

© Copyright by Polska Akademia Nauk, Instytut Podstaw Inżynierii Środowiska PAN, Zabrze, Polska 2012

AKTYWNOŚĆ WYBRANYCH DEZYNFEKTANTÓW WOBEC PRZETRWAJNIKÓW BAKTERII Z RODZAJU *BACILLUS*

PAULINA OLESIAK¹; ALEKSANDRA SMYŁŁA¹, PIOTR KRUPA¹,
MACIEJ KOSTECKI²

¹Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii, Akademia im. Jana Długosza,
Al. Armii Krajowej 13/15, 42-200 Częstochowa, Polska

²Instytut Podstaw Inżynierii Środowiska PAN,
ul. Skłodowskiej-Curie 34, 41-819 Zabrze, Polska

Adresy e-mail do korespondencji: paulina_olesiak@interia.eu; asmylla@gmail.com;
kostecki@ipis.zabrze.pl

Słowa kluczowe: Dezynfektanty, przetrwalniki, *Bacillus*.

Streszczenie: Środki dezynfekujące wykorzystywane są powszechnie w gospodarstwach domowych, w szpitalach, przy produkcji leków, w przemyśle spożywczym. Przy ciągle narastającej antybiotykooporności mikroorganizmów ważne jest racjonalne stosowanie dezynfektantów w odpowiednich stężeniach, z odpowiednią substancją czynną, ponieważ nie wszystkie substancje działają w taki sam sposób na różne organizmy. Szczególnie trudnymi do zabicia mikroorganizmami są bakterie produkujące spory – formy o odmiennej budowie i odmiennej wrażliwości na dezynfektanty niż formy wegetatywne. Celem pracy było zbadanie wpływu często stosowanych związków dezynfekcyjnych na przetrwalniki bakterii z rodzaju *Bacillus*: *B. cereus*, *B. mycoides* i *B. subtilis*. W badaniach nad środkami dezynfekcyjnymi stwierdzono, że najlepszymi dezynfektantami wobec spor są: kwas nadoctowy, nadtlenek wodoru, zarówno w stężeniu 30%, jak i 5% oraz Lysoformin 3000. Najmniej skutecznymi wobec przetrwalników okazały się Izopropanol i Promanum N. Stwierdzono zróżnicowanie w reakcji poszczególnych gatunków na preparat Rafasept. *B. subtilis* okazał się bardzo wrażliwy na ten związek, natomiast wobec *B. mycoides* i *B. cereus* Rafasept okazał się nieskuteczny.

WPROWADZENIE

Mikroorganizmy znajdujące się w powietrzu, kurzu, na rękach personelu, obuwiu, włosach oraz sprzętach i narzędziach [14, 15] stanowią stałe źródło zakażeń w dużych skupiskach ludzi chorych, często o obniżonej odporności naturalnej [16].

Zapobieganie tym zakażeniom polega na przerywaniu dróg przenoszenia i niszczeniu ich źródeł, poprzez stosowanie różnego rodzaju środków mających za zadanie zabicie lub wyeliminowanie mikroorganizmów [16]. Produkty biobójcze, jak środki antyseptyczne, środki odkażające i konserwujące od lat używane w różnej formie, odgrywają istotną rolę w kontroli zakażeń i zapobieganiu przenoszenia mikroorganizmów [14, 24].

W większości dostępnych dezynfektantów działanie przeciwbakteryjne dotyczy form wegetatywnych bakterii [14, 16, 19, 24]. Dużo większym wyzwaniem dla dezynfekcji są formy przetrwalne bakterii, które charakteryzują się wyższą opornością niż formy wegetatywne na wszystkie czynniki fizyczne i chemiczne [14, 19].

Powszechnie występujące w środowisku bakterie tworzące endospory należące do rodzajów *Bacillus* i *Clostridium* są przyczyną wielu problemów, zarówno w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym, jak i w medycynie. Za zatrucia żywnościowe odpowiadają m.in. *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* czy *Clostridium perfringens* [9, 31, 32]. Laseczki z rodzaju *Bacillus* spotykane są na skórze, niekiedy nawet jako dominujące w wymazach ze skóry [28], a na skutek niewłaściwie prowadzonej dezynfekcji czy sterylizacji, mogą być też, obok pałeczek *Pseudomonas* czy *Serratia*, przyczyną epidemii szpitalnych [26].

W dezynfekcji, w zależności od wymaganej klasy czystości [26], wyróżnia się trzy poziomy: niski – gdy wymagane jest zniszczenie form wegetatywnych bakterii i niektórych wirusów; średni poziom dezynfekcji – wymaga inaktywacji mykobakterii i wirusów; natomiast wysoki – to dezynfekcja skuteczna j wobec przetrwalników, grzybów i wirusów [22].

Skuteczność działania dezynfektantów związana jest m.in. z dyfuzją tych związków do komórki [16]. Przenikanie antybiotyków i środków biobójczych do wnętrza komórki zależy od budowy ściany komórkowej bakterii, obecności błony zewnętrznej czy też wytworzenia osłon zewnętrznych przetrwalnika [25]. Odmienna reakcja form przetrwalnych bakterii na dezynfektanty związana jest z ich specyficzną budową. Spora przetrwalnika, zawierająca kwas dipikolinowy, otoczona jest przez systemem osłon komórkowych, które stanowią aż 50% suchej masy całego przetrwalnika [21, 31].

