

RISE-микроскопия в оценке качества многокомпонентных порошкообразных дезинфицирующих средств

О.П. Татарчук, руководитель отдела по управлению брендами программы ветеринарных препаратов (oleg.tatarchuk@krka.biz).

ООО «КРКА ФАРМА» (125212, г. Москва, Головинское шоссе, д. 5, корп. 1, этаж 22).

*Многокомпонентные порошкообразные дезинфицирующие средства, генерирующие при растворении биоцидные соединения *in situ*, особенно пригодны для создания пополняемых запасов дезсредств на случай вспышек инфекций благодаря их стабильности при хранении. При этом физико-химические характеристики многокомпонентных дезсредств напрямую влияют на показатели их эффективности, безопасности и технологической приемлемости. Одним из наиболее информативных неразрушающих методов исследования физико-химических свойств фармацевтических препаратов является RISE-микроскопия — комбинация конфокальной рамановской спектроскопии и сканирующей электронной микроскопии. RISE-микроскопия может использоваться для оценки качества многокомпонентных порошкообразных дезинфицирующих средств.*

Ключевые слова: дезинфекция, биобезопасность, RISE-микроскопия, спектроскопия комбинационного рассеяния, конфокальная рамановская микроскопия, рамановское картирование, растровая электронная микроскопия.

Сокращения: RISE — Raman Imaging and Scanning Electron (рамановское картирование и сканирование электронным пучком)

Введение

Дезинфектология — это сравнительно молодая отрасль медицинской науки, становление которой началось лишь в 1860-х годах, когда Луи Пастер доказал роль микроорганизмов в процессах брожения и гниения, а хирург Джозеф Листер впервые продемонстрировал антисептические свойства карболовой кислоты в отношении возбудителей раневых инфекций.

Следует отметить, что в медицинской и ветеринарной практике до сих пор используются дезсредства, внедренные еще в XIX веке (хлорсодержащие соединения, перекись водорода, спирты и фенолы) или в первой половине XX века: четвертичные соли аммония (в 1935 году), бигуаниды, анионные и амфотерные поверхностно-активные вещества (в 1950-х годах). С одной стороны, значительный опыт применения таких «классических» дезсредств позволяет рассчитывать на прогнозируемые результаты дезинфекции, так как биоцидные свойства этих соединений достаточно изучены. С другой стороны, подавляющее большинство таких дезинфектантов характеризуется рядом неприятных особенностей, осложняющих их применение в современных условиях: так, альдегиды активны в относительно узком диапазоне температур и требуют длительной экспозиции, хлорсодержащие средства быстро улетучиваются и отличаются токсичностью, а перекиси — инактивируются органическими загряз-

нениями и небезопасны при хранении и транспортировке [1].

Именно недостатки «классических» дезинфектантов стали поводом для разработки принципиально нового класса дезинфицирующих средств, чей механизм действия обеспечивает генерацию биоцидных соединений *in situ*. Дезинфицирующие средства этого класса отличаются тем, что активные вещества с обеззараживающим действием образуются из веществ-прекурсоров непосредственно в процессе применения дезсредства — например, при смешивании отдельных компонентов или при растворении готовой смеси неактивных компонентов в воде перед нанесением на обрабатываемую поверхность [2]. Дезсредства с генерацией биоцидных соединений *in situ* не только лишены многих недостатков традиционных дезинфектантов, но обладают рядом преимуществ:

- высокой эффективностью из-за отсутствия разложения активного вещества при хранении биоцида;
- пригодностью к созданию запаса дезсредства на случай вынужденной (текущей и заключительной) дезинфекции благодаря высокой стабильности при хранении;
- удобством в применении и экономичностью за счет концентрированной формы выпуска;
- меньшими экологическими и производственными рисками по сравнению с утечками жидких форм дезсредств [3].

