

УДК 579:[612.79.015:611.976]:543.856

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РУК РАЗЛИЧНЫМИ СОРТАМИ КУСКОВОГО МЫЛА

Ю. В. Атанасова

старший преподаватель

Гомельский государственный медицинский университет

Е. И. Дегтярева

кандидат биологических наук, доцент

Гомельский государственный медицинский университет

В. А. Никифоренко

студент

Гомельский государственный медицинский университет

В ходе бактериологического исследования выявлено, что при использовании кускового мыла сразу после мытья рук имело место незначительное снижение, а в некоторых случаях увеличение количества микроорганизмов, составляющих микрофлору кожи рук. При массовом использовании кускового мыла для гигиенической обработки рук доказана возможность его контаминации микрофлорой, которая находилась на коже рук использовавших его людей. Показано, что при использовании кускового мыла, для предупреждения его контаминации микроорганизмами, его нужно применять в виде маленьких фрагментов для однократного индивидуального использования.

Ключевые слова: гигиеническая обработка рук, кусковое мыло, колонеобразующие единицы, минимальная подавляющая концентрация, *staphylococcus aureus*, *escherichia coli*, *pseudomonas aeruginosa*.

Введение

В современном мире невозможно сохранить свое здоровье без регулярной гигиенической обработки рук: именно через руки большинство болезнетворных микробов может попасть в организм человека.

Интактная кожа человека, даже тщательно вымытая, колонизирована различными микроорганизмами, которые образуют постоянную (резидентную) микрофлору. Ее состав варьирует в зависимости от части тела, возраста, пола, влажности, температуры, гигиенического состояния кожи, а также от времени года. Резидентная (собственная) микрофлора представлена преимущественно коагулазонегативными кокками (прежде всего *Staphylococcus epidermidis*) и дифтероидами (*Corinebacterium spp.*). Численность резидентной микрофлоры кожи составляет примерно 10^2 - 10^3 микробных клеток на 1 см^2 . Около 80–90% постоянных микроорганизмов находятся в поверхностных слоях кожи и примерно 10–20% из них могут находиться в дерме, преимущественно в сальных и потовых железах, волосяных фолликулах (глубокая микро-

© Атанасова Ю.В., 2015

© Дегтярева Е.И., 2015

© Никифоренко В.А., 2015

флора). Резидентная микрофлора достаточно важна для иммунитета, так как, с одной стороны, она стимулирует образование антител и, с другой стороны, придает коже сопротивляемость к колонизации на ней других микроорганизмов, так как она продуцирует свободные жирные кислоты, которые обладают бактерицидным действием [1]. Микрофлора кожи представлена не только постоянными (резидентными), но и временными (транзиторными) микроорганизмами. Наличие транзиторной микрофлоры является результатом контакта кожи с внешней средой. Транзиторная микрофлора (кишечные палочки, клебсиеллы, псевдомонады, сальмонеллы, золотистый стафилококк, дрожжеподобные грибы, синегнойная палочка, ротавирусы и др.), попав на кожу, сохраняется на руках не более 24 часов и может быть легко удалена с помощью обычного мытья рук или обработки антисептиками [2].

Мыло – один из самых распространенных антисептиков для обработки рук. Моющая способность мыла зависит от величины его поверхностной активности и значения рН. Резидентные микроорганизмы практически невозможно полностью удалить или уничтожить с помощью обычного мытья рук или даже антисептических процедур, хотя их численность при этом может быть значительно снижена. Полное удаление микроорганизмов с поверхности кожи рук не только невозможно, но и нежелательно: нормальная микрофлора препятствует колонизации кожи другими, гораздо более опасными микроорганизмами, прежде всего грамотрицательными бактериями.

Проблема выбора и эффективного использования кускового мыла для гигиенической обработки рук является и на данный момент актуальной.

Цель исследования: оптимизировать применение кускового мыла как дезинфицирующего средства с целью повышения эффективности управления эпидемическим процессом инфекций.

Научной новизной данной работы является, то, что впервые была изучена МПК различных сортов мыла отечественного и зарубежных производителей для условно-патогенных микроорганизмов.

