

HANNA KRZYWICKA, JOANNA JANOWSKA, BARBARA TADEUSIAK

## WRAŻLIWOŚĆ NA ŚRODKI DEZYNFEKCYJNE DROBNOUSTROJÓW ZNAJDUJĄCYCH SIĘ NA POWIERZCHNIACH

### THE SENSITIVITY OF MICROORGANISMS ON THE SURFACES TO DISINFECTANTS

Zakład Zwalczania Skażeń Biologicznych Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie  
Kierownik: prof. dr hab. B. Styczyńska

*Zbadano wpływ wilgotności i temperatury powietrza na przeżywalność drobnoustrojów testowych na różnych powierzchniach oraz wrażliwość na środki dezynfekcyjne drobnoustrojów, które były wstępnie poddane działaniu tych czynników.*

Zakażenia mogą szerzyć się przez powietrze i przedmioty pozostające w otoczeniu chorego. Liczba mikroorganizmów w powietrzu pozostaje w ścisłej zależności od mikrobiologicznego zanieczyszczenia powierzchni, a więc zależy przynajmniej częściowo, od przeżywania drobnoustrojów na tych powierzchniach. Spośród wielu czynników wpływających na przeżywanie drobnoustrojów do najbardziej istotnych należą wilgotność i temperatura otoczenia. Omawiane czynniki wpływają nie tylko na stopień przeżycia drobnoustrojów na powierzchniach, ale również na ich wrażliwość na chemiczne środki dezynfekcyjne. Na potrzebę uwzględnienia wilgotności powietrza w badaniach dotyczących skuteczności dezynfekcji powierzchni zwrócili uwagę *Rathmachers* i *Borneff* [7].

Celem pracy było zbadanie:

- 1) wpływu temperatury oraz wilgotności powietrza na liczbę drobnoustrojów naniesionych na powierzchnie oraz
- 2) wrażliwości na środki dezynfekcyjne drobnoustrojów, które przeżyły i pozostały na tych powierzchniach.

### MATERIAŁY I METODY

Badania wykonano metodą nośnikową.

W pierwszej części pracy użyto nośniki (25 × 50 mm) z materiałów, z których wykonana jest większość powierzchni w szpitalach: terakota, szkło i koc wełniany [8].

Na sterylnej powierzchni nośnika rozprowadzano 0,1 ml zawiesiny organizmów testowych *Staphylococcus aureus* NCTC 4163, *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 o gęstości  $2 \times 10^8$  komórek w ml. Po 3 h suszenia w eksykatorze próżniowym zainfekowane nośniki eksponowano w temperaturze 21°C i 37°C, w wilgotności względnej 35% i 95% w czasie 6h i 24h, następnie umieszczano je w 20 ml bulionu, wstrząsano, odpowiednio rozcieńczano i wysiewano na podłoże stałe agarowe. Po 24 h inkubacji w temperaturze 37°C liczone wyrosłe kolonie. Oznaczenia wykonano na liczbie nośników nie mniejszej niż 30, dla każdego układu parametrów.

Przeżywalność bakterii (P) w warunkach ekspozycji określono według wzoru:

$$P = \frac{W}{K} \times 100$$

K – liczba drobnoustrojów (liczba jednostek tworzących kolonie – cfu) odzyskanych z nośników po 3 h suszenia w eksykatorze próżniowym,

W – liczba drobnoustrojów (cfu) odzyskanych z nośników po ekspozycji w określonych warunkach wilgotności względnej i temperatury.

W drugiej części pracy jako nośniki użyto płytki szklane. Zawiesinę drobnoustrojów nanoszoną na płytki, rozcieńczano odpowiednio, aby uzyskać jednakową liczbę jednostek tworzących kolonie po przetrzymywaniu 24 h w temperaturze 21°C, i wilgotności względnej 35% i 95%. Zainfekowane nośniki, przetrzymywane w określonych wyżej warunkach, poddawano następnie działaniu wodnych roztworów środków dezynfekcyjnych. Po różnym okresie ekspozycji nośniki umieszczano w bulionie, po 24 h inkubacji w temperaturze 37°C obliczano liczbę nośników, które uległy odkażeniu. Dla każdego układu wykonano badania na co najmniej 30 nośnikach. Z wykresów wykonanych na papierze logarytmiczno probitowym odczytywano czas działania, w którym 99% nośników uległo odkażeniu.

Odczytywane z wykresów dane stanowiły podstawę do porównań.

## WYNIKI I OMÓWIENIE

Wyniki badań przedstawiono w tabelach I – III.

W przypadku *P.aeruginosa* zaobserwowano wyraźną zależność stopnia przeżycia drobnoustrojów od wilgotności otoczenia zarówno w temp. 21°C jak i 37°C. Wysoka wilgotność otoczenia powodowała obumieranie drobnoustrojów w temp. 21°C na powierzchni szkła i terakoty, natomiast w temp. 37°C na wszystkich powierzchniach. Wpływ wilgotności był tak znaczny, że po 24 h ekspozycji nośników w wilgotności względnej 95% nie stwierdzono obecności żywych komórek *P.aeruginosa*.

