в чашку Петри дистиллированной воды (0,5 мл) и перемешиванием стеклянным шпателем. Суспензия промывается в дистиллированной воде и трижды центрифугируется; затем гемогенизируется встряхиванием со стеклянными шариками и фильтруется через стекловолокно. В результате получается 10^{9,2}-10^{9,7} колониеобразующих единиц (CFU) на 1 мл.

Процедура теста

9,9 мл дезинфицирующего средства добавляются в 0,1 мл бактериальной суспензии, которая встряхивается перед и после добавления дезинфектанта. Через определенное время 1 мл пробы из полученной смеси добавляется в пробирки с 9 мл нейтрализующего вещества (1% твин 80, 3% сапонины, 0,1% гистидина и 0,5% тиосульфата натрия в м/15 фосфатном буфере (pH 7)). В течение 5 минут в про-

бирках получается раствор в отношении 1:10 с нейтрализующим веществом. 0,1 мл пробы из смеси и раствора добавляются в питательный агар (7H10, с глицерином и OADC обогащением). Питательные чашки упаковываются в полиэтиленовые пакеты для предотвращения высыхания и культивируются в течение недели для быстрорастущих микобактерий и трех недель для медленно растущих микобактерий. По окончании инкубационного периода подсчитываются колонии бактерий. Для каждого опыта готовится контрольный вариант с использованием дистиллированной воды вместо дезинфектанта. Показатель снижения количества микроорганизмов определяет эффективность дезинфицирующего средства и высчитывается по формуле $MR_{(t)} = \log cfus_{(ct)} - \log cfus_{(dt)}$, где:

$MR_{(t)}$ = показатель снижения количества микроорганизмов через время t .

$\log cfus_{(ct)}$ = количество колониеобразующих единиц на 1 мл до воздействия дезинфектанта через время t .

$\log cfus_{(dt)}$ = количество колониеобразующих единиц на 1 мл после воздействия дезинфектанта через время t .

Результаты

Дезинфицирующие средства на основе Глюкопротамина® продемонстрировали хорошую микобактерицидную эффективность против всех тестируемых штаммов (см. Таблицу 1).

Таблица 1.
Эффективность дезинфектантов на основе Глюкопротамина® против различных видов микобактерии, по итогам суспензионного теста.

Вид микобактерии	Концентрация Глюкопротамина, мг/л	Время (мин)		
		15	30	60
<i>M. chelonae (NL)</i>	2500	3,87	4,38	>4,38
<i>M. chelonae (NL)</i>	5000	>4,38	>4,38	>4,38
<i>M. chelonae (D)</i>	2500	>4,34	>4,34	>4,34
<i>M. smegmatis</i>	2500	>4,20	>4,20	>4,20
<i>M. avium</i>	2500	>4,05	>4,05	>4,05
<i>M. kansasii</i>	2500	>4,17	>4,17	>4,17
<i>M. terrae</i>	2500	>4,16	>4,16	>4,16
<i>M. xenopi</i>	3750	>4,42	>4,33	>4,26

Максимальное количество уничтоженных колоний было достигнуто в течение 15 минут для всех микобактерий, кроме *M. chelonae*, при 1% концентрации. Для *M. chelonae* потребовалась двойная концентрация для полного уничтожения микобактерий в течение 15 минут или 60 минут при концентрации 1%.

Таблица 2 демонстрирует эффективность дезинфектанта на основе Глюкопротамина® против устойчивой к глутаровому альдегиду *M. chelonae* из Нидерландов по сравнению с глутаровым альдегидом и другими средствами на основе альдегида. Глутаровый альдегид, смесь разных видов альдегидов и ЧАС не демонстрируют сколько-нибудь значительных показателей по нейтрализации колоний в течение 60 минут. В то время как продукт на основе Глюкопротамина® демонстрирует хорошие показатели за 15 минут и полностью нейтрализует бактериальную флору за 60 минут.

Таблица 2.