Объект исследования. Объектом исследования данной работы являются различные сорта кускового мыла отечественного и зарубежного производства, применяемые для гигиенической обработки рук. В ходе наших исследований были изучены сорта мыл, которые сведены в таблицу 1 [3].

Таблица 1 – Различные сорта кускового мыла отечественного и зарубежного производства

№	Наименование	Производство
1	Хозяйственное “Блестер”	Гомельский ЖК, РБ
2	Greenelle Ag+ (Аргентум)	Гомельский ЖК, РБ
3	“Нарцисс”	Гомельский ЖК, РБ
4	“Детское”	Гомельский ЖК, РБ
5	“Земляничное”	Гомельский ЖК, РБ
6	“Цветочное”	Гомельский ЖК, РБ
7	“Хвойное”	Гомельский ЖК, РБ
8	“Антибактериальное”	Гомельский ЖК, РБ
9	“Фруктовое”	Гомельский ЖК, РБ
10	“Palmolive Naturals”	Турция
11	Болгарское ручной работы	Болгария
12	“Safeguard Nature”	Россия
13	“Yves rocher” (ив роше)	Франция

Вышперечисленные сорта мыла были приобретены в объектах розничной торговли г. Гомеля. Исследования по изучению бактерицидных свойств данных сортов мыла производились на базе учебной лаборатории кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии УО “Гомельский государственный медицинский университет”.

Методы исследования

Определение количества КОЕ микрофлоры кожи рук

Для изучения количества КОЕ резидентной и транзитной микрофлоры кожи рук нами был использован метод отпечатков. С этой целью мы использовали бакпечатки с питательным агаром (ПА ГРМ-агар). Бакпечатки представляют собой модифицированный вариант стандартных чашек Петри. Они позволяют получить лучшие по сравнению с обычными чашками Петри результаты, причем с меньшими трудозатратами. Бакпечатки применяются для контроля микробной загрязненности в лечебно-профилактических учреждениях, в фармацевтической и косметической промышленности, в пищевой, молочной и мясной промышленности, их можно использовать в санитарной и ветеринарной микробиологии и т. д.

Бакпечатки были изготовлены из двойного слоя стерильной медицинской марли фрагментами диаметром 4 см, которые заливали стерильным питательным агаром.

Технические характеристики бакпечатки:

- материал – двухслойная медицинская марля;
- диаметр рабочей поверхности бакпечатки, см – 4,0;
- объем питательной среды, мл – 2,5.

Стерилизация питательных сред, марли – автоклавирование, режим 1 атм, 121°C, время экспозиции – 40 мин. Стерилизация чашек Петри – сухожаровой шкаф, основной режим – 170°C, время экспозиции – 20 мин. Сразу после заливания бакпечатки были помещены в стерильные чашки Петри.

Было обследовано 80 студентов 2 курса лечебного и медико-диагностического факультетов. В ходе эксперимента было сформировано 8 групп по 10 студентов в каждой, использовалось 8 наименований кускового мыла, произведенных на ОАО “Гомельском жировом комбинате” (РБ). Исследовалась кожа рук в области тыльной стороны ладони. Посев производился методом отпечатков до мытья рук и после мытья рук. Посевы производились двумя бакпечатками с кожи руки до и после гигиенической обработки соответственно.

Бакпечатку стерильным пинцетом прижимали к поверхности кожи, время ее экспозиции на коже составляло 20 сек, после чего бакпечатки помещали в чашки Петри и культивировали в термостате 24–48 часов при температуре 37°C.

Для определения числа КОЕ резидентной микрофлоры кожи рук студентов было подсчитано количество колоний выросших микроорганизмов на ПА ГРМ-агаре до и после мытья кусковым мылом (рисунок 1).



Рисунок 1 – Чашки Петри с колониями на бакпечатках (ПА ГРМ-агаре) до и после гигиенической обработки рук кусковым мылом

Определение поверхностного натяжения и рН различных наименований кускового мыла

Для определения поверхностного натяжения и рН различных наименований кускового мыла сотрудниками кафедры общей и биоорганической химии были использованы следующие методики:

а) для измерения поверхностного натяжения: готовилась серия проб: 0,1 г, 0,2 г, 0,3 г на 150 мл дистиллированной воды и измерялась с помощью сталагмометрического метода поверхностное натяжение раствора исследуемого мыла.

