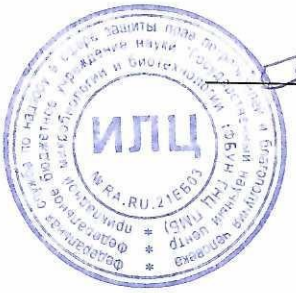
Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Федеральное бюджетное учреждение науки
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ
(ФБУН ГНЦ ПМБ)

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель ИЛЦ
ФБУН ГНЦ ПМБ, к.м.н.



_____ М.В. Храмов

«17» декабря 2020 г.

НАУЧНЫЙ ОТЧЕТ

по результатам экспертизы медико-профилактического дезинфекционного средства, представленного на Государственную регистрацию в Российской Федерации и на территории Таможенного Союза

Тема отчета: «Оценка эффективности дезинфекции различных объектов средством дезинфицирующим «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма) (ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО», Россия)»

Организация-исполнитель: ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, 142279, Московская область, г. Серпухов, р.п. Оболенск, территория «Квартал А».

Сертификат аккредитации: ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора. Регистрационный номер RA.RU.21EB03 от 26 июня 2017 г.

Руководитель темы д.б.н.

_____ В.Д. Потапов

Оболенск, 2020

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

РУКОВОДИТЕЛЬ ТЕМЫ:

г.н.с. ОП и УС д-р биол. наук _____ В.Д. Потапов

ИСПОЛНИТЕЛИ:

науч. сотр. ОП и УС _____ Н.С. Грищенко

науч. сотр. ОП и УС _____ Т.И. Рудницкая

инженер-микробиолог ОП и УС _____ А.В. Богданова

мл. науч. сотр. ОП и УС _____ В.В. Кузин

ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ДС	дезинфицирующее средство
ДВ	действующее вещество
КОЕ	колониеобразующие единицы
МО	медицинская организация
ВБИ	внутрибольничные инфекции

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Глава 1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

1.1. Сведения об исследуемом средстве.

1.1.1. Действующим веществом (ДВ) дезинфицирующего средства «АПРИЛ» является полигексаметиленгуанидин гидрохлорид.

Средство дезинфицирующее «АПРИЛ» выпускается в двух формах:

- в твердой форме – в виде твердого вещества от бесцветного до желтого цвета в кусках различного размера или молотого, содержащее в качестве действующего вещества (ДВ) 94,3-99,9% полигексаметиленгуанидин гидрохлорида. Выпускается в полиэтиленовых (или полипропиленовых) мешках в фасовке по 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 20 кг.

- в жидкой форме – в виде жидкого концентрата – прозрачная жидкость от бесцветного до желтого цвета, содержащего в качестве ДВ 20-22% полигексаметиленгуанидин гидрохлорида. Допускается легкий осадок и слабый специфический запах. Выпускается в полиэтиленовых емкостях вместимостью 0,5; 1; 5; 10; 20; 40 л.

Рабочие растворы бесцветны, не имеют запаха, pH 1% раствора от 6,1 до 10,1, сохраняют антимикробную активность в течение 2 месяцев. Срок годности средства «АПРИЛ» в твердой форме составляет 3 года, в форме жидкого концентрата – 2 года.
Средство «АПРИЛ» обладает антимикробной активностью в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий (исключая туберкулез), легионеллеза, фунгицидной активностью в отношении грибов рода Кандида, Трихофитон, плесеней, а также дезодорирующими свойствами.

1.1.2. Средство «АПРИЛ» предназначено для дезинфекции поверхностей в помещениях, жесткой мебели, поверхностей аппаратов, приборов, санитарно-технического оборудования, белья, посуды, предметов ухода за больными, уборочного инвентаря, изделий медицинского назначения однократного применения перед их утилизацией, в т.ч. для проведения генеральных уборок, для дезинфекции систем вентиляции и кондиционирования воздуха (бытовые кондиционеры, автомобильные кондиционеры, сплит-системы, мульти зональные сплит-системы, крышные кондиционеры).

1.1.3. Средство «АПРИЛ» представлено для изучения с целью государственной регистрации и получения разрешения на его использование на территории Таможенного союза ЕАЭС.

1.2. Материалы и методы исследований

1.2.1. Исследование эффективности дезинфицирующего средства «АПРИЛ» проведено по методикам в соответствии с Руководством «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфицирующих средств для оценки их эффективности и безопасности» (Р 4.2.2643-10), с учетом требований, содержащихся в «Единых санитарно-эпидемиологических и гигиенических требованиях к товарам, подлежащих санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)», (Раздел 20. Основные требования к дезинфицирующим, дезинсекционным и дератизационным средствам), и «Нормативных показателях безопасности и эффективности дезинфекционных средств, подлежащих контролю при проведении обязательной сертификации» № 01-12/75-97.

1.2.2. В качестве предмета исследования представлены образцы средства «АПРИЛ» в виде прозрачной бесцветной жидкости со слабым специфическим запахом и в виде порошкообразного вещества белого цвета в кусках различного размера. Соответствие

средства требованиям ТУ 20.20.14-001-24851300-2018 подтверждены соответствующим отчетом по оценке физико-химических свойств.

Рабочие растворы средства «АПРИЛ» готовят в емкостях из любого материала путем смешивания средства с водой в соотношениях, указанных в таблицах 1 и 2.

Таблица 1. Приготовление рабочих растворов из средства «АПРИЛ» (жидкая форма)

Концентрация рабочего раствора, %		Количества средства и воды, необходимые для приготовления рабочего раствора, мл			
по ДВ	по препарату	1 л раствора		10 л раствора	
		средство	вода	средство	вода
0,05	0,25	2,5	997,6	25	9975
0,1	0,5	5	995	50	9950
0,25	1,25	12,5	987,5	125	9875
0,5	2,5	25	975	750	9750
1,0	5,0	50	950	500	9500
2,5	12,5	125	875	1250	8750
5,0	25,0	250	750	2500	7500

Таблица 2. Приготовление рабочих растворов из средства «АПРИЛ» (твердая форма)

Концентрация рабочего раствора, %		Количества средства и воды, необходимые для приготовления рабочего раствора, г			
		1 л раствора		10 л раствора	
по ДВ	по	средство	вода	средство	вода
0,05	0,05	0,5	999,5	5	9995
0,1	0,1	1	999	10	9990
0,25	0,25	2,5	997,5	25	9975
0,5	0,5	5	995	50	9950
1	1	10	990	100	9900
2,5	2,5	25	975	250	9750
5	5	50	950	500	9500

1.2.3. В работе использованы следующие штаммы микроорганизмов: *Salmonella typhimurium* 5715, *Staphylococcus aureus* 906, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* 1257.

Примечание: штаммы, обозначенные цифровой аббревиатурой получены из ГКПМ ФБУН ГНЦ ПМБ, штаммы АТСС получены из международной коллекции США.

Рабочие культуры выращивали на питательных средах, соответствующих их культуральным свойствам (стафилококк-агар, ГРМ, SS-агар производства ФБУН ГНЦ ПМБ) в течение 24 часов при температуре 37 °С.

Для получения бактериальной взвеси культуру бактерий смывали с поверхности питательных сред и разводили в физ. растворе до концентрации по стандарту мутности, соответствующей двум миллиардам микробных тел в 1 мл.

В работе использовались следующие виды грибов *Candida albicans* 15, *Trichophyton gypseum, Aspergillus niger.* Рабочие культуры патогенных грибов выращивали на агаре Сабуро в течение 2-28 суток при температуре 27 °С.

Для получения микробной взвеси культуру грибов смывали стерильным физраствором (pH 6,2), затем полученную взвесь микробов фильтровали через стерильный ватно-марлевый фильтр и разводили до концентрации, соответствующей стандарту два миллиарда микробных тел в 1 мл.

В работе использован штамм микроорганизма вида *Legionella pneumophila* (ATCC

33152), выращенный на легионеллбакагаре производства ФБУН ГНЦ ПМБ при 37°С в течение 48-72 часов. Для получения бактериальной взвеси культуру смывали с поверхности питательной среды и разводили в стерильном физиологическом растворе до концентрации по стандарту мутности, соответствующей двум миллиардам микробных тел в 1 мл.

