

ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ КОМПОЗИЦИЙ
В ОТНОШЕНИИ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И
ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

**С. А. МЕЛИКЯН¹, С. А. ОВАКИМЯН², А. В. БАБАХАНИЯН,
Ж. Р. БАБАЯН²**

¹Армянский государственный педагогический университет
им. Х. Абовяна, 0010, Ереван, пр. Тигран Меци 17
e-mail: stella.melikyan@mail.ru

²НИИ эпидемиологии, вирусологии и медицинской паразитологии
им. А.Б. Алексаняна МЗ Республики Армения, 0060, Ереван, ул. Худякова 1
e-mail: melikandreasyan@mail.ru

Поступила в редакцию 10 декабря 2013г.

Проблема микробного загрязнения объектов окружающей среды требует создания новых эффективных бактерицидных средств широкого спектра действия. С этой целью получены и изучены новые 21 композиции, содержащие в составе витамин С, катионное поверхностно-активное вещество катамин АБ и пероксид водорода в сочетании с хлоридом меди(II). Установлена антимикробная активность композиций в отношении эталонных штаммов кишечной палочки (шт. 1257) и золотистого стафилококка (шт. 906). Выявлена зависимость бактерицидного действия от процентного содержания компонентов. Полученные результаты свидетельствуют, что наряду со снижением активно действующих концентраций витамина С и пероксида водорода гибель изученных микроорганизмов наступает быстрее. Показана перспективность применения изученных соединений в составе дезинфицирующих средств.

Ключевые слова: патогенные и условнопатогенные микроорганизмы, чувствительность, дезинфицирующие средства,

четвертичные аммониевые соединения, пероксид водорода, витамин С, бактерицидная активность, грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы

В настоящее время при решении задач по гарантированной санитарной обработке потенциальных источников микробного загрязнения объектов окружающей среды, а также достижения и поддержания асептических условий, важная роль принадлежит дезинфицирующим мероприятиям с использованием бактерицидных веществ. Проблема микробного загрязнения, связанна с массовым размножением на антропогенных субстратах или средах необычно большого количества микроорганизмов и приобретения ими патогенных свойств. Для обоснованного и эффективного создания указанных средств необходимо в первую очередь знать качественные и количественные характеристики потенциальных источников патогенной микрофлоры, видовой состав и концентрацию микроорганизмов.

Известно, что поверхностно-активные вещества (ПАВ) способны подавлять факторы патогенности бактерий, что определяет целесообразность их применения в борьбе с резистентными формами патогенных и условнопатогенных возбудителей инфекций. Антимикробная активность ПАВ обусловлена наличием в структуре определенных молекулярных подструктур- фармакофоров.

Использование для этих целей поверхностно-активных четвертичных аммониевых соединений (ЧАС) вызвано их выраженной бактерицидной активностью и вполне оправдано с учетом проявления эффекта повышения проницаемости клеточных мембран под действием различных концентраций и времени воздействия. Большинство ЧАС получают с хорошими выходами, их водные растворы проявляют бактерицидную активность в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов [1] и в сочетании с веществами, приводящими к усилению действия, могут найти применение в качестве эффективных дезинфицирующих средств [2].

Эффективность проводимых дезинфекционных мероприятий резко снижается в связи с возникновением и увеличением

хлораминорезистентных форм микроорганизмов.

Возникновение резистентности определяют как появление субпопуляции микроорганизмов для которых минимальная бактерицидная концентрация, вызывающая гибель бактерий через определенный период времени приостанавливает рост микроорганизмов, выше, чем для исходного штамма. Микроорганизмы могут стать устойчивыми к антибактериальным препаратам в результате мутации, трансдукции, переноса генетического материала или генной индукции.

Проведенные за последние годы исследования выявили высокий процент устойчивых и среднеустойчивых к хлорамину штаммов в популяциях микроорганизмов, циркулирующих на территории Армении [3].

В борьбе с резистентными патогенными и условно-патогенными возбудителями инфекций могут быть успешно использованы катионные ПАВ, которые обладают сильными мембранотропными свойствами.

Известный дезинфицирующий препарат катамин АБ, широко применяемый в медицинской практике, в зависимости от концентрации является ингибитором β -лактамазы или оказывает влияние на проницаемость клеточных стенок бактерий.

С учетом представленных данных и с целью борьбы с резистентностью микроорганизмов интерес представляет создание многокомпонентных антимикробных средств. Вполне удовлетворительные результаты получены, в частности, описанные в литературе бактерицидные средства на основе витамина С и пероксида водорода (ПВ). Повышение активности в бактерицидных растворах проявляется вследствие каталитического распада в водной среде ПВ – источника свободных радикалов.

Установлено, что эффективность действия бактерицидных средств может быть усилена за счет введения металлов переменной валентности и создания композиций с использованием ПАВ различного строения.

