

## Характеристика устойчивости микроорганизмов к хлорсодержащим дезинфектантам и ее эпидемиологическая значимость

В.В. Шкарин<sup>1</sup>, Н.В. Саперкин<sup>1</sup> (saperkinnv@mail.ru),  
О.В. Ковалишена<sup>1</sup> (kovalishena@mail.ru), О.М. Сутырина<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ГОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

<sup>2</sup> ГУЗ «Нижегородская областная клиническая больница им. Н.А. Семашко»

### Резюме

Выявлена высокая доля устойчивых к хлорсодержащим дезинфектантам госпитальных штаммов (в среднем  $19,8 \pm 3,8\%$ ). Для коррекции дезинфекционного режима показаны необходимость мониторинга устойчивости микроорганизмов и обязательность проведения периодических скрининговых исследований чувствительности к дезсредствам возбудителей кишечных инфекций, а также изучения чувствительности всех культур при возникновении вспышек.

**Ключевые слова:** внутрибольничные и внебольничные штаммы возбудителей, хлорсодержащие дезинфектанты, дезинфекция

### Characteristic of Microorganisms' Resistance to Chlorine Contained Disinfectants and its Epidemiological Significance

V.V. Shkarin<sup>1</sup>, N.V. Saperkin<sup>1</sup> (saperkinnv@mail.ru),  
O.V. Kovalishena<sup>1</sup> (kovalishena@mail.ru), O.M. Sutirina<sup>2</sup>

<sup>1</sup> The State Educational Establishment Nizhny Novgorod The State Medical Academy

<sup>2</sup> The State Public Health Establishment «N.A. Semashko Regional Clinical Hospital of Nizhny Novgorod»

### Abstract

The high share of the resistant hospital strains to chlorine contained disinfectants was revealed (on average  $19.8 \pm 3.8\%$ ). There was a resistance to all the tested disinfectants (7.0 – 8.9%). The susceptible bacteria were heterogeneous by description of the disinfectant effect on them. The resistance to them is found to be one of the factors leading to the principal circulation of different pathogens and activating the epidemic process of infections both in hospitals and outside them.

**Key words:** hospital and non-hospital strains, chlorine contained disinfectants, disinfection

### Введение

Оценка устойчивости к дезинфицирующим средствам (ДС) возбудителей инфекции позволяет осуществлять мониторинг и предупреждать распространение устойчивых штаммов в учреждениях здравоохранения, а также во внебольничной среде [1, 2, 11].

Хлорсодержащие дезинфектанты в нашей стране применяются давно. С 60-х годов XX века предпринимались попытки изучения распространенности устойчивости к хлорсодержащим дезинфектантам и раскрытия биоцидных механизмов хлораминов. С тех пор накоплено немало сведений о их взаимодействии с бактериями. Объектами действия хлорсодержащих ДС являются различные органоиды и ферменты бактериальной клетки [4 – 6, 9, 10]. Однако механизмы формирования устойчивости к хлорсодержащим ДС изучены недостаточно. Есть указания на явление фенотипической неустойчивости и генетическую связь между устойчивостью к дезинфектантам и антибиотикорезистентностью [11 – 14].

Факт формирования устойчивости к дезинфектантам (в отличие от резистентности к антибио-

тикам) в настоящее время признается не всеми исследователями и часто отрицается [3, 5, 7, 12]. В то же время в литературе имеются данные, свидетельствующие о возможности приобретения микроорганизмами устойчивости и к некоторым дезинфицирующим средствам.

Так, по сообщениям одних авторов, частота обнаружения устойчивых к Хлорамину Б штаммов *S. aureus* находится в пределах 30 – 58% и наблюдается по отношению к четырем – восьми препаратам [4, 8]. По данным других исследователей, устойчивые варианты *P. aeruginosa* выявлялись в 30 – 67,6% случаев с аналогичным спектром устойчивости [3]. Распространенность устойчивости среди *E. coli* и *Salmonella spp.* также достигала высоких значений – 12,3 – 18 и до 50% соответственно [4, 8, 9, 11]. Устойчивые варианты бактерий встречаются преимущественно среди внутрибольничных штаммов [2, 7, 11]. Аналогичных данных по внебольничным штаммам практически нет.