Используемые в работе культуры микроорганизмов по своим культуральным и морфологическим свойствам были типичными.

В исследования были включены как клинические изоляты, так и тест-микроорганизмы, типичные по устойчивости к эталонным дезинфицирующим средствам для вегетативных форм возбудителей инфекций, что соответствовало регламентным требованиям.

1.2.4. Для имитации органического загрязнения применяли 40% нормальной инактивированной лошадиной сыворотки (Биомед, Россия) (20% - при проведении суспензионного теста), овсяную кашу, сваренную на молоке со сливочным маслом.

1.2.5. Для нейтрализации действующих веществ при проведении экспериментов применяли универсальный нейтрализатор (твин-80 – 3 %, сапонин – 3 %, гистидин – 0,1 %, цистеин солянокислый – 0,1 %) и 0,5 % раствор лаурилсульфата натрия.

1.2.6. В качестве тест-поверхностей использовали линолеум, поверхности из окрашенного краской дерева, пластика (используемого для производства кувезов), стекла, металла, метлахской плитки и кафеля, обсемененные тест-микроорганизмами.

Поверхности обеззараживали способом протирания раствором средства при норме расхода 100 мл/м^2 или орошали из расчета 300 мл/м^2 при использовании гидропульта, автомакса, при номер расхода 150 мл/м^2 – при использовании распылителя типа «Квазар».

1.2.7. В качестве тест-поверхностей конструкционных элементов систем вентиляции и кондиционирования использовали поверхности пластинок из пластика, стали, алюминия и меди, обсемененные легионеллами. Для имитации воздуховодов систем вентиляции помещений использовали фрагменты труб из стекла, пластика и металла со следующими размерами: диаметр – 79,5 см; длина – 49 см; площадь внутренней поверхности – 1230,9 см^2. Тест-объекты воздуховодов, обсемененные легионеллами, обеззараживали способом протирания при норме расхода 100 мл/м^2 растворами средства «АПРИЛ» или способом орошения при помощи гидропульта или автомакса - норма расхода 300 мл/м^2, при помощи других аппаратов (типа «Квазар») - норма расхода 150 мл/м^2. Через определенные промежутки времени с обработанных объектов брали смывы для оценки эффективности обеззараживания. Для имитации бывших в употреблении фильтров систем кондиционирования воздуха использовали тест-объекты из поролона, обсемененные *L. pneumophila* ATCC 33152. Обеззараживание фильтровального материала, проводили путем погружения в растворы средства «АПРИЛ».

1.2.8. Для имитации санитарно-технического оборудования использовали тест-объекты из эмалированной стали (кружки, ковшики), из нержавеющей стали (детали от смесителя), из фаянса (фаянсовые пластинки от раковины). В качестве органической нагрузки при этом использовали 40 % инактивированную лошадиную сыворотку (Биомед, Россия). Для этого тест-объекты обрабатывали смесью тест-микроорганизмов и инактивированной сыворотки (6 мл 2-х млрд. суспензии тест-микроорганизмов и 4 мл 40 % инактивированной сыворотки). Обеззараживание санитарно-технического оборудования, контаминированного тест-микроорганизмами, проводили способами протирания или орошения растворами средства «АПРИЛ».

1.2.9. Для имитации посуды с остатками пищи в качестве тест-объектов

использовали тарелки, стаканы, эмалированные кружки, вилки, ложки, загрязненные остатками пищи (овсяная каша, сваренная на молоке со сливочным маслом). Обеззараживание посуды, свободной от остатков пищи, и посуды с остатками пищи, контаминированных тест-микроорганизмами, проводили полным погружением в растворы средства «АПРИЛ».

1.2.10. Для имитации белья, загрязненного выделениями, использовали тест-объекты, представляющие собой кусочки бязи размером 2×2 см, контаминированные тест-микроорганизмами и загрязненные инактивированной сывороткой (6 мл 2-х млрд. суспензии микроорганизмов и 4 мл 40 % инактивированной сыворотки). Обеззараживание белья, загрязненного и не загрязненного выделениями и контаминированного тест-микроорганизмами, проводили путем замачивания в растворах средства «АПРИЛ», также проводили ручную стирку контаминированного белья, совмещенную с дезинфекцией средством «АПРИЛ».

1.2.11. Для имитации уборочного материала использовали тест-объекты из бязи, обсемененные тест-микроорганизмами. В качестве органического загрязнения при заражении тест-объектов к суспензии микробов добавляли 40 % инактивированную лошадиную сыворотку из расчета 6 мл 2-х млрд. суспензии тест-микроорганизмов на 4 мл 40% инактивированной сыворотки. Обеззараживание уборочного материала, контаминированного тест-микроорганизмами, проводили путем замачивания в растворе средства «АПРИЛ».

1.2.12. Для имитации предметов ухода за больными в качестве тест-объектов использовали соответствующие тест-объекты (резиновые грелки, клеенки, пластмассовые наконечники для клизм), контаминированные тест-микроорганизмами и загрязненные инактивированной сывороткой (6 мл 2-х млрд. суспензии тест-микроорганизмов и 4 мл 40 % инактивированной сыворотки). Обеззараживание предметов ухода за больными, контаминированных тест-микроорганизмами, проводили путем протирания и погружения в растворы средства «АПРИЛ».

1.2.13. Для имитации медицинских инструментов в качестве тест-объектов использовали изделия из металлов (корнцанги, пинцеты, ножницы, зажимы, скальпели), стекла (микропипетки), резин на основе натурального и синтетического каучука (фрагменты дренажных трубок, катетеров, зондов), пластмасс (шпатели, фрагменты канала гибкого эндоскопа, шланги), стоматологические инструменты (гладилки, зеркала, щипцы), жесткие и гибкие эндоскопы и инструменты к ним (щетки для очистки инструментального канала, биопсийные щипцы), стоматологические оттиски из альгинатных, силиконовых материалов, полиэфирной смолы, зубопротезные заготовки из металлов, керамики, пластмасс, силиконовые трубки, контаминированные тест-микроорганизмами и загрязненные инактивированной сывороткой (6 мл 2-х млрд. суспензии тест-микроорганизмов и 4 мл 40 % инактивированной сыворотки). Обеззараживание медицинских инструментов, контаминированных тест-микроорганизмами, проводили путем погружения в растворы средства «АПРИЛ».

1.2.14. Для изучения дезинфицирующей активности рабочих растворов средства в процессе хранения (срок наблюдения 61 день) тест-поверхности обрабатывали способом протирания, а медицинские изделия способом погружения в 0,1% рабочий раствор средства для тест-объектов, контаминированных *Ps.aeruginosa* и 0,25% рабочий раствор средства для тест-объектов, контаминированных *C.albicans*. По истечении срока экспозиции 60 минут брали смывы на анализ. Результат оценивали по наличию или отсутствию роста тест-

штаммов. Рабочие растворы средства хранили в емкостях из темного стекла с притертыми пробками.

1.2.15. В контрольных опытах, аналогично зараженные, тест-поверхности протирали или орошали стерильной водопроводной водой той же нормы расхода. В опытах с тест-объектами, обеззараживаемыми способом погружения или замачивания, контролем служили тест-объекты, контаминированные аналогичными тест-микроорганизмами, погруженные в стерильную водопроводную воду на 120 мин.

1.3. Критерии проведения экспериментов

Все исследования проводили в трех повторностях. Критерий эффективности обеззараживания посуды, белья, уборочного материала, предметов ухода за больными и медицинских изделий – 100 %, поверхностей – не менее 99,99 %.

1.4 Регулирующие стандарты

Работы проводили в соответствии с рекомендациями документов:

- Правила лабораторной практики (Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 N 708н);
- Приказ Министерства Здравоохранения Российской Федерации №109 от 21.03.2003;
- Р 4.2.2643-10. 3.5. Дезинфектология. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности. Руководство (утв. Роспотребнадзором 01.06.2010).