В настоящее время известен ряд дезсредств с генерацией биоцидных соединений *in situ*, и одним из известных представителей этого типа дезсредств является Экоцид С — комплексное дезинфицирующее средство в форме водорастворимого порошка. Механизм дезинфицирующего действия Экоцида С обусловлен биоцидной активностью свободных радикалов хлора (Cl•), кислорода (O•) и гидроксония (OH•), которые образуются в водных растворах при окислении хлорид-ионов

до гипохлорит-ионов под действием неорганического перекисного соединения — пероксимоносульфата калия [4]. При этом донором хлорид-ионов является хлорид натрия — высокостабильное и нетоксичное соединение, фактически обычная поваренная соль. Таким образом, при использовании Экоцида С высокоактивные биоцидные соединения (гипохлорит-ионы) образуются из стабильных прекурсоров только после растворения дезсредства.

Дополнительные компоненты, входящие в состав Экоцида С, за счет синергизма обеспечивают усиление биоцидного действия:

- сульфаминовая кислота является акцептором (поглостителем) выделяющегося хлора, предупреждающим его улетучивание и потерю активности рабочего раствора дезсредства, а образующиеся при связывании хлора сульфаминовой кислотой моно- и дихлоросульфаматы способны проникать через слизистый слой экзополимера биопленок, уничтожая бактерии в их глубине [5];

- анионное поверхностно-активное вещество додецилбензолсульфонат натрия обладает смачивающим и омыляющим действием для минимизации влияния органических загрязнений на эффективность дезинфекции;

- яблочная кислота обеспечивает оптимальный уровень кислотности для каскада окислительно-восстановительных реакций;

- гексаметафосфат натрия связывает катионы металлов («соли жесткости»), позволяя использовать для приготовления рабочих растворов Экоцида С воду с высоким уровнем жесткости.

Таким образом, комплексный характер дезсредств, генерирующих биоцидные соединения *in situ*, требует особого внимания к процессам разработки и обеспечения качества дезинфицирующего препарата: известно, что идентичность двух дезинфицирующих средств только лишь по химическому составу не означает оди-

наковую степень их безопасности, эффективности или технологической приемлемости в практических условиях [6]. Именно по этой причине с целью минимизации риска негативного воздействия порошкообразных дезсредств без ущерба для дезинфицирующей активности особое внимание со стороны производителей следует уделять таким показателям качества порошкообразного дезсредства, как пылеобразование, сыпучесть, гранулометрическая характеристика частиц и распределение веществ-прекурсоров.

Цель исследования

Для демонстрации важности показателей качества порошкообразных дезинфектантов, генерирующих биоцидные соединения *in situ*, в научно-исследовательском подразделении предприятия KRKA (г. Ново место, Словения) был подвергнут испытанию образец дезсредства Экоцид С, а также два других коммерчески доступных дезсредства — аналоги с заявленным идентичным составом.

Материалы и методы

Для исследования гранулометрических характеристик трех порошкообразных дезинфектантов идентичного состава использовали анализатор Samsizer.

Для оценки химического состава разных фракций частиц порошкообразных дезсредств нами впервые был использован новый метод исследования, исключительно пригодный для твердых форм лекарственных средств — RISE-микроскопия.

Результаты

Исследование гранулометрических характеристик трех порошкообразных дезинфектантов идентичного состава, проведенное с помощью анализатора Samsizer, позволило определить размеры частиц, находящихся в образце (рис. 1).