В то же время в условиях расширения рынка хлорсодержащих ДС очевидна нехватка подробной информации о частоте выделения устойчивых к ним

штаммов и эпидемиологической значимости этого качества микроорганизмов. Удельный вес хлорсодержащих ДС, имеющих на российском рынке, в настоящий момент превышает 20% [11]. Он представлен отечественными и иностранными торговыми марками, относящимися к неорганическим и разнообразным органическим хлорсодержащим соединениям, обладающим широким спектром антимикробного действия. Хлорсодержащие средства остаются основными при очаговой и профилактической дезинфекции вне ЛПУ.

В связи с этим большой научно-практический интерес представляет дальнейшее изучение устойчивости штаммов к хлорсодержащим дезинфектантам, с учетом расширившегося спектра данных ДС, для обоснованного выбора средств дезинфекции.

**Цель работы** – изучение эпидемиологических и микробиологических аспектов устойчивости микроорганизмов (больничных и внебольничных экотипов) и оценка ее эпидемиологической значимости.

#### Материалы и методы

Проведены комплексные эпидемиологические и микробиологические исследования устойчивости микроорганизмов в условиях ЛПУ и внебольничных эпидемических очагов.

Исследования проводились по следующим основным направлениям:

- Оценка эпидемиологической ситуации в многопрофильном ЛПУ по результатам ретроспективного (за три года) оперативного эпидемиологического анализа и проспективного наблюдения. Клинической базой являлся многопрофильный стационар областного уровня (для взрослых). В пяти отделениях хирургического профиля (общая хирургия, травматологическое, колопроктологическое, урологическое, ЛОР) в 2007 – 2008 годах были организованы эпидемиологическое наблюдение и микробиологический мониторинг, формировалась компьютерная база данных с использованием программного обеспечения WHONET 5.4 и EpiInfo 2000.
- Изучение госпитальных штаммов *Staphylococcus spp.* (74 штамма), *Escherichia coli* (24 штамма), *Pseudomonas aeruginosa* (24 штамма), выделенных в ходе микробиологического мониторинга.

В рамках эпидемиологического надзора за шигеллезами и сальмонеллезами были изучены внебольничные штаммы, вызвавшие спорадические случаи и вспышку. Проведено исследование чувствительности к ДС основных возбудителей дизентерии – *Shigella sonnei* и *Shigella flexneri*, циркулирующих на территории Нижегородской области. Всего исследовано 215 культур *Shigella spp.* (151 – *S. sonnei* и 64 – *S. flexneri*), выделенных в результате организованного расширенного микробиологического мониторинга в 2004 – 2006 годах. Кроме того, изучена чувствительность 50 клини-

ческих штаммов *Salmonella enteritidis*, вызвавших в 2008 году пищевую вспышку внебольничного сальмонеллеза, связанную с употреблением кондитерских изделий производства одной из фирм.

Лабораторные исследования осуществлялись на базе Проблемной научной микробиологической лаборатории НИИ профилактической медицины Нижегородской государственной медицинской академии. Для выявления устойчивости штаммов к ДС применялись собственный «Способ определения чувствительности микроорганизмов к ДС (варианты)» (приоритетная справка № 2008123115, 2008 г.), а также «Методы испытаний дезинфекционных средств для оценки их безопасности и эффективности» (1998 г.).

На чувствительность к ДС испытано 387 культур микроорганизмов, изолированных из внешней среды и от пациентов. Выбор ДС осуществлялся на основе данных о тех средствах, которые применяются в указанном ЛПУ и планируются для использования при смене ДС, а также во внебольничных эпидемических очагах и при ликвидации вспышек. Выбор этих дезинфицирующих средств был обусловлен также следующими факторами: принадлежностью к разным классам хлорсодержащих средств (органические соединения разных химических групп), длительностью использования средства в практическом здравоохранении – Хлорамин Б как наиболее длительно используемое средство, Сульфохлорантин-Д и Жавель-Солид как относительно новые дезинфектанты.

Итак, были избраны вышеназванные коммерческие препараты хлорсодержащих ДС: Жавель-Солид, Сульфохлорантин-Д и Хлорамин Б.

Определение чувствительности культур осуществлялось при соблюдении режимов, предписанных инструкциями по применению данных ДС. Каждый опыт ставился не менее трех раз. Результаты оценивались по следующим параметрам: отсутствие роста – полная чувствительность; при росте до 100 колониеобразующих единиц на 1 мл (КОЕ/мл) – неполное бактерицидное действие; 100 – 300 КОЕ/мл – ДС оказывает суббактерицидное действие; более 300 КОЕ/мл – штамм устойчив в изучаемом режиме (что соответствовало эффективности действия ДС ниже 99,99%). Всего проведено 1982 исследования.

