

Biomedical Research Centre

Testiranje pločica premazanih preparatom

**easy-on +**

*(easy-on uz dodatak 5% Akacida plus)*

**ojačan za Urban Hygiene Ltd**

srpanj 2009. godine

Dr Jamie Young

Centar za biomedicinska istraživanja

Sveučilište Sheffield Hallam

## Uvod

### Bolničke infekcije

Bolničke infekcije, poznate i pod nazivom nosokomijalne infekcije, su infekcije s kojima se bolesnici zaraze u bolnici u koju su primljeni zbog razloga koji nije vezan za tu infekciju, ili infekcije koje se javljaju kod pacijenta u bolnici ili nekoj drugoj zdravstvenoj ustanovi, a gdje nisu postojale u vrijeme kada je pacijent primljen. To uključuje i infekcije s kojima su se bolesnici zarazili u bolnici, a koje se manifestiraju nakon što je pacijent otpušten, kao i profesionalne infekcije među zaposlenicima u zdravstvenoj ustanovi.

Bolničke infekcije imaju velik učinak ne samo na zdravlje pacijenta i na duljinu njegova boravka u bolnici, nego i na financijska sredstva koja bolnica mora uložiti za liječenje takve infekcije. Glavni financijski teret uzrokovan je produljenim boravkom pacijenta u bolnici od prosječno 8.2 dana. Procjenjuje se da će u Europi prosječno 7,7% pacijenata koji se trenutno nalaze u bolnici oboljeti od bolničkih infekcija, s time da se najviše slučajeva javlja na odjelima za intenzivnu njegu te akutnim kirurškim i ortopedskim odjelima. Najčešća bolnička infekcija napada mokraćni sustav. Ostale vrste infekcija uključuju: infekcije kirurških rana, bolničku pneumoniju, i infekcije krvi (bakteremije) obično uzrokovane kateterima ili kanulama.

Postoji nekoliko vrsta bakterija odgovornih za takve infekcije, uključujući *E. coli*, *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Klebsiellu*, *Pseudomonas* i nešto rjeđe, *Legionelu*. Infekcije mogu uzrokovati i neke vrste gljivica, poput *Aspergilliusa*.

Većina načina suzbijanja rasta broja takvih infekcija usmjerena je na kontakte među pacijentima u prenošenju zaraza. Metode koje se koriste kreću se od uvođenja alkoholnih gelova, ograničavanja broja posjetitelja i rasporeda posjeta, do osvježavanja posjetitelja i osoblja o zarazama.

Uz to, u Ujedinjenom Kraljevstvu postoji program temeljitog čišćenja bolničkih odjela, iako nije posve jasno koliko je uspješan.

Vrlo je malo istraživanja provedeno radi utvrđivanja uloge bolničkog okoliša kao legla infekcija mikroorganizmima. Većina njih je prvenstveno usmjerena na predmete koji dolaze u izravan doticaj s pacijentima, primjerice stolice, stolovi, kreveti, medicinski aparati, itd. Međutim, malo ih uzima u obzir ulogu tvrdih površina, primjerice zidova, podova i stropova. Kod većine istraživanja primijećeno je povećanje broja zaraza nakon obavljanja građevinskih radova na bolničkim odjelima i javnim bolničkim prostorima. Kako bakterijske tako i gljivične infekcije povezane su s lažnim stropovima, kutijama za rolete na prozorima i izolacijskim materijalom. U slučaju lažnih stropova niti jedan režim čišćenja ne može ukloniti skladišta mikroorganizama koja se tamo nalaze. Vrlo malo istraživanja bavi se preživljavanjem i prenošenjem mikroorganizama u bolničkim odjelima i izloženim stranama stropova.