Najbardziej zewnętrzną osłoną jest egzosporium, zbudowane z błony lipidowobiałkowej z obecnymi węglowodanami [31]. Następne w kolejności są: zewnętrzny płaszcz spory i wewnętrzny płaszcz spory zbudowane głównie z białek [21] oraz korteks, który stanowi najgrubszą spośród wszystkich warstwę ochraniającą rdzeń i zbudowany jest z odmiennego rodzaju peptydoglikanu. Rdzeń przetrwalnika stanowi cytoplazma otoczona błoną białkowo-lipidową, zawierającą białka, DNA, RNA [21, 31]. Płaszcz spory i korteks stanowią barierę dla wejścia i penetracji biocydów do wnętrza spory [23]. Różnice w oddziaływaniu dezynfektantów związane są też z różnicą w ich budowie chemicznej, zależą głównie od tzw. grupy czynnej związku [12].

Spośród różnych grup substancji czynnych używanych w dezynfekcji skutecznością działania wyróżniają się grupy określane mianem substancji reaktywnych. Są one silnie reaktywne pod względem chemicznym i niszczą drobnoustroje wchodząc w reakcje chemiczne. Są to aldehydy, chlorowce i ich związki oraz nadtlarki [12].

Wśród związków dezynfekcyjnych aktywnych wobec spor wyróżnia się związki hamujące kiełkowanie i rozwój spor, tzw. związki sporostatyczne zaliczone przez Russell'a do grupy A oraz związki sporobójcze – inaktywujące spory zaliczane do grupy B [21]. Do związków sporobójczych, czyli grupy B należą aldehydy, związki chloru i jodu, nadtlarki wodoru, hydroksykwasy tlenek etylenu i in. [21]. Dezynfektanty oparte na glutardehydzie są skuteczne m.in. w inaktywacji przetrwalników laseczek węgla [13]. Działanie glutardehydu charakteryzuje szerokie spectrum aktywności i szybkie działanie [29]. Glutardehyd tworzy silne wiązania krzyżowe z grupami aminowymi ściany komórkowej i bakteryjnym płaszczem spory [23].

Siła działania środka dezynfekcyjnego zależy też od stężenia oraz czasu jego działania [16]. Nadtlenek wodoru, który jest silnym dezynfektantem, skuteczność przeciw przetrwalnikom wykazuje dopiero przy wysokich stężeniach lub w wyższych temperaturach [12].

Znacznie lepszą skuteczność mają peroksykwasy organiczne jak kwas nadoctowy [12]. Kwas nadoctowy posiada szerokie spektrum aktywności zarówno wobec bakterii, przetrwalników, grzybów, glonów, jak i wirusów [29]. Przypuszcza się, że powstające rodniki hydroksylowe powodują nieodwracalne uszkodzenia w zredukowanych grupach funkcjonalnych białek i tym samym niszczą aparat enzymatyczny i strukturę komórek. To ostatnie zjawisko prowadzi między innymi do nieszczelności błon komórkowych [12]. Grupa związków sporostatycznych, hamujących rozwój spor, tzw. grupa A, to są m.in.: fenole, alkohole, kwasy organiczne i in. [21]. Alkohole są stosowane powszechnie jako składniki preparatów dezynfekcyjnych używanych w higienicznym i chirurgicznym myciu rąk, do odkażania skóry oraz do dezynfekcji powierzchni i sprzętu medycznego. Najczęściej wykorzystywane są: etanol, izopropanol i n-propanol [10]. Do grupy związków sporostatycznych należą też produkty oparte na fenolu, działające na błony komórkowe bakterii i powodujące koagulację struktur cytoplazmy [23].

Celem pracy było porównanie działania powszechnie stosowanych środków dezynfekcyjnych o różnych grupach funkcyjnych na przetrwalniki laseczek tlenowych szczepów *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* i *Bacillus mycoides*.

METODYKA BADAŃ

Badania nad oddziaływaniem wybranych środków dezynfekcyjnych na formy przetrwane prowadzono na szczepach: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus mycoides* ATCC 8896 oraz *Bacillus cereus* ATCC 128276.

Szczepy *B. subtilis* i *B. mycoides* pochodziły z uczelnianej kolekcji, natomiast szczep *B. cereus* z kolekcji mikroorganizmów PAN Wrocław (z Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. L. Hirszfelda we Wrocławiu).

Aby porównać skuteczność działania testowanych dezynfektantów wobec przetrwalników *Bacillus*, przeprowadzono badania kontrolne na bakteriach nieprzetrwalnikujących. Wybrano do tego celu bakterie: *Escherichia coli* PCM 2209 oraz *Pseudomonas aeruginosa* PCM 499. Szczepy te pochodziły z uczelnianej kolekcji.

Testowano następujące dezynfektanty: Steridial P (oparty na kw. nadoctowym); Lysoformin 3000 (oparty na aldehydzie glutarowym); nadtlenek wodoru 30%; nadtlenek wodoru 5%; Rafasept (oparty na o-fenyleneolu); Promanum N (oparty na alkoholu etylenowym); Izopropanol 98%.

Do badań użyto podłoży: TSB (Tryptic Soy Brouth): trypton 17,0; pepton sojowy 3,0; NaCl 5,0; K₂ HPO₄ 4,0; g/l; TSA (Tryptic Soy Agar): trypton 15,0; pepton sojowy 5,0; NaCl 5,0; agar 15,0 g/l [18]; TSB z neutralizatorem: trypton 17,0; pepton sojowy 3,0; NaCl 5,0; K₂ HPO₄ 4,0; Tween 80 10,0; lecytyna 1,0; histydyna L 0,5; Na₂ S₂ O₃ 2,5 g/l [13, 18].

W badaniach zastosowano następujący schemat doświadczenia:

1. Przygotowanie inokulum: tygodniową hodowlę szczepów splukano 10 ml 0,85% NaCl, zawieszinę worteksowano 1 min, a następnie poddano działaniu temp. 72°C przez 10 minut w łaźni wodnej [informacja ustna, zmodyfikowana norma 18].