#### Результаты и обсуждение

По данным оценки эпидемиологической ситуации в хирургических отделениях многопрофильного ЛПУ, среднемноголетняя заболеваемость ВБИ находилась на уровне  $4,8 \pm 0,03\%$  (в диапазоне от 2,6 до 6,5 на 1000 пациентов). По результатам проспективного наблюдения, заболеваемость ВБИ в 2007 году была в два раза выше официального показателя ( $8,3 \pm 0,6$  vs  $2,6 \pm 0,04$  на 1000 прооперированных). Удельный вес заносов инфекции в структуре общей инфекционной заболеваемости пациентов отделений хирургического профиля

составил 56,2%. Заносы инфекции в стационар выявлялись на основании результатов микробиологического мониторинга и проспективного наблюдения. Пациенты были обследованы несколько раз, а именно: при поступлении в отделение, во время нахождения в нем, а также перед выпиской. Дифференцирование ВБИ и заносов инфекции осуществлялось с использованием следующих критериев заносов:

- клинические признаки инфекции, возникшей до поступления в стационар или в течение 48 часов после госпитализации;
- положительные результаты бактериологического обследования, проведенного своевременно;
- при отсутствии клинических признаков пациенты учитывались как носители;
- анамнез заболевания, данные истории болезни, говорящие о наличии инфекции при поступлении.

Удельный вес заносов инфекции (56,2%) установлен путем вычисления среднего арифметического значения удельного веса за указанный период времени.

Нозологическая структура внутрибольничных инфекций выглядела следующим образом (рис. 1).

Доля инфекций в области хирургического вмешательства (ИОХВ) была наибольшей (69,3%), с преобладанием ИОХВ поверхностного разреза (52,4%). Регистрировались следующие нозологические формы ИОХВ: нагноение послеоперационной раны, нагноение гематомы, флегмона, лигатурный свищ, лигатурный абсцесс, абсцесс органа, перикюльтиты. Второе место в структуре ВБИ занимали инфекции органов дыхания (ИОД) – 12,3%.

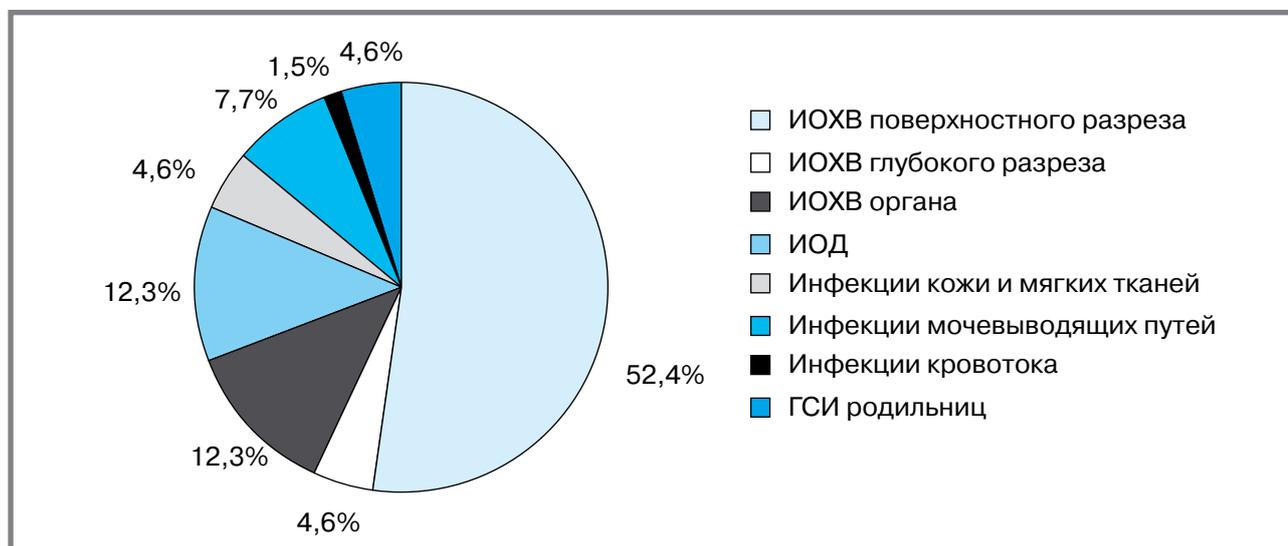
В этиологической структуре госпитальных инфекций наибольшим был удельный вес *E. coli* (35%). Кроме того, необходимо отметить, что второе по значимости место как этиологические агенты за-

нимали *Staphylococcus spp.* (28%), актуальна была также *P. aeruginosa* (10%).