### **Sredstva za dezinfekciju**

U bolnicama se tradicionalno koriste sredstva za dezinfekciju na bazi klora/alkohola ili fenola. Svako od tih sredstava ima svojih nedostataka: primjerice, otopine na bazi fenola ne ubijaju bakterijske i gljivične spore, a otopine na bazi klora se lako inaktiviraju u doticaju s organskim tvarima. Nedavno je uvedena i ispitana nova vrsta sredstva za dezinfekciju koja sadrži polimer-guanidin. Akacid plus je član te obitelji, a izvorno je stvoren radi povećavanja antimikrobne aktivnosti ove vrste dezinfekcijskog sredstva, uz smanjivanje njegove toksičnosti. Standardne otopine Akacida sadrže dva polimera i omjer od 3:1 poli-(heksametilen-guanid-klorida) i poli-[2-(2-etoksi)-etoksitil]-guanidinklorida].

Molekule guanidin-klorida reagiraju s površinom bakterija te izdvajaju prisutne proteine. To uglavnom narušava površinu bakterijske stanice te konačno ubija bakterije.

Akacid je izvorno ispitan u Austriji, na Odjelu za internu medicinu Sveučilišta u Beču, te se pokazao djelotvornim za borbu protiv širokog raspona bakterijskih vrsta. Daljnja ispitivanja dokazala su da je Akacid, ispitan u koncentracijama od 0,5%, djelotvoran protiv svih bakterija. Uništio je većinu vrsta bakterija na kojima je ispitan u roku od 60 minuta od izlaganja.

Druga su istraživanja na životinjama pokazala da izlaganje kože radnim koncentracijama Akacida ne dovodi do štetnih posljedica.

## **Pregled**

Pločice premazane preparatom easy-on+, koji uključuje biocid Akacid plus® ispitane su u odnosu na omjer preživljavanja i uništenja bakterija *Staphylococcus aureus* (soja koji je otporan na Meticilin, MRSA) te *Escherichie coli* (E Coli).

## **Materijali i metode**

Prije ispitivanje, sve premazane pločice (7.5 x 5.5 cm) obrisane su 90 % otopinom etanola (V/V).

### **Učinak preparata easy-on+ na preživljavanje bakterija**

Prekonoćna kultura stafilokoka aureus otporna na Meticilin razrijeđena je u hranjivom bujonu kako bi se dobila koncentracija od  $10^7$  stanica/ml. Svako od tri pločice premazane preparatom easy-on+ koji u sebi sadrži aktivni sastojak od 5% Akacida plus dodano je 500  $\mu$ l kulture. Kultura je nanosena na površinu pločica inkubiranih na sobnoj temperaturi u sterilnoj petrijevoj zdjelici u trajanju od 1 sata. Nakon toga pločice su isprane u 10 ml sterilne  $\frac{1}{4}$  Ringerove otopine i protresene u trajanju od 30 minuta radi odstranjivanja bakterija s površine.

Nakon toga je 10 ml Ringerova otopina odstranjena te je napravljena serija razrjeđenja. Nakon toga je 200  $\mu$ l svakog razrjeđenja stavljeno na hranjive Agar podloge. Te su podloge inkubirane preko noći, nakon čega su prebrojane kolonije bakterija. Taj je pokus proveden tri puta, od čega je uzeta prosječna vrijednost.

Za svaku skupinu replikata uzeta je aritmetička sredina te su izračunata standardna odstupanja.

