

RAPORT 1.2/SRM/2017
Z BADAŃ PRZEWIDZIANYCH W UMOWIE
Z DNIA 25.04.2017 R.

OCENA SKUTECZNOŚCI MIKROBIOBÓJCZEJ
URZĄDZENIA INDUCT 750 FIRMY ACTIVTEK
WOBEC BAKTERII Z RODZAJU *ENTEROCOCCUS* W POWIETRZU

Wykonawcy: **prof. dr hab. n. med. Eugenia Gospodarek-Komkowska**
 dr n. med. Sylwia Kozusko
 dr inż. Krzysztof Skowron

Bydgoszcz, 22.06.2017 r.

1. UZASADNIENIE CELOWOŚCI PODJĘTYCH BADAŃ

Paciorkowce z rodzaju *Enterococcus* stanowią mikrobiotę naturalną przewodu pokarmowego ludzi i zwierząt. Ich właściwości biologiczne, tj. niewielkie wymagania odżywcze, oporność na czynniki fizyczne i chemiczne oraz zdolność adaptacyjna do przeżycia w różnych warunkach, w tym w wyniku silnej presji antybiotykowej, ułatwiają utrzymywanie i rozprzestrzenianie się, szczególnie w środowisku szpitalnym. Niebezpiecznym zjawiskiem jest coraz częstsza izolacja szczepów *Enterococcus* spp. wielolekoopornych (MDR, ang. Multi-Drug Resistance). Obecnie enterokoki zaliczane są do patogenów alarmowych. Włączono je do patogenów grupy ESCAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterobacter* spp.), które są główną etiologią zakażeń szpitalnych na świecie.

Większość zakażeń enterokokowych ma charakter endogeny, jednak zakażenia egzogenne są częściej stwierdzane u chorych hospitalizowanych i wynikają z transmisji szczepów od innych pacjentów lub środowiska szpitalnego. W ostatnich dekadach notowany jest wzrost izolacji w środowisku szpitalnym szczepów enterokoków opornych na ampicylinę i wankomycynę. Poziom oporności na leki przeciwdrobnoustrojowe jest szczególnie zauważalny i mający tendencję wzrostową wśród szczepów gatunku *Enterococcus faecium*. Dotyczy to oporności na wankomycynę (VRE, ang. Vancomycin Resistant Enterococcus), której wyróżniamy 9 typów (vanA-vanE, vanG, vanL-vanN), z których najistotniejsza jest oporność typu vanA - wysokiego stopnia na glikopeptydy; oporność na wysokie stężenia aminoglikozydów (HLAR, ang. High Level Aminoglycoside Resistance) oraz oporność na ampicylinę związana z niskim powinowactwem beta-laktamów do białek wiążących penicyliny (PBP5, ang. Penicillin Binding Proteins). Częstym zjawiskiem wśród enterokoków jest jednoczesne występowanie kilku mechanizmów oporności na leki z różnych grup chemicznych. Leczenie zakażeń wywoływanych przez szczepy MDR stanowi ogromne wyzwanie dla współczesnej medycyny.

2. PRZEDMIOT OPRACOWANIA

Przedmiotem opracowania była ocena skuteczności urządzenia Induct 750 firmy ActivTek w procesie eliminacji bakterii z rodzaju *Enterococcus* z powietrza wewnątrz pomieszczenia testowego opracowanego na potrzeby prowadzonych badań (fotografia 1).

