

Гигиеническая характеристика этанола для профилактической антисептики кожи

Н.И. Миклис¹, И.И. Бурак¹, Т.М. Красовская¹, А.Б. Юркевич¹, Д.О. Горбачев²

¹УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» (Витебск, Беларусь)

²ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет»
Минздрава России (Самара, Россия)

Аннотация

Цель – изучить химико-аналитические показатели качества, токсикологические показатели безопасности и микробиологические показатели эффективности спирта этилового 70% об/об марки «Люкс» и определить его назначение для антисептики кожи.

Материал и методы. Исследования выполнены органолептически, физико-химическими, токсикологическими и микробиологическими методами в соответствии со стандартными современными методиками.

Результаты. Спирт этиловый 70% марки «Люкс» характеризуется химико-аналитическими и микробиологическими показателями качества, соответствующими требованиям Государственной фармако-пеи Республики Беларусь. По токсикологическим показателям он относится к IV классу – вещества малоопасные, с отсутствием раздражающего действия, что соответствует нормативным токсикологическим показателям безопасности кожных антисептиков. При первичной эпикутанной аппликации на волонтерах не вызывает субъективных и объективных симптомов сенсибилизации, относится к веществам, не обладающим раздражающим действием и сенсибилизирующей способностью. Стандартные тест-культуры и клинические штаммы микроорганизмов высоко чувствительны к спирту этиловому 70% марки «Люкс» в качественном без белковой нагрузки суспензионном пробирочном и микрометодом и умеренно чувствительны в диффузионном методе при экспозиции 1 мин. В отношении указанных микроорганизмов отмечается антимикробная активность спирта этилового 70% марки «Люкс» при экспозиции 1 мин в количественном суспензионном методе без белковой нагрузки выше 99,999% и фактором редукции выше 5,0 lg. Спирт этиловый 70% марки «Люкс» также характеризуется высокой эффективностью обеззараживания кожи и контаминированной кишечной палочкой волонтеров более 99% и фактором редукции выше 2 lg и 4 lg соответственно.

Заключение. Спирт этиловый 70% марки «Люкс» – качественное, токсикологически безопасное и микробиологически эффективное лекарственное средство – можно рекомендовать для антисептики кожи инъекционного поля (класс А), а также гигиенической антисептики рук (класс В) и антисептической санитарной обработки кожных покровов в Республике Беларусь и Российской Федерации.

Ключевые слова: спирт этиловый 70% марки «Люкс», качество, токсикологическая безопасность, микробиологическая эффективность, антисептика.

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования:

Миклис Н.И., Бурак И.И., Красовская Т.М., Юркевич А.Б., Горбачев Д.О.

Гигиеническая характеристика этанола для профилактической антисептики кожи. Наука и инновации в медицине. 2024;9(1):XX-XX.

<https://doi.org/10.35693/SIM375333>

Список сокращений

СЭ – спирт этиловый; АА – антимикробная активность; ОМЧ – общее число выросших микробов; ЭО – эффективность обеззараживания; ОМО – общая микробная обсемененность.

Сведения об авторах

Миклис Н.И. – канд. мед. наук, доцент, заведующая кафедрой экологической и профилактической медицины. <https://orcid.org/0000-0001-6496-4472>

E-mail: miklisnata-lia@gmail.com

Бурак И.И. – д-р мед. наук, профессор кафедры экологической и профилактической медицины. <https://orcid.org/0000-0002-7204-3056>

E-mail: bii2009@mail.ru

Красовская Т.М. – ассистент кафедры экологической и профилактической медицины. <https://orcid.org/0000-0003-2182-9670>

E-mail: tanyakra-sovskaya61@gmail.com

Юркевич А.Б. – канд. фарм. наук, доцент кафедры экологической и профилактической медицины. <https://orcid.org/0000-0002-1044-1577>

E-mail: urkev@mail.ru

Горбачев Д.О. – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой общей гигиены.

<https://orcid.org/0000-0002-8044-9806>

E-mail: d.o.gorbachev@samsmu.ru

Автор для переписки

Миклис Наталья Ивановна

Адрес: Витебский гос-ударственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра экологической и профилактической медицины, пр-т Фрунзе, 27, г. Витебск, Республика Беларусь, 210009.

E-mail: miklisnatalia@gmail.com

Получено: 30.05.2023

Одобрено: 12.10.2023

Опубликовано: 30.01.2024

Участников включали в исследование на основании разрешения этического комитета ВГМУ.

Hygienic characteristics of ethanol for preventive use in skin antiseptics

Natalya I. Miklis¹, Ivan I. Burak¹, Tatyana M. Krasovskaya¹, Anna B. Yurkevich¹, Dmitrii O. Gorbachev²

¹Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University (Vitebsk, Belarus)

²Samara State Medical University (Samara, Russia)

Abstract

Aim – to study the ethyl alcohol 70% of the Lux brand in respect to its chemical and analytical quality, toxicological safety, microbial effectiveness and to assess its use in skin antiseptics.

Material and methods. The studies were performed using organoleptic, physical, chemical, toxicological and microbial analysis in accordance with standard modern methods.

Results. Ethyl alcohol 70% has chemical, analytical and microbial quality indicators that meet the requirements of the State Pharmacopeia of the Republic of Belarus. According to toxicological indicators, it belongs to class IV – low-hazard substances, with no irritating effect, which corresponds to the regulatory toxicological indicators of the safety of skin antiseptics. During the primary epicutaneous application on volunteers, it does not cause subjective and objective symptoms of sensitization; it belongs to substances that do not have an irritating effect and sensitizing ability. Standard test cultures and clinical strains of microorganisms are highly sensitive to ethyl alcohol 70% in a qualitative suspension test tube and micromethod without protein load and moderately sensitive in the disk-diffusion method with an exposure of 1 min. In relation to these microorganisms, the antimicrobial activity of ethyl alcohol 70% is above 99.999% and a reduction factor above 5 lg at exposure of 1 min in a quantitative suspension method without a protein load. Ethyl alcohol 70% is also characterized by a high efficiency of normal skin disinfection and E.coli-contaminated skin of volunteers over 99% and a reduction factor above 2 lg and 4 lg, respectively.

Conclusion. Ethyl alcohol 70% of the brand "Lux" is a high-quality, toxicologically safe and microbial effective drug. It can be recommended for skin antiseptics of the injection field (class A), as well as hygienic hand antiseptics (class B) and antiseptic sanitization of the skin in the Republic of Belarus and Russian Federation.

Keywords: ethyl alcohol 70% of the brand "Lux", quality, toxicological safety, microbial efficiency, antiseptics.

Conflict of interest: nothing to disclose.

Citation

Miklis NI, Burak II, Krasovskaya TM, Yurkevich AB, Gorbachev DO.

Hygienic characteristics of ethanol for preventive use in skin antiseptics.

Science and Innovations in Medicine. 2024;9(1):XX-XX.