## **Utvrđivanje preživljavanja bakterija tijekom simuliranog životnog vijeka površina premazanih preparatom easy-on+**

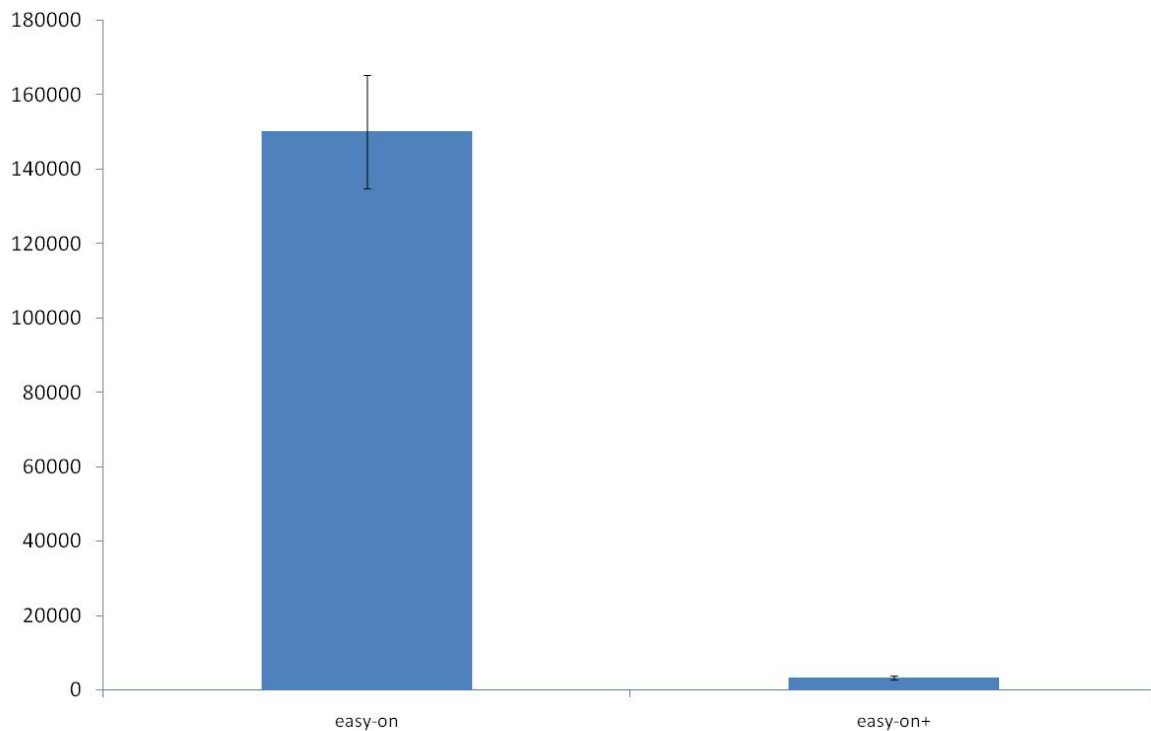
Pločice premazane preparatom easy-on+ kojima su dodane bakterijske kulture, očišćene su otopinom Presept od 1000 ppm u cilju simuliranja uobičajenog režima čišćenja u bolnicama. Taj je postupak ponovljen do ukupnog broja od 28 dodavanja bakterija kako bi se simulirao životni vijek preparata easy-on kod njegova korištenja u bolnicama, uz režim čišćenja koji se provodi svaka 4 mjeseca.

Cijelo je ispitivanje tada ponovljeno s bakterijskom vrstom *Escherichia coli*.

