

ДУ "Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва
Національної академії медичних наук України"
02094, Київ-94, вул. Попудренка, 50
тел. (044) 513-15-28, (044) 292-06-29

Атестат про акредитацію
Національного агентства з акредитації України
№201480 від 11 липня 2023 р.



ЗАТВЕРДЖУЮ

В.о. директора ДУ «ІГЗ НАМНУ»

доктор мед. наук

Михайло РОСАДА

23.08

2023р.

Звіт

про науково-дослідну роботу

ВИЗНАЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ ДІЇ

ДЕЗІНФЕКЦІЙНОГО ЗАСОБУ «ХЛОРАВІС»

№ 063/162 від 18 серпня 2023 р.

(згідно г/д № 1901 від 17.08.2023 р. з ТОВ Інвестиційна компанія «ВІС
КАПІТАЛ»)

Керівник НДР

зав. лабораторії санітарної мікробіології
та дезінфектології, д.мед.н., професор

Олена СУРМАШЕВА

2023

СПИСОК АВТОРІВ

Керівник НДР
зав. Лабораторії санітарної
мікробіології та дезінфектології,
д.мед.н., професор



Сурмашева О. В.

Відповідальний виконавець:

пров.н.с., к.м.н.



Полька О.О.

Виконавці:

с. н. с.



Желуденко Ю.В.

н. с.



Петренко Т. М.

ЗМІСТ

Вступ	4
1. Об'єкти і методи дослідження.....	5
2. Результати дослідження.....	9
Заключення.....	13
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	14

ВСТУП

Дезінфекційний засіб «ХЛОРАВІС» випускають у вигляді білого порошку з помірним запахом хлору.

До складу входить, вміст діючих та допоміжних речовин, мас. %: Натрієва сіль дихлорізоціанурової кислоти – 27,0 - 30,0 (діюча речовина); диспергатор – 9,0 – 12,0; аніонні поверхневоактивні речовини 3,2 – 5,0; інгібітор корозії до 10,0; наповнювач 105.

Замовник: ТОВ «Інвестиційна компанія «ВІС КАПІТАЛ», 096, Україна, Київська обл., Білоцерківський район, смт Рокитне, вул. Піщана, 43

Мета роботи: визначення антимікробної дії дезінфекційного засобу «ХЛОРАВІС», в суспензійному тесті по відношенню до тест-штамів: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 10231 в «чистих» умовах за температури 20 °С за концентрації 0,1% (за препаратом) та експозиції 60 хв; спороцидну активність на спорах *B. subtilis* ATCC 6633 за концентрації 1,0% протягом 90 хв.

1. ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єкт дослідження: Дезінфекційний засіб «ХЛОРАВІС» випускають у вигляді білого порошку з помірним запахом хлору (р. № 162).

1.1 Реагенти та середовища

1.1.1 Тест-культури: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (*S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (*P. aeruginosa*), *Candida albicans* ATCC 10231 (*C. albicans*) та спори *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (*B. subtilis*).

1.1.2 Щільні живильні середовища трипказо-соевий агар (ТСА) та Сабуро агар (СА), щільне поживне середовище МіддлБрук, виробництва "HIMEDIA" (Індія), ростові властивості та стерильність середовищ були перевірені перед початком досліджень.

Ефективність засобу визначали згідно Наказу МОЗ України № 2024 "Про затвердження Методів проведення досліджень специфічної активності, безпечності, якості (ефективності) дезінфекційних засобів та їх випробування на практиці", затверджений 03 вересня 2020 року [1]. Зберігання та приготування тест-штамів для досліджень здійснювали згідно EN 12353:2006 [2].

Основний принцип вказаного стандарту полягає у відновленні життєздатності ліофілізованої культури, перевірці чистоти штаму та його ідентичності, а також створенні запасів культури на тривалий строк завдяки глибокій заморожуванню у морозильній камері за температури мінус $(70,0 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Кількість клітин у вихідній суспензії визначали за оптичною густиною з використанням фотоелектроколориметру (КФК-3) (довжина хвилі біля 620 нм, кювета довжиною 10 мм).