Глава 2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Результаты изучения бактерицидной активности средства «АПРИЛ»

Из результатов проведенных экспериментов можно заключить, что рабочие растворы средства «АПРИЛ» эффективны в отношении тест-микроорганизмов *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* и *S. typhimurium* в концентрациях от 0,1%, до 1,0 % при времени обеззараживания от 15 до 60 мин.

Результаты изучения бактерицидной активности средства «АПРИЛ» приведены в таблицах 3-4.

Таблица 3. Эффективность обеззараживания растворами средства «АПРИЛ» (ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО», Россия) тест-поверхностей, контаминированных бактериями (кроме микобактерий туберкулеза, включая ВБИ)

Объект обеззараживания	Концентрация раствора (по ДВ), %	Время обеззараживания, мин	Среднее количество КОЕ после обработки				Эффективность обеззараживания, %				Способ обеззараживания
			E. coli 1257	*S. aureus* 906	*S.typhimurium* 5715	*P.aeruginosa* ATCC 27853	*E. coli* 1257	*S.aureus* 906	*S. typhimurium* 5715	*P.aeruginosa* ATCC 27853	
Поверхности в помещениях (пол, стены, жесткая мебель, в т.ч. из дерева), приборы, оборудование; профилактическая дезинфекция санитарного транспорта	0,05	90	361±32	394±36	401±37	420±38	<99,99	<99,99	<99,99	<99,99	Протирание Орошение
	0,1	60	3±1	4±1	4±1	4±1	>99,99	>99,99	>99,99	>99,99	
	0,25	30	0	0	0	0	>99,99	>99,99	>99,99	>99,99	
	1,0	15	0	0	0	0	>99,99	>99,99	>99,99	>99,99	
Санитарно-техническое оборудование (фаянс, металлические изделия + 40% лошадиной сыворотки)	0,25	90	321±23	363±25	367±31	406±34	<99,99	<99,99	<99,99	<99,99	Протирание Орошение
	0,5	60	3±1	4±1	4±1	5±2	>99,99	>99,99	>99,99	>99,99	
	1,0	30	0	0	0	0	>99,99	>99,99	>99,99	>99,99	

Примечание: исходная обсемененность тест-поверхностей, контаминированных кишечной палочкой – $(3,2\pm0,5)\times10^6$ КОЕ/см^2; золотистым стафилококком $(3,6\pm0,5)\times10^6$ КОЕ/см^2, сальмонеллой – $(3,4\pm0,4)\times10^6$ КОЕ/см^2, синегнойной палочкой – $(3,9\pm0,6)\times10^6$ КОЕ/см^2.

Таблица 4. Эффективность обеззараживания растворами средства «АПРИЛ» (ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО», Россия) тест-объектов, контаминированных бактериями (кроме микобактерий туберкулеза)

Объект обеззараживания	Концент-рация раствора (по ДВ), %	Время обеззараживания, мин	Количество тест-объектов/ из них обеззаражено (n=9)			Эффективность обеззараживания, %			Способ обеззараживания
			Escheri-chia coli 1257	*Staphylococcus aureus* 906	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853	*Escherichia coli* 1257	*Staphylococcus aureus* 906	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853	
Предметы ухода за больными, не загрязненные биологическими жидкостями (кровью и пр.)	0,25	90	0/9	0/9	0/9	0,00	0,00	0,00	Погружение/ Протирание
	0,5	60	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	
	1,0	30	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	
Посуда (в т.ч. одноразовая) без остатков пищи	0,05	90	0/9	0/9	0/9	0,00	0,00	0,00	Погружение
	0,1	60	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	
	0,25	30	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	
	1,0	15	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	
Посуда (в т.ч. одноразовая) с остатками пищи	0,5	60	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	Погружение
	1,0	30	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	
Уборочный материал, инвентарь	0,5	60	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	Замачивание, погружение, протирание
	1,0	30	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	
Белье, не загрязненное выделениями	0,1	60	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	Замачивание
	0,25	30	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	
	1,0	15	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	
Белье, загрязненное выделениями	0,5	60	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	Замачивание
	1,0	30	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	
Медицинские изделия, в том числе хирургические и стоматологические инструменты из пластмасс, стекла, металлов из резин	0,1	60	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	Погружение
	0,25	30	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	
	1,0	15	9/9	9/9	9/9	100,00	100,00	100,00	

Примечания: контаминированных кишечной палочкой – $(2,5\pm0,5)\cdot10^5$ КОЕ/см^2; золотистым стафилококком – $(2,9\pm0,6)\cdot10^5$ КОЕ/см^2, синегнойной палочкой – $(3,4\pm0,9)\cdot10^5$ КОЕ/см^2.

2.2. Результаты изучения фунгицидной активности средства «АПРИЛ»

Из результатов проведенных экспериментов можно заключить, что рабочие растворы средства «АПРИЛ» эффективны в отношении тест-микроорганизмов *C. Albicans*, *T. Gypseum* и *Aspergillus niger* в концентрациях от 0,25%, до 5,0% при времени обеззараживания от 30 до 60 мин. Результаты изучения фунгицидной активности средства «АПРИЛ» приведены в таблицах 5, 6, 7.

Таблица 5. Эффективность обеззараживания растворами средства «АПРИЛ» (ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО», Россия) тест-объектов, контаминированных кандидой альбиканс

Объект обеззараживания	Концентрация раствора (по ДВ), %	Время обеззараживания, мин	Количество тест-объектов/ из них обеззаражено (n=8, 12)	Эффективность обеззараживания, %	Способ обеззараживания
Тест-поверхности (линолеум, дерево, окрашенное масляной краской, пластик, стекло, металлы, плитка)	0,1	90	3/12	<100,00	Протирание или орошение
	0,25	60	12/12	100,00	
	0,5	30	12/12	100,00	
Санитарно-техническое оборудование (фаянс, металлические изделия + 40% лошадиной сыворотки)	0,25	90	0/8	0,00	Протирание или орошение
	0,5	60	8/8	100,00	
	1,0	30	8/8	100,00	
Предметы ухода за больными, средства личной гигиены (из пластмассы, резины, металла)	0,5	60	8/8	100,00	Погружение или протирание
	1,0	30	8/8	100,00	
Белье, не загрязненное выделениями	0,25	60	8/8	100,00	Замачивание
	0,5	30	8/8	100,00	
Белье, загрязненное выделениями	0,5	60	8/8	100,00	Замачивание
	1,0	30	8/8	100,00	
Посуда без остатков пищи	0,25	60	8/8	100,00	Погружение
	0,5	30	8/8	100,00	
Посуда с остатками пищи, предметы для мытья посуды	0,5	60	8/8	100,00	Погружение
	1,0	30	8/8	100,00	
Уборочный инвентарь (ерши, щетки, ветошь) для обработки помещений	0,5	60	8/8	100,00	Замачивание
	1,0	30	8/8	100,00	
Медицинские изделия, в том числе хирургические и стоматологические инструменты из пластмасс, стекла, металлов из резин	0,25	60	8/8	100,00	Погружение
	0,5	30	8/8	100,00	

Примечание: исходная обсемененность тест-объектов, контаминированных кандидой альбиканс – $(3,4\pm0,8)\cdot10^5$ КОЕ/см^2.

Таблица 6. Эффективность обеззараживания растворами средства «АПРИЛ» (ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО», Россия) тест-объектов, контаминированных гибсовидным трихофитоном

Объект обеззараживания	Концентрация раствора (по ДВ), %	Время обеззараживания, мин	Количество тест-объектов/ из них обеззаражено (n=8, 12)	Эффективность обеззараживания, %	Способ обеззараживания
Тест-поверхности (линолеум, дерево, окрашенное масляной краской, пластик, стекло, металлы, плитка)	0,1	90	2/12	<100,00	Протирание или орошение
	0,25	60	12/12	100,00	
	0,5	30	12/12	100,00	
Санитарно-техническое оборудование (фаянс, металлические изделия + 40% лошадиной сыворотки)	0,25	90	0/8	0,00	Протирание или орошение
	0,5	60	8/8	100,00	
	1,0	30	8/8	100,00	

Предметы ухода за больными, средства личной гигиены (из пластмассы, резины, металла)	0,5	60	8/8	100,00	Погружение или протирание
	1,0	30	8/8	100,00	
Белье, не загрязненное выделениями	0,25	60	8/8	100,00	Замачивание
	0,5	30	8/8	100,00	
Белье, загрязненное выделениями	0,5	60	8/8	100,00	Замачивание
	1,0	30	8/8	100,00	
Уборочный инвентарь (ерши, щетки, ветошь) для обработки помещений	0,5	60	8/8	100,00	Замачивание
	1,0	30	8/8	100,00	
Медицинские изделия, в том числе хирургические и стоматологические инструменты из пластмасс, стекла, металлов из резин	0,25	60	8/8	100,00	Погружение
	0,5	30	8/8	100,00	

Примечание: исходная обсемененность тест-объектов, контаминированных гипсовидным трихофитоном – $(4,1\pm1,1)\cdot10^5$ КОЕ/см^2.