## Rezultati

### Učinak preparata easy-on+ na preživljavanje bakterija

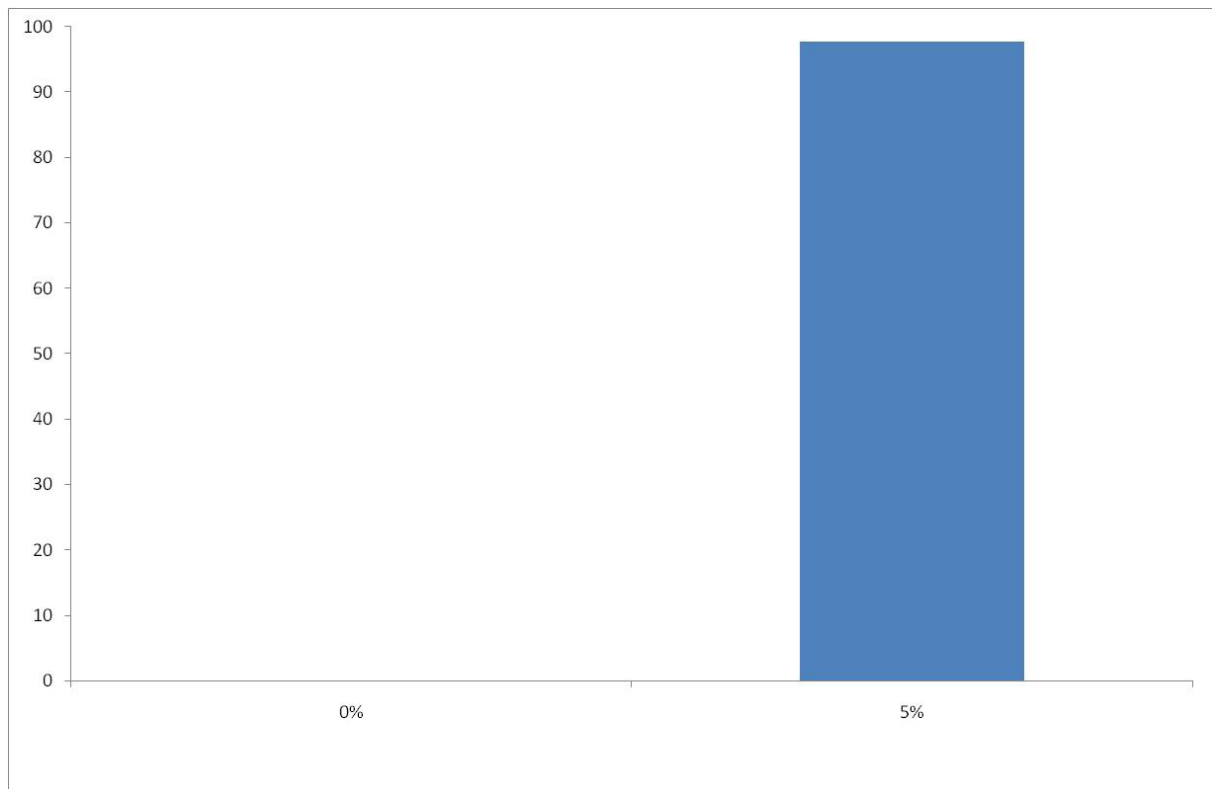
Slika 1 pokazuje količinu bakterija nađenih na pločicama premazanimi preparatom easy-on te preparatom easy-on+



**Figure 1** Broj stanica nađen na pločicama premazanimi preparatom easy-on i easy-on+.

Pločice premazane preparatom easy-on+ uništile su većinu prisutnih bakterija, što je dovelo do preživljavanja samo 3422 bakterije.

Ako uzmemo podatke iz grafova vezane uz pločice premazane preparatom easy-on kao temeljnu vrijednost koja omogućava gubitak bakterija kao rezultat postupka ekstrakcije, učinak preparata easy-on na gubitak bakterija prikazan je na slici 2.