2. Przebieg doświadczenia:

a) 1 ml zawiesiny spor przeniesiono do 9 ml podłoża TSB (próba kontrolna), z którego posiewano po 0,1 ml na podłoże TSA w celu określenia ilości przetrwalników w zawieszynie (jtk – jednostek tworzących kolonie).

b) 1 ml zawiesiny spor przeniesiono 9 ml każdego z testowanych dezynfektantów. Po 5, 10, 15, 30, 60, 120 i/lub 180 minutach działania dezynfektanta przenoszono po 1 ml zawiesiny do 9 ml podłoża TSB z neutralizatorem na 30 min.

c) Liczebność spor (jtk) określano posiewając próby na stałe podłoże TSA, przy czym jako rozcieńczalnik służyło podłoże TSB [18].

Posiewy inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 28°C w przypadku *Bacillus* i w 37°C w przypadku *E. coli* i *Ps. aeruginosa*.

Schemat ten zastosowano dla wszystkich szczepów i środków dezynfekcyjnych [17, 18]. Wyniki zestawiono na wykresach i podano jako log jednostek tworzących kolonie [jtk] w 1ml wyrosłych na podłożu TSA.

WYNIKI I DYSKUSJA

Coraz lepsza znajomość przyczyn zakażeń szpitalnych jest powodem zwiększenia się zapotrzebowania na środki dezynfekujące stosowane do likwidacji rezerwarów drobnoustrojów i przerywania dróg szerzenia się zakażeń [8].

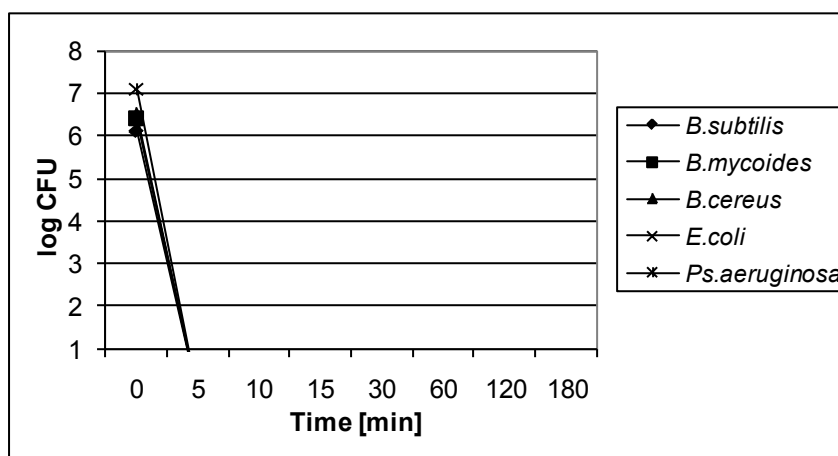
Brak skuteczności działania środków dezynfekcyjnych w odniesieniu do form przetrwalnikujących sprawia ogromne problemy w dezynfekcji zwłaszcza w takich miejscach jak szpitale, gdzie sterylność jest ogromnie ważna, bo zagraża życiu osłabionych pacjentów przez zakażenia oportunistyczne [15].

Stosowanie nieodpowiednich środków, czy w nieodpowiednich stężeniach sprzyja powstawaniu form opornych na ich działanie [2]. Tym bardziej, że w miejscach takich jak szpitale często mamy do czynienia z zakażeniami krzyżowymi, co może skutkować jeszcze większymi utrudnieniami [16]. Kwas nadoctowy jako jeden z nielicznych związków działa przy niskich stężeniach na wszystkie rodzaje drobnoustrojów: bakterie wegetatywne (Gram-dodatnie i Gram-ujemne), spory, grzyby, prątki gruźlicy, wirusy [6].

Jednak istnieją pewne rozbieżności dotyczące skuteczności określonych stężeń. Matras i Bartoszcze podają, że skuteczna dezynfekcja środowiska skażonego laseczką wąglika powinna być przeprowadzona za pomocą 3% kwasu nadoctowego [11]. Podobnie w badaniach Mizak nad wpływem 5% kwasu nadoctowego na spory *B. anthracis*, wykazano, że formy te giną po 120 min., jednak przy stężeniu 3% czas ten wynosił 180 minut [13]. Również wg Jonem i Turnbull (cyt. za Mizak [13]) efekt bójczy 3% i 5% kwasu nadoctowego na spory *B. anthracis* występuje po odpowiednio 120 i 180 minutach. Nieco inne wartości otrzymali Hussaini i Ruby (cyt. za Mizak [13]) w badaniach skuteczności 5% kwasu nadoctowego na *B. anthracis*, całkowity efekt sporobójczy uzyskali już po 20 minutach. Taki sam rezultat uzyskali Baldry oraz Manche (cyt. za Mizak [13]). Być może istotny wpływ ma pH, ponieważ sporobójcze działanie kwasu nadoctowego przy pH 3 i stężeniu 300 ppm wymaga 30 minutowej ekspozycji, natomiast przy pH bardziej alkalicznym skuteczna dekontaminacja wymaga zwiększenia stężenia oraz czasu ekspozycji [7].

Według Staniszewskiej i in. [27] stosowanie różnych metod prowadzi do uzyskania różnych rezultatów. Istotny jest dobór szczepów, podłoży i warunków hodowli, ponieważ w badaniach prowadzonych metodą zawiesinową, kwas nadoctowy działał bójczo w czasie 15–30 minut już w stężeniu 0,1%. Jednak w badaniach preparatu składającego się z kwasu nadoctowego i nadtlenu wodoru metodą nośnikową czas redukcji spor *B. subtilis* i *B. cereus* wydłużył się do 11 godzin [27]. Zróżnicowanie reakcji bakterii przetrwalnikujących na działanie kwasu nadoctowego może być zależne od właściwości szczepu. Hilgren i in. [4] stwierdzili, iż spory *B. cereus* są bardziej odporne na kwas nadoctowy o 1,5–2,5 log niż spory *B. subtilis*.