Кількість бактерій та грибів у вихідній суспензії при використанні суспензійного методу становила від $(1,5 \times 10^8)$ до $(5,0 \times 10^8)$ КУО/см³ та $(1,5 \times 10^7)$ до $(5,0 \times 10^7)$ КУО/см³ відповідно.

Посіви тест-штаму грибів інкубували при температурі $(30,0 \pm 1,0)^\circ\text{C}$ від 9 до 11 діб для *A. brasiliensis*.

В якості моделі органічного забруднення використовували інтерферуючу (бичачий сироватковий альбумін – БСА) у концентрації 0,03 % («чисті»).

Визначення антимікробних властивостей засобу проводили кількісним суспензійним методом з використанням положень EN 13727 [3], EN 13624 [4], EN 14348:2005, IDT [5].

Визначення специфічної активності засобу у кількісному суспензійному тесті, передусе його подальшому вивченню в умовах, наближених до практичного застосування.

Принцип кількісного суспензійного методу полягав у тому, що дослідний розчин додавали до суміші робочої суспензії мікроорганізмів на обраний час експозиції 30 с. По закінченні експозиції порцію суміші переносили в нейтралізатор і через 5 хв робили висіви на відповідне щільне живильне середовище.

Паралельно з дослідом ставили обов'язкові контролю, які відображали правильність методології і запобігали отриманню хибнопозитивних або хибнонегативних результатів. Використовували такі контролю:

- контроль кількості мікроорганізмів (КУО/см³) у робочій тест-суспензії (N);
- контроль експериментальних умов (A);
- контроль нейтралізації метода (B);
- контроль ефективності - валідації метода (C).

Кількість мікроорганізмів у робочій тест-суспензії (N) контролювали шляхом висіву на щільне живильне середовище з десятикратних розбавлень 10⁻⁵ і 10⁻⁶.

При проведенні інших вказаних контролів використовували валідаційну суспензію (Nv) з вмістом мікроорганізмів від (3,0×10²) до (1,6×10³) КУО/см³. Контроль А проводили наступним чином: суміш 1 см³ інтерферуючої речовини та 1 см³ валідаційної суспензії витримували протягом 2 хв, потім додавали 8 см³ води та через термін, що відповідав максимальній експозиції у досліді, робили висів на відповідне тверде живильне середовище.

Контроль токсичності нейтралізатора (В) проводили перед початком дослідження.

Контроль валідації методу (С) також проводили перед початком дослідження. Цей контроль є дуже важливим, оскільки він є показником валідації методу і показує чи відбулася нейтралізація. Контроль С проводили з дослідним зразком у найвищій концентрації.

Після інкубації підраховували кількість колоній, які вирости на середовищі, і визначали редукцію.

Облік проводили з чашок, на яких кількість колоній відповідала дозволеним межам для підрахунку: 14 і 330 для дріжджів та 14 і 165 для плісняви колонієутворюючих одиниць (КУО). Якщо кількість КУО на одній чашці була більше 165 (або 330), то результат записували як >165 (>330), якщо менше 14 – то <14 . Нижня межа (14) обумовлена тим, що чим менша кількість колоній, підрахована в пробі (1 см^3), тим більша варіабельність, і, отже, подальший підрахунок може привести до хибних результатів.

Розрахунки проводили за формулами, наданими в Наказі та EN [2, 3, 4].

Концентрацію мікроорганізмів у вихідній тест-суспензії N, значення якої отримували за результатами двох послідовних розведень, розраховували за формулою:

$$N = \frac{c}{(n_1 + 0,1 n_2) 10^{-z}},$$

де c – сума колоній, підрахованих на всіх чашках з двох послідовних розведень, КУО;

n_1 – об'єм проби, що було висіяно з меншого розбавлення, см^3 ;

n_2 – об'єм проби, що було висіяно з більшого розбавлення, см^3 ;

10^{-z} – фактор розбавлення, що відповідає меншому розбавленню (-5).

Розрахунок N_a здійснювали за формулою:

$$N_a = \frac{10c}{n},$$

де c – сума колоній, підрахованих на всіх чашках з двох послідовних розведень, КУО;

n – число прийнятих до уваги повторностей.