**Slika 2.** Postotak gubitka bakterija samo s pločica premazanima preparatom easy-on+

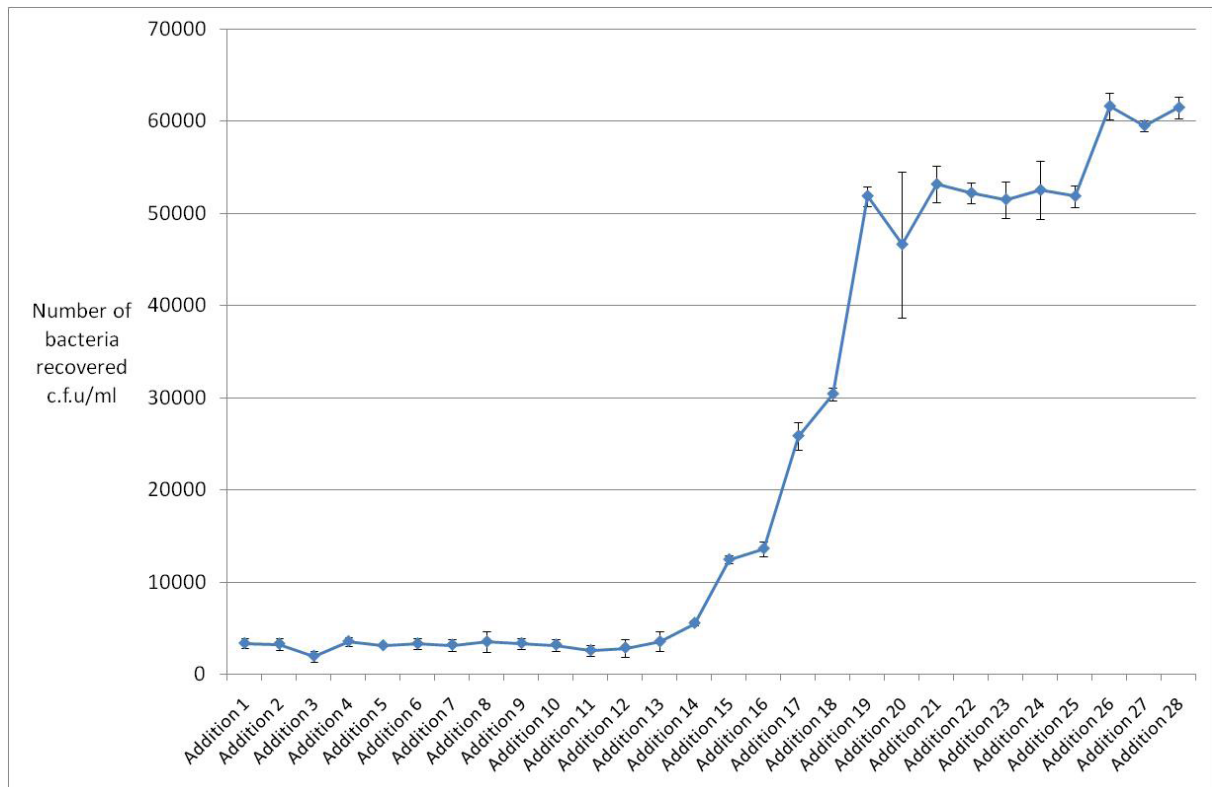
Pločice premazane preparatom easy-on+ uništile su ~97% živih bakterija

### **Utvrđivanje preživljavanja bakterija tijekom simuliranog životnog vijeka površina premazanima preparatom easy-on+**