<https://doi.org/10.35693/SIM601839>

Study participants were enrolled after the VSMU local ethics committee approval.

Information about authors

Natalya I. Miklis – PhD, Associate professor, Head of the Department of Environmental and Preventive Medicine. <https://orcid.org/0000-0001-6496-4472>

E-mail: miklisnatalia@gmail.com

Ivan I. Burak – PhD, Professor, Department of Environmental and Preventive Medicine. <https://orcid.org/0000-0002-7204-3056>

E-mail: bii2009@mail.ru

Tatyana M. Krasovskaya – assistant of the Department of Environmental and Preventive Medicine. <https://orcid.org/0000-0003-2182-9670>

E-mail: tanyakra-sovskaya61@gmail.com

Anna B. Yurkevich – PhD, Associate professor of the Department of Environmental and Preventive Medicine. <https://orcid.org/0000-0002-1044-1577>

E-mail: urkev@mail.ru

Dmitrii O. Gorbachev – PhD, Associate professor, Head of the Department of Common Hygiene. <https://orcid.org/0000-0002-8044-9806>

E-mail: d.o.gorbachev@samsmu.ru

Corresponding Author

Natalya I. Miklis

Address: Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, 27 Frunze Ave., Vitebsk, Republic of Belarus, 210009.

E-mail: miklisnatalia@gmail.com

Received: 30.05.2023

Accepted: 12.10.2023

Published: 30.01.2024

ВВЕДЕНИЕ

Одной из важных задач в организациях здравоохранения является предупреждение и предотвращение инфекционных заболеваний, в том числе инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Инфекции в ряде случаев могут передаваться через руки медицинского персонала, через руки пациентов и посетителей, а также заноситься в организм пациентов с кожи манипуляционного поля медицинскими изделиями и инструментарием [1]. Для медицинской профилактики инфекционных заболеваний в больничных и амбулаторно-поликлинических организациях широко используются антисептические лекарственные препараты для наружного применения, обладающие противомикробным, противовирусным, противопаразитарным и противогрибковым действием.

По назначению кожные антисептики делятся на классы А, Б и В. Так, антисептики класса А предназначены для обработки кожи инъекционного и операционного полей, кожи мест введения пункционной иглы и установки катетера, а также кожи локтевых сгибов доноров. Антисептические средства класса Б применяются для хирургической обработки рук врачей-хирургов, врачей анестезиологов-реаниматологов, врачей акушеров-гинекологов, эндоскопистов, неонатологов и других медицинских работников, участвующих в выполнении операций, катетеризации

магистральных сосудов, пунктировании тканей и полостей, приеме родов, эндоскопических и других манипуляций с внутренними стерильными средами организма. Антисептики класса В используются для гигиенической обработки рук медицинских работников и вспомогательного персонала организаций здравоохранения на всех этапах оказания и обеспечения медицинской помощи, а также рук пациентов и посетителей [2, 3].

Согласно принятым в Российской Федерации нормативам, антисептики класса А для обработки кожи инъекционного поля должны снижать общую микробную обсемененность не менее 95%, для обработки кожи операционного поля, мест введения пункционной иглы, установки катетера и кожи локтевых сгибов доноров – не менее 100%. Следует отметить, что для обработки операционного поля рекомендуются кожные антисептики с красителем для визуального определения границы обработанного участка. Кожные антисептики класса Б для хирургической обработки рук должны обеспечивать снижение общей микробной обсемененности кожи не менее 100%, класса В для гигиенической обработки рук – не менее 95% [3]. В соответствии с нормативами Республики Беларусь у антисептиков для обработки операционного и инъекционного полей эффективным считается обеззараживание кожи *in vivo* при снижении общей микробной обсемененности

с фактором редукции (RF) более 2 lg. Антисептики для хирургической обработки рук обеспечивают эффективное обеззараживание при снижении общей микробной обсемененности кожи с RF более 2 lg, для гигиенической антисептики рук и антисептической санитарной обработки кожных покровов – при снижении обсемененности кожи, контаминированной тест-микроорганизмами *Escherichia coli*, с RF более 4 lg [4].

Для профилактической антисептики в настоящее время применяются препараты, содержащие в качестве действующих веществ четвертичные аммониевые соединения, производные гуанидинов, алкиламины, альдегиды, спирты, производные фенола, йод, хлор, кислород, кислоты, щелочи, а также композиционные средства. Для эффективного обеззараживания кожи антисептические средства должны иметь широкий спектр и высокий уровень антимикробного действия, обеспечивающий гибель патогенных бактерий, грибов, вирусов и других возбудителей в течение короткого времени обработки, быть безопасными для персонала и пациентов, иметь удобную для применения лекарственную форму, не иметь побочных эффектов [2, 5].

Большинству этих требований в полной мере отвечают спиртосодержащие антисептические средства. Для использования в медицинских организациях ВОЗ рекомендует спиртосодержащие антисептики, основанные, как правило, на этиловом, пропиловом и изопропиловом спиртах или их комбинации [6, 7].

Следует отметить, что пропиловый и изопропиловый спирты в соответствии с классификацией опасности веществ по степени воздействия на организм относятся к умеренно опасным (III класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76) с предельно допустимой концентрацией в воздухе рабочей зоны 10 мг/м³, спирт этиловый (СЭ) – к малоопасным веществам (IV класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76) с предельно допустимой концентрацией в воздухе рабочей зоны 1000 мг/м³ [8]. Поэтому предпочтение при антисептике кожи следует отдавать СЭ, являющемуся также естественным метаболитом человека [2].

СЭ по фармакологическим свойствам относится к наркотическим веществам. В медицинской практике его применяют преимущественно как наружное антисептическое и раздражающее средство, в различных разведениях используют для изготовления наружных лекарственных форм, настоек, экстрактов. Механизм антисептического действия СЭ состоит в необратимой коагуляции белков и мембранотропном действии [9].

Применяемый в Республике Беларусь «Этиловый спирт 95%, 90%, 70%, 40%» (об/об) в соответствии с частной фармакопейной статьей [10] представляет собой водно-спиртовой раствор. Его изготавливают смешением необходимого количества этилового спирта с необходимым количеством воды очищенной в соответствии с алколетрическими таблицами. Он представляет собой прозрачную бесцветную жидкость с характерным спиртовым запахом, плотностью при 20°C по стеклянному спиртометру 0,8114-0,8075, 0,8292-0,8259, 0,8855-0,8830, 0,9487-0,9473 г/см³ соответственно и микробиологической чистотой, соответствующей статье 5.1.4 ГФ Республики Беларусь. При проверке на подлинность (идентификацию) при добавлении к 0,5 мл указанного спирта 5 мл воды Р, 2 мл

разведенного раствора натрия гидроксида Р и затем медленно 2 мл йода через 30 мин образуется желтый осадок.

С учетом приведенной фармакопейной статьи в Беларуси и Российской Федерации ряд крупных компаний осуществляет производство антисептиков, содержащих спирт этиловый 70% об/об (СЭ 70%).