Объектом исследования служили эталонные штаммы кишечной палочки (шт. 1257) и золотистого стафилококка (шт. 906). Антимикробную активность композиций 1 - 21 определяли методом обеззараживания батистовых тест – объектов размером 5×10 мм,

обсемененных взвесью микробной культуры, приготовленной на стерильной водопроводной воде, содержащей 2 млрд. микробных клеток в 1 мл, из расчета 20 мл суспензии на 50 штук батистов. В опытах использовали бактерии в виде суспензии суточных культур. Контаминированные тест – объекты, подвергнутые воздействию дезинфицирующей композиции (из расчета на каждый тест – объект 0.5 мл раствора), после истечения определенного времени (5, 10, 15, 20, 25 и 30 минут) отмывали в растворе нейтрализатора (0.1 % раствор сульфанола), стерильной водопроводной воде и помещали в пробирки с мяско пептонным бульоном. Посевы с культурами бактерий выращивали в термостате при температуре 37°C в течение 7 суток. О наличии роста судили по помутнению бульона. Окончательные результаты учитывали после высева на твердые питательные среды и микроскопирования мазков, приготовленных с проросших колоний.

В целях повышения долговечности изделий в процессе их эксплуатации наряду с высокотемпературной обработкой весьма важно осуществление стерилизации и дезинфекции при низких температурах с применением химических веществ, в частности пероксидов [4,5]. Бактерицидное действие безвредного в экологическом отношении и широко применяемого в медицине ПВ (3% водный раствор) в отношении кишечной палочки и золотистого стафилококка проявляется при экспозициях 25 и 30 минут соответственно.

Таблица 1

Бактерицидная активность композиций на основе ПВ, витамина С и ионов меди(II)

Ком- по- зиции	Состав компонентов	Концентрации компонентов, %	Время гибели микроорганизмов, минут	
			Кишечная палочка	Золотистый стафилококк
1	ПВ Витамин С	3 3	10	15
2	ПВ Витамин С	1.5 1.5	15	25

3	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O	1.5 1.5 1.5	10	15
4	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O	1.5 1.5 1	10	15
5	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O	1.5 1.5 0.5	5	5
6	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O	1.5 1.5 0.1	15	15
7	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O	0.75 0.75 1	15	20
8	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O	0.75 0.75 0.5	10	10
9	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O	0.75 0.75 0.1	20	20
10	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O	0.375 0.375 1	20	25
11	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O	0.375 0.375 0.5	15	20
12	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O	0.375 0.375 0.1	25	25
13	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O	0.187 0.187 1	30	>30
14	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O	0.187 0.187 0.5	25	30
15	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O	0.187 0.187 0.1	>30	>30

Таблица 2

Бактерицидная активность композиций на основе ПВ, витамин С, ионов меди(II) и катамина АБ

Ком- по- зиции	Состав компонентов	Концентрации компонентов, %	Время гибели микроорганизмов, минут	
			Кишечная палочка	Золотистый стафилококк
16	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O Катамин АБ	0.75 0.75 0.5 0.025	10	10
17	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O Катамин АБ	0.75 0.75 0.5 0.01	20	20
18	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O Катамин АБ	0.375 0.375 0.5 0.025	15	15
19	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O Катамин АБ	0.375 0.375 0.5 0.01	25	25
20	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O Катамин АБ	0.187 0.187 0.5 0.025	15	20
21	ПВ Витамин С CuCl ₂ · 2H ₂ O Катамин АБ	0.187 0.187 0.5 0.01	30	30

Учитывая результаты ранее проведенных исследований [6, 7] и с целью получения новых бактерицидных средств нами изучены антимикробная активность композиций 1-15 в составе витамина С и ПВ, катализируемого ионами меди (II), а также 16-21 с добавлением ПАВ-катамина АБ.

Полученные экспериментальные результаты (табл. 1, 2) свидетельствуют о проявлении бактерицидного действия

полученных композиций в отношении эталонных штаммов кишечной палочки (шт. 1257) и золотистого стафилококка (шт. 906). Время гибели микроорганизмов находится в зависимости от процентного содержания компонентов в составе композиций. Из данных, приведенных в табл. 1 следует, что добавление хлорида меди (II) к ПВ (в сочетании с витамином С) вызывало повышение антимикробной активности. При сравнении полученных результатов изучения композиций 6 и 12 (табл. 1) следует, что при разведении растворов основных компонентов в 4 раза время гибели указанных микроорганизмов наступает в течение 25 минут, а по сравнению с 3% раствором ПВ действие композиций 8 (табл. 1) и 16 (табл. 2) наступает соответственно в 2.5 и 3 раза быстрее.

Введение в состав композиций катамина АБ сказывается на антимикробном действии. Как видно из данных, приведенных табл. 2 в случае композиции 19 наблюдается некоторое усиление активности. Следует учесть, что катамин АБ в концентрации 0.01% не оказывает бактерицидного действия в течение 30 минут. Усиление антимикробной активности выявлено в случае композиции 16 (табл. 2). Установлено, что наряду со снижением активно действующих концентраций витамина С и ПВ гибель кишечной палочки и золотистого стафилококка наступает в течение 10 минут.