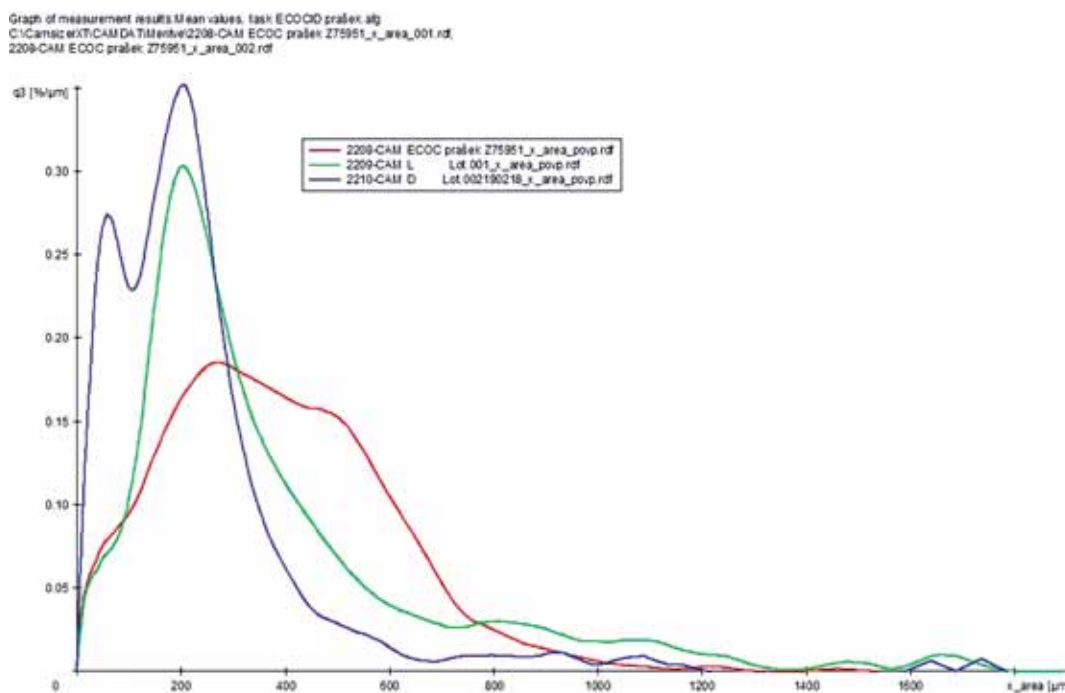


Рис. 1. Гранулометрическая характеристика образцов порошкообразных дезсредств.
 Fig. 1. Particle size distribution in the samples of biocidal powders.

В результате исследования гранулометрического состава было установлено, что значительный объем во всех трех образцах занимают частицы размером около 0,2 мм. Тем не менее, дезсредство D отличалось наличием значительного количества частиц размером менее 100 микрон. Именно такой размер частиц — от 1 до 100 микрон — характерен для пылевой фракции, способной находиться в воздухе во взвешенном состоянии и проникать в верхние дыхательные пути при отсутствии средств защиты органов дыхания [7]. Несмотря на то, что требования техники безопасности при работе с дезинфицирующими средствами однозначно указывают на необходимость использования средств индивидуальной защиты, установлено, что любые производственные инциденты с дезсредствами — острые токсические поражения, реакции гиперчувствительности, контактные дерматиты, раздражения органов дыхания и т. д. — независимо от тяжести последствий для здоровья персонала приводят к нарушению регламентов и процедур проведения дезинфекции из-за субъективного фактора [8].

Кроме этого, наличие мелкодисперсной фракции ухудшает показатели гомогенности смеси, обуславливая сегрегацию (расслоение) в процессе расфасовки, хранения, транспортировки и отпуска порошкообразных форм [9]. Именно поэтому для оценки химического состава разных фракций частиц порошкообразных дезсредств нами впервые был использован новый метод исследования, исключительно пригодный для твердых форм лекарственных средств — RISE-микроскопия. Технология RISE позволяет одновременно выполнять визуализацию образца методом растровой (сканирующей) электронной микроскопии и химический анализ сканируемого образца методом рамановской микроспектроскопии [10]. Такое уникальное сочетание методик обеспечивает высокую информативность исследования, особенно ценную для химико-фармацевтической отрасли: RISE-микроскопия может одновременно установить микроструктуру образца и