В соответствии с описаниями и инструкциями [11, 12] СЭ 70% обладает дезинфицирующим, антисептическим и раздражающим действием. Он применяется для дезинфекции небольших поверхностей, медицинских изделий, лечения воспалительных заболеваний кожи, обработки поверхностных повреждений кожи, в качестве антидота, местнораздражающего средства, а также для антисептической обработки кожи в местах инъекций, обработки кожи рук медицинского персонала. СЭ 70% не опасен с точки зрения канцерогенного и тератогенного эффекта, не оказывает раздражающего действия на кожу при редком применении. Возможное побочное действие – аллергические реакции, гиперемия и ожоги кожи в месте наложения компрессов. При наружном применении частично всасывается через кожу и слизистые и может оказывать резорбтивное общетоксическое действие. Применение его противопоказано при гиперчувствительности, острых воспалительных процессах с нарушением целостности кожи. СЭ 70% необходимо с осторожностью применять у детей, пожилых, беременных, пациентов с заболеваниями печени и почек.

При антисептической обработке кожи СЭ 70% характеризуется широким бактерицидным и бактериостатическим действием на грамположительные и грамотрицательные бактерии, а также на многие виды грибов и вирусов, включая респираторно-синцитиальный вирус, вирус гепатита, вирус иммунодефицита человека, коронавирус. Однако в ряде случаев отмечена контаминация спиртовых растворов *Bacillus polymyxa* и низкая эффективность указанного спирта в отношении спорных форм микроорганизмов. Даже при экспозиции 60 мин он неэффективен в отношении *Aspergillus brasiliensis* и *Bacillus cereus* [13, 14, 15].

В настоящее время особый интерес вызывают лекарственные антисептические средства из спирта этилового ректифицированного марки «Люкс» 96,3%. Высококачественный с прекрасными органолептическими свойствами СЭ марки «Люкс» получают с использованием уникальной технологии при низких температурах в процессе ферментативного брожения смеси зерновых культур и других пищевых продуктов. Массовая концентрация альдегидов, сивушного масла, эфиров, свободных кислот в указанном спирте составляет десятитысячные доли процента, метилового спирта – 0,03%. Он не содержит фурфурола, органических примесей и является чистым в пробе с серной кислотой. Из указанного спирта в последнее время производилось антисептическое средство «Этанол, раствор для наружного применения, 70%» для обработки инъекционного и операционного полей, проведения диагностических аллергологических проб, а также гигиенической обработки рук и перчаток [16, 17].

Следует отметить, что используемые в практическом здравоохранении лекарственные антисептические средства должны быть качественными, эффективными и безопасными [18]. Однако качество, эффективность и безопасность СЭ 70%, полученного из спирта этилового

ректифицированного марки «Люкс» 96,3%, а также классификация его по назначению окончательно не определены.

■ ЦЕЛЬ

Изучить химико-аналитические показатели качества, токсикологические показатели безопасности и микробиологические показатели эффективности спирта этилового 70% об/об марки «Люкс» и определить его назначение для антисептики кожи.

■ МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в рамках НИР «Разработка и совершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных болезней человека» №ГР 20191502 на базе кафедр экологической и профилактической медицины, клинической микробиологии и научно-исследовательской лаборатории учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Для проведения исследований в соответствии с лабораторным регламентом в асептических условиях получали антисептическое средство с содержанием СЭ 70% об/об (АС_{70%}) путем разведения водой очищенной СЭ 96,3% марки «Люкс» по правилу смешения или формулам [19].

Выполнено три серии опытов. В первой серии у АС70% изучали химико-аналитические и микробиологические показатели качества, во второй серии – токсикологические показатели безопасности в лабораторном и клинико-лабораторном исследованиях, в третьей – микробиологические показатели эффективности *in vitro* и *in vivo* [4].

В качестве химико-аналитических показателей качества изучали физико-химические (плотность, массовая доля действующего вещества, подлинность) и органолептические (запах, вкус, цветность, прозрачность), в качестве микробиологических – микробиологическую чистоту. Плотность, массовую долю действующего вещества, подлинность, запах, вкус, цветность, прозрачность определяли в соответствии с ГФ РБ [20], микробиологическую чистоту – стандартными методиками на устройстве фильтровальном УФ-1. Перед определением содержания микроорганизмов проверяли пригодность питательных сред и методики определения микробиологической чистоты [21].

В качестве токсикологических показателей безопасности в лабораторном исследовании изучали острую токсичность при однократной аппликации, кожно-раздражающее действие при однократных и повторных аппликациях, в клинико-лабораторных исследованиях – раздражающее действие и сенсибилизирующую способность.

Острую токсичность при однократной аппликации и кожное раздражающее действие при однократных и повторных кожных аппликациях определяли на белых крысах-самцах массой 250±25 г, содержащихся в стандартных условиях (по 6 животных в опыте). Для определения острой эпикутанной токсичности подопытным крысам однократно наносили и втирали стеклянной палочкой легкими массирующими движениями в кожу 2/3 хвостов АС_{70%} из расчета 2560 мг/кг массы животного, для определения кожного раздражающего действия – наносили и

втирали в кожу 2/3 хвостов однократно, а также повторно десятикратно в течение двух недель по 5 дней в неделю из расчета 20 мг/см². В контроле крысам в той же дозе на хвосты наносили и втирали воду очищенную. Наблюдение за опытными и контрольными животными при изучении острой эпикутанной токсичности проводили в течение 8 часов ежедневно после нанесения и в последующие 2 недели ежедневно утром, при изучении однократного кожного раздражающего действия – через 1, 4 и 16 часов после аппликации и в течение 2 недель ежедневно утром, при изучении повторного многократного кожного раздражающего действия – через 1, 4 и 16 часов после каждой аппликации ежедневно в течение 2 недель, при этом регистрировали общее состояние животных, клинические симптомы интоксикации, а также признаки раздражения кожи хвостов и смертельные эффекты [22]. На время экспозиции по 4 ч крысы находились в специальных индивидуальных домиках с отверстиями для хвостов.

Раздражающее действие определяли на чистой и сухой коже нормального типа волонтеров (по 7 волонтеров в опыте) в первичной открытой эпикутанной «капельной» и закрытой эпикутанной «лоскутной» (компрессной) пробах по наличию и интенсивности эритемы, выраженности эритематозной реакции и раздражающему действию, сенсибилизирующую способность – во вторичной (провокационной) открытой эпикутанной «капельной» и закрытой эпикутанной «лоскутной» пробах по характеру и выраженности объективных кожных симптомов и выраженности субъективных симптомов сенсибилизирующего действия с учетом методики испытания спиртосодержащей парфюмерно-косметической продукции [23].

Волонтеров, не имеющих противопоказаний по состоянию здоровья, добровольно изъявивших согласие на участие в испытаниях и подписавших информированное согласие, информировали о сути и потенциальном риске исследований и включали в исследования на основании разрешения этического комитета ВГМУ.