Tabela I. Przeżywalność *P. aeruginosa* na powierzchniach wyrażona w %  
Survival of *P. aeruginosa* on the surfaces (in %).

Temperatura w °C	Czas ekspozycji w godz.	Wilgotność względ. w %	Rodzaj nośnika		
			koc	szkło	terakota
21	6	35	44,8	32,8	20,2
		95	83,7	5,3	14,3
	24	35	17,0	13,4	5,3
		95	25,2	0,4	0,4
37	6	35	2,7	8,5	16,9
		95	0,1	0,0	0,0
	24	35	0,4	0,5	1,9
		95	0,0	0,0	0,0

Podany odsetek przeżywalności drobnoustrojów jest wartością średnią z 30 oznaczeń.

Zwraca uwagę odmienne zachowanie się *P. aeruginosa* na nośnikach z koca w temp. 21°C. Możliwe, że dość wysoki stopień przeżycia drobnoustrojów wynika z rodzaju i struktury tkaniny, która powoduje w warunkach wysokiej wilgotności utworzenie

mikroklimatu „korzystnego” dla *P. aeruginosa*. W temp. 37°C „korzystny” układ ulega zachwianiu, bakterie obumierają podobnie jak na szkłe i terakocie. Przy założeniu, że aktywność metaboliczna drobnoustrojów jest większa w temp. 37°C można przyjąć, że wyższej aktywności towarzyszy obserwowane w temp. 37°C zwiększenie wrażliwości bakterii na niekorzystne warunki.

Tabela II. Przeżywalność *S. aureus* na powierzchniach wyrażona w %  
Survival of *S. aureus* on the surfaces (in %).

Temperatura w °C	Czas ekspozycji w godz.	Wilgotność. względ. w %	Rodzaj nośnika		
			koc	szkło	terakota
21	6	35	79,4	90,3	68,2
		95	58,0	88,1	67,2
	24	35	47,5	70,6	55,6
		95	48,0	38,1	18,6
37	6	35	58,4	84,1	48,2
		95	58,2	44,9	1,1
	24	35	34,0	51,3	2,7
		95	5,6	21,2	0,1

Podany odsetek przeżywalności drobnoustrojów jest wartością średnią z 30 oznaczeń.

W przypadku *S. aureus* wazną zależność od wilgotności zaobserwowano tylko w temp. 37°C. Najmniej drobnoustrojów przeżyło ekspozycję w temp. 37°C i wilgotności względnej 95% na nośnikach z terakoty. W temp. 21°C liczba drobnoustrojów pozostałych na powierzchniach w wilgotności względnej 35% i 95% była zbliżona, tylko na nośnikach z terakoty po 24 h stwierdzono znacznie mniej bakterii po ekspozycji w wilgotności względnej 95% niż w wilgotności 35%.

Wyniki badań wskazujące na destrukcyjny wpływ wilgotności na przeżycie drobnoustrojów pozostają w zgodzie z pracami innych autorów [2, 3, 6, 7].

Stanowisko w tej sprawie nie jest jednoznaczne. Część autorów twierdzi, że dotyczy to tylko pewnego zakresu wilgotności 53 – 59%, natomiast w wyższej wilgotności 95 – 98% obserwowano znaczny stopień przeżycia drobnoustrojów [1, 4]. Rozbieżności wynikają z różnych warunków, w których wykonywano badania, między innymi z rodzaju nośników. Zarówno wyniki przedstawionej przez nas pracy jak i referowanej przez *McDade'a* i *Halla* wskazują na odmienny przebieg procesu obumierania drobnoustrojów na powierzchniach gładkich i na tkaninach [4, 5].

Jak wynika z danych przedstawionych w tab. I i II, rodzaj nośnika wywiera wpływ na stopień przeżycia drobnoustrojów. W przypadku *S. aureus* niezależnie od temperatury i wilgotności najwięcej drobnoustrojów przeżyło na powierzchni szklanej, natomiast w przypadku *P. aeruginosa* w temp. 21°C najwięcej przeżyło na kocu, a w temp. 37°C na terakocie.

W drugiej części pracy wykazano, że działanie środków dezynfekcyjnych na drobnoustroje znajdujące się na powierzchniach zależy od stopnia wysuszenia tych

powierzchni (tab. III). We wszystkich przypadkach badane środki dezynfekcyjne lepiej działały na drobnoustroje, które były przetrzymywane na powierzchniach w wilgotności względnej 35%. W przypadku *S. aureus* stosunek czasu działania, w którym odkażeniu uległo 99% nośników przetrzymywanych wstępnie w powietrzu o wilgotności względnej 95%, do analogicznego czasu działania na nośniki, przetrzymywane wstępnie w wilgotności względnej 35%, wynosił od 1, 4 do 5, 6. Dolna granica dotyczyła dezynfekcyjnego działania Sterinolu, górna – chloraminy T. Dla formaliny wartość ta wynosiła 1, 8, dla lizolu 2, 3. Analogiczny stosunek czasu skutecznego działania środków dezynfekcyjnych na *P. aeruginosa* wyrażał się wyższymi wartościami dla chloraminy – 50 i Sterinolu – 28, natomiast dla formaliny i lizolu wynosił odpowiednio 5, 4 i 1, 3.