W przeprowadzonych badaniach, metodą zawiesinową, nad wpływem Steridialu P, którego głównym składnikiem jest 1% kwas nadoctowy wykazano, że przetrwalniki wszystkich trzech testowanych szczepów: *B. subtilis*, *B. mycooides* oraz *B. cereus* giną już po 5 minutowej ekspozycji na ten związek (Rys.1).



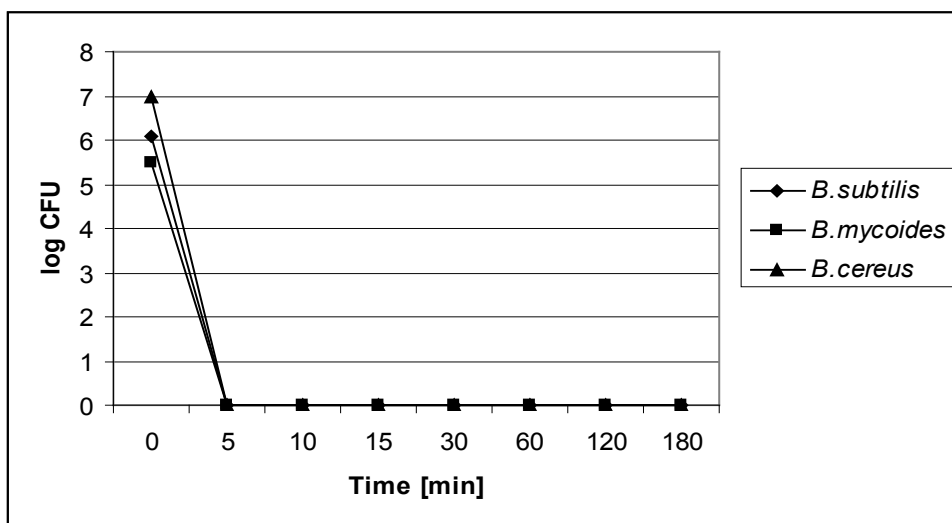
Rys. 1. Wpływ Steridialu P na testowane szczepy

Obserwowane silniejsze działanie Steridialu P od czystego kwasu nadoctowego, może być spotęgowane obecnością w preparacie nadtlenu wodoru, który także wykazuje działanie przeciwbakteryjne. W przypadku testowanych bakterii gram ujemnych również wykazano, że kwas nadoctowy po 5 min. ekspozycji całkowicie je zabija (Rys. 1). Wybór *E. coli* oraz *Ps. aeruginosa* nie był przypadkowy, ponieważ obie pałeczki należą do grupy bakterii najczęściej wywołujących zakażenia szpitalne. O ile *E. coli* jest bakterią sprawiającą stosunkowo małe problemy - jeśli już dojdzie do zakażenia, to *Ps. aeruginosa* jest pałeczką bardzo groźną, oporną na wiele antybiotyków, wywołującą niejednokrotnie posocznice, a zdolność do nabywania przez nią lekooporności jeszcze bardziej utrudnia walkę z nią [16, 33]. Innym skutecznym środkiem używanym w dekontaminacji jest aldehyd glutarowy [3], który w przypadku użycia laseczek węgliką jako bronii biologicznej zaleca się użycie 5% aldehydu glutarowego w celu skutecznej dezynfekcji [11].

Staniszewska i in. [27] stwierdziła, że aldehyd glutarowy w stężeniu 2% redukuje spory *B. cereus* w czasie 15–30 minut o 4 rzędy wielkości, natomiast wobec *B. subtilis* jest mniej skuteczny i w takim samym stężeniu redukuje liczbę przetrwalników podczas 30 minutowej ekspozycji już

tylko o 1 log. Wzrost z temperatury pokojowej do 40°C powoduje zwiększenie redukcji endospor do 6 rzędów wielkości w czasie 30 minut. Natomiast 1,5% aldehyd glutarowy w obecności zanieczyszczeń organicznych w środowisku powoduje zabijanie spor *B. subtilis* dopiero po 8 godzinach. Wobec *B. cereus* nawet 10 godzinna ekspozycja jest nieskuteczna [27].

Odmienne wyniki uzyskano w przeprowadzonych badaniach, gdzie stwierdzono, że Lysoformin 3000 z aldehydem glutarowym jako swoją główną substancją aktywną, całkowicie redukuje liczbę przetrwalników wszystkich trzech szczepów zarówno *B. subtilis*, *B. mycooides* jak i *B. cereus* już po 5 minutowej ekspozycji (Rys. 2).



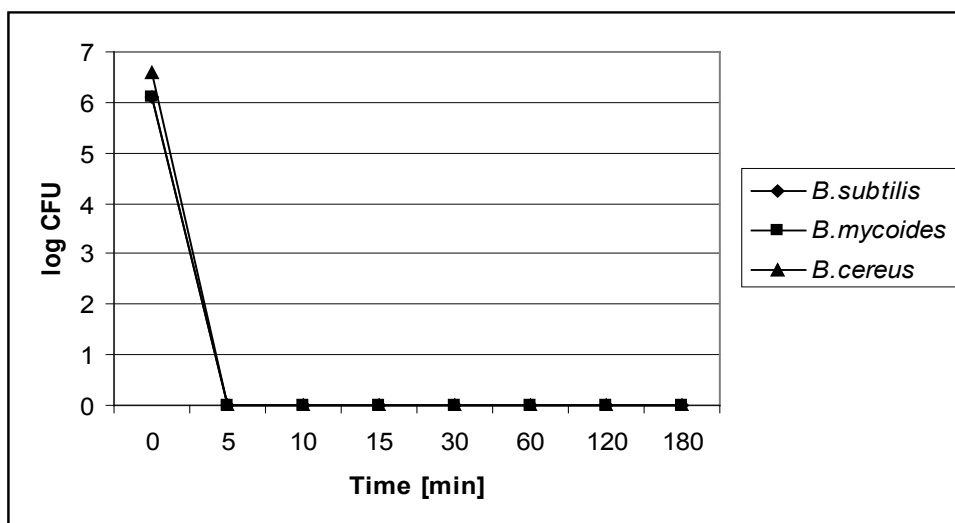
Rys. 2. Wpływ Lysoformin 3000 na testowane szczepy