В качестве микробиологических показателей эффективности АС70% определяли *in vitro* чувствительность стандартных тест-культур и клинических штаммов и антимикробную активность в отношении стандартных и клинических штаммов, а также *in vivo* эффективность обеззараживания кожи у волонтеров при экспозиции 1 мин.

Чувствительность к АС_{70%} изучали в качественном суспензионном пробирочном методе [13, 24], микрометодом в стерильных 96-луночных полистироловых планшетах [25] и диско-диффузионным методом [26] по подавлению роста микробов в жидкой и плотной питательных средах.

Антимикробную активность (АА) АС_{70%} изучали в количественном суспензионном пробирочном методе *in vitro* без белковой нагрузки по снижению общего числа выросших микробов (ОМЧ), эффективность обеззараживания (ЭО) кожи АС_{70%} *in vivo* – у волонтеров с информированным согласием по снижению общей микробной обсемененности (ОМО) кожи, а контаминированной стандартной тест-культурой *E.coli* ATCC 25922 – по снижению микробной обсемененности кишечной палочкой (МО *E.coli*) [13, 24, 27].

В качестве стандартных тест-культур использовали *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 25923, *P.aeruginosa*

ATCC 27853, *P.mirabilis* ATCC 14153, *S.albicans* ATCC 10231, клинических штаммов – *K.pneumoniae* 620, *A.baumannii* 445, *K.pneumoniae* 1051, *A.baumannii* 886, *S.aureus* 1230, *P.aeruginosae* 1074, выделенных у пациентов Витебской областной клинической инфекционной больницы, Витебской областной клинической больницы и пассированных в лаборатории. Культуры содержали $1-1,5 \times 10^9$ КОЕ/см³, в контроле использовали бульон Мюллера – Хинтона.

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с использованием параметрических методов статистического анализа. Проводилось вычисление средних значений количественных показателей (М) и стандартной ошибки среднего (m). Существенность различий средних значений оценивалась по коэффициенту Стьюдента (t). Достоверность сдвигов учитывали при $p \leq 0,05$ [28].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты первой серии опытов по изучению химико-аналитических показателей качества показали, что СЭ 96,3% марки «Люкс» имел плотность 0,806 г/см³, содержание СЭ 96,36% об/об, был прозрачным, бесцветным, с характерным спиртовым запахом для смеси зерновых культур без запаха посторонних веществ, жгучим вкусом без привкуса и положительной йодоформной пробой. Полученное путем разведения водой очищенной СЭ 96,3% марки «Люкс» средство АС_{70%} было прозрачным, бесцветным, имело плотность $0,8853 \pm 0,0003$ г/см³, содержание СЭ $70,07 \pm 0,13\%$ об/об, характерный спиртовой запах без посторонних запахов, жгучий вкус без привкуса и давало положительную реакцию в йодоформной пробе.

При изучении микробиологических показателей качества АС_{70%} предварительно было установлено, что на испытуемых средах наблюдался рост засеянных тест-штаммов микроорганизмов *S.albicans*, *S.aureus*, *P.aeruginosae*, а также на всех испытуемых средах отмечался рост микроорганизмов, что указывало на пригодность для исследования питательных сред и пригодность для проведения исследований методики определения микробиологической чистоты. После пропускания АС_{70%} на опытных фильтрах, посеянных на чашки Петри с агаризированной средой на основе гидролизата казеина и соевых бобов, роста аэробных микробов не обнаружено (менее 10^2 КОЕ/см³). На фильтрах, помещенных на чашки с декстрозным агаром Сабуро, рост грибов также не отмечен (менее 10 КОЕ/см³).

Результаты первой серии по исследованию химико-аналитических и микробиологических показателей качества АС_{70%} для антисептики кожи позволяют заключить, что изготовленное средство является качественным и по физико-химическим, органолептическим и микробиологическим показателям соответствует требованиям ГФ РБ [20], в частности, статье 2.2.1 по прозрачности, 2.2.2. метод II – по цветности, статье 2.3.4 – по запаху, статье 2.2.5 – по плотности при 20оС, статье 5.1.4 – по микробиологической чистоте, статье 2.3.1 – по подлинности.

Результаты исследования второй серии опытов по изучению токсикологических показателей безопасности в лабораторных исследованиях показали, что после однократного нанесения на кожу хвостов АС_{70%} из расчета 2560 мг/кг массы животного в течение 8 ч после втирания в

кожу и в последующие 2 недели наблюдения поведение, внешний вид, аппетит, уровень водопотребления, дефекация, мочеиспускание, степень проявления реакций на внешние раздражители у опытных животных не отличались от контрольных; срыгивание пищи, кровянистые выделения из носа и глаз, мышечные подергивания, тремор, судороги, парезы, параличи, наркотическое и коматозное состояния не отмечались; частота пульса, окраска ушей, конечностей и глаз не изменялись; все крысы выживали. Эритема, отек, трещины, изъязвления на коже хвостов отсутствовали.

При однократном нанесении на кожу 2/3 хвостов и втирании АС_{70%} из расчета 20 мг/см² через 1, 4 и 16 ч после аппликации и смыва остатков и в последующие дни опыта не отмечены изменения общего состояния животных и клинические признаки интоксикации, а также изменения кожи в виде эритемы, отека, трещин, изъязвлений.

При повторном десятикратном нанесении на кожу 2/3 хвостов и втирании изучаемого спирта через 1, 4 и 16 ч после аппликации и смыва остатков и в последующие дни эксперимента эритема, отек, трещины, изъязвления на хвостах, изменения общего состояния животных и клинические признаки интоксикации также не отмечены.

В клинико-лабораторном исследовании при нанесении АС_{70%} «капельным» методом на кожу волонтеров на участках аппликации через 1, 24 и 48 ч эритема отсутствовала (0 баллов). У всех волонтеров на опытном участке кожи в период «капельной» аппликационной экспозиции субъективных симптомов раздражающего действия даже слабой переносимой интенсивности не отмечалось, и необходимости снимать аппликацию и повторять ее на другом участке кожи не было. Разница между выраженностью эритематозной реакции в опыте и контроле у всех волонтеров была равна нулю, и индексы раздражающего действия равнялись нулю ($I_{cut} = 0$). Доверительная граница равнялась нулю, и сумма индексов раздражающего действия с величиной доверительной границы была 0 баллов ($I_{cut} + L = 0$).

При изучении раздражающего действия АС_{70%} «лоскутным» методом на участках аппликаций у волонтеров через 1, 24 и 48 ч эритема отсутствовала (0 баллов). Выраженность эритематозной реакции у всех волонтеров не отличалась в опыте и контроле, разница между ними была равна нулю, и индексы раздражающего действия равнялись нулю ($I_{cut} = 0$). Доверительная граница равнялась нулю, и сумма индексов раздражающего действия с величиной доверительной границы составила 0 баллов ($I_{cut} + L = 0$).