Tabela III. Wrażliwość drobnoustrojów (naniesionych na powierzchnie) na środki dezynfekcyjne zależnie od wilgotności względnej (RH) powietrza, w jakiej znajdowały się przed ekspozycją (tempertaura 21°C)

The susceptibility of surface-exposed microorganisms to disinfectants depending on the relative air humidity (RH) they have been exposed before (temp. 21°C)

Środek dezynfekcyjny	Stężenie w %	<i>S. aureus</i>			<i>P. aeruginosa</i>		
		Czas w minutach*		Współczynnik a/b	Czas w minutach*		Współczynnik a/b
		RH 95% a	RH 35% b		RH 95% a	RH 35% b	
Chloramina T	0,06	90	16	5,6			
	0,01				450	9	50,0
Formalina	6,0	44	25	1,8			
	0,2				190	35	5,4
Lizol	1,7	65	30	2,3			
	0,6				65	50	1,3
Sterinol	0,1	65	45	1,4			
	0,02				700	25	28,0

\* – odczytany z wykresów czas działania, w którym 99% nośników uległo odkażeniu.

#### WNIOSKI

1. Rodzaj nośnika wywiera wpływ na proces redukcji liczby drobnoustrojów.
2. Liczba drobnoustrojów znajdujących się na gładkich powierzchniach ulega większej redukcji, gdy wilgotność otaczającego powietrza wynosi 95% niż 35%.
3. W temperaturze 37°C proces ten przebiega szybciej niż w temperaturze 21°C.
4. Środki dezynfekcyjne działają bardziej skutecznie na drobnoustroje znajdujące się na powierzchni, gdy wilgotność względna otaczającego powietrza wynosi 35% niż w przypadku wilgotności 95%.

H. Krzywicka, J. Janowska, B. Tadeusiak

## THE SENSITIVITY OF MICROORGANISMS ON THE SURFACES TO DISINFECTANTS

### Summary

The influence of humidity and temperature on survival of *S.aureus* and *P.aeruginosa* on the surfaces of tiles, glass and blanket carriers has been estimated.

The number of CFU was examined after exposure time 6 and 24 hours in temperatures of 21°C, 37°C and RH 35%, 95%.

It was observed:

1. The important reduction of numbers of both microorganisms at temperature 37°C and RH 95%.
2. The relatively high number of survival cells of *P. aeruginosa* on the surface of blankets at temp. 21°C and RH 95%. The microorganisms on the carriers were previously kept for 24 h at temp. 21°C, RH 35% and 95% and then exposed to solutions of chloramine, formalin, lysol and Sterinol (QAC).

It was observed that there was a great dependence of the disinfecting effect on the degree of dessication of the surfaces. In all cases the resistance of contaminated carriers stored 24 h was higher at 95% RH than at 35% RH.

### PIŚMIENNICTWO

1. *Gundermann K.O.*: Influence of atmospheric humidity on the survival of bacteria in dust. Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. B. 1972, 156, 422 – 2. *Lidwell O.M., Lowbury E.J.*: The survival of bacteria in dust. I. The distribution of bacteria in floor dust. J. Hyg. 1950, 48, 6. – 3. *Lidwell O.M., Lowbury E.J.*: The survival of bacteria in dust. II. The effect of atmospheric humidity on the survival of bacteria in dust J. Hyg. 1950, 48, 21. – 4. *McDade J.J., Hall L.B.*: Survival of *Staphylococcus aureus* in the environment. I. Exposure on surfaces. Amer. J. Hyg. 1963, 78, 330. – 5. *McDade J.J., Hall L.B.*: Survival of *Staphylococcus aureus* in the environment. II. Effect of elevated temperature on surface – exposed staphylococci. Amer. J. Hyg. 1964, 80, 184. – 6. *McDade J.J., Hall L.B.*: Survival of Gram-negative bacteria in the environment. I. Effect of relative humidity on surface exposed organisms. Amer. J. Hyg. 1964, 80, 92. – 7. *Rathmachers B., Borneff M.*: Development of a new test method for surface disinfection procedures. IV. Communication: Natural bacterial dying rates and their modification by environmental influences. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B. 1977, 165, 43. – 8. *Russel A.D., Hugo W.B., Ayliffe G.A.J.*: Principles and practice of Disinfection, Preservation and Sterilisation. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1982.

Dn. 1989.07.13

00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24