Таблица 7. Эффективность обеззараживания растворами средства «АПРИЛ» (ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО», Россия) тест-объектов, контаминированных A.niger

Объект обеззараживания	Концентрация раствора (по ДВ), %	Время обеззараживания, мин	Количество тест-объектов/ из них обеззаражено (n=8, 12)	Эффективность обеззараживания, %	Способ обеззараживания
Тест-поверхности (линолеум, дерево, окрашенное масляной краской, пластик, стекло, металлы, плитка)	2,5	60	0/12	0,00	Двукратное протирание
	5,0	30	12/12	100,00	

Примечание: исходная обсемененность тест-объектов, контаминированных черной плесенью – $(3,9\pm0,9)\cdot10^5$ КОЕ/см^2.

2.3. Результаты изучения активности средства «АПРИЛ» в отношении возбудителей легионеллеза

Из результатов проведенных экспериментов можно заключить, что рабочие растворы средства «АПРИЛ» при обработке систем вентиляции и кондиционирования эффективны в отношении *L. pneumophila* в концентрациях от 0,1 %, до 1,0 % при времени обеззараживания от 15 до 60 минут (таблица 8).

Таблица 8. Эффективность обеззараживания растворами средства «АПРИЛ» (ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО», Россия) тест-объектов, контаминированных возбудителями легионеллеза

Объект обеззараживания	Концентрация раствора (по ДВ), %	Время обеззараживания, мин	Количество тест-объектов/ из них обеззаражено (n=8)	Эффективность обеззараживания, %	Способ обеззараживания
Секции центральных и бытовых кондиционеров и общеобменной вентиляции, воздухоприемники и воздухораспределители, лопасти вентилятора, вентиляционные шахты и трубопроводы, поверхности вентиляционных систем, кондиционеров	0,05	90	0/9	0,00	Протирание, орошение или аэрозольный метод
	0,1	60	9/9	100,00	
	0,25	30	9/9	100,00	
	1,0	15	9/9	100,00	
Воздушные фильтры	0,25	90	0/9	0,00	
	0,5	60	9/9	100,00	
	1,0	30	9/9	100,00	
Радиаторные решетки, насадки,	0,1	60	9/9	100,00	Протирание

накопители конденсата	0,25	30	9/9	100,00	или орошение
	1,0	15	9/9	100,00	
Уборочный инвентарь	0,5	60	9/9	100,00	Замачивание
	1,0	30	9/9	100,00	

Примечание: исходная обсемененность тест-объектов, контаминированных *L. pneumophila* - $(3,2\pm0,5)\times10^5$ КОЕ/см^2.

2.4. Изучение возможности многократного использования рабочих растворов средства «АПРИЛ».

При изучении возможности хранения рабочего раствора средства «АПРИЛ» в течение 61 суток при дезинфекции медицинских изделий и тест-объектов было установлено, что рабочие растворы средства сохраняют активность в течение 60 суток (таблица 9).

Таблица 9. Сравнение эффективности средства «АПРИЛ» при хранении в течение 61 суток

Тест-объект	Кол-во выросших колоний *C.albicans* *, КОЕ/см^2 // эффективность обеззараживания, %				Кол-во выросших колоний *Ps.aeruginosa* **, КОЕ/см^2 // эффективность обеззараживания, %			
	1 сутки	30 суток	60 суток	61 сутки	1 сутки	30 суток	60 суток	61 сутки
Тест-поверхности: линолеум, метлахская плитка, линолеум, окрашенное масляной краской и неокрашенное дерево, кафель, пластик, стекло, винилискожа, кожа	0 // 100	3±1// 99,99	8±3// 99,99	57±16 // 99,98	0 // 99,99	2±1// 99,99	7±2// 99,99	45±14// 99,98
Медицинские изделия из стекла, металла	0 // 100	0 // 100	0 // 100	3±1 // 99,99	0 // 100	0 // 100	0 // 100	2±1 // 99,99

Примечание:
«*» - тесты проводили с 0,25 % рабочим раствором средства при экспозиции 60 минут для поверхностей (способ протирания) и для медицинских изделий (способ погружения);
«**» - тесты проводили с 0,1 % рабочим раствором средства при экспозиции 60 минут для поверхностей (способ протирания) и для медицинских изделий (способ погружения);
Исходная обсемененность тест-объектов, контаминированных синегнойной палочкой – $(3,6\pm0,4)\cdot10^5$ КОЕ/см^2 , контаминированных кандидой альбиканс – $(3,9\pm0,5)\cdot10^5$ КОЕ/см^2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дезактивация микроорганизмов - сложный многофакторный процесс, в котором концентрация ДС, метод его использования и время воздействия играют ведущую роль. Действие ДС по-разному эффективно для различных видов микроорганизмов, что связано с различиями в организации их поверхностных структур и метаболизма. Разработка новых дез.средств для дезинфекции помещений ЛПУ является актуальной задачей, поскольку микроорганизмы способны адаптироваться к длительно применяемым дезинфектантам. Кроме того, особый интерес представляет использование дезинфектантов широкого спектра действия, обеспечивающего полную инактивацию микроорганизмов на всех поверхностях и оборудовании помещений.

В данной работе проведены эксперименты по оценке бактерицидной эффективности дезинфицирующего средства «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма) в отношении возбудителей ВБИ, легионеллеза, грибов, дрожжей как рекомендованных в руководстве, так и полученных из различных музеев современных госпитальных (клинических) штаммов, в ходе которых можно сделать **следующие выводы**:

дезинфицирующее средство «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма) (ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО», Россия) обладает бактерицидной и фунгицидной активностью и может быть использовано для дезинфекции поверхностей в помещениях, жесткой мебели, поверхностей аппаратов, приборов, санитарно-технического оборудования, белья, посуды, предметов ухода за больными, уборочного инвентаря, изделий медицинского назначения однократного применения перед их утилизацией, в т.ч. для проведения генеральных уборок, для дезинфекции систем вентиляции и кондиционирования воздуха (бытовые кондиционеры, автомобильные кондиционеры, сплит-системы, мульти зональные сплит-системы, крышные кондиционеры).

На основании вышеизложенного, считаем возможным рекомендовать регистрацию дезинфицирующего средства «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма), ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО», Россия, для указанной области применения.

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Федеральное бюджетное учреждение науки
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ
(ФБУН ГНЦ ПМБ)

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель ИЛЦ
ФБУН ГНЦ ПМБ, к.м.н.

_____ М.В. Храмов
«17» декабря 2020 г.

НАУЧНЫЙ ОТЧЕТ

по результатам экспертизы медико-профилактического дезинфекционного средства, представленного на Государственную регистрацию в Российской Федерации и на территории Таможенного Союза

Тема отчета: «Оценка физико-химических свойств средства дезинфицирующего «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма), ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО» (Россия)» на соответствие нормативной документации»

Организация-исполнитель: ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, 142279, Московская область, г. Серпухов, р.п. Оболенск, территория «Квартал А».

Сертификат аккредитации: ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора. Регистрационный номер RA.RU.21ЕБ03 от 26 июня 2017 г.

Руководитель темы д.б.н.