Выявлена высокая представленность госпитальных штаммов, устойчивых к хлорсодержащим дезинфицирующим средствам, – в среднем  $19,8 \pm 3,8\%$ . Частота выделения устойчивых культур от пациентов существенно не отличалась от частоты выделения штаммов с объектов внешней среды стационара: 10,2 и 9,6 на 100 исследований соответственно,  $p > 0,05$ . Устойчивость госпитальных штаммов присутствовала по отношению ко всем изучаемым ДС: к Сульфохлорантину-Д были устойчивы  $4,0 \pm 1,8\%$ , к Хлорамину Б –  $4,8 \pm 1,9\%$ , а больше всего – к Жавель-Солиду –  $8,9 \pm 2,5\%$  тестируемых штаммов (различия достоверны по сравнению с другими дезинфектантами,  $p = 0,0466$ ) (табл. 1).

При оценке действия различных ДС установлено, что достоверно преобладали штаммы, полностью чувствительные к тестируемым дезсредствам ( $p < 0,05$ ). Сравнение действия Жавель-Солида с Сульфохлорантином-Д ( $p_{1-2}$ ) и с Хлорамином Б ( $p_{1-3}$ ) характеризовалось статистически значимыми различиями показателей. В то же время при сопоставлении доли штаммов, чувствительных к Сульфохлорантину-Д и Хлорамину Б, нами не выявлено достоверных различий. Доля полностью чувствительных госпитальных штаммов при воздействии Сульфохлорантина-Д наибольшая –  $76,8 \pm 3,8\%$  ( $p = 0,012$  по сравнению с аналогичными показателями для других средств). И все же отмечается значительный удельный вес штаммов, на которые ДС оказывают суббактерицидное – от 3,3 до 8,9%, а также неполное бактерицидное действие – от 15,2 до 20,3%. Эти данные свидетельствуют о потенциальной возможности формирования устойчивости к хлорсодержащим ДС, что необходимо учитывать, так как данный дезинфектант широко используется при проведении текущих и генеральных уборок в ЛПУ.

**Рисунок 1.**  
Нозологическая структура ВБИ, выявленных в многопрофильном стационаре в 2007 году (%)



**Таблица 1.**  
**Действие хлорсодержащих ДС на микроорганизмы ( $M \pm 2m$ )**

Дезсредство	Чувствительные		Неполное бактерицидное		Суббактерицидное действие		Всего чувствительных		Устойчивые	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Жавель-Солид <sup>1</sup>	76	61,8 ± 4,4	25	20,3 ± 3,6	11	8,9 ± 2,6	112	91,1 ± 2,6	11	8,9 ± 2,5
Сульфохлорантин-Д <sup>2</sup>	96	76,8 ± 3,8*	19	15,2 ± 3,2	5	4,0 ± 1,8	120	96,0 ± 1,8	5	4,0 ± 1,8*
Хлорамин Б <sup>3</sup>	91	73,9 ± 3,9*	22	17,9 ± 3,5	4	3,3 ± 1,6	117	95,1 ± 1,9	6	4,8 ± 1,9*

Примечание: \*  $p_{1-2} = 0,011$  и  $p_{1-3} = 0,0466$ ; \*  $p = 0,046$

Наблюдались видовые различия по чувствительности к ДС. Так, выявлено, что в целом доля устойчивых штаммов среди культур *E. coli* оказалась максимальной (36%). Это обстоятельство, возможно, и послужило одним из факторов преимущественной циркуляции данного микроорганизма, так как, по результатам эпидемиологического наблюдения, именно *E. coli* превалировала в структуре возбудителей ВБИ. Штаммы *Staphylococcus spp.* и *P. aeruginosa* проявляли устойчивость – 21,3 и 28,1% соответственно ( $p = 0,046$ ) – ко всем изучаемым дезсредствам, в том числе и к относительно новому дезинфектанту Жавель-Солиду. Чувствительными к нему были только штаммы *E. coli*.