Враховували умову, що для результатів, підрахованих шляхом визначення значимих середніх значень двох послідовних розведень (N та N_a), відношення середнього значення двох результатів було не більше 15 і не менше 5.

Отримані значення N , N_a переводили в десяткові логарифми ($\lg$) і визначали логарифм редукції.

В кількісному суспензійному тесті розраховували значення $\lg N_0$ (концентрація мікроорганізмів у дослідній суміші на початку експозиції, яка складає 1/10 підрахованого середнього значення N внаслідок десятикратного розведення при додаванні засобу та інтерферуючої речовини) за наступною формулою:

$$\lg N_0 = \lg N - 1.$$

Редукцію (R) в кількісному суспензійному тесті розраховували як різницю значень $\lg N_0$ та $\lg N_a$.

Контролі та перевірка методології

Облік результатів розпочинали з перевірки контролів на відповідність критеріям. Вважали, що засіб володіє специфічною активністю в заданих умовах у кількісному суспензійному тесті при середній редукції не менше 5 $\lg$ для бактерій, та не менше 4 $\lg$ для грибів, мікобактерій та спор.

2. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Отримані результати представлені в таблицях 1-3.

Таблиця 1 - Результати досліду (бактерицидний суспензійний метод)

Наказ МОЗ України № 2024 від 03.09.2020 р., EN 13727:2012+A2:2015 Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity in the medical area.

Test method and requirements

Назва засобу «ХЛОРАВІС»

Серія: не наведена

Виробник: ТОВ Інвестиційна компанія «ВІС КАПІТАЛ».

До складу засобу входить: Натрієва сіль дихлорізоціанурової кислоти – 27,0 - 30,0 (діюча речовина); диспергатор – 9,0 – 12,0; аніонні поверхневоактивні речовини 3,2 – 5,0; інгібітор корозії до 10,0; наповнювач 105.

Кількість чашок: 2 /см³

Нейтралізатор: Тіосульфат натрію 2,0%.

Розчинник, що використовувався для розведення засобу: дистильована вода

Зовнішній вигляд дезінфекційного засобу: білий порошок.

Температура в досліді: (20,0 ± 1,0) °C

Інтерферуюча субстанція: 0,03 % БСА

Тест-мікроорганізм: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

Температура інкубації: (37,0 ± 1,0) °C 24 – 48 год.

Дата досліді 16.08.2023

Валідація і контролю

Валідаційна суспензія (N _{vo})			Контроль умов експерименту (A)			Контроль токсичності нейтралізатора або фільтрації (B)			Валідація методу (C) Концентрація засобу: 0,1%		
Vc1	25 + 27	$\bar{x}=52$	Vc1	26 + 19	$\bar{x}=45$	Vc1	28 + 20	$\bar{x}=48$	Vc1	21 + 23	$\bar{x}=45$
Vc2			Vc2			Vc2			Vc2		
30 ≤ $\bar{x}$ N _{vo} ≤ 160 ? ☒ так ☐ ні			$\bar{x}$ A ≥ 0,5 · $\bar{x}$ N _{vo} ? ☒ так ☐ ні			$\bar{x}$ B ≥ 0,5 · $\bar{x}$ N _{vo} ☒ так ☐ ні			$\bar{x}$ C ≥ 0,5 · $\bar{x}$ N _{vo} ? ☒ так ☐ ні		

Дослід

Тест-суспензія (N):	N	Vc1	Vc2	$\bar{x}$ wm = 188 · 10 ⁶ ; lg N = 8,27 N ₀ = N/10; lg N ₀ = 7,27 7,17 ≤ lg N ₀ ≤ 7,70 ☒ так ☐ ні
	10 ⁻⁷	183		
	10 ⁻⁷	24		

Концентрація засобу 0,1% (за препаратом)	Етапи розбавлення	Підрахунок на чашках	Vc1	Vc2	Na = ($\bar{x}$ або $\bar{x}$ wm · 10)	lg Na	lg R (lg N ₀ = 7,27)	Термін контакту (хвилини)
0,1%	10 ⁰	0 + 0	<14		<140	<2,15	>5,12	30
	10 ⁻¹	0 + 0	<14					
	10 ⁻²	0 + 0	<14					

Встановлено, що 0,1% розчин зразку дезінфекційного засобу «ХЛОРАВІС» за умови експозиції 30 хвилин проявляв бактерицидну активність до тест-штаму *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (lg R > 5,12).