#### *Rezultati za MRSA*

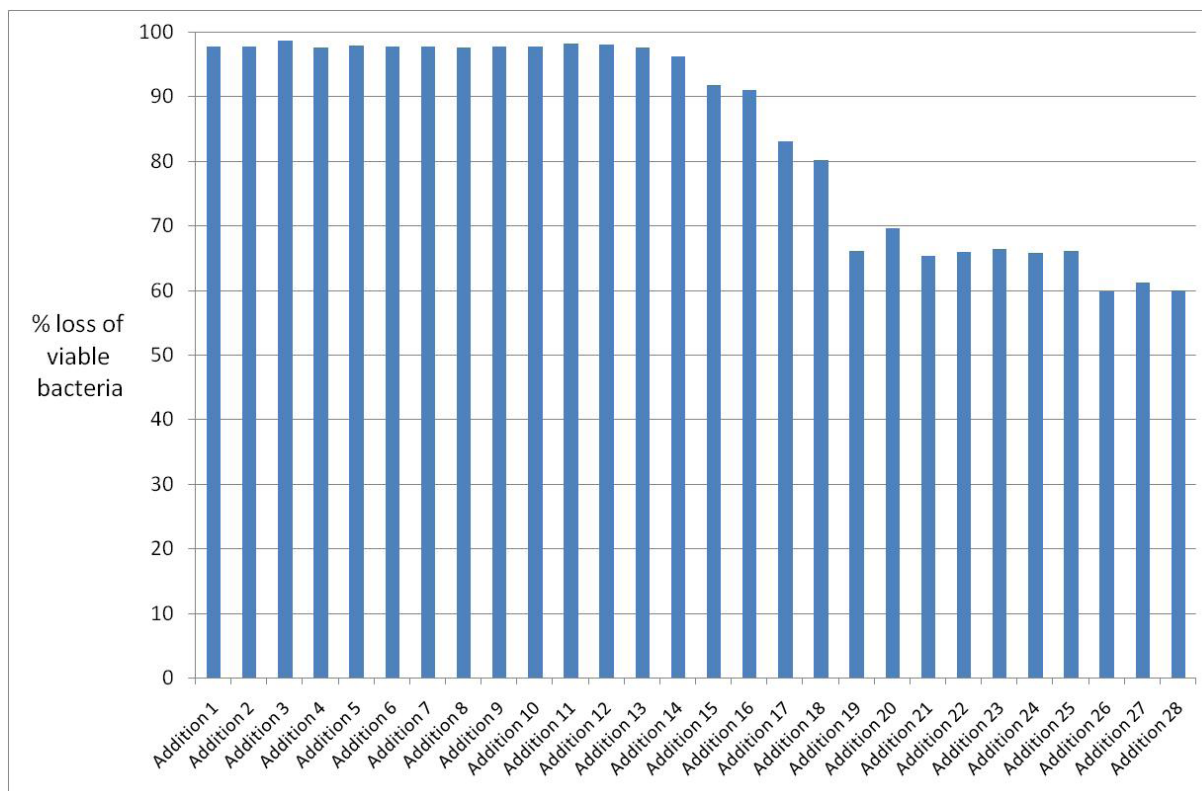
Nađen je samo ograničeni broj bakterija u svakoj fazi između 1. i 14. dodavanja, uz broj od prosječno 2700 c.f.u./ml u odnosu na ukupno dodavanje od  $10^7$  c.f.u./ml. Nakon 14. dodavanja, broj nađenih bakterija je polako rastao do razine od 52000 c.f.u./ml kod 21. dodavanja.

Nakon toga su brojke do kraja ispitivanja ostale konstantne. (Slika 3)



**Slika 3.** Broj nađenih bakterija nakon svakog koraka dodavanja bakterija i čišćenja. Stupci pogreške prikazuju standardna odstupanja od prosječnog broja bakterija.

Kada uzmemo u obzir gubitak bakterija samo putem primjene preparata easy-on i putem postupka odstranjivanja i ekstrakcije, >97% bakterija na premazanim pločicama uništeno je sve do 14. dodavanja, nakon čega je postotak uništenih bakterija postupno padao do prosječne razine od >65% uništenja kod 19. dodavanja i nakon toga. (Slika 4)