Для определения поверхностного натяжения использовался сталагмометром Траубе. Раствор мыла набирался немного выше верхней кольцевой метки, затем свободно вытекал, и подсчитывалось количество капель, образующихся при вытекании отмеченного на сталагмометре объема (от верхней до нижней метки), и по формуле (1) определяют поверхностное натяжение

$$\sigma = \sigma(H_2O) \cdot \frac{n(H_2O)}{n}, \quad (1)$$

где $\sigma(H_2O)$ – поверхностное натяжение воды,

$\sigma(H_2O) = 72,75 \text{ мН/м}$ ($72,75 \cdot 10^{-3} \text{ Н/м}$ или $72,75 \cdot 10^{-3} \text{ Дж/м}^2$);

n и $n(H_2O)$ – число капель исследуемого раствора мыла и воды.

После расчета поверхностного натяжения данного образца мыла, строился график зависимости поверхностного натяжения мыла от концентрации раствора. Затем графически определялось поверхностное натяжение исследуемого мыла.

б) Для измерения рН: готовился раствор мыла 0,2 г / 150 мл дистиллированной воды, с помощью рН-метра измерялась рН раствора мыла.

Определение МПК различных сортов кускового мыла

Для определения минимальной подавляющей концентрации различных сортов кускового мыла отечественного и зарубежного производства был использован метод двукратных серийных разведений.

Вначале готовили исходное разведение исследуемого мыла – 1/100 с последующим автоклавированием. Затем производили двукратные разведения мыла в МПБ от 1/100 до 1/3200. Для этого в стерильные пробирки, кроме 1-й, наливали по 5 мл МПБ и автоклавировали в режиме 1 атм, 121°C, время экспозиции 40 мин. Затем в 1-ю и 2-ю пробирки вливали 5 мл основного разведения исследуемого мыла. Из 2-й пробирки, в которой объем и разведение мыла увеличились в 2 раза, 5 мл содержимого переносили в 3-ю, из 3-й в 4-ю и т.д. до последней, из которой 5 мл выливали для уравнивания объемов. Было приготовлено по три ряда двукратных разведений для каждого сорта мыла, соответственно, так как МПК определялось в отношении трех видов индикаторных культур.

Для приготовления инокулюма тест-культур использовали чистые суточные бактериальные культуры *E. coli*, *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, выращенные на скошенном ПА ГРМ-агаре. В центрифужную пробирку с 5 мл изотонического раствора хлорида натрия стерильным хлопковым тампоном вносили необходимое количество бактериальной культуры до оптической плотности 0,5 по МакФарланду (контроль с помощью денситометра), соответствующей $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл.

Вносили приготовленный инокулюм соответствующей культуры в объеме 20 мкл в каждое разведение исследуемого сорта мыла и инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 24 ч.

Учет МПК различных сортов мыла в отношении индикаторных культур производили на пластинчатой среде Мюллер-Хинтон. Из каждой пробирки двукратных разведений производили забор содержимого в объеме 20 мкл и делали посев на пластинчатую питательную среду в соответствующие сектора. Чашки Петри помещали в термостат вверх дном и инкубировали при температуре 37°C в течение 24-48 часов.

О МПК исследуемых сортов мыла судили по минимальному разведению мыла, которое подавляет рост индикаторной культуры на пластинчатой питательной среде (рисунок 2). Минимальная подавляющая концентрация мыла вызывает полное подавление заметного невооруженным глазом роста индикаторных культур на пластинчатых питательных средах в стандартных для них условиях.

Рисунок 2 – Учет МПК различных сортов мыла в отношении индикаторных культур на среде Мюллер-Хинтон



Данные, полученные в ходе микробиологических исследований, были обработаны с помощью программы Microsoft Office Excel 2007.