Tak duże różnice w uzyskanych wynikach są związane niewątpliwie ze składem preparatu Lysoformin 3000, gdzie co prawda główną substancją czynną jest aldehyd glutarowy, ale w skład preparatu wchodzi też inne związki uznane jako środki dezynfekcyjne jak chlorek didecyldimetyloamoniowy czy izotridekanol etoksylogowany oraz glioksal. Z uwagi na mankamenty i ograniczenia w dezynfekcji uważa się, że optymalnym rozwiązaniem są wieloskładnikowe środki dezynfekcyjne, łączące składnik aktywny za składnikami o właściwościach myjących czy emulgatorami [19].

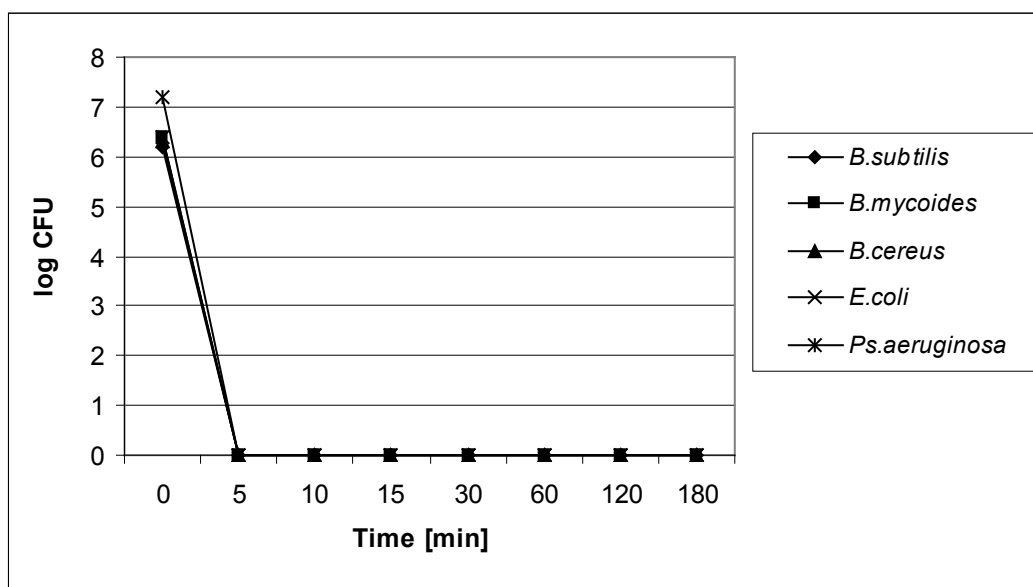
Podobnie silnym dezynfektantem jest 30% nadtlenu wodoru. W przeprowadzonych badaniach, spory *B. subtilis*, *B. mycooides* i *B. cereus* zostały zabite już po 5 minutowej ekspozycji (Rys. 3).

Zmniejszenie stężenia perhydrolu z 30% na 5% nie powodowało obniżenia jego skuteczności wobec badanych szczepów. Przy 5% stężeniu uzyskano taką samą wrażliwość wszystkich trzech testowanych szczepów. Liczba spor zarówno *B. subtilis*, *B. mycooides* i *B. cereus* została zredukowana całkowicie już po 5 minutowej ekspozycji (Rys. 4).

Tak jak w przypadku przetrwalników *Bacillus*, całkowita redukcja komórek bakterii z rodzaju *Escherichia* i *Pseudomonas* nastąpiła już po 5 minutowej ekspozycji (Rys. 4). Nadtlenek wodoru



Rys. 3. Wpływ 30% nadtlenu wodoru na testowane szczepy



Rys. 4. Wpływ 5% nadtlenu wodoru na testowane szczepy

przez wiele lat używany jako środek do dezynfekcji ran przeżywa „drugą młodość” [8] z uwagi na dobre właściwości czyszczące: w obecności substancji organicznych dochodzi do gwałtownego rozkładu połączonego z wydzielaniem wolnego tlenu, który ma silne działanie biobójcze. Zakres jego działania obejmuje bakterie, grzyby (drożdżaki i pleśnie), prątki, wirusy osłonkowe i bezosłonkowe, a w niektórych wypadkach także spory *Bacillus subtilis* i *Clostridium difficile* [8] Odmienne wyniki w badaniach nad sporamiz *B. anthracis* uzyskała Mizak, która obserwowała