Эффективность трех разных дезинфектантов против устойчивой к глутаровому альдегиду *M. chelonae*, по результатам суспензионного теста.

Действующее вещество и концентрация	Время (мин)		
	15	30	60
Глутаровый альдегид 20000 мг/л (рН 8)	-	0,22	0,56
Формальдегид 2220 мг/л + глутаровый альдегид 750 мг/л + глиоксаль 2400 мг/л + ЧАС 540 мг/л	-	0,02	0,26
Глюкопротамин 2500 мг/л	3,87	4,38	4,38

Заключение

Средства на основе Глюкопротамина® в ходе испытаний продемонстрировали микобактерицидную эффективность в отношении всех видов микобактерий. В том числе в отношении *M. terrae*, которая обладает схожими резистентными свойствами с *M. tuberculosis*. *M. avium*, обладающая сильными резистентными свойствами к некоторым видам дезинфектантов, была полностью нейтрализована. Другие тестируемые дезинфектанты продемонстрировали хорошую эффективность в отношении *M. tuberculosis* и *M. avium-intracellulare*. Также были обнаружены штаммы *M. chelonae*, устойчивые к глутаровому альдегиду, которые также демонстрируют перекрестную устойчивость к надуксусной кислоте.

Результаты испытаний показывают, что штаммы, устойчивые к глутаровому альдегиду, не могут быть нейтрализованы смесью разных видов альдегидов. В этой ситуации использование дезинфицирующего средства на основе Глюкопротамина® предотвратит распространение микобактериального заболевания.

Источники

1. Schütt-Gerowitt H. On the development of mycobacterial infections. *Zbl Bakt* 1995; 283: 5-13.
2. Murray CJ. Tuberculosis in Developing countries: burden, intervention and cost. 1990; *Bull Int Union Tuberc Lung Dis* 65: 6-24.
3. Bloom BR, Murray CJ. Tuberculosis: commentary on a reemergent killer. *Science* 1992; 257: 1055-1064.
4. Brücker G, Astagneau L. Épidémie de spondylodiscites à *Mycobacterium xenopi*: mise au point et recommandations. *Hygienes* 1998; VI: 5.
5. Grange JM. The biology of the genus mycobacterium. *J Apple Microbiol* 1996; 81: 1S-9S.
6. Schulze-Röbbecke R. Mycobacterien in der Umwelt. *Immun Infekt* 1993; 21: 126S-131S.
7. Desinfektionsmittel-Kommision der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie, Quantitativer Suspensionversuch mit *Micobacterium terrae* für die Prüfung von Instrumentendesinfektionsmitteln (Stand: 30. April 1997), *Hyg Med* 1997; 22(6): 278S-283S.
8. Russel AD. Activity of biocides against mycobacteria. *J Apple Microbiol* 1996; 81: 87S-101S.
9. Jarlier V, Nikaido H. Mycobacterial cell wall: structure and role in natural resistance to Antibiotics. 1994; *FEMS Microbiol Lett* 123: 11-18.

10. Klinger BV., Pullen W. Glutaraldehyde resistant mycobacteri from endoscope washers. *J Hosp Infect* 1993; 25(2): 147-149.
11. Griffiths PA, Babb JR, Bradley CR and Fraise AP. Glutaraldehyde-resistant *Mycobacterium chelonae* from endoscope washer disinfectors. *J Appl Microbiol* 1997; 82: 519-526.
12. Steber J, Schröder FR. Glucoprotamin – an antimicrobial agent with favourable biodegradation properties. *Hyg Med* 1997; 22: 19-26.
13. Griffiths PA, Babb JR and Fraise AP. Mycobacterium terrae: A potential surrogate for *Mycobacterium tuberculosis* in a standard disinfectant test. *J Hosp Infect* 1998; 38: 183-192.
14. Holton J, Nye P and McDonald V. Efficacy of selected disinfectants against mycobacteria and cryptosporidia. *J Hosp Infect* 1994; 27: 105-115.