Результаты исследования сенсibilизирующей способности АС_{70%} «капельным» методом показали, что на участках повторных аппликаций через 1, 24, 48 и 72 ч у волонтеров субъективные (зуд, жжение, болезненность) и объективные (эритема, отек, высыпания, некроз) симптомы отсутствовали, их выраженность не отличалась в опыте и контроле, разница между ними в баллах у всех волонтеров была равна нулю, и индекс сенсibilизирующей способности составил 0 баллов ($I_s = 0$). Доверительная граница равнялась нулю, и сумма индексов сенсibilизирующего действия с величиной доверительной границы была 0 баллов ($I_s + L = 0$).

При определении сенсibilизирующей способности АС_{70%} «лоскутным» методом выявлено, что на участках

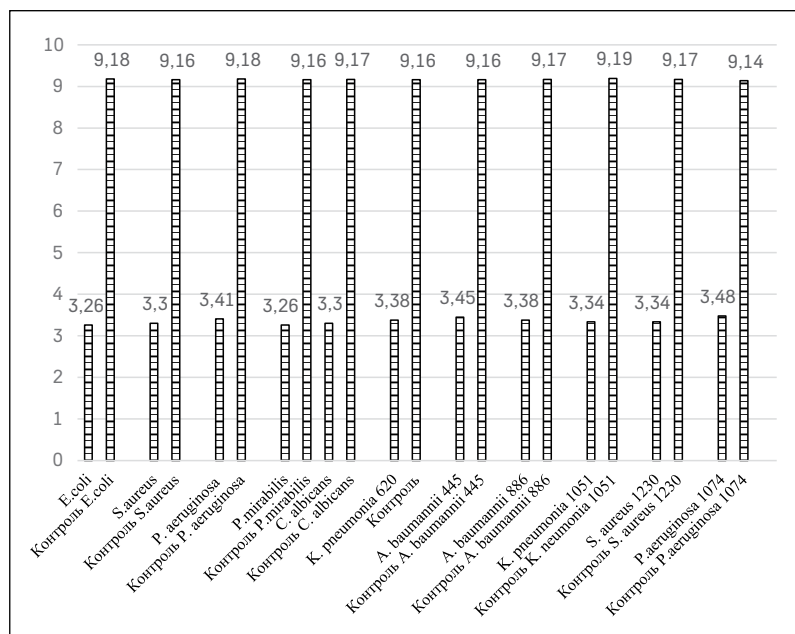


Рисунок 1. Антимикробная активность АС_{70%} в отношении стандартных и клинических штаммов микроорганизмов по сравнению с контролем (lg).
Figure 1. Antimicrobial activity of AS_{70%} against standard and clinical strains of microorganisms compared with the control (lg).

повторных аппликаций через 1, 24, 48 и 72 ч у волонтеров субъективные (зуд, жжение, болезненность) и объективные (эритема, отек, сыпь, некроз) симптомы отсутствовали, их выраженность не отличалась в опыте и контроле, разница между ними в баллах у всех волонтеров была равна нулю, и индексы сенсibiliзирующей способности также равнялись нулю ($I_s = 0$). Доверительная граница равнялась нулю, и сумма индексов сенсibiliзирующего действия с величиной доверительной границы составила 0 баллов ($I_s + L = 0$).

Результаты второй серии по изучению токсикологических показателей безопасности для антисептики кожи позволяют заключить, что в лабораторном исследовании АС_{70%} по острой токсичности после однократной эпикутанной аппликации в дозе 2560 мг/кг массы крыс не вызывает клинических признаков интоксикации и гибели подопытных животных и относится к IV классу – вещества малоопасные с ЛД₅₀ при нанесении на кожу в дозе более 2500 мг/кг в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 [8].

По выраженности раздражающих свойств (эритема – 0 баллов, отек – 0 баллов, среднegrupповой суммарный балл выраженности отека и эритемы – 0 баллов) АС_{70%} при однократном нанесении на кожу хвостов из расчета 20 мг/см² через 1, 4 и 16 ч после аппликации и в последующие 12 дней эксперимента относится к нулевому классу с отсутствием раздражающего действия, при 10-кратных

аппликациях в указанном режиме применения с отсутствием эффекта – соответствует требованиям к кожным антисептикам по токсикологическим показателям безопасности [4].

В клинико-лабораторном исследовании на волонтерах АС_{70%} при первичной открытой эпикутанной «капельной» и закрытой эпикутанной «лоскутной» пробах не приводил к эритематозной реакции на коже, при повторной аппликации не вызывал субъективных и объективных симптомов сенсibiliзации. С учетом изложенного АС_{70%} может быть использован для периодического разового применения и длительного контакта с кожей, в том числе для обработки кожи инъекционного поля, локтевых сгибов доноров, гигиенической обработки рук и санитарной обработки кожных покровов.

Результаты исследования третьей серии опытов по изучению чувствительности стандартных и клинических штаммов микроорганизмов к АС_{70%} в качественном суспензионном пробирочном методе без белковой нагрузки при экспозиции 1 мин показали, что после инкубирования в термостате при 37°С в течение 48 ч содержимое опытных пробирок и пробирок со средством было прозрачным, контрольных пробирок – мутным. На секторах чашек Петри с посевами содержимого опытных пробирок и пробирок с АС_{70%} рост всех микробов был подавлен, в контрольных пробирках отмечался их рост.

Изучение чувствительности стандартных и клинических штаммов микроорганизмов к АС_{70%} микрометодом в стерильных 96-луночных полистироловых планшетах при экспозиции 1 мин показало, что после инкубирования в течение 48 ч при температуре 37°С содержимое опытных лунок второго планшета было прозрачным, контрольных лунок – мутным. После посева содержимого контрольных лунок на сектора чашек Петри отмечался рост всех тестируемых микроорганизмов, опытных лунок – рост микроорганизмов отсутствовал.

Результаты исследования чувствительности к АС_{70%} стандартных микроорганизмов в диско-диффузионном методе при экспозиции 1 мин показали, что в контроле у тест-культур на чашках отмечался рост микроорганизмов (диаметр зоны задержки 0 мм). К АС_{70%} была задержка роста микробов с диаметрами зон 12–14,3 мм. У клинических штаммов в контроле отмечался рост микроорганизмов на чашках (диаметр зоны задержки 0 мм), а диаметры зон задержки роста составили 12,3–13,8 мм.

В количественном суспензионном тесте *in vitro* без белковой нагрузки после добавления АС_{70%} к стандартным тест-культурам в течение 1 мин ОМЧ было в среднем в $7,28 \times 10^5$ раза ниже по сравнению с контролем ($p \leq 0,001$), АА составила 99,99986%, а RF отмечался на уровне $5,87 \pm 0,03$ lg. У клинических штаммов ОМЧ было ниже в $5,87 \times 10^5$ раза по сравнению с контролем ($p \leq 0,001$), АА составила 99,99983%, RF – $5,77 \pm 0,03$ lg (рис. 1).