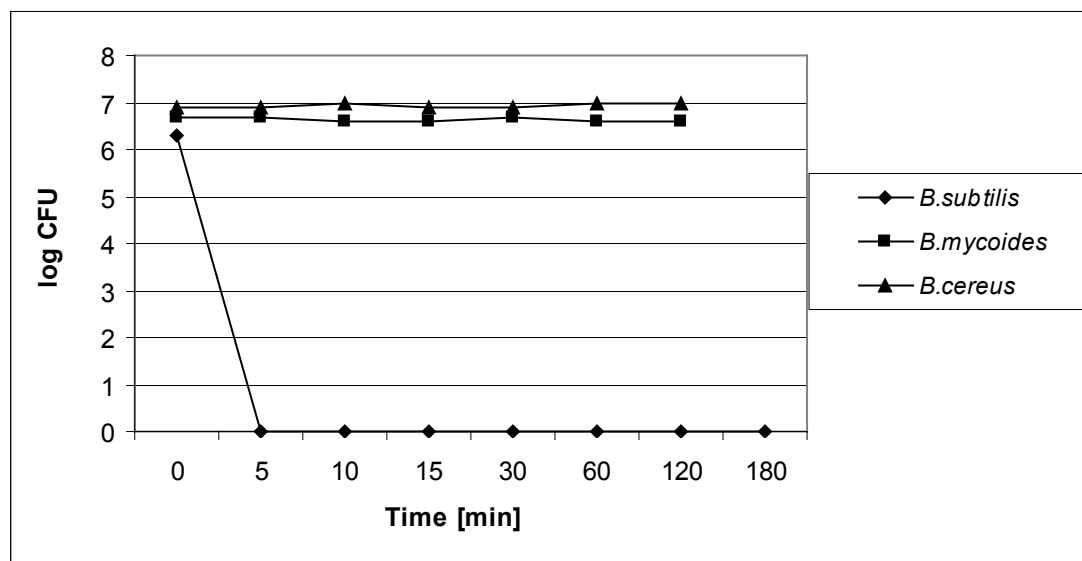
redukcję liczby spor tylko o rząd wielkości, po 5minutowej ekspozycji 30% nadtlenu wodoru a po 60 minutach kolejną redukcję - także o rząd wielkości. Dopiero 180 minutowa ekspozycja pozwoliła całkowicie zabić przetrwalniki *B. anthracis* [13].

Także odmienne wartości w badaniach z zastosowaniem 4% nadtlenu wodoru wobec *B. anthracis* otrzymała Mizak [13], gdzie nie wykazano żadnej wrażliwości szczepu na badany związek. Nawet 180 minutowa ekspozycja nie pozwoliła na zabicie spor, jedynie umożliwiła ich redukcję o 1 log (z 8 log). Różnice te wynikają prawdopodobnie z wyjątkowych właściwości szczepu *B. anthracis*, którego spory są wyjątkowo odporne na działanie czynników zewnętrznych [11, 13, 30].

Fenol jest związkiem, który pozwala ocenić skuteczność dezynfektantów, zwłaszcza nowych preparatów, pod kątem siły działania na wąskie/szerokie spektrum. Ocenia się je za pomocą tzw. współczynnika fenolowego, którego wartość określa się przez dzielenie największego rozcieńczenia badanego preparatu, przy którym zostają zabite wszystkie bakterie w ciągu 10 minut, ale czas ten nie może być krótszy niż 5 minut, przez rozcieńczenie fenolu, przy którym wystąpił taki sam efekt bakteriobójczy. W ten sposób można ocenić ile razy silniejszy/słabszy jest badany preparat od fenolu [1].

Uważa się jednak, że fenol i jego pochodne nie są skuteczne w działaniu na formy przetrwalne bakterii [3, 5, 6].

W przeprowadzonych badaniach nad działaniem preparatu Rafasept stwierdzono zróżnicowanie w reakcji poszczególnych szczepów. Wykazano, że Rafasept, którego główną substancją czynną jest o-fenylofenol, redukuje całkowicie liczbę przetrwalników *B. subtilis* już po 5 minutowej ekspozycji (Rys. 5).



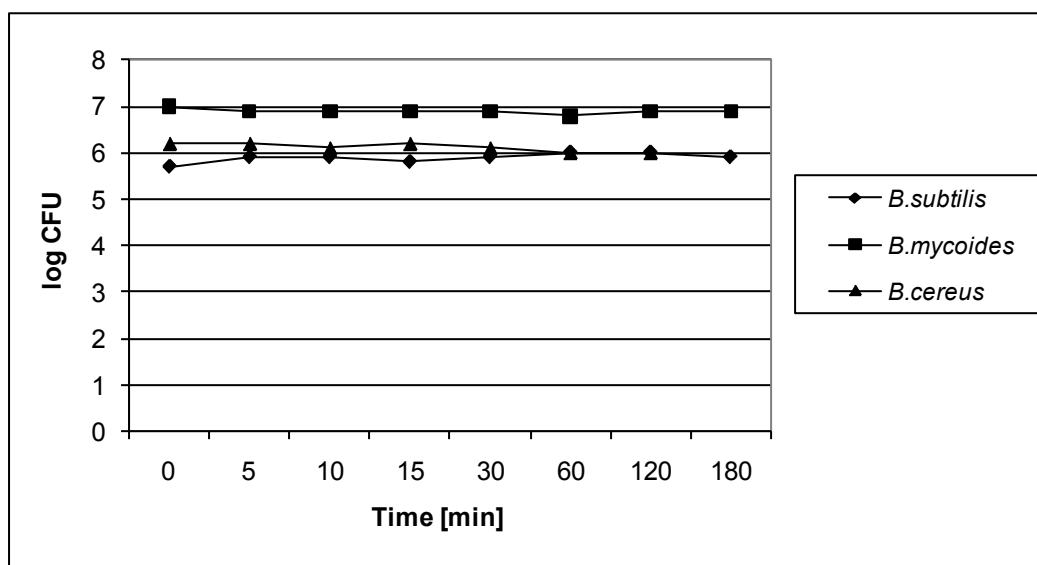
Rys. 5. Wpływ Rafaseptu na testowane szczepy

Natomiast wobec dwóch pozostałych laseczek wytwarzających przetrwalniki działanie Rafaseptu nie było już tak skuteczne. Liczba spor zarówno *B. mycooides* jak i *B. cereus* nie została zredukowana

nawet po okresie 180 minutowej ekspozycji (Rys. 5). Jest to o tyle interesujące, że Rafasept stosuje się do dezynfekcji w szpitalach, salach zabiegowych, przychodniach, Stacjach Pogotowia Ratunkowego, aptekach, gabinetach stomatologicznych, ginekologicznych, kosmetycznych, fryzjerskich itp.