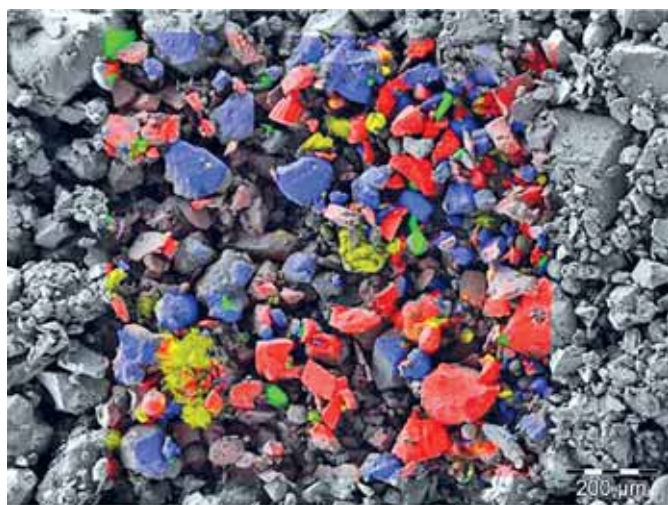


Рис. 2. RISE-микроскопическая карта образца дезсредства Экоцид С. Визуализируются пероксомоносульфат калия (желтый), сульфаминовая кислота (зеленый), додецилбензолсульфонат натрия (синий), яблочная кислота (пурпурный), гексаметафосфат натрия (красный)

Fig. 2. RISE imaging map of Ecocid S biocidal powder. Particles of potassium peroxymonosulfate (yellow), sulfamic acid (green), sodium dodecylbenzene sulfonate (blue), malic acid (magenta), sodium hexametaphosphate (red)

создать карту распределения компонентов — например, действующих и вспомогательных веществ в таблетке, полимерных компонентов в лекарственных формах с модифицированным высвобождением и т.д. [11]

В задачу исследования дезсредств методом RISE-микроскопии входило химическое картирование компонентов исследуемых дезсредств по отношению к размеру частиц. RISE-микроскопия позволила дифференцировать компоненты исследуемых дезсредств на основании характеристических спектров комбинационного рассеяния (рамановских спетров) этих химических соединений. Карты распределения компонентов, наложенные на микрофотографии частиц порошкообразных дезсредств, представлены на рисунках 2...4, где частицам каждого отдельного компонента соответствует свой цвет.

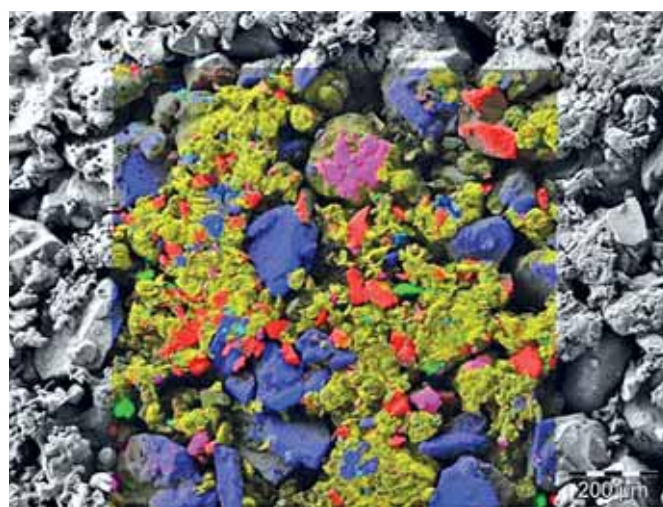


Рис. 3. RISE-микроскопическая карта образца дезсредства D. Визуализируются пероксомоносульфат калия (желтый), сульфаминовая кислота (зеленый), додецилбензолсульфонат натрия (синий), яблочная кислота (пурпурный), гексаметафосфат натрия (красный)

Fig. 3. RISE imaging map of biocidal powder 'D'. Particles of potassium peroxymonosulfate (yellow), sulfamic acid (green), sodium dodecylbenzene sulfonate (blue), malic acid (magenta), sodium hexametaphosphate (red)