Таблиця 3 - Результати дослід (дріжджецидний суспензійний метод)

Наказ МОЗ України № 2024 від 03.09.2020 р., EN 13624.

Назва засобу «ХЛОРАВІС»

Серія: не наведена

Виробник: ТОВ Інвестиційна компанія «ВІС КАПІТАЛ».

До складу засобу входить: Натрієва сіль дихлорізоціанурової кислоти – 27,0 - 30,0 (діюча речовина); диспергатор – 9,0 – 12,0; аніонні поверхневоактивні речовини 3,2 – 5,0; інгібітор корозії до 10,0; наповнювач 105.

Кількість чашок: 2 /см³

Нейтралізатор: Тіосульфат натрію 2,0%.

Розчинник, що використовувався для розведення засобу: дистильована вода

Зовнішній вигляд дезінфекційного засобу: білий порошок.

Температура в досліді: (20,0 ± 1,0) °C

Інтерферуюча субстанція: 0,03 % БСА

Тест-мікроорганізм: *Candida albicans* ATCC 10231.

Температура інкубації: (37,0 ± 1,0) °C 24 – 48 год

Дата досліді 16.08.2023

Валідація та контролю

Валідаційна суспензія (Nvo)			Контроль умов експерименту (A)			Контроль токсичності нейтралізатору або фільтрації (B)			Валідація методу (C) концентрація засобу: 0,1%		
Vc1	23+26	$\bar{x}=49$	Vc1	20+23	$\bar{x}=43$	Vc1	28+27	$\bar{x}=55$	Vc1	31+28	$\bar{x}=59$
Vc2			Vc2			Vc2			Vc2		
30 ≤ $\bar{x}$ Nvo ≤ 160			$\bar{x}$ A ≥ 0,5 · $\bar{x}$ Nvo			$\bar{x}$ B ≥ 0,5 · $\bar{x}$ Nvo			$\bar{x}$ C ≥ 0,5 · $\bar{x}$ Nvo		
☒ так ☐ ні			☒ так ☐ ні			☒ так ☐ ні			☒ так ☐ ні		

Дослід

Тест-суспензія (N):		N		Vc1	Vc2	$\bar{x}$ wm = 192 x 10 ⁵ ; lgN=7,28 $N_0 = N/10$; lgN ₀ = 6,28 $6,17 \leq \lg N_0 \leq 6,70$ ☒ так ☐ ні				
		10 ⁻⁵		179	203					
		10 ⁻⁶		21	20					
Концентрація засобу (0,1%)	Етапи розведення	Підрахунок на чашках	Vc1	Vc2	Na = ($\bar{x}$ або $\bar{x}$ wm · 10)	lg Na	lg R (lgN ₀ = 6,28)	Термін контакту		
0,1%	10 ⁰	2+1	<14		<140	<2,15	>4,13	30 хвилин		
	10 ⁻¹	0+0	<14							
	10 ⁻²	0+0	<14							

Встановлено, що 0,1% розчин зразку дезінфекційного засобу «ХЛОРАВІС» за умови експозиції 30 хвилин проявляв дріжджецидну активність (lg R>4,13).

Таблиця 4 - Результати тесту (кількісний суспензійний спороцидний тест)

Наказ МОЗ України № 2024 від 03.09.2020 р., EN 17126

Назва засобу «ХЛОРАВІС»

Серія: не наведена

Виробник: ТОВ Інвестиційна компанія «ВІС КАПІТАЛ».

До складу засобу входить: Натрієва сіль дихлорізоціанурової кислоти – 27,0 - 30,0 (діюча речовина); диспергатор – 9,0 – 12,0; аніонні поверхневоактивні речовини 3,2 – 5,0; інгібітор корозії до 10,0; наповнювач 105.

Кількість чашок: 2 /см³

Нейтралізатор: Тіосульфат натрію 2,0%.