Проведенные исследования показали перспективность применения изученных соединений в дезинфицирующих средствах с целью усиления их бактерицидного действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабахаян А.В. Ученые записки АГПУ им. Х. Абовяна, 2012, N 2 (17) с. 14-21.
2. А.В. Бабахаян, Ю.Т. Алексанян, М.О. Манукян, Ж.Р. Бабаян Актуальные вопросы эпидемиологии инфекционных болезней, Материалы научно-практич. конф. с международным участием, Ереван, 2009, с. 22-24.
3. Ж.Р. Бабаян, Ю.Т. Алексанян, А.В. Маргарян, А.Э. Казарян, А.В. Бабахаян, Мед. наука Армении НАН РА, N 2, 72 (2011), с. 72-76.

4. Бабаян Ж.Р., Бабаханян А.В., Тавадян Л.А., Матер. 2-ой Российской науч.конф. с международным участием, М., 1999, с. 30.
5. Navid Omidbakhsh American Journal of Infection Control, 2006, vol.34, iss.9, pp.571-577.
6. А.В. Бабаханян, М.О. Манукян, Ж.Р. Бабаян, Ю.Т. Алексанян, А.В. Маргарян, А.Э. Казарян, Мед. наука Армении НАН РА, 2014, т. 54, N 1, с. 46-54.
7. Бабаханян А.В., Овакимян С.А., Бабаян Ж.Р., Алексанян Ю.Т., Казарян А.Э., Маргарян А.В., Актуальные вопросы эпидемиологии, Материалы научно-практич. конф. с международным участием, Ереван, 2013, с. 76-78.

ԱՄՓՈՓՈՒՄ

ՀԱՄԱԽԱՌՆՈՒՐԴՆԵՐԻ ՀԱԿԱՍԱՆՐԷԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ԳՐԱՄԴՐԱԿԱՆ ԵՎ ԳՐԱՄԲԱՑԱՍԱԿԱՆ ՄԻԿՐՈՐԳԱՆԻԶՄՆԵՐԻ ՆԿԱՏՄԱՍԲ *Ս.Ա.ՍԵԼԻԲՅԱՆ, Ս.Ա.ՀՈՎԱԿԻՄՅԱՆ, Ա.Վ.ԲԱԲԱՅԱՆՅԱՆ, Ժ.Ռ.ԲԱԲԱՅԱՆ*

Շրջակա միջավայրի օբյեկտների մանրէային աղտոտվածության ինդիքը պահանջում է լայն ազդեցության սպեկտրով օժտված նոր արդյունավետ մանրէասպան միջոցների ստեղծում: Այդ նպատակով ստացվել և ուսումնասիրվել են նոր 21 համախառնություններ, որոնք պարունակում են վիտամին C, կատիոնային մակերևութային ակտիվ նյութ՝ կատամին ԱԲ և ջրածնի պերօքսիդ՝ պղնձի (II) քլորիդի համադրությամբ: Հաստատված է համախառնությունների հակամանրէային ակտիվությունը աղիքային ցուպիկի (շտ. 1257) և ոսկեգույն ստաֆիլոկոկի (շտ. 906) էտալոնային շտամների նկատմամբ: Բացահայտված է մանրէասպան ազդեցության կախվածությունը բաղադրիչների տոկոսային պարունակությունից: Ստացված տվյալները վկայում են, որ վիտամին C-ի և ջրածնի պերօքսիդի ակտիվ գործող կոնցենտրացիաների իջեցմանը

զուգընթաց ուսումնասիրվող միկրոօրգանիզմների ոչնչացման ժամանակը կրճատվում է: Ցույց է տրված, որ ուսումնասիրվող միացությունները հեռանկարային են նոր ախտահանիչ միջոցների ստեղծման համար:

SUMMARY
STUDY OF ANTIMICROBIC ACTIVITY OF COMPOSITIONS IN
RESPECT TO GRAM POSITIVE AND GRAM NEGATIVE
MICROORGANISMS

S.A.MELIKYAN, S.A. HOVAKIMYAN, A.V.BABAKHANYAN,
ZH.R.BABAYAN

The problem of microbic pollution of the objects of the environment requires the creation of new effective bactericidal substances of wide spectrum of action. With this aim new 21 compositions, containing vitamin C in its compound, cation surface-active substance AB and hydrogen peroxide in combination with copper chloride have been obtained and studied. Antimicrobial activity of compositions in respect to standard strains of *Escherichia coli*(st. 1257) and *Staphylococcus aureus*(st. 906) has been established. The dependence of bactericidal action on percent content of the components, has been revealed. The obtained data testify that side by side with the reduction of active acting concentrations of vitamin C and hydrogen peroxide the destruction of studied microorganisms begins faster. The perspective of the usage of studied combinations in disinfectants has been shown.