_____ В.Д. Потапов

Оболенск, 2020

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

РУКОВОДИТЕЛЬ ТЕМЫ:

Г.н.с. ОПиУС д-р биол. наук _____ В.Д. Потапов

ИСПОЛНИТЕЛИ:

науч. сотр. ОП и УС _____ Н.С. Грищенко

науч. сотр. ОП и УС _____ Т.И. Рудницкая

мл. науч.сотр. ОП и УС _____ В.В. Кузин

инженер-микробиолог ОП и УС _____ А.В. Богданова

ВВЕДЕНИЕ

Действующим веществом (ДВ) дезинфицирующего средства «АПРИЛ» является полигексаметиленгуанидин гидрохлорид.

Средство дезинфицирующее «АПРИЛ» выпускается в двух формах:

- в твердой форме – в виде твердого вещества от бесцветного до желтого цвета в кусках различного размера или молотого, содержащее в качестве действующего вещества (ДВ) 94,3-99,9% полигексаметиленгуанидин гидрохлорида. Выпускается в полиэтиленовых (или полипропиленовых) мешках в фасовке по 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 20 кг.

- в жидкой форме – в виде жидкого концентрата – прозрачная жидкость от бесцветного до желтого цвета, содержащего в качестве ДВ 20-22% полигексаметиленгуанидин гидрохлорида. Допускается легкий осадок и слабый специфический запах. Выпускается в полиэтиленовых емкостях вместимостью 0,5; 1; 5; 10; 20; 40 л.

Рабочие растворы бесцветны, не имеют запаха, pH 1% раствора от 6,1 до 10,1, сохраняют антимикробную активность в течение 2 месяцев. Срок годности средства «АПРИЛ» в твердой форме составляет 3 года, в форме жидкого концентрата – 2 года.

Средство «АПРИЛ» обладает антимикробной активностью в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий (исключая туберкулез), легионеллёза, фунгицидной активностью в отношении грибов рода Кандида, Трихофитон, плесеней, а также дезодорирующими свойствами.

Средство не совместимо с мылами и анионными поверхностно-активными веществами.

Наименование и адрес заявителя: ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО», Россия, 606000, Нижегородская область, город Дзержинск, ул. Бутлерова, д. 3, офис 30.

Для испытаний представлены:

- образцы средства дезинфицирующего «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма), ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО», адрес производства: 606000, Нижегородская область, город Дзержинск, Дзержинская ТЭЦ, Игумновское производство, здание ОВК; партия № 07-242, дата выработки 28.07.2020 г., выпускаемые в соответствии с ТУ 20.20.14-001-24851300-2018;

- образцы средства дезинфицирующего «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма), ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО», адрес производства: 606000, Нижегородская область, город Дзержинск, Промрайон Восточный, здание ОАО «Синтез», К-С 561, литер 405А; партия № 07-242/2, дата выработки 28.07.2020 г, выпускаемые в соответствии с ТУ 20.20.14-001-24851300-2018.

1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1.1. Определение внешнего вида и запаха.

Внешний вид средства «АПРИЛ» определяли визуально просматриванием средства в пробирке из бесцветного стекла с диаметром 30-32 мм в проходящем или отраженном свете.

1.2. Определение концентрации водородных ионов (pH) водного раствора средства «АПРИЛ» с массовой долей 1% по действующему веществу.

pH определяли потенциометрическим методом согласно Государственной Фармакопеи СССР XI издания (выпуск 1, с. 113).

1% по действующему веществу водный раствор из средства «АПРИЛ» готовили разведением 5 мл «жидкой формы» в 95 мл дистиллированной воды или 1 г «твердой формы» в 99 мл дистиллированной воды.

1.3. Определение массовой доли действующего вещества (полигексаметиленгуанидин гидрохлорида).

1.3.1. Оборудование и реактивы.

Весы аналитические любой марки, обеспечивающие измерение массы с погрешностью не более 0,0002 г.

Фотоэлектрокалориметр ФЭК-056 или другой марки с аналогичными метрологическими характеристиками.

Колбы мерные 2-25-2, 2-100-2 по ГОСТ 1770-74;

Пипетки 4-1-1, 6-1-5, 6-1-10 по ГОСТ 20292-74;

Эозин-Н (индикатор) по ТУ 6-09-183-73, 0,05% водный раствор;

Кислота соляная, 0,1 н. водный раствор, фиксанал по ТУ 6-09-2540-72;

Глицин по ТУ 6-09-3525-73;

«АПРИЛ» - образец с известным содержанием основного вещества - рабочий стандартный образец (РСО) ИЭТП;

Натрий хлористый по ГОСТ 4233-77;

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72.

1.3.2. Подготовка к анализу.

1.3.2.1.Приготовление буферного раствора.

Готовили два исходных раствора:

РАСТВОР 1 - 0,1 н. водный раствор соляной кислоты, который готовили из фиксанала.

РАСТВОР 2 - 0,75 г глицина и 0,59 г хлористого натрия растворяли в мерной колбе вместимостью 100 $см^3$ с доведением объема дистиллированной водой до метки.

Для приготовления буферного раствора в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносили 92,5 $см^3$ раствора 2 и объем жидкости доводили до метки раствором 1, pH буферного раствора должно быть 3,5 + 0,1, что необходимо контролировать с помощью pH-метра.

1.3.2.2.Приготовление 0,05% раствора эозина-Н.

50 мг эозина растворяли в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 100 $см^3$ с доведением объема воды до метки.

1.3.2.3.Приготовление стандартного раствора.

Навеску стандартного образца ДС «АПРИЛ», содержащую 100 мг ПГМГ гидрохлорида, количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и растворяли в объеме дистиллированной воды, доведенном до метки. Затем 1 $см^3$ полученного раствора помещали в мерную колбу на 100 $см^3$ и дистиллированной водой доводили раствор до метки. 1 $см^3$ такого раствора содержит 10 мкг полигексаметиленгуанидина гидрохлорида.

1.3.3. Построение калибровочного графика и проведение анализа.

Для повышения точности определения обе процедуры проводили одновременно.

Сначала из стандартного раствора готовили эталонные растворы ПГМГ гидрохлорида для построения калибровочного графика, затем - растворы анализируемых препаратов. С использованием всех этих растворов приготовили образцы для фотометрирования и последовательно (в порядке приготовления образцов) определяли

их оптическую плотность.

Эталонные растворы с концентрациями 1, 2, 3 и 4 мкг/см^3 готовили внесением в мерные колбы вместимостью 25 см^3, 1, 2, 3 и 4 см^3 стандартного раствора и доводили до объема 10 см^3 прибавлением 9, 8, 7 и 6 см^3 дистиллированной воды соответственно.

При анализе препарата его раствор для фотометрирования готовили растворением точной навески препарата (от 0,05 г до 0,20 г) в мерной колбе вместимостью 100 см^3 с последующим разведением 1 см^3 полученного раствора в мерной колбе до 100 см^3.

В мерных колбах вместимостью 25 см^3 к 10 см^3 приготовленных растворов (эталонных и анализируемых продуктов) прибавляли 1 см^3 раствора эозина, 10 см^3 буферного раствора и объем содержимого доводили до метки дистиллированной водой. Концентрация полигексаметиленгуанидина гидрохлорида в фотометрируемых образцах составляет соответственно 0,4, 0,8, 1,2 и 1,6 мкг/см^3. После перемешивания все эти растворы фотометрировали относительно образца сравнения, содержащего 1 см^3 раствора эозина, 10 см^3 буферного раствора и дистиллированной воды до 25 см^3.

Определение оптической плотности выполняли не позднее, чем через 10 минут после внесения в пробу индикатора при длине волны 540 нм с использованием кюветы с толщиной слоя 50 мм.

С использованием полученных результатов строили калибровочный график, на оси абсцисс которого откладывали значения концентраций в фотометрируемых образцах, на оси ординат - величины оптической плотности. График прямолинеен в интервале концентраций от 0,4 мкг/см^3 до 1,6 мкг/см^3. По калибровочному графику находили содержание основного вещества в фотометрируемом образце.

1.3.4. Обработка результатов.