Пробанты	До обработки		После обработки		RF, lg	% обсеменения
	КОЕ/мл	Lg	КОЕ/мл	lg		
ОМО рук	26000±3000	4,40±0,06	233±30	2,34±0,06	2,06±0,02	0,89±0,04
ОМО предплечья	1770±77	3,25±0,02	12±2	1,05±0,06	2,2±0,05	0,67±0,07
МО E. coli	1000000±270000	5,85±0,16	27±6	1,37±0,1	4,48±0,09	0,0039±0,001

Таблица 1. Эффективность обеззараживания кожи АС_{70%}, (M±m)
Table 1. Skin disinfection efficiency AS_{70%}, (M±m)

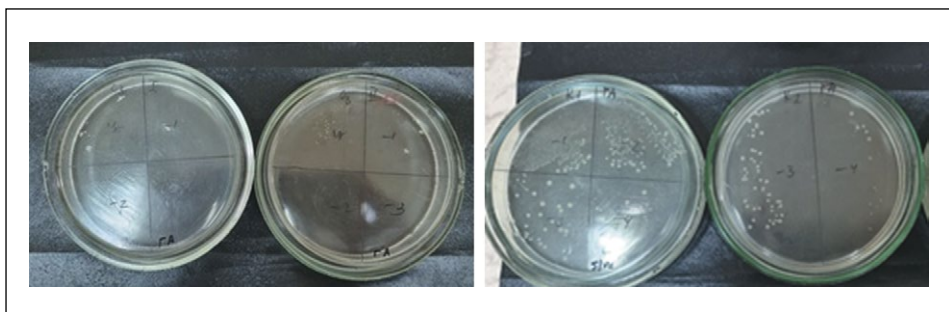


Рисунок 2. Чашки с МО *E.coli* до обработки (K_1, K_2) и после обработки $AS_{70\%}$ (O3-I, O3-II).
Figure 2. Cups with MC *E.coli* before treatment (K_1, K_2) and after treatment with $AS_{70\%}$ (O 3-I, O 3-II).

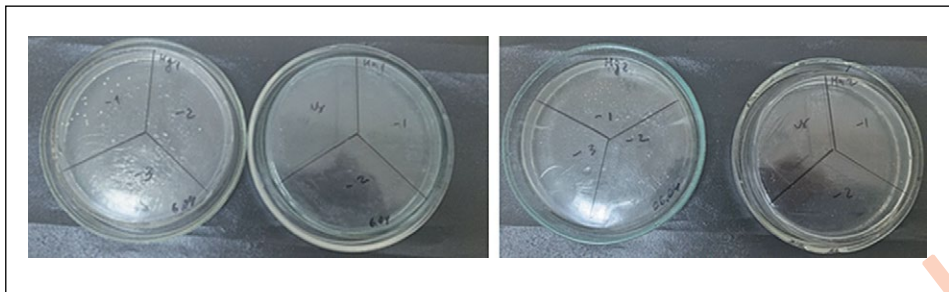


Рисунок 3. Чашки с ОМО кожи предплечья до обработки (H_{d1}, H_{d2}) и после обработки $AS_{70\%}$ (H_{n1}, H_{n2}).
Figure 3. Cups with TMC of the forearm skin before treatment (N_{d1}, N_{d2}) and after treatment $AS_{70\%}$ (N_{p1}, N_{p2}).

В смывах с обеззараженной $AS_{70\%}$ кожи волонтеров ОМО была в 111 раз меньше ОМО необеззараженной кожи ($p \leq 0,001$), ЭО составила $99,12 \pm 0,05\%$, RF – $2,05 \pm 0,02$ lg (таблица 1, ОМО рук).

В смывах с обеззараженной $AS_{70\%}$ контаминированной кожи рук волонтеров МО *E.coli* была в $3,7 \times 10^4$ раза ниже по сравнению с МО необеззараженной контаминированной кишечной палочкой кожи ($p \leq 0,001$), ЭО составила $99,9961 \pm 0,0009\%$, RF – $4,48 \pm 0,09$ lg (таблица 1, МО *E.coli*, рисунок 2).

В смывах с обеззараженной $AS_{70\%}$ кожи предплечья волонтеров ОМО была в 148 раз меньше ОМО необеззараженной кожи ($p \leq 0,001$), ЭО составила $99,33 \pm 0,07\%$, RF – $2,19 \pm 0,05$ lg (таблица 1, ОМО предплечья, рисунок 3).

Полученные результаты третьей серии по изучению чувствительности стандартных и клинических штаммов к $AS_{70\%}$ позволяют заключить, что стандартные тест-культуры *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *P.mirabilis*, *C.albicans* и клинические штаммы *K.pneumoniae* 620, *A.baumannii* 445, *A.baumannii*, *K.pneumoniae* 1051, *S.aureus* 1230, *P.aeruginosa* 1074 при экспозиции 1 мин в качественном суспензионном пробирочном методе без белковой нагрузки, а также в микрометоде на стерильных 96-луночных полистироловых планшетах обладают высокой 100% чувствительностью к $AS_{70\%}$.

Полученные результаты позволяют рекомендовать микрометод в стерильных 96-луночных полистироловых планшетах для скрининга антимикробной активности антисептических средств, а не только для определения чувствительности микробов к антибиотикам [25].

С учетом того что при отсутствии чувствительности в диск-диффузионном методе диаметр зоны задержки роста микробов составлял 0 мм, наименьшей

чувствительности – от 1 мм до 10 мм, умеренной чувствительности – от 10 мм до 18 мм, высокой чувствительности – от 18 мм до 23 мм, наивысшей чувствительности – от 23 мм и более, изучаемые стандартные и клинические штаммы микроорганизмов при экспозиции 1 мин без белковой нагрузки можно считать умеренно чувствительными к $AS_{70\%}$.

Результаты изучения антимикробной активности *in vitro* позволяют заключить, что в количественном суспензионном тесте в течение 1 мин без белковой нагрузки $AS_{70\%}$ обладает высокой антимикробной активностью в отношении стандартных тест-культур на 99,99986% с фактором редукции 5,87 lg, клинических штаммов – 99,99983% с фактором редукции 5,77 lg и соответствует нормативным микробиологическим показателям эффективности кожных антисептических средств [4].

Полученные результаты по изучению эффективности обеззараживания кожи *in vivo* при экспозиции 1 мин позволяют заключить, что $AS_{70\%}$ обладает высокой эффективностью обеззараживания, снижая общую микробную обсемененность кожи волонтеров на 99,12% и микробную обсемененность кожи контаминированной кишечной палочкой на 99,9961% по сравнению с контролем и соответствует нормативным требованиям Российской Федерации к антисептикам класса А для обработки кожи инъекционного поля и класса В для гигиенической обработки рук [3]. В соответствии с нормативами Республики Беларусь $AS_{70\%}$ при экспозиции 1 мин с фактором редукции *in vivo* более 2 lg в отношении резидентной микрофлоры он соответствует требованиям к антисептикам для обработки инъекционного поля, а также с фактором редукции более 4 lg в отношении транзитной микрофлоры – к средствам для гигиенической антисептики рук и антисептической санитарной обработки кожных покровов [4].