При оценке чувствительности к дезинфектантам внегоспитальных штаммов микроорганизмов-возбудителей кишечных инфекций выявлена устойчивость к ДС у *Shigella spp.*, хотя и на невысоком уровне – 0,4%, и у штаммов *S. enteritidis* – 28%.

Среди *Shigella spp.* изолированы штаммы с неполной чувствительностью, с превалированием культур, на которые хлорсодержащие дезинфектанты оказывали неполное бактерицидное (8,3%) и суббактерицидное действие (1,3%). Необходимо отметить, что устойчивость выявлена только у *S. flexneri* – к Хлорамину Б (1,5% всех штаммов данного вида).

У обоих видов шигелл отсутствовала устойчивость к Жавель-Солиду и Сульфохлорантину-Д, который применяется для очаговой дезинфекции. Важно отметить, что среди *S. flexneri* больше было культур с неполным бактерицидным действием на них хлорсодержащих дезинфектантов, чем среди *S. sonnei*, – 13,5% vs 8,6% ( $p < 0,05$ ). Эти результаты, возможно, указывают на наличие у указанных микроорганизмов дополнительного адаптационного механизма к условиям внешней среды, способствующего возникновению вспышек шигеллезов и активизации эпидемического процесса данной инфекции.

В результате изучения чувствительности к хлорсодержащим ДС штаммов *S. enteritidis*, вызвавших пищевую вспышку внебольничного сальмонеллеза, установлено, что из 50 протестированных штаммов 14 изолятов были нечувствительны к действию данных дезсредств, что составляет 28%. Ко всем трем изученным дезинфектантам устойчивым оказался

один штамм (2%), но в целом перекрестную устойчивость к хлорсодержащим ДС проявляли шесть штаммов *S. enteritidis* (12%). Большинство изученных штаммов были полностью чувствительными к тестируемому ДС – 72%. Доля культур с неполной чувствительностью была значительной и составила 38% (19 штаммов), что в 1,8 раза больше по сравнению со штаммами шигелл. Среди данных штаммов *S. enteritidis* преобладали микроорганизмы, на которые хлорсодержащие дезсредства оказывали неполное бактерицидное действие, – 28% (14 штаммов). Суббактерицидный эффект дезинфектанта наблюдался при воздействии только на пять культур микроорганизмов (10%) растворами Жавель-Солида и Хлорамина Б.

Можно предположить, что высокая распространенность устойчивости к хлорсодержащим ДС в целом и наличие перекрестной устойчивости к ним послужили одной из предпосылок к возникновению вспышки сальмонеллеза.

В целом устойчивые к хлорсодержащим дезинфектантам микроорганизмы достоверно чаще обнаруживались среди госпитальных штаммов (22 штамма из 122 культур) – 18 на 100 исследований, по сравнению с внебольничными (15 штаммов из 265 культур) – 5,7 на 100 исследований,  $p < 0,05$ . Однако полученные результаты показывают актуальность проблемы устойчивости к хлорсодержащим ДС не только госпитальных, но и внебольничных экovarов. Это особенно важно в условиях доминирования хлорсодержащих дезинфектантов при очаговой и профилактической дезинфекции. Кроме того, широкое применение в настоящее время бытовых ДС, содержащих активный хлор, также может влиять на формирование устойчивости данных микроорганизмов.

Следует отметить, что в обеих группах тестируемых микроорганизмов максимальным был удельный вес бактерий, обладавших устойчивостью к производному изоциануровой кислоты Жавель-Солиду (8,9 и 4,5% штаммов соответственно). Напротив, наибольшая чувствительность отмечена нами к Сульфохлорантину-Д, средству с действующим веществом на основе дихлоранитина, – устойчивые к нему культуры встречались в 2,2 раза реже по сравнению с предыдущим дезсредством и выделялись только среди госпитальных штаммов

(4,1%). Кроме того, достаточно низкая устойчивость тестируемых культур отмечалась и к давно применяемому в нашей стране дезинфектанту Хлорамину Б из группы хлорированных амидов (4,8 и 1,5% соответственно).