Массовую долю основного вещества (X) в процентах вычисляли по формуле:

$$X = \frac{C \times P \times 100}{m \times 10^6}$$

где С – концентрация полигексаметиленгуанидин гидрохлорида, определенная по калибровочному графику в фотометрируемом образце, мкг/см^3;

Р - разведение, равное в данном случае 25 000;

m - масса анализируемой пробы, мкг.

За результат анализа принимали среднее арифметическое трех параллельных определений, абсолютное расхождение между которыми не превышает допускаемое расхождение, равное 1,0%. Допускаемая относительная погрешность результатов анализа ±6,5% при доверительной вероятности 0,95.

2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследований по оценке физико-химических показателей, проведенных для оценки качества средства «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма) и соответствия его требованиям ТУ 20.20.14-001-24851300-2018 на продукцию отображены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1. Физико-химические показатели средства «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма), ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО» (адрес производства: 606000, Нижегородская область, город Дзержинск, Дзержинская ТЭЦ, Игумновское производство, здание ОВК)

№ п/п	Наименование показателя	Норма ТУ 20.20.14-001-24851300-2018	Фактические показатели
1.	Внешний вид «жидкой формы»	Прозрачная жидкость от бесцветной до желтого цвета, допускается легкий осадок и слабый специфический запах	Прозрачная бесцветная жидкость со слабым специфическим запахом
2.	Внешний вид «твердой формы»	Твердое или порошкообразное вещество от бесцветного до желтого цвета в кусках различного размера или молотого	Порошкообразное вещество белого цвета в кусках различного размера
3.	Показатель концентрации водородных ионов (pH) водного раствора средства с массовой долей 1% по действующему веществу, в пределах	6,1-10,1	6,8±0,1
4.	Массовая доля действующего вещества (полигексаметиленгуанидина гидрохлорида) в «жидкой форме», %	20-22%	21,3±0,2
5.	Массовая доля действующего вещества (полигексаметиленгуанидина гидрохлорида) в «твердой форме», %	94,3-99,9%	96,1±0,1

Таблица 2. Физико-химические показатели средства «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма), ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО» (адрес производства: 606000, Нижегородская область, город Дзержинск, Промрайон Восточный, здание ОАО «Синтез», К-С 561, литер 405А)

№ п/п	Наименование показателя	Норма ТУ 20.20.14-001-24851300-2018	Фактические показатели
1.	Внешний вид «жидкой формы»	Прозрачная жидкость от бесцветной до желтого цвета, допускается легкий осадок и слабый специфический запах	Прозрачная бесцветная жидкость со слабым специфическим запахом
2.	Внешний вид «твердой формы»	Твердое или порошкообразное вещество от бесцветного до желтого цвета в кусках различного размера или молотого	Порошкообразное вещество белого цвета в кусках различного размера
3.	Показатель концентрации водородных ионов (pH) водного раствора средства с массовой долей 1% по действующему веществу, в пределах	6,1-10,1	6,2±0,2
4.	Массовая доля действующего вещества (полигексаметиленгуанидина гидрохлорида) в «жидкой форме», %	20-22%	20,5±0,1
5.	Массовая доля действующего вещества	94,3-99,9%	95,8±0,1

	(полигексаметиленгуанидина гидрохлорида) в «твердой форме», %		

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные экспериментальные результаты оценки качества подтверждают соответствие средства дезинфицирующего «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма), ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО», Россия, требованиям ТУ 20.20.14-001-24851300-2018 на продукцию.

На основании проведенной экспертизы, представленной документации и результатов исследований можно сделать вывод о том, что по показателям качества и стабильности дезинфицирующее средство «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма), ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО», Россия, соответствует «Единым санитарно-эпидемиологическим и гигиеническим требованиям к продукции (товарам), подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)» (2010 г.).

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Федеральное бюджетное учреждение науки
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ
(ФБУН ГНЦ ПМБ)

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель ИЛЦ
ФБУН ГНЦ ПМБ, к.м.н.

М.В. Храмов

«17» декабря 2020 г.

НАУЧНЫЙ ОТЧЕТ

по результатам экспертизы медико-профилактического дезинфекционного средства, представленного на Государственную регистрацию в Российской Федерации и на территории Таможенного Союза

Тема отчета: «Оценка токсичности и опасности средства дезинфицирующего «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма), ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО» Россия»

Организация-исполнитель: ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, 142279, Московская область, г. Серпухов, р.п. Оболенск, территория «Квартал А».

Сертификат аккредитации: ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора. Регистрационный номер RA.RU.21ЕБ03 от 26 июня 2017 г.

Руководитель темы д.б.н.

В.Д. Потапов

Оболенск, 2020

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

РУКОВОДИТЕЛЬ ТЕМЫ:

Г.н.с. ОПиУС д-р биол. наук _____ В.Д. Потапов

ИСПОЛНИТЕЛИ:

науч. сотр. ОП и УС _____ Н.С. Грищенко

науч. сотр. ОП и УС _____ Т.И. Рудницкая

мл. науч. сотр. ОП и УС _____ В.В. Кузин

виварщик ОП и УС _____ Н.Н. Выголова

1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1.1 Оценка токсичности и опасности средства «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма)

В работе использовано средство дезинфицирующее «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма) («ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО», Россия), соответствующий по своим свойствам спецификации производителя.

Программа исследований:

- определение DL_{50} при введении средства в желудок, в брюшину и при нанесении на кожные покровы;
- определение местного раздражающего действия при нанесении на кожные покровы;
- определение местного раздражающего действия при внесении средства в конъюнктивальный мешок глаза;
- оценка кожно-резорбтивного действия;
- оценка сенсибилизирующего действия;
- оценка кумулятивных свойств;
- изучение летучих компонентов, выделяющихся из нативного средства в насыщающих концентрациях при нормальных условиях окружающей среды;
- оценка подострой ингаляционной опасности паров средства;
- оценка опасности средства при обработке медицинских изделий.

Лабораторных животных получали из питомника «Андреевка» Федерального Государственного бюджетного учреждения «Научный центр биомедицинских технологий» Российской академии наук. ИБХ РАН (Московская обл.). Животные содержались в стандартных условиях в соответствии с международными нормами и требованиями, имели свободный доступ к корму и воде.

1.2 Методика испытаний

Введение средства крысам в желудок осуществляли с помощью металлического зонда, в брюшину - шприц на 1мл с иглой G 29.

Определение DL_{50} при нанесении нативного средства на кожу проводили в опытах на крысах, подопытный участок кожи которых предварительно был депилирован механическим путем.

Местное раздражающее действие оценивали при нанесении средства и его рабочих растворов на предварительно депилированный участок кожи бока морских свинок в условиях однократной (2 часа) и повторной экспозиции (10 аппликаций).

Раздражающее действие на слизистые оболочки глаза оценивали на кроликах при внесении 1 капли средства и его рабочих растворов в конъюнктивальный мешок глаза.

Кожно-резорбтивное действие изучалось на мышах методом погружения хвостов на 2/3 длины в раствор средства на 2 часа на протяжении 10 дней. В качестве показателей интоксикации оценивали поведение и функциональное состояние нервной системы в соответствии с «Методическими рекомендациями по использованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования» (Киев, 1980г.) и методическими рекомендациями «Определение суммационно-порогового показателя (СПП) при различных формах токсикологического эксперимента» (Новосибирск, 1975 г.).

Исследования сенсибилизирующих свойств средства проводились в тесте ГЗТ (по А.Д. Черноусову). При постановке реакции ГЗТ использовались самки белых беспородных мышей с исходной массой тела 18,0 – 20,0 г по 8 особей в опытной и контрольной группе.

Для сенсибилизации животным вводили однократно внутрикожно в основание хвоста 100 мкг продукта, эмульгированного в 60 мкл смеси полного адъюванта Фрейнда и раствора Хенкса. Выявление сенсибилизации проводили через 5 суток путем введения 100 мкг средства в растворе Хенкса в подушечку задней лапы. Реакция оценивалась по величине отека (показатель ГЗТ) у подопытных и контрольных животных, которая измерялась через 24 часа. Сравнение среднегрупповых показателей ГЗТ осуществляли по методу Стьюдента.