Taka zróżnicowana wrażliwość na o-fenylfenol jest prawdopodobnie uwarunkowana gatunkowo, ponieważ czasem spory różnych szczepów inaczej reagują na ten sam dezynfektant w środowisku. Na przykład *B. subtilis* jest bardziej oporny niż *B. cereus* na środki dezynfekcyjne na bazie chloru [27] ale z kolei *B. cereus* bardziej oporny na kwas nadoctowy niż *B. subtilis* [4]

Kolejnym testowanym dezynfektantem był preparat o nazwie Promanum N, alkoholowy preparat do chirurgicznej i higienicznej dezynfekcji rąk, którego głównym składnikiem jest alkohol etanolowy. Okazał się on zupełnie nieskuteczny wobec przetrwalników wszystkich trzech testowanych szczepów. Nawet po 180 minutowej ekspozycji nie zaobserwowano redukcji spor (Rys. 6).



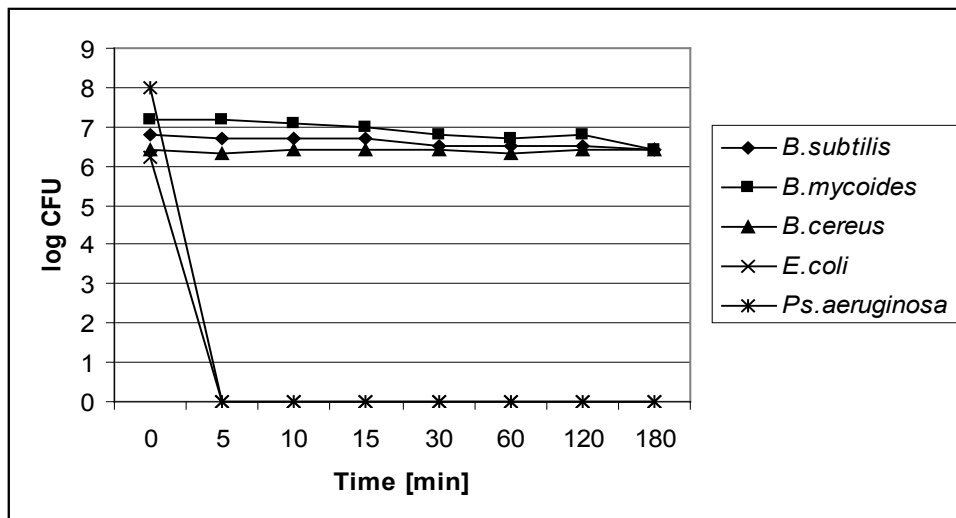
Rys. 6. Wpływ Promanum N na testowane szczepy

Wynik ten jest zgodny z literaturą, która podaje, że etanol jest jednym z dwóch najmniej skutecznych alkoholi wobec bakterii [3] jak i zaleceniami producenta, który rekomenduje preparat użycia w Obszarze Aktywności A. (Destrukcyjna wegetatywnych form bakterii, włączając mikrobakterie, grzyby i ich spory) [ulotka producenta].

Izopropanol obok etanolu należy do alkoholi najczęściej wykorzystywanych w dezynfekcji. Informacje na temat skuteczności tego związku są jednak rozbieżne. Różalski [20] podaje, że Izopropanol jest alkoholem działającym najsilniej ze wszystkich, przy czym siła bójcza alkoholi wzrasta wraz z ilością węgla w łańcuchu, natomiast Dzierżanowska i Jeliaszewicz [3] podają, że Izopropanol i etanol są najmniej toksycznymi alkoholami.

W przeprowadzonych badaniach Izopropanol po 5 min zabijał formy wegetatywne bakterii *E. coli* i *Ps. aeruginosa*, natomiast nie miał wpływu na liczebność przetrwalników wszystkich

testowanych szczepów nawet przy 180 minutowej ekspozycji (Rys. 7) co wskazuje, że alkohol propanolowy jest skuteczny wobec bakterii nieprzetrwalnikujących, natomiast jest w ogóle nietoksyczny wobec endospor bakterii z rodzaju *Bacillus*.



Rys. 7. Wpływ Izopropanolu na testowane szczepy

WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań i uzyskanych wyników sformułowano następujące wnioski:

- ✓ W obrębie jednego rodzaju bakterii przetrwalnikujących może występować zróżnicowana wrażliwość na ten sam dezynfektant.
- ✓ Najsilniejsze działanie wobec przetrwalników bakteryjnych wykazały związki utleniające (H_2O_2), w tym także oparte na kwasie nadoctowym - Steridial P
- ✓ Preparaty wieloskładnikowe są skuteczniejsze dzięki połączeniu różnych mechanizmów działania i charakteryzują się większym spektrum oddziaływania.
- ✓ Przy stosowaniu do dezynfekcji rąk preparatów opartych na alkoholach - Izopropanol (98%) oraz Promanum N , należy liczyć się z wystąpieniem zakażeń spowodowanych przez bakterie przetrwalnikujące.

LITERATURA

- [1] Bobrowski M.M.: *Podstawy biologii sanitarnej*; Białystok 2002.
- [2] Chapman J.S.: *Characterizing bacterial resistance to preservatives and disinfectants*; International Biodeterioration and Biodegradation, **41**, 241-245, (1998).
- [3] Dzierżanowska D., J. Jeliaszewicz: *Zakażenia szpitalne*; Wydawnictwo Alfa-media press, Bielsko-Biała 1999.
- [4] Hilgren J., K.M. Swanson, F. Diez-Gonzales, B. Cords: *Susceptibilities of Bacillus subtilis, Bacillus cereus and avirulent Bacillus anthracis sporesto liquid biocides*; Journal of Food Protection, **72(2)**, 360-364, (2009).
- [5] Kieć-Świerczyńska M.: *Środki odkażające w zakładach służby zdrowia. Rodzaj i częstość stosowania*; Medycyna Pracy, **46(1)**, 39-46, (1995).