Следует отметить, что использованные нами методические подходы и методы исследования химико-аналитических и микробиологических показателей качества, токсикологических показателей безопасности в лабораторных и клинко-лабораторных исследованиях на животных и волонтерах, а также микробиологических показателей эффективности *in vitro* и *in vivo* спирта этилового могут быть рекомендованы для расширенной оценки качества, безопасности и эффективности лекарственных антисептических средств профилактического назначения.

В целом полученное антисептическое средство с содержанием СЭ 70% марки «Люкс», не обладающее раздражающим действием и сенсibiliзирующей способностью, адекватное для периодического разового применения и длительного контакта с кожей, характеризующееся высокой эффективностью обеззараживания резидентной и

транзиторной микрофлоры, можно рекомендовать в качестве антисептика класса А для обработки кожи инъекционного поля и класса В для гигиенической антисептики рук и антисептической санитарной обработки кожных покровов в Республике Беларусь и Российской Федерации. Указанные рекомендации учтены в новой инструкции по медицинскому применению лекарственного средства «Этанол, раствор для наружного применения, 70%» [29].

■ ВЫВОДЫ

1. Полученное путем разведения водой очищенной спирта этилового 96,3% марки «Люкс» СТБ 1334–2003 средство для антисептики кожи с плотностью $0,8853 \pm 0,0003$ г/см³, содержанием спирта этилового 70,07±0,13% об/об, содержанием общего количества аэробов менее 102 КОЕ/см³, общего количества грибов менее 10 КОЕ/см³, подлинное, прозрачное, бесцветное, со специфическим спиртовым запахом и вяжущим вкусом, является качественным, микробиологически чистым и по химико-аналитическим и микробиологическим показателям качества соответствует требованиям ГФ РБ.

2. Спирт этиловый 70% марки «Люкс» после однократной эпикутанной аппликации в дозе 2560 мг/кг массы крыс в лабораторных условиях не вызывает клинических симптомов интоксикации и гибели подопытных животных и по токсикологическим показателям безопасности (острая токсичность) относится к IV классу – вещества малоопасные с ЛД50 при нанесении на кожу в дозе более 2500 мг/кг, при однократной аппликации на кожу хвостов в дозе 20 мг/см³ не вызывает раздражения и относится к нулевому классу с отсутствием раздражающего действия, при повторных десятикратных аппликациях не обладает

раздражающим действием и соответствует нормативным токсикологическим показателям безопасности кожных антисептиков.

В клинико-лабораторных исследованиях на волонтерах при первичной эпикутанной аппликации спирт этиловый 70% марки «Люкс» не вызывает эритематозной реакции, при повторной аппликации не вызывает субъективных и объективных симптомов сенсibilизации и относится к веществам, не обладающим раздражающим действием и сенсibilизирующей способностью.

3. Стандартные тест-культуры и клинические штаммы микроорганизмов высоко чувствительны к спирту этиловому 70% марки «Люкс» в качественном без белковой нагрузки суспензионном пробирочном и микрометодом и умеренно чувствительны в диск-диффузионном методе при экспозиции 1 мин. В отношении указанных микроорганизмов отмечается антимикробная активность спирта этилового 70% марки «Люкс» при экспозиции 1 мин в количественном суспензионном методе без белковой нагрузки выше 99,999% и с фактором редукции выше 5,0 lg.

Спирт этиловый 70% марки «Люкс» также характеризуется высокой эффективностью обеззараживания кожи и контаминированной кишечной палочкой кожи волонтеров более 99,1% и 99,996% и фактором редукции выше 2 lg и 4 lg соответственно.

4. Спирт этиловый 70% марки «Люкс» – качественное, токсикологически безопасное и микробиологически эффективное лекарственное средство – можно рекомендовать для антисептики кожи инъекционного поля (класс А), а также гигиенической антисептики рук (класс В) и антисептической санитарной обработки кожных покровов в Республике Беларусь и Российской Федерации. ■

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	ADDITIONAL INFORMATION
<p>Источник финансирования. Работа выполнена в рамках НИР «Разработка и совершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных болезней человека» № ГР 20191502.</p>	<p>Study funding. The study is a part of the research project "Development and improvement of methods for the diagnosis, treatment and prevention of human infectious diseases" No. GR 20191502.</p>
<p>Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.</p>	<p>Conflict of Interest. The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest associated with the content of this article.</p>
<p>Участие авторов. Н.И. Миклис – разработка концепции исследования, редактирование текста; И.И. Бурак – разработка концепции исследования, редактирование текста; Т.М. Красовская – сбор и обработка научного материала; А.Б. Юркевич – сбор и обработка научного материала, написание текста; Д.О. Горбачев – разработка концепции исследования, редактирование текста.</p> <p>Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.</p>	<p>Contribution of individual authors. N.I. Miklis – development of the research concept, text editing; I.I. Burak – managed the development of the study concept, detailed manuscript editing; T.M. Krasovskaya – has been responsible for scientific data collection, its systematization and analysis; A.B. Yurkevich – scientific data collection, its systematization and analysis, wrote the first draft of the manuscript; D.O. Gorbachev – managed the development of the study concept, detailed manuscript editing.</p> <p>All authors gave their final approval of the manuscript for submission, and agreed to be accountable for all aspects of the work, implying proper study and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.</p>
<p>Благодарности. Авторы выражают благодарность заведующему кафедрой клинической микробиологии учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» И.И. Генералову.</p>	<p>Acknowledgments. The authors express their gratitude to I.I. Generalov (the Head of the Department of Clinical Microbiology of the Vitebsk State Order of Friendship of Peoples Medical University).</p>