Уровень антимикробной активности различных наименований мыла рассчитывали по формуле 2

$$R = \log(N_K / N_T), \quad (2)$$

где R – уровень антимикробной активности;

N_K – среднее число колонеобразующих единиц микрофлоры кожи рук до их мытья кусковым мылом;

N_T – среднее число колонеобразующих единиц микрофлоры кожи рук после их мытья кусковым мылом.

Результаты исследований и их анализ

Уровень антимикробной активности испытуемых сортов кускового мыла в отношении микрофлоры кожи рук

Используя результаты, полученные в ходе исследований по изменению числа колонеобразующих единиц микрофлоры кожи рук до и после их мытья кусковым мылом, был рассчитан уровень антимикробной активности восьми наименований мыла по формуле (2). Полученные результаты представлены на рисунке 3.

Уровень антимикробной активности исследуемых наименований мыла колеблется от 39% до 59%. Наиболее высоким антимикробным действием обладают: мыло “Greenelle Ag+” (59%), “Нарцисс” (55%), “Хозяйственное” (54%), “Антибактериальное” (51%), а наименьшим – “Земляничное” (34%).

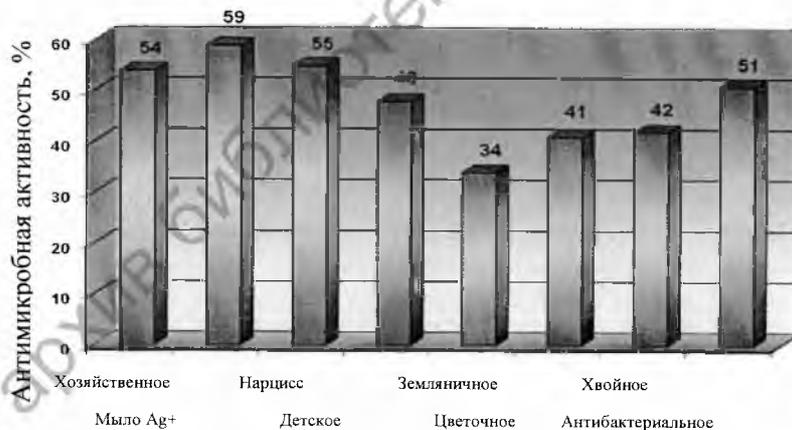


Рисунок 3 – Уровень антимикробной активности различных наименований мыла, %

Моющая способность мыла зависит от его поверхностной активности и значения pH раствора этого мыла. Определение поверхностного натяжения и pH различных наименований кускового мыла проводили, используя методики, описанные в разделе статьи “Материалы и методы”. Полученные результаты сведены в таблицу 2.

Таблица 2 – Уровень антимикробной активности мыла в соответствии с их физико-химическими свойствами

Название мыла	pH	Поверхностная активность мыла, g	Уровень антимикробной активности (%)
“Хвойное”	10,4	20,00	42
“Цветочное”	10,7	20,40	41
“Земляничное”	10,4	14,90	34
“Антибактериальное”	10,7	21,05	51
“Хозяйственное”	10,4	24,50	54
“Детское”	10,5	18,20	48
“Нарцисс”	10,5	23,54	55
“Greenelle Ag+”	10,5	21,80	59

Чем выше значение поверхностной активности мыла, а также значение его щелочной среды, тем большей моющей способностью обладает данное мыло.

Щелочность растворов исследуемых мыл изменялась в узком диапазоне pH 10,4-10,7, таким образом, она для всех наименований мыла оказалась весьма высокой. Из полученных экспериментальных результатов, следует, что наибольшей моющей способностью из 8 исследуемых наименований кускового мыла обладают: “Greenelle Ag+”, “Нарцисс”, “Хозяйственное”, “Антибактериальное”, “Детское”.

Число колонеобразующих единиц резидентной микрофлоры кожи рук до и после их мытья кусковым мылом определяли, подсчитывая количество колоний выросших микроорганизмов на ПА ГРМ-агаре бакпечатков. Полученные результаты сведены в таблицу 3.