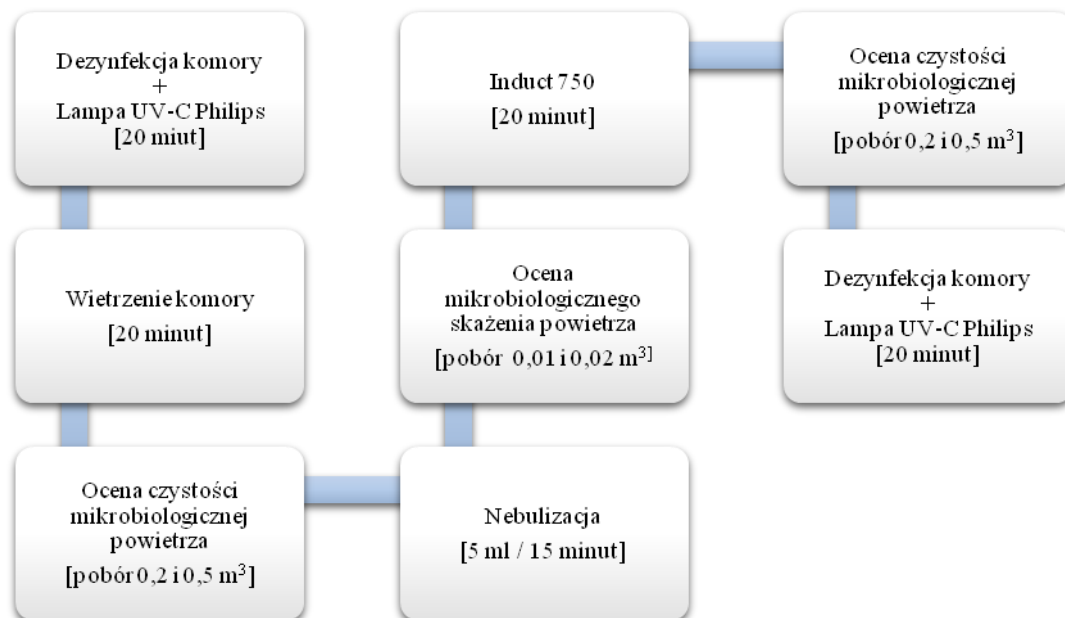
3. MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły dwa szczepy wzorcowe *Enterococcus* spp. z kolekcji Katedry i Zakładu Mikrobiologii Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu:

- *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, izolowany z próbki płynu otrzewnowego od pacjenta z Saint Louis w stanie Missouri, USA, oporny na wankomycynę, gentamycynę, streptomycynę i erytromycynę, z potwierdzoną obecnością genów: *vanB* i *ant(6)-I acc(6') aph(2''')*;
- *Enterococcus faecium* ATCC 51559, izolowany od pacjenta z Brooklynu, w stanie Nowy York, USA, oporny na wankomycynę, teikoplaninę, ampicylinę, gentamycynę, ciprofloksacynę i rifampicynę, z potwierdzoną obecnością genu *vanA*.

W celu przeprowadzenia badań przygotowano standaryzowane zawiesiny badanych szczepów w soli fizjologicznej o gęstości optycznej 0,5 według skali McFarlanda. Następnie po 4 ml każdej zawiesiny umieszczano indywidualnie w sterylnej komorze nebulizacyjnej inhalatora pneumatycznego MONSUN MP1 firmy Medbryt. Nebulizację prowadzono aż do całkowitego opróżnienia komory nebulizacyjnej inhalatora (około 15 minut).

Komora nebulizacyjna była umieszczona w pomieszczeniu testowym, które stanowiła hermetyczna komora o kubaturze 1,4 m³ wykonana z płyt stalowych. Przed każdą kolejną nebulizacją ściany komory były dezynfekowane chemicznie środkiem przeznaczonym do dezynfekcji powierzchni stałych, a powietrze w niej zawarte było poddawane działaniu lampy UV-C Philips TUV 36W/ G36 T8 przez 20 minut. Po tym czasie komora była otwierana na około 20 minut w celu usunięcia nagromadzonego ozonu. Przed przystąpieniem do nebulizacji wykonywano kontrolną ocenę czystości mikrobiologicznej powietrza w celu sprawdzenia, tzw. poziomu tła mikrobiologicznego. Szczegółowy układ doświadczenia przedstawia rycina 1, a wygląd zestawu badawczego fotografia 1.



Ryc. 1. Szczegółowy układ doświadczenia



Fot. 1. Zestaw do oceny skuteczności higienizacji powietrza

Poboru próbek powietrza dokonywano metodą zderzeniową z wykorzystaniem urządzenia MAS-100 Eco (Merck). W celu oceny czystości mikrobiologicznej powietrza po zastosowaniu lampy UV-C Philips TUV 36W/ G36 T8 oraz urządzenia Induct 750, pobierano po 0,2 i 0,5 m³. Natomiast, w celu oceny poziomu zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza w komorze po nebulizacji zawiesiny drobnoustrojów pobierano po 0,01 i 0,02 m³.