Розчинник, що використовувався для розведення засобу: дистильована вода

Зовнішній вигляд дезінфекційного засобу: білий порошок.

Температура в досліді: (20,0 ± 1,0) °C

Інтерферуюча субстанція: 0,03 % БСА

Тест-мікроорганізм: *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (спори)

Температура інкубації: (37,0 ± 1,0) °C 24- 48 год

Дата досліду 25.07.2023

Валідація і контролю

Валідаційна суспензія (Nvo)			Контроль умов досліду (A)			Контроль токсичності нейтралізатора (B)			Валідація методу (C) Концентрація засобу: 1,0 %		
Vc1	42+46	$\bar{x}=88$	Vc1	41+57	$\bar{x}=98$	Vc1	43+54	$\bar{x}=97$	Vc1	43+54	$\bar{x}=98$
Vc2			Vc2			Vc2			Vc2		
$30 \leq \bar{x} Nvo \leq 160$ ☒ так ☐ ні			$\bar{x} A \geq 0,5 \cdot \bar{x} Nvo$ ☒ так ☐ ні			$\bar{x} B \geq 0,5 \cdot \bar{x} Nvo$ ☒ так ☐ ні			$\bar{x} C \geq 0,5 \cdot \bar{x} Nvo$ ☒ так ☐ ні		

Дослід

Тест-суспензія (N):	N	Vc1	Vc2	$\bar{x} wm = 248 \times 10^6$; $\lg N = 7,39$ $N_0 = N/10$; $\lg N_0 = 6,39$ $6,17 \leq \lg N_0 \leq 6,70$ ☒ так ☐ ні
	10 ⁻⁵	247		
	10 ⁻⁶	26		

Концентрація засобу 1,0% (за препаратом)	Етапи розведення	Подсчет на чашках	Vc1	Vc2	Na ($\bar{x}$ або $\bar{x} wm \cdot 10$)	lg Na	lg R ($\lg N_0 = 6,39$)	Час контакту
1,0 %	10 ⁰	0,0	<14	<14	<140	<2,15	4,24	60 хвилин
	10 ⁻¹	0,0	<14	<14				
	10 ⁻²	0,0	<14	<14				

Встановлено, що 1,0% розчин дезінфекційного засобу «ХЛОРАВІС» за умови експозиції 90 хвилин в «чистих» умовах проявляв спороцидну активність ($\lg R > 4,24$).

ЗАКЛЮЧЕННЯ

Проведені експериментальні дослідження методами згідно Наказу МОЗ України № 2024 від 03.09.2020 р. демонструють, що дезінфекційний засіб «ХЛОРАВІС» за його застосування є ефективним дезінфектантом стосовно знезараження від бактерій, мікроскопічних грибів, мікобактерій та спор.

У суспензійному тесті 0,1 % розчин дезінфекційного засобу «ХЛОРАВІС» по відношенню до грамнегативних та грампозитивних бактерій (тест-штамів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027), дріжджеподібних грибів (*Candida albicans* ATCC 10231) в «чистих» умовах за температури 20 °C за експозиції 30 хвилин досягається бактерицидна ($\lg R > 5,11-5,12$) та дріжджецидна дія ($\lg R > 4,13$). Встановлено, що 1,0% розчин дезінфекційного засобу «ХЛОРАВІС» за умови експозиції 90 хвилин в «чистих» умовах проявляв спороцидну активність ($\lg R > 4,24$).

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Наказ МОЗ України № 2024 "Про затвердження Методів проведення досліджень специфічної активності, безпечності, якості (ефективності) дезінфекційних засобів та їх випробування на практиці", затверджений 03 вересня 2020 року.
2. EN 12353:2006 EN 12353 Chemical disinfectants and antiseptics – Preservation of microbial strains used for the determination of bactericidal and fungicidal activity.
3. EN 13727 Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity for instruments used in medical area – Test method and requirements.
4. EN 13624 Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal activity for instruments used in medical area – Test method and requirements.

В звіті пронумеровано та прошнуровано
14 аркушів

Завідуюча лабораторією мікробіології
та дезінфекції
О.В. Промашева

« 23 » 08 2013 р.