Таблица 3 – Количество колоний на бакпечатках с ПА до и после мытья рук мылом

Название мыла	КОЕ до мытья рук M ± m	КОЕ после мытья рук M ± m
“Хвойное”	73,6 ± 64,0	61,9 ± 19,5
“Цветочное”	90,0 ± 15,1	86,0 ± 19,9
“Земляничное”	97,0 ± 64,3	89,5 ± 15,4
“Антибактериальное”	62,0 ± 25,1	52,5 ± 12,0
“Хозяйственное”	119,0 ± 24,6	64,9 ± 19,7
“Детское”	94,3 ± 44,1	88,1 ± 20,1
“Нарцисс”	112,1 ± 78,6	83,3 ± 19,2
“Greenelle Ag+”	85,1 ± 56,7	45,9 ± 13,3

Число колоний микрофлоры кожи рук на питательной среде после их гигиенической обработки мылом уменьшается. Это подтверждается тем, что мыло удаляет транзитную и часть резидентной микрофлоры. Как видно из результатов, представленных в таблице 3, в каждой экспериментальной группе были бакпечатки с увеличением КОЕ микроорганизмов после гигиенической обработки рук, что можно объяснить тем, что с кожи рук микроорганизмы попадают на влажный кусок мыла и контаминируют его. В результате этого, кусок мыла может становиться источником распространения той микрофлоры, которая попадает на него во время гигиенической обработки рук при его массовом использовании. Для предупреждения контаминации микроорганизмами куско-

вого мыла. его лучше использовать индивидуально или одноразово маленькими фрагментами.

Определение МПК различных сортов кускового мыла в отношении *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*

Благодаря определению минимальной подавляющей концентрации мы можем выбрать наиболее эффективные сорта мыл, обладающих наилучшей бактерицидной активностью в отношении *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*.

Полученные результаты по определению минимальной подавляющей концентрации различных сортов кускового мыла сведены в таблицу 4.

Таблица 4 – Бактерицидные свойства различных сортов мыла отечественно-го и зарубежных производителей

Разведение мыла	Фруктовое мыло						Контроль кувшур	Контроль мыла
	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>E. coli</i>	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>St. aur.</i>	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Ps. aer.</i>	-	+	+	+	+	+	+	-
Мыло "Yves rocher"								
<i>E. coli</i>	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>St. aur.</i>	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>Ps. aer.</i>	-	+	+	+	+	+	+	-
Мыло "Greenella Ag+"								
<i>E. coli</i>	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>St. aur.</i>	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>Ps. aer.</i>	-	+	+	+	+	+	+	-
Мыло Болгарское ручной работы								
<i>E. coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>St. aur.</i>	+/-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Ps. aer.</i>	+	+	+	+	+	+	+	-
Мыло "Нарцисс"								
<i>E. coli</i>	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>St. aur.</i>	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>Ps. aer.</i>	-	+	+	+	+	+	+	-
Мыло "Safeguard Nature"								
<i>E. coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>St. aur.</i>	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>Ps. aer.</i>	-	+	+	+	+	+	+	-
Мыло "Антибактериальное"								
<i>E. coli</i>	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>St. aur.</i>	+/-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Ps. aer.</i>	-	+	+	+	+	+	+	-
Мыло "Хвойное"								
<i>E. coli</i>	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>St. aur.</i>	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Ps. aer.</i>	-	+	+	+	+	+	+	-
Мыло "Земляничное"								
<i>E. coli</i>	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>St. aur.</i>	+/-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Ps. aer.</i>	-	+	+	+	+	+	+	-

Окончание таблицы 4

Фруктовое мыло								
Разведение мыла	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	Контроль культур	Контроль мыла
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Мыло хозяйственное "Блестер"								
E. coli	-	+	+	+	+	+	+	-
St. aur.	-	-	-	+	+	+	+	-
Ps. aer.	-	+	+	+	+	+	+	-
Мыло "Детское"								
E. coli	-	-	+	+	+	+	+	-
St. aur.	-	+	+	+	+	+	+	-
Ps. aer.	-	+	+	+	+	+	+	-
Мыло "Цветочное"								
E. coli	+/-	+	+	+	+	+	+	-
St. aur.	-	+	+	+	+	+	+	-
Ps. aer.	+/-	+	+	+	+	+	+	-
Мыло "Palmolive naturals"								
E. coli	-	+	+	+	+	+	+	-
St. aur.	+	+	+	+	+	+	+	-
Ps. aer.	-	+	+	+	+	+	+	-

Примечание: "+" наличие роста индикаторных культур; "-" отсутствие роста; "+/-" – одиночные колонии.