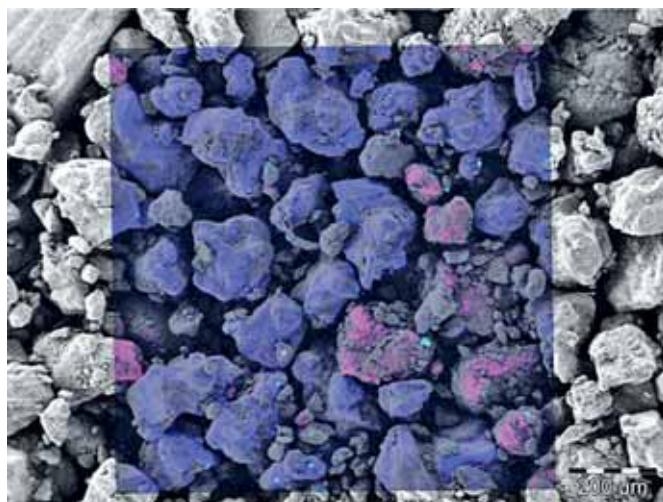


Рис. 4. RISE-микроскопическая карта образца дезсредства L. Визуализируются сульфаминовая кислота (зеленый), додецилбензолсульфонат натрия (синий), яблочная кислота (пурпурный)

Fig. 4. RISE imaging map of biocidal powder 'L'. Particles of sulfamic acid (green), sodium dodecylbenzene sulfonate (blue), malic acid (magenta)

Как свидетельствуют данные RISE-микроскопии образца дезсредства D, мелкодисперсная фракция представлена практически исключительно пероксомоносульфатом калия. Помимо повышенного риска производственных инцидентов, такой гранулометрический состав вещества-прекурсора может привести к тому, что при расфасовке или отпуске дезсредства часть прекурсора неизбежно будет потеряна из-за пылеобразования, что нарушит соотношение между компонентами в растворе и тем самым повлияет на генерацию биоцидных соединений *in situ*.

RISE-микроскопия образца дезсредства L показала наличие крупных частиц додецилбензолсульфоната натрия — анионного поверхностно-активного вещества. Учитывая, что растворение крупных частиц происходит медленнее, существует риск, что при нарушении регламента приготовления рабочих растворов дезсредства поверхностно-активное вещество не будет растворено полностью, что снизит эффективность дезинфекции в присутствии остаточных органических загрязнений.

Заключение

Таким образом, RISE-микроскопия может с успехом использоваться для оценки качества многокомпонентных порошкообразных дезинфицирующих средств, механизм действия которых связан с генерацией биоцидных соединений *in situ*.

Конфликт интересов

Компания ООО «КРКА ФАРМА» является производителем дезинфицирующего средства Экоцид С.

Библиография

1. Sattar, S. The Need for Safer and Better Microbicides for Infection Control / S.A. Sattar, S. Springthorpe // *Disinfection and decontamination: principles, applications, and related issues* / ed. by G. Manivannan. — Boca Raton, 2008. — pp. 49.
2. Jokiniemi, P. *In situ* generated active substances notified in 2016 — deadlines approaching / P. Jokiniemi // *ECHA Newsletter*. — 2017. — No. 3. — pp. 10–11.
3. Ramirez, J. New Technologies in Disinfection and Infection Control / J.A. Ramirez // *Disinfection and decontamination: principles, applications, and related issues* / ed. by G. Manivannan. — Boca Raton, 2008. — pp. 75–76.
4. Gaya, H. Evaluation of products for treating babies' napkins / H. Gaya [et al.] // *The Journal of Hygiene (Cambridge)*. — 1979. — Vol. 82. — No. 3. — pp. 463–471.
5. Stewart, P. Biofilm penetration and disinfection efficacy of alkaline hypochlorite and chlorosulfamates / P.S. Stewart [et al.] // *The Journal of Applied Microbiology*. — 2001. — Vol. 91. — pp. 525–532.
6. Sattar, S. The Need for Safer and Better Microbicides for Infection Control / S.A. Sattar, S. Springthorpe // *Disinfection and decontamination: principles, applications, and related issues* / ed. by G. Manivannan. — Boca Raton, 2008. — pp. 42.
7. Breysse, P. Particulate Matter [Electronic resource] / P.N. Breysse, P.S.J. Lees // *Principles of Industrial Hygiene*. — Johns Hopkins University, 2006. — Режим доступа: <http://ocw.jhsph.edu/index.cfm>. — Зарг. с экрана.
8. Sattar, S. The Need for Safer and Better Microbicides for Infection Control / S.A. Sattar, S. Springthorpe // *Disinfection and decontamination: principles,*