Проводились исследования кумулятивных свойств при введении в желудок. В качестве подопытных животных использовались белые крысы. При этом использовался метод Лима и соавторов. Исследования проводились в течение 24 дней. В первые 4 дня в желудок вводили 0,1 DL_{50}, увеличивая дозы каждые 4 дня в полтора раза. Коэффициент кумуляции рассчитывали, как отношение величины среднесмертельной дозы для повторного воздействия к среднесмертельной дозе при однократном воздействии

Изучение опасности паров средства в насыщающих концентрациях проводили на мышах, которых помещали в герметичные емкости, где создавали условия свободного испарения средства при нормальных условиях (t = 20-22°С). В ходе эксперимента регистрировали клинические признаки отравления и гибель животных, а также показатели, отражающие состояние нервной системы (СПП, поведенческие реакции).

Оценку подострой ингаляционной опасности средства в виде паров проводили в затравочных камерах объемом 1м^3, моделируя режим обработки способом протирания/орошения. Средство в виде 1,0% рабочего раствора по действующему веществу вносили в камеру в 10 кратной норме расхода ежедневно в течение 4 недель при температуре 20 - 25°С. Затравочная камера для контрольных животных обрабатывалась водопроводной водой в том же объеме, что и в опытных затравочных камерах. Исследования проводили на белых мышах-самках для выявления общетоксического и раздражающего действия. Животные находились в затравочных камерах в течение всего эксперимента (4 недели). После окончания эксперимента мышей обследовали по наиболее чувствительным и адекватным показателям: по частоте дыхания (ЧД) и функциональным показателям нервной системы (сумационно-пороговому показателю – СПП, спонтанно-двигательной активности – СДА, вертикальной двигательной активности – ВДА, норковому рефлексу), а также по биохимическим показателям: аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ) и щелочная фосфатаза (ЩФ), оценивали состояние периферической крови (количество гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов).

С целью оценки безопасности использования медицинских изделий (ИМН) (корнцанги, ножницы прямые, зонды металлические, скальпели, боры стоматологические и др.) изделия погружали в емкости с 1,0% рабочий раствор средства по действующему веществу на 30 минут, затем каждую партию ИМН вынимали из раствора и давали ему стечь. После чего делили каждую партию ИМН еще на две партии. С первой партии делали смывы и исследовали их на гемолиз эритроцитов. Оставшиеся ИМН отмывали проточной водой в течение 1 и 3 минут, затем делали вытяжки из пластмассы и резины в термостате при температуре 37°С, экспозиция - 24 часа. С ИМН из металла и стекла делали смывы дистиллированной водой. Полученные вытяжки и смывы тестировали на отмытых эритроцитах.

Гемолиз регистрировали на ФЭКе при длине волны 540нм. Эффект оценивали по результатам расчета процента гемолиза. Результаты проведенных исследований подвергались статистической обработке с помощью метода Стьюдента-Фишера, достоверными считали результаты при $p<0,05$ (Рекомендации по статистической обработке результатов экспериментально-токсикологических исследований, М, 1965г.). Статистические группы животных состояли из 6-8 особей.

2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. При введении средства в желудок крыс в дозах от 1000,0 до 5000,0 мг/кг была определена величина среднесмертельной дозы на уровне 3274,5±128,4 мг/кг. Клинические проявления интоксикации при этом заключались в снижении двигательной активности, слабой реакции на раздражители, вынужденном положении тела лежа на животе. Гибель животных происходила в течение первых суток после затравки. Полученные результаты свидетельствуют о том, что по величинам DL_{50} при введении в желудок средство относится к 3 классу умеренно опасных веществ по классификации опасности ГОСТ 12.1.007-76.

2.2. При нанесении нативного средства на кожу крыс в дозе 2500 мг/кг клинических проявлений отравления и гибели животных не было. Отмечено слабо местно-раздражающее действие. Следовательно, DL_{50} средства при нанесении на кожу более 2500 мг/кг. Полученные результаты свидетельствуют о том, что по величинам DL_{50} при нанесении на кожу средство «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма) относится к 4 классу малоопасных веществ по классификации опасности ГОСТ 12.1.007-76.

Таблица 1. Классификация опасности веществ по степени воздействия на организм (ГОСТ 12.1.007-76).

Наименование показателя	Класс опасности			
	1 – чрезвычайно опасные	2 – высоко опасные	3 – умеренно опасные	4 - малоопасные
Предельно допустимая концентрация ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны, мг/куб. м	Менее 0,1	0,1 - 1,0	1,1 - 10,0	Более 10,0
Среднесмертельная доза ($ЛД_{50}$) при введении в желудок, мг/кг	Менее 15	15 - 150	151 - 5000	Более 5000
Среднесмертельная доза ($ЛД_{50}$) при нанесении на кожу, мг/кг	Менее 100	100 - 500	501 - 2500	Более 2500

2.3. При введении средства в брюшную полость крыс DL_{50} средства составила 519,2±45,7 мг/кг. Клиническая картина отравления у животных характеризовалась теми же признаками, что и при введении средства в желудок, но они наступали быстрее и были более выраженными. Гибель животных зарегистрирована в течение 1 суток. Таким образом, дезинфицирующее средство «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма) при введении в брюшную полость относится к 4 классу мало токсичных веществ, согласно классификации К.К. Сидорова.

Таблица 2. «Классификация токсичности веществ при введении под кожу и в брюшную полость животного (по К.К. Сидорову)»

Класс токсичности	Степень токсичности	Средняя смертельная доза при введении, мг/кг:	
		под кожу	в брюшную полость
1	Чрезвычайно токсично	0,3	0,2
2	Высокотоксично	0,4 - 15,0	0,3 - 10,0
3	Умеренно токсично	16 - 150	11 - 100
4	Малотоксично	151 - 1500	101 - 1000
5	Практически нетоксично	1501 - 4500	1001 - 3000
6	Относительно безвредно	> 4500	> 3000

2.4. Исследования по изучению местно-раздражающего действия на кожу морских свинок средства «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма), показали, что при нанесении на кожу нативного средства отмечали наличие местно-раздражающего действия в виде эритемы (2,5 балла), отека кожи (1,5 балла). Сумма баллов составила 4. После заживления, кожа восстанавливалась и оставалась без рубцовых изменений. Таким образом, средство «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма) оказывает умеренное раздражающее действие и относится к 3 классу опасности по выраженности местно-раздражающих свойств дезинфицирующих средств на кожу.

Таблица 3. «Классификация опасности по выраженности местно-раздражающих свойств дезинфицирующих средств на коже»

Выраженность раздражающего действия	Средний суммарный балл выраженности эритемы и величины отека	Классы опасности
Резко выраженное	более 6	1
Выраженное	4,1-6,0	2
Умеренное	2,1-4,0	3
Слабое или отсутствие	0-2,0	4

Исследования по изучению местно-раздражающего действия на кожу мышей средства «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма), показали, что при однократном нанесении его на кожу в концентрации 1,0% никаких проявлений химического ожога или раздражения кожи не выявлено. Многократное нанесение средства (10 аппликаций) «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма) на кожу животных вызывало сухость и шелушение кожных покровов (суммарный балл 2). Таким образом, рабочий раствор средства с концентрацией 1,0% относится к 4 классу опасности - малоопасные по выраженности местно-раздражающих свойств дезинфицирующих средств на кожу.

2.5 Местное раздражающее действие на глазные оболочки исследовали после однократного внесения 1 капли средства в конъюнктивальный мешок глаза кроликов. Нанесение средства в глаза кроликам вызывало гиперемию и отек конъюнктивы (суммарный балл 4), через сутки признаки уже не проявлялись и в течение следующих шести суток, что соответствует 3 классу опасности по выраженности раздражающих свойств дезинфицирующих средств на глаза. Обильное промывание водой глаз животных после нанесения на них концентрата исследуемого средства предотвращает его раздражающее действие: у кроликов в течение нескольких дней исчезают признаки раздражения.