Hodowlę bakterii *Enterococcus* spp. prowadzono na podłożu Enterococcosel Agar (Becton-Dickinson) w temperaturze 35°C przez 24 godziny. Wyrosłe na podłożu kolonie zliczano i przeliczano na jednostki tworzące kolonie (j.t.k.)×m⁻³ powietrza. Skuteczność wyrażano poprzez podanie liczby j.t.k. bakterii przed i po użyciu urządzenia Induct 750, a także wyliczenie procentowego wskaźnika redukcji (R[%]) według wzoru:

$$R[\%] = \frac{A - B}{A} \times 100$$

gdzie: A – wyjściowa liczba drobnoustrojów [j.t.k.×m⁻³]

B – liczba drobnoustrojów po użyciu urządzenia [j.t.k.×m⁻³]

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej w programie STATISTICA 13.0 PL (StatSoft). Sprawdzono istotność różnic pomiędzy wartościami współczynników R wyliczonych dla obu szczepów w oparciu o test Tukey'a przy poziomie istotności 0,05.

4. WYNIKI

Uzyskane wyniki pozwoliły stwierdzić pewne wahania dotyczące liczby j.t.k. badanych paciorkowców obecnych w powietrzu po nebulizacji zawiesin (tabela 1). Z tego względu zdecydowano się na wprowadzenie bezwzględnej miary redukcji w postaci R[%].

Tabela 1. Liczba drobnoustrojów odzyskiwanych z powietrza oraz procentowy współczynnik jej redukcji R[%]

Szczep	Przeciętna liczba drobnoustrojów po nebulizacji [j.t.k.×m ⁻³]	Przeciętna liczba drobnoustrojów po użyciu urządzenia Induct 750 [j.t.k.×m ⁻³]	Procentowy współczynnik redukcji liczby drobnoustrojów [%]
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	3,91×10 ⁵ (±7,13×10 ⁴)*	3,89×10 ⁴ (±7,05×10 ³)	90,05 ^a
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 51559	3,18×10 ⁵ (±8,23×10 ⁴)	1,25×10 ³ (±9,63×10 ²)	99,61 ^a

* - odchylenie standardowe

a, b - wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie (p≤0,05)

Po przeprowadzonej nebulizacji, stwierdzono, że oba badane szczepy *Enterococcus* spp. podobnie rozprzestrzeniły się w formie aerozolu (tabela 1).

Zastosowanie urządzenia Induct 750 firmy ActivTek spowodowało wyraźny spadek liczby j.t.k. *E. faecalis* i *E. faecium* w powietrzu. Liczba j.t.k. obu badanych szczepów zmniejszyła się o ponad 90%. Wykazane różnice nie były istotne statystycznie (tabela 1).

5. WNIOSKI

1. Urządzenie Induct 750 jest skuteczne w eliminacji badanych szczepów z rodzaju *Enterococcus* w powietrzu.
2. W przeprowadzonym doświadczeniu nie wykazano istotnych statystycznie różnic w poziomie skuteczności badanego urządzenia wobec szczepów dwóch gatunków enterokoków *E. faecalis* i *E. faecium*
3. Na podstawie wyliczonych współczynników R można stwierdzić, że w połączeniu z innymi, standardowo stosowanymi w szpitalach środkami bezpieczeństwa, urządzenie Induct 750 może istotnie ograniczyć utrzymywanie i rozprzestrzenianie się szczepów *Enterococcus* spp. drogą aerogenną.

Bydgoszcz, 22.06.2017 r.

.....
MIEJSCOWOŚĆ, DATA

PREZES
Stowarzyszenia „Rozwój Mikrobiologii”
prof., dr hab., n. med.
Eugenia Gospodarek-Kombarowicz
.....
PODPIS

ZASTRZEŻENIE:

Wyniki odnoszą się tylko do badanych szczepów, rozpylonych w powietrzu zgodnie z metodą i w stężeniu opisanym w raporcie przy wykorzystaniu wymienionych w opracowaniu urządzeń i zachowaniu kubatury pomieszczenia testowego.

Raport z badań stanowi integralną całość. Niedopuszczalne jest wnioskowanie na podstawie wybranych fragmentów opracowania oraz wybiórcze posługiwanie się uzyskanymi wynikami.

Stowarzyszenie ROZWÓJ MIKROBIOLOGII nie ponosi odpowiedzialności za sposób wykorzystania przez firmę ActivTek wyników i wniosków zawartych w raporcie.