9. Swaminathan, V. Polydisperse Powder Mixtures: Effect of Particle Size and Shape on Mixture Stability, *Drug Development and Industrial Pharmacy* / V. Swaminathan, D.O. Kildsig // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. — 2002. — Vol. 28. — No. 1. — pp. 41–48.
10. Schmidt, U. RISE Microscopy: Correlative Raman and SEM Imaging / U. Schmidt, P. Ayasse, O. Hollricher // In: *Proc. Of European Microscopy Congress*. — 2016. — pp. 1023–1024.
11. Динг, Т. Определение химических характеристик фармацевтических образцов методом конфокальной рамановской микроскопии и корреляционными методами / Т. Динг [и др.] // *Фармация*. — 2016. — Вып. 7. — С. 36–40.

References

1. Sattar S., Springthorpe S., *The Need for Safer and Better Microbicides for Infection Control*, In *Disinfection and decontamination: principles, applications, and related issues*, ed. by G. Manivannan, Boca Raton, 2008, pp. 49.
2. Jokiniemi P., *In situ* generated active substances notified in 2016 — deadlines approaching, *ECHA Newsletter*, 2017, No. 3, pp. 10–11.
3. Ramirez J. New Technologies in Disinfection and Infection Control, *Disinfection and decontamination: principles, applications, and related issues*, ed. by G. Manivannan, Boca Raton, 2008, pp. 75–76.
4. Gaya H. [et al.], Evaluation of products for treating babies' napkins, *The Journal of Hygiene (Cambridge)*, 1979, Vol. 82, No. 3, pp. 463–471.
5. Stewart P. [et al.], Biofilm penetration and disinfection efficacy of alkaline hypochlorite and chlorosulfamates, *The Journal of Applied Microbiology*, 2001, Vol. 91, pp. 525–532.
6. Sattar S., Springthorpe S., *The Need for Safer and Better Microbicides for Infection Control*, In *Disinfection and decontamination: principles, applications, and related issues*, ed. by G. Manivannan, Boca Raton, 2008, pp. 42.
7. Breysse P.N., Lees P.S.J., Particulate Matter [Electronic resource], Principles of Industrial Hygiene, Johns Hopkins University, 2006, available at: <http://ocw.jhsph.edu/index.cfm>.
8. Sattar S., Springthorpe S., *The Need for Safer and Better Microbicides for Infection Control*, In *Disinfection and decontamination: principles, applications, and related issues*, ed. by G. Manivannan, Boca Raton, 2008, pp. 50.
9. Swaminathan V., Kildsig D.O., Polydisperse Powder Mixtures: Effect of Particle Size and Shape on Mixture Stability, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2002, Vol. 28, No. 1, pp. 41–48.
10. Schmidt U., Ayasse P., Hollricher O., RISE Microscopy: Correlative Raman and SEM Imaging, In: *Proc. Of European Microscopy Congress*, 2016, pp. 1023–1024.
11. Diing T., Opredelenie himicheskih karakteristik farmacevticheskikh obrazcov metodom konfokal'noj ramanovskoj mikroskopii i korrelyacionnymi metodami, *Farmaciya*, 2016, Is. 7, pp. 36–40.

ABSTRACT

O.P. Tatarchuk, Head of Brand Management Animal Health.

KRKA FARMA LLC (fl. 22, housing 1, h. 5, Golovinsoye sh., Moscow, 125212).

RISE microscopy for evaluation of compounded disinfection products. Multicomponent powdered disinfection products with *in situ* generation of biocidal substances are stable in long-term storage and therefore well suited for emergency preparedness stockpiling to use in outbreaks of infectious diseases. Certain structural and chemical characteristics of the powdered biocidal mixtures might alter their efficacy, safety, or handling properties. The RISE microscopy is a new non-destructive method for comprehensive evaluation of pharmaceutical samples by combining confocal Raman imaging with scanning electron microscopy. The RISE microscopy can be used for evaluation of compounded disinfection products. **Keywords:** disinfection, biosecurity, RISE microscopy, Raman spectroscopy, Raman imaging, scanning electron microscopy.

DOI:10.32416/article_5c050ac36d1ba1.96655215