Таблица 4. «Классификация по выраженности раздражающих свойств дезинфицирующих средств на глаза»

Выраженность раздражающего действия	Средний суммарный балл конъюнктива (А+Б+В) и роговица (А+Б)	Классы
Резко выраженное	Более 11	1
Выраженное	7-10	2
Умеренное	4-6	3
Слабое	1-3	4
Отсутствие	0	5

Нанесение 1,0% рабочих растворов средства в глаза кроликам вызывало слабое раздражающее действие на слизистые оболочки глаза (4 класс опасности).

2.6 С целью определения резорбтивного действия средства хвосты мышей погружали в рабочие растворы средства на 2/3 длины. Опыты проводили ежедневно по 2 часа, в течение 10 дней. Общее токсическое действие при оценке резорбции средства через кожу не было выявлено. У подопытных животных не было отмечено ни клинических проявлений, ни функциональных изменений ряда показателей нервной системы, оцененных

сразу после окончания опыта. Это позволяет сделать вывод об отсутствии кожно-резорбтивного действия средства на организм.

2.7. Оценку сенсибилизирующего действия средства проводили в соответствии с методическими рекомендациями по оценке степени опасности пестицидов МР№01-19/126-17 из руководства Р 4.2.2643-10. Проведенные эксперименты выявили отсутствие признаков ответного раздражающего эффекта по гиперчувствительности замедленного типа. Таким образом, исследованные рабочие растворы не обладают сенсибилизирующей активностью, что позволяет отнести данное средство к малоопасным по сенсибилизирующему эффекту.

2.8. Оценка кумулятивных свойств средства «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма)

При оценке кумулятивных свойств средства при введении в желудок белых крыс $К_{кум}$ оказался равным 6,8, т.е. можно говорить об отсутствии эффекта.

2.9. Исследования острой ингаляционной опасности средства проводили на белых половозрелых беспородных мышах-самках. Статистическая группа составляла 6 особей. Животные отбирались из одной партии. Ингаляционное воздействие летучих компонентов средства «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма) в насыщающих концентрациях не сопровождалось клиническими признаками интоксикации. После окончания экспозиции у мышей оценивали наиболее чувствительные показатели состояния нервной системы (СПП, норковый рефлекс, ВКДА, ГКДА), которые также не имели значимых отклонений от контроля. Полученные результаты позволяют отнести пары изучаемого средства не ниже, чем к 4 классу мало опасных веществ согласно классификации химических веществ по степени летучести.

Оценка острой ингаляционной опасности паров рабочего раствора средства с концентрацией 1,0% выявила, что свободное испарение средства в герметичной камере с животными не приводит к клиническим проявлениям интоксикации. В соответствии с таблицей 4, классификация химических веществ по степени летучести ($С_{20}$) 1,0% рабочий раствор средств по степени ингаляционного воздействия на организм экспериментальных животных можно отнести к 4 группе малоопасных веществ.

Таблица 5. «Классификация химических веществ по степени летучести (С20)»

Класс опасности	Степень опасности и выраженность действия
1 - Чрезвычайно опасное вещество	Насыщающая концентрация вызывает гибель
2 - Высокоопасное	Насыщающая концентрация вызывает отчетливые проявления интоксикации, гибель отсутствует
3 - Умеренно опасное	Насыщающая концентрация вызывает минимальные изменения интегральных показателей при обследовании животных (пороговый уровень)
4 - Малоопасное	Насыщающая концентрация не оказывает токсического действия

2.10. Оценку подострой ингаляционной опасности паров 1,0% рабочего раствора средства проводили по зоне подострого биоцидного действия (Zsubac). Определяли порог подострого действия по лимитирующему показателю и рассчитывают зону подострого биоцидного действия по отношению порога подострого действия к норме расхода (Limsubac/норма расхода). Для определения порога подострого действия оценивали изменение массы тела, состояние нервной системы и периферической крови. По результатам проведенных экспериментов наблюдаемые интегральные показатели были в пределах контрольных (животных содержавшихся в камерах без обработки дезинфицирующим средством). Из полученных данных выявлено, что зона подострого

биоцидного действия составляет >10, следовательно, по классификации ингаляционной опасности дезинфицирующих средств с учетом зоны подострого токсического действия средство в рекомендуемом режиме применения (протирание/орошение) относится к 4 классу мало опасных веществ и разрешается применять в присутствии пациентов.

2.11. Исследования остаточных количеств средства на ИМН после дезинфекции 1,0% раствором средства проводили по гемолитическому действию на эритроциты. Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6. Результаты исследования гемолитического действия остаточных количеств 1,0% раствора средства на ИМН, (%)

Материал ИМН	Время отмыва ИМН под проточной водой в течение		
	Без отмыва	1 мин	3 мин
Металлы, стекло	72,4±6,1	31,8±5,3	1,2±0,3
Резины, пластмасса	83,7±6,8	37,4±5,9	1,4±0,4

Из представленных в таблице 6 данных, следует, что отмыв ИМН проточной водой после очистки 1,0% раствором в течение 1 минуты недостаточно эффективен. Для удаления средства до количеств, вызывающих гемолиз эритроцитов ниже допустимого уровня (2%), необходимо отмывать ИМН не менее трех минут.

3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ВЫВОДЫ

В ходе проведенных экспериментов по оценке острой токсичности и опасности средства дезинфицирующего «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма) (ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО», Россия) можно сделать следующие **выводы:**

1. По параметрам острой токсичности при введении в желудок средство относится к 3 классу умеренно опасных веществ ($ЛД_{50}$ = 3274,5±128,4 мг/кг)
2. По параметрам острой токсичности при нанесении на кожу средство относится к 4 классу мало опасных веществ ($ЛД_{50}$ >2500 мг/кг).
3. При введении в брюшную полость средство относится к 4 классу мало токсичных веществ, согласно классификации К.К. Сидорова ($ЛД_{50}$=519,2±45,7 мг/кг).
4. Концентрат средства «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма) оказывает слабое раздражающее действие при контакте с кожей (4 класс). 1,0% рабочий раствор средства «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма) в условиях однократной и повторных аппликаций вызывает слабое раздражение кожи, что соответствует 4 классу опасности (малоопасное).
5. При контакте с конъюнктивой глаза кролика концентрат средства вызывает умеренное раздражение слизистых оболочек глаза (3 класс). Рабочие растворы в концентрации. 1,0% рабочие растворы средства оказывают слабое раздражение слизистых оболочек глаза.
6. Резорбтивного действия средства в условиях 2-х недельного его испытания «пробирочным» методом на хвостах мышей не выявлено.
7. Сенсибилизирующее действие средства слабо выражено (в тесте ГЗТ). Рабочие растворы средства не оказывают сенсибилизирующего действия.
8. Кумулятивный эффект отсутствует.
9. При ингаляционном воздействии паров средства в насыщающих концентрациях оно может быть отнесено к 4 классу мало опасных веществ по степени летучести.

10. При ингаляционном воздействии средства в виде паров в режиме применения (протирание/орошение) 1,0% рабочий раствор средства может быть квалифицирован как малоопасный (4 класс).

11. Режим отмыва средства с ИМН из различных материалов составляет не менее 3 минут при использовании 1,0% раствора.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изученные показатели безопасности средства «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма) полностью соответствуют «Нормативным показателям безопасности и эффективности дезинфекционных средств, подлежащих контролю при проведении обязательной сертификации» № 01-12/75-97 и «Единым санитарно-эпидемиологическим и гигиеническим требованиям к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)» Раздел 20. «Основные требования к дезинфицирующим, дезинсекционным и дератизационным средствам», утв. Решением Комиссии Таможенного союза от 28.05.2010 №299.

Учитывая результаты исследования степени токсичности и опасности средства, принимая во внимание тот факт, что на территории ЕАЭС, в том числе в Российской Федерации, ранее был зарегистрирован ряд средств на основе аналогичных ДВ, полагаем возможным рекомендовать дезинфицирующее средство «АПРИЛ» (жидкая форма, твердая форма), ООО «АЛЬТЕРХИМ-ПРО» (Россия) к регистрации на территории Таможенного союза без проведения практических испытаний для заявленной области применения как профессиональным контингентом, так и населением в условиях быта.