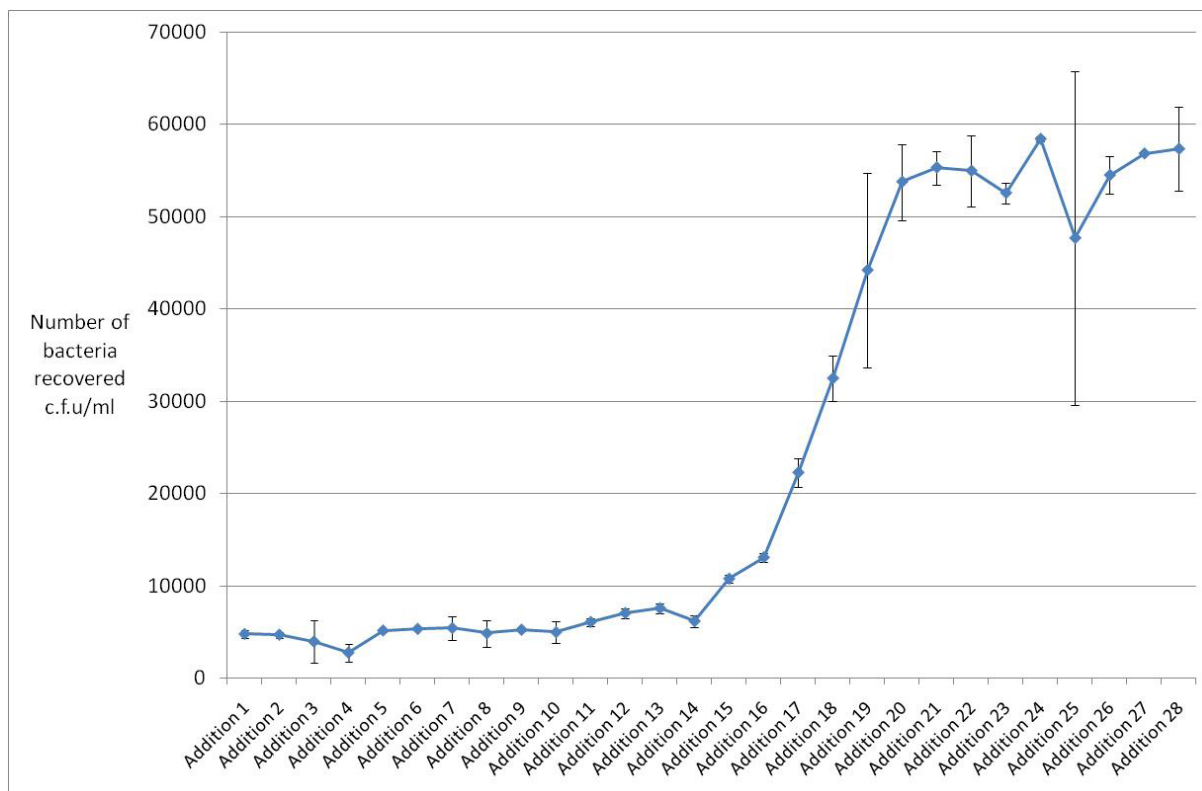


**Slika 4.** Postotak uništenja živih bakterija nakon svakog dodavanja bakterija i kasnijih koraka ispiranja.

### *Rezultati za E. Coli*

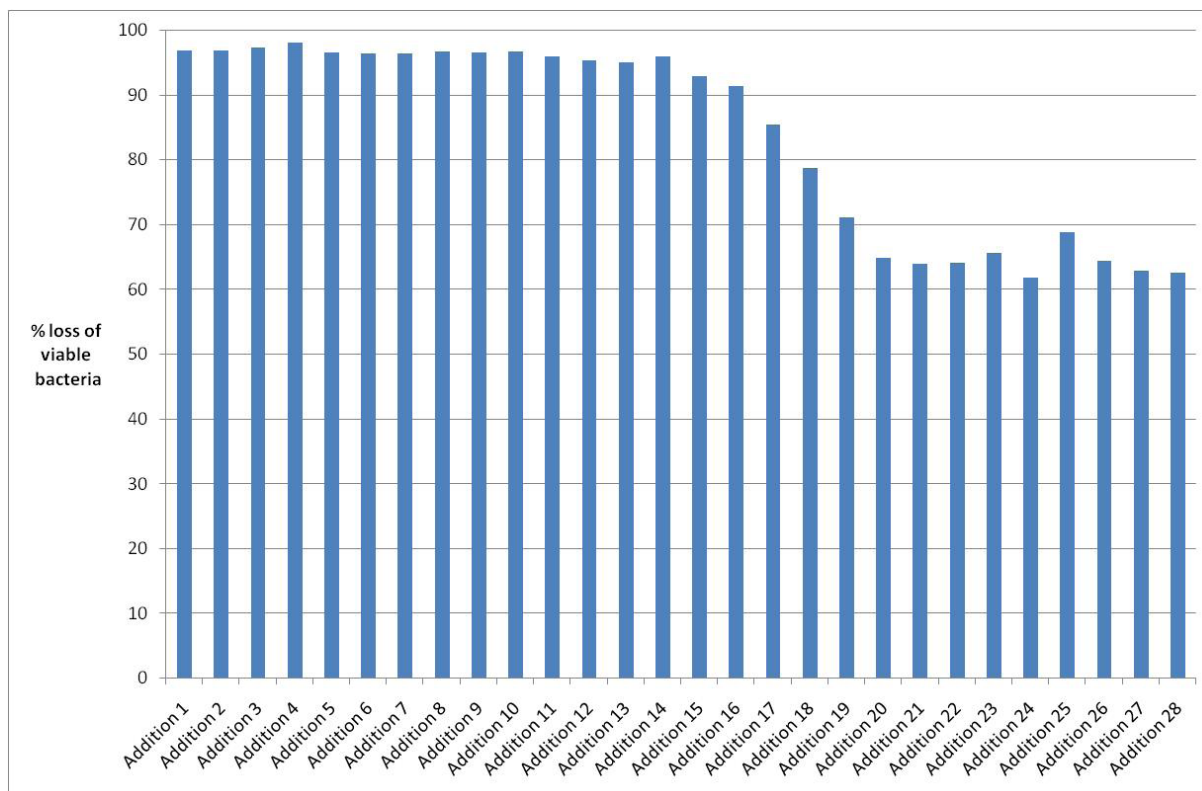
Na pločicama su pronađene male količine bakterija u svakoj fazi između 1. i 15. dodavanja, uz brojke od prosječno 5000 c.f.u./ml u odnosu na ukupno dodavanje od  $10^7$  c.f.u./ml. Nakon 15. dodavanja, broj pronađenih bakterija se stalno povećavao te postigao razinu od 53000 c.f.u./ml kod 20. dodavanja.

Nakon toga su brojke do kraja ispitivanja ostale na jednakoj razini. (Slika 5)



**Slika 5.** Broj pronađenih bakterija nakon svakog koraka dodavanja bakterija i čišćenja. Stupci pogreške prikazuju standardna odstupanja od prosječnog broja bakterija.

Kada uzmemo u obzir gubitak bakterija samo putem primjene preparata easy-on + i putem postupka odstranjivanja i ekstrakcije, >98% bakterija na premazanim pločicama uništeno je sve do 15. dodavanja, nakon čega je postotak uništenih bakterija postupno padao do prosječne razine od >63% uništenja kod 19. dodavanja i nakon toga. (Slika 6)



**Slika 6.** Postotak uništenja živih bakterija nakon svakog koraka dodavanja bakterija i naknadnog pranja

## Zaključci

Izneseni rezultati temelje se na ispitivanju pločica (7,5 x 5,5) premazanih preparatom easy-on+ isključivo na sobnoj temperaturi.

Pokazalo se da se na pločicama premazanim 5% aktivnim sastojkom količina bakterija smanjila na  $3,4 \times 10^3$  stanica po ml.

Kada su odstranjeni učinci procesa ekstrakcije i easy on-premaz, rezultati su pokazali smanjenje bakterijskih jedinica za 97,73% kod pločica premazanih preparatom easy-on+

Rezultati ispitivanja životnog vijeka pločica premazanih preparatom easy on + pokazali su nešto veće razine uništenja stafilokoka aureusa otpornog na Meticilin nego E. coli.

Čak i nakon 28. koraka dodavanja i naknadnog čišćenja, premazane pločice su nastavile uništavati >65% dodanih bakterija, što ukazuje na njihovu daljnju djelotvornost, iako u manjem omjeru nego prije višestrukih koraka čišćenja.