

RAPORT 1.1/SRM/2017
Z BADAŃ PRZEWIDZIANYCH W UMOWIE
Z DNIA 25.04.2017 R.

OCENA SKUTECZNOŚCI MIKROBIOBÓJCZEJ
URZĄDZENIA INDUCT 750 FIRMY ACTIVTEK
WOBEC PAŁECZEK *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* W POWIETRZU

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

Bydgoszcz, 22.06.2017 r.

1. UZASADNIENIE CELOWOŚCI PODJĘTYCH BADAŃ

Pałeczki *Klebsiella pneumoniae* są istotnym czynnikiem etiologicznym zakażeń u chorych leczonych w szpitalu. Z uwagi na rosnącą częstość izolacji szczepów tego gatunku, czynniki wirulencji, łatwe nabywanie oporności na antybiotyki i przeżywalność w środowisku szpitalnym zostały one włączone do grupy patogenów określanej akronimem ESKAPE (akronimem od pierwszych liter nazw patogenów: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterobacter* spp.). Wpływ na taką sytuację ma także zdolność kolonizacji przewodu pokarmowego przez szczepy *K. pneumoniae*, co może prowadzić do rozwoju zakażenia. Od początku lat 80. XX wieku, kiedy pojawiły się pierwsze szczepy wytwarzające beta-laktamazy o rozszerzonym zakresie substratowym typu ESBL (ang. extended-spectrum β -lactamases), pałeczki te wytwarzały kolejne mechanizmy lekooporności, w tym karbapenemazy i stwarzający aktualnie największe zagrożenie kliniczne i epidemiologiczne wariant NDM-1 (ang. New Delhi metallo- β -lactamase). Nabywanie oporności na antybiotyki beta-laktamowe przez szczepy *K. pneumoniae* spowodowało także oporność na inne grupy leków przeciwbakteryjnych, co wpłynęło na pojawienie się w 2010 roku pierwszego szczepu tego gatunku określanego jako TDR (totally drug resistant).

2. PRZEDMIOT OPRACOWANIA

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

3. MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły dwa szczepy pałeczek *K. pneumoniae* pochodzące z kolekcji Katedry i Zakładu Mikrobiologii Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu:

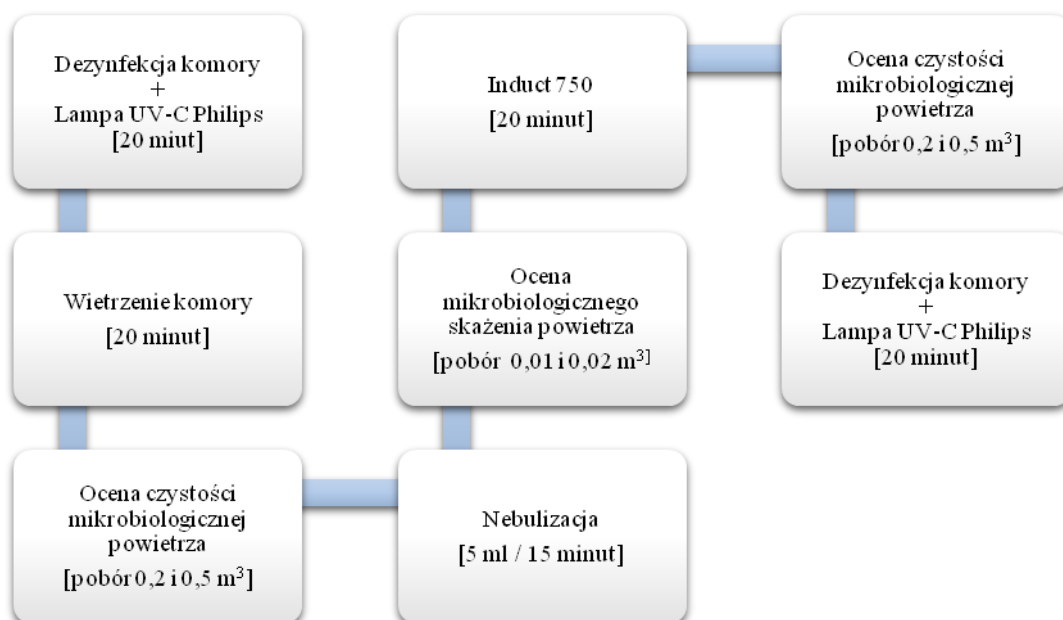
- szczep wielolekowrażliwy izolowany z rany,
- szczep NDM-1 wyosobniony z moczu.

W celu przeprowadzenia badań przygotowano standaryzowane zawiesiny badanych szczepów w soli fizjologicznej o gęstości optycznej 3,0