### Выводы

1. Распространенность госпитальных штаммов, устойчивых к воздействию хлорсодержащих дезсредств, находилась на высоком уровне (от 4,0 до 8,9 на 100 исследований).
2. Эпидемиологическая значимость устойчивости к хлорсодержащим ДС выражается в обеспечении преимущественного распространения госпитальных штаммов определенного вида.
3. Для коррекции дезинфекционного режима показана необходимость мониторинга устойчивости микроорганизмов, циркулирующих в ЛПУ. Требуется совершенствование оценки эффективности дезсредств.
4. Среди циркулирующих в Нижегородской области штаммов *Shigella spp.* выявлено наличие устойчивости к ДС, распространенность которой тем не менее значительно ниже (0,4 на 100 исследований) по сравнению с госпитальными штаммами.
5. Обнаружен значительный удельный вес устойчивых к тестируемым хлорсодержащим дезинфектантам культур среди внебольничных вспышечных штаммов *S. enteritidis* (28%), что, вероятно, послужило одной из предпосылок возникновения пищевой вспышки.
6. Данные об устойчивости и неполной чувствительности *Shigella spp.* и *S. enteritidis* следует учитывать при проведении очаговой дезинфекции в эпидемических очагах вне ЛПУ, а также в ЛПУ при возникновении заносов инфекции. Обязательно проведение периодических скрининговых исследований чувствительности к ДС возбудителей кишечных инфекций, а также изучение чувствительности к ДС всех культур при возникновении вспышек. ■

### Литература

1. Алексеева И.Г. Современные способы определения чувствительности бактерий к дезинфицирующим средствам // Научно-техническое творчество молодежи – путь к обществу, основанному на знаниях: Сб. науч. докладов науч.-практ. конференции (Москва, 25 – 28 июня 2008 г.). – М.: МГСУ, 2008. С. 273.
2. Благодравова А.С., Алексеева И.Г. Сравнительная характеристика чувствительности тест-микроорганизмов и клинических изолятов к дезинфицирующим средствам // Нижегородский медицинский журнал. 2007. № 6. С. 29 – 33.
3. Гудкова Е.И., Красильников А.П. Распространение устойчивых к дезинфектантам вариантов среди *Pseudomonas spp.* // Гигиена и санитария. 1993. № 3. С. 62 – 65.
4. Красильников А.П. Справочник по антисептике. – Минск: Вышэйшая школа, 1995. – 367 с.
5. Липинская Р. О механизме бактерицидного действия хлора при обеззараживании воды // Журнал микробиол. 1961. № 10. С. 36 – 41.
6. Маслюков А.П., Рахманин Ю.А., Матюшин Г.А. О механизме бактерицидного действия химических дезинфектантов // Гигиена и санитария. 1991. № 11. С. 6 – 11.
7. Позмогова И.Н. Об устойчивости микроорганизмов к изменениям условий существования или культивирования // Прикладная биохимия и микробиол. 1988. Т. 14. № 6. С. 739 – 744.
8. Саргина Е.С. Особенности эпидемического процесса госпитальных гнойно-септических инфекций в кардиохирургических стационарах: Автореф. дис. ... к.м.н.: 14.00.30 / Нижегород. гос. мед. акад. – Н. Новгород, 1996. – 19 с.
9. Плоткина Н.С., Пхакадзе Т.Я. Сравнение эффективности некоторых антисептиков в отношении клинических штаммов микроорганизмов / Актуальные вопросы нозокомиальных инфекций и лекарственной устойчивости микроорганизмов: Сб. тезисов докладов I Всесоюзной конференции (Минск, 16 – 17 октября 1986 г.). – Минск, 1986. С. 204, 205.
10. Шандала М.Г., Лищенко Н.Н. Субклеточные механизмы действия дезинфектантов. Влияние йода и хлорамина Б на рибосомы бактерий // Журнал микробиол. 1999. № 3. С. 7 – 10.
11. Шкарин В.В. Дезинфекция. Дезинсекция. Дератизация: Руководство для студентов медицинских вузов и врачей. – Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2006. – 579 с.
12. Dychdala G.R. et al. Chlorine and chlorine compounds // Disinfection, sterilisation and preservation / ed. S.S. Block. – Philadelphia: Lea & Tebinger, 1983. P. 157 – 182.
13. Fraise A.P. Biocide abuse and antimicrobial resistance – a cause for concern? // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1999. V. 43. № 3. P. 711 – 713.
14. Rice E.W. et al. Comperative resistance of *Escherichia coli* and enterococci to chlorination // J. Environ. Sci. and Hlth. 1999. V. 28. № 1. P. 83 – 87.