Из результатов, представленных в таблице 4 видно, что наиболее эффективными в отношении кишечной палочки являются мыла: "Greenelle Ag+", "Детское" (производство РБ) и "Yves rocher" (производство Франция). Мыла хозяйственное "Блестер" (производство РБ) и "Safeguard Nature" (производство Россия) обладают наибольшей бактерицидностью в отношении золотистого стафилококка.

Заключение

1. В ходе данной работы установлено, что после гигиенической обработки рук исследуемыми сортами мыла число КОЕ микрофлоры кожи рук на питательной среде уменьшается. Это подтверждает то, что мыло удаляет транзиторную и часть резидентной микрофлоры. Однако в каждой экспериментальной группе были случаи увеличения КОЕ микроорганизмов после гигиенической обработки рук, что можно объяснить тем, что с кожи рук микроорганизмы попадают на влажный кусок мыла и контаминируют его. На основании этого использовать кусковое мыло в общественных местах и ЛПУ необходимо в виде маленьких фрагментов для однократного индивидуального использования с целью предупреждения его контаминации микроорганизмами, находящимися на коже рук предыдущего пользователя.

2. Из полученных экспериментальных результатов, следует, что наибольшей моющей способностью из 8 исследуемых наименований кускового мыла обладают: "Greenelle Ag+", "Нарцисс", хозяйственное "Блестер", "Антибактериальное", "Детское". Наиболее высоким антимикробным действием облада-

ют: “Greenelle Ag+”, (59%), “Нарцисс” (55%), хозяйственное “Блестер” (54%), “Антибактериальное” (51%), а наименьшим – “Земляничное” (34%).

3. На основании полученных результатов по определению МПК различных сортов кускового мыла рекомендуется с целью гигиенической обработки рук для индивидуального использования, в общественных местах и ЛПУ применять мыла “Greenelle Ag+”, хозяйственное “Блестер”, “Детское” отечественного производства.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. **Ванюков, Д. А.** Хирургическая и гигиеническая обработка рук медицинского персонала / Д. А. Ванюков, Л. С. Сверчкова // Поликлиника. – 2010. – № 4. – С. 36–42.
2. **Афигенов, Г. Е.** Современные подходы к гигиене рук медицинского персонала / Г. Е. Афигенов, А. Г. Афигенова // Российский НИИ Травматологии и ортопедии им. В. Р. Вредина. – 2010. – № 3. – С. 68–77.
3. Новый ассортимент туалетного мыла / авт.-сост. В. Е. Сыцко. – Гомель : УО “Белорусский торгово-экономический университет потребительской кооперации”, 2001. – С. 4–6.

Поступила в редакцию 19.02.2015 г.

Контакты: hroft92@mail.ru (Атанасова Юлия Васильевна)

elena.degtyaryova@tut.by (Дегтярева Елена Ивановна)

Atanasova Y.V., Degtyareva Y.I., Nikiforenko V.A. MICROBIOLOGICAL EFFICACY OF HYGIENIC CLEANING OF HANDS WITH DIFFERENT VARIETIES OF BAR SOAP.

In the course of the bacteriological examination it has been revealed that using bar soap immediately after hand washing there is a slight decrease, in some cases increase of the number of microorganisms constituting skin microflora of hands. Mass use of bar soap for hygienic cleaning of hands proves the possibility of its contamination by the microflora from the skin of the hands of people who used it. It is shown that to prevent bar soap contamination by microorganisms, it should be used in the form of small pieces for a single individual use.

Key words: staphylococcus aureus, escherichia coli, pseudomonas aeruginosa.