- [6] Krzywicka H., A. Bielicka, J. Janowska, E. Jaszczuk, B. Tadeusiak: *Zastosowanie chemicznych środków dezynfekcyjnych w szpitalach*; Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1986.
- [7] Kutrowska E.: *Kwas nadoctowy w nowoczesnych procesach dekontaminacji*; Zakażenia, **5(4)**, 15–19, (2005).
- [8] Kutrowska E.: *Nowe rozwiązania w dezynfekcji narzędzi i powierzchni oraz ich praktyczne zastosowanie*; Zakażenia, **3**, 7–13, (2010).
- [9] Libudzisz Z., K. Kowal, Z. Żakowska: *Mikrobiologia techniczna*, t. 2; Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2008.
- [10] Litwińska B., A. Trzcńska: *Aktywność wirusobójcza preparatów alkoholowych zawartych w środkach przeznaczonych do dezynfekcji rąk (antyseptykach)*; Zakażenia, **3**, 60–67, (2005).
- [11] Matras J., M. Bartoszcze, *Bacillus anthracis*; Postępy Mikrobiologii, **41,1**, 3–19, (2000).
- [12] Meyer B.: *Kwas nadoctowy jako substancja czynna w dezynfekcji*; Aseptyka, **2**, 10–11, (2002).
- [13] Mizak L.: *Sporobójcza aktywność nadtlenku wodoru i kwasu nadoctowego wobec przetrwalników Bacillus anthracis*; Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia, **57**, 437–442, (2005).
- [14] Murtough S.M., S.J. Hiom, M. Palmer, A.D. Russell: *Biocide rotation in the healthcare setting: is there a case for policy implementation?*; Journal of Hospital Infection, **48**, 1–6, (2001).
- [15] Parnowska W.: *Środki odkażające – rola w profilaktyce i zwalczaniu zakażeń szpitalnych*; Farmacja Polska, **54(15)**, 675–684, (1998).
- [16] Parnowska W.: *Znaczenie stosowania i badań skuteczności środków dezynfekcyjnych w profilaktyce zakażeń szpitalnych*; Postępy Nauk Medycznych, **3**, 54–60, (2000).
- [17] PN-EN 1040:2000: Chemiczne środki dezynfekcyjne i antyseptyczne. Podstawowe działanie bakterioobójcze. Metoda badania i wymagania (faza 1).
- [18] PN – EN 14347: 2005: *Chemiczne środki dezynfekcyjne i antyseptyczne – Podstawowe działanie sporobójcze – Metoda badania i wymagania* (faza 1, etap 1).
- [19] Rogalewicz R.: *Wieloskładnikowe preparaty dezynfekcyjne – nowe trendy w dziedzinie dezynfekcji instrumentów i powierzchni medycznych w placówkach służby zdrowia*; Pielęgniarka Epidemiologiczna, **4(43)**, 30–32, (2010).
- [20] Różalski A.: *Ćwiczenia z mikrobiologii ogólnej*; Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego, Łódź 2003.
- [21] Russel A.D.: *Bacterial Spores and Chemical Sporicidal Agents*; Clinical Microbiology Reviews, Apr., 99–119, (1990).
- [22] Russel A.D.: *Activity of biocides against mycobacteria*; Journal of Applied Bacteriology, **81**, 87–101, (1996).
- [23] Russel A.D., J.R. Furr, J.Y. Maillard: *Microbial susceptibility and resistance of biocides*; ASM News, vol. **63**, no **9**, 481–487, (1997).
- [24] Russell A.D.: *Mechanisms of antimicrobial action antyseptic and disinfectants: an increasingly important area of investigation*; Journal of Antimicrobial Chemotherapy, **49**, 597–599, (2002).
- [25] Russell A.D.: *Bacterial adaptation and resistance to antiseptics, disinfectants and preservatives is not a new phenomenon*; Journal of Hospital Infection, **57**, 97–104, (2004).
- [26] Sagripanti J-L., Bonifacino A.: *Bacterial spores survive treatment with commercial sterilants and disinfectants*; Applied and Environmental Microbiology, Sept., 4255–4260, (1999).
- [27] Staniszevska M., E. Rohm-Rodowald, B. Jakimiak: *Działanie sporobójcze środków dezynfekcyjnych*; Zakażenia, **6(5)**, **12**, 14–17, (2006).
- [28] Swoboda-Kopeć E., M. Łuczak, B. Łukomska, W.L. Olszewski, S. Jamal, M. Manokaran, E. Stelmach, E. Zalewska: *Bakteryjne zakażenia skóry i tkanek miękkich w filariozie*; Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia, **51**, 347–355, (1999).
- [29] Walsh S.E., J-Y. Mailard, A.D. Russell: *Ortho-phthaldehyde: a possibility alternative to glutaraldehyde for high level disinfection*; Journal of Applied Microbiology, **86**, 1039–1046, (1999).
- [30] Zaremba M., J. Borowski: *Mikrobiologia lekarska dla studentów medycyny*, PZWL, Warszawa 2001.
- [31] Żakowska Z., H. Stobińska: *Mikrobiologia i higiena w przemyśle spożywczym*; Wydawnictwo Naukowe Politechniki Łódzkiej, Łódź 2000.
- [32] www.pis.lodz.pl/pliki/akt20070928.
- [33] www.teraz-zdrowie.pl/zakazenia-szpitalne.