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Haque M, Sartelli M, McKimm J, et al. Health care-associated infections – an overview. *Infect Drug Resist.* 2018;11:2321-2333. <https://doi.org/10.2147/IDR.S177247>
2. Dubel EV. New requirements for hand hygiene of medical workers and disinfection of patients' skin. *Sanitary control. Occupational Safety and Health.* 2021;3:103-119. (In Russ.). [Дубель Е.В. Новые требования к гигиене рук медицинских работников и обеззараживанию кожных покровов пациентов. *Санэпидконтроль. Охрана труда.* 2021;3:103-119].
3. *Disinfection of the hands of medical workers and the skin of patients in the provision of medical care. Guidelines 3.5.1.3674-20.* М., 2020. (In Russ.). [Обеззараживание рук медицинских работников и кожных покровов пациентов при оказании медицинской помощи. Методические указания 3.5.1.3674-20. М., 2020].
4. *Normative indicators of safety and effectiveness of disinfectants. Sanitary rules and norms 21-112-99.* Minsk, 1999. 28 p. (In Russ.). [Нормативные показатели безопасности и эффективности дезинфекционных средств. СанПиН 21-112-99. Минск, 1999].
5. Shestopalov NV, Panteleeva LG, Sokolova NF, et al. *Federal Clinical Recommendations on the Choice of Chemical Disinfection and Sterilization Agents for Use in Medical Organizations.* М., 2015. (In Russ.). [Шестопалов Н.В., Пантелеева Л.Г., Соколова Н.Ф., и др. Федеральные клинические рекомендации по выбору химических средств дезинфекции и стерилизации для использования в медицинских организациях. М., 2015].
6. *WHO guidelines on hand hygiene in health care. First Global Patient Safety Challenge Clean Care is Safer Care.* Geneva: WHO; 2009. http://www.who.int/gpsc/5maytools/who_guidelineshandhygiene_summary
7. Kramer A, Rudolph P, Kampf G, et al. Limited efficacy of alcohol-based hand gels. *Lancet.* 2002;359(9316):1489-1490. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)08426-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)08426-X)
8. *System of labor safety standards. Harmful Substances: Classification and General Safety Requirements.* StSt 12.1.007-76. М., 2007. (In Russ.). [Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества: Классификация и общие требования безопасности. ГОСТ 12.1.007-76. М., 2007].
9. Mashkovsky MD. *Medicines. Manual for doctors.* 16th ed. М., 2011. (In Russ.). [Машковский М.Д. *Лекарственные средства.* Пособие для врачей. 16-е изд. М., 2011].
10. *Private pharmaceutical article: Ethyl alcohol 95%, 90%, 70%, 40%.* М., 2017. (In Russ.). [Частная фармацевтическая статья: Этиловый спирт 95%, 90%, 70%, 40%. М., 2017].
11. *Vidal's handbook. Medicines in Russia.* 29th edition. М., 2023. (In Russ.). [Справочник Видаль. *Лекарственные препараты в России.* 29-е издание. М., 2023].
12. *Vidal's handbook. Medicines in Belarus.* (In Russ.). [Справочник Видаль. *Лекарственные препараты в Беларуси.*] <https://www.vidal.by/>
13. *Microbial contamination of ethyl alcohol.* (In Russ.). [Микробная контаминация этилового спирта]. <https://belaseptika.by/know/microbial-contamination-of-ethyl-alcohol/>
14. *Methods for testing the antimicrobial activity of prophylactic antiseptics. Guidelines 11-13-1-97.* М., 1997. (In Russ.). [Методы испытания противомикробной активности антисептиков профилактического назначения. Методические указания № 11-13-1-97. М., 1997].
15. Shestopalov NV, Fedorova LS, Skopin AYU. Antimicrobial activity and minimum effective concentrations of chemical compounds that are part of disinfectants. *Hygiene and sanitation.* 2019;98(10):1031-1036. (In Russ.). [Шестопалов Н.В., Федорова Л.С., Скопин А.Ю. Антимикробная активность и минимальные эффективные концентрации химических соединений, входящих в состав дезинфекционных средств. *Гигиена и санитария.* 2019;98(10):1031-1036]. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-10-1031-1036>
16. *Ethanol, solution for external use, 70%.* Minsk, 2014. (In Russ.). [Этанол, раствор для наружного применения, 70%. Минск, 2014].
17. *Ethanol, solution for external use, 70%: instruction on the medical use of medicinal products 715.* Minsk, 2014. 2 p. (In Russ.). [Этанол, раствор для наружного применения, 70%: инструкция по медицинскому применению лекарственного средства №715. Минск, 2014].
18. *On the circulation of medicines: Law of the Republic of Belarus 163-3, 20.07.2006, edit. 13.05.2020.* (In Russ.). [Об обращении лекарственных средств: Закон Республики Беларусь № 163-3, 20.07.2006, в ред. 13.05.2020]. <https://etalonline.by/document/?regnum=H12000013>
19. Yurkevich AV, Burak II. *Pharmaceutical technology of pharmaceutical production of medicines.* Vitebsk, 2014. (In Russ.). [Юркевич А.Б., Бурак И.И. Фармацевтическая технология аптечного изготовления лекарственных средств. Витебск, 2014].
20. *Pharmacopoeia of the Republic of Belarus. Vol. 1. General methods of drug quality control.* 2012. (In Russ.). [Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т.1. Общие методы контроля качества лекарственных средств. 2012].
21. *Determination of the microbiological purity of disinfectants and antiseptics: instruction 4.2.10-22-102-2005.* Minsk, 2005. (In Russ.). [Определение микробиологической чистоты дезинфицирующих и антисептических средств: инструкция № 4.2.10-22-102-2005. Минск, 2005].
22. *Requirements for the experimental studies for the primary toxicological assessment and hygienic regulation of substances: instruction 1.1.11-12-35-2004.* Minsk, 2004. (In Russ.). [Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ: инструкция № 1.1.11-12-35-2004. Минск, 2004].
23. *Perfume and cosmetic products: Methods for determining and evaluating clinical and laboratory safety indicators.* StSt 33483-2015. Minsk, 2016. (In Russ.). [Продукция парфюмерно-косметическая: Методы определения и оценки клинико-лабораторных показателей безопасности. ГОСТ 33483-2015. Минск, 2016].
24. *Methods for testing and evaluating the antimicrobial activity of disinfectants and antiseptics: instruction on application 11-20-204-2003.* Minsk, 2003. (In Russ.). [Методы проверки и оценки антимикробной активности дезинфицирующих и антисептических средств: инструкция по применению № 11-20-204-2003. Минск, 2003].
25. Miklis NI, Burak II, Krasovskaya TM. *The method for assessing the antimicrobial activity of prophylactic antiseptics in a microplate.* Rational proposal 11/19.09.2022. (In Russ.) [Миклис Н.И., Бурак И.И., Красовская Т.М. Метод оценки антимикробной активности антисептиков профилактического назначения в микропланшете. Рацпредложение № 11/19.09.2022].
26. Saha AK, Haque MF, Karmaker S, et al. Antibacterial effects of some antiseptics and disinfectants. *J Life Earth Sci.* 2009;3-4:19-21. <https://doi.org/10.3329/jles.v3i0.7440>
27. *Disinfectants: Suspension method for determining antimicrobial activity.* StSt R 59072-2020. М., 2020. (In Russ.). [Средства дезинфицирующие: Суспензионный метод определения антимикробной активности. ГОСТ Р 59072-2020. Москва, 2020].
28. Zhiltsov IV, Semenov VM, Zenkova SK. *Fundamentals of medical statistics. Biomedical research design.* Vitebsk, 2014. (In Russ.). [Жильцов И.В., Семенов В.М., Зенькова С.К. Основы медицинской статистики. Дизайн биомедицинских исследований. Витебск, 2014]. ISBN 978-985-466-677-8
29. *Ethanol, solution for external use, 70%: instruction for the medical use of medicines 397.* Minsk, 2022. (In Russ.). [Этанол, раствор для наружного применения, 70%: инструкция по медицинскому применению лекарственного средства №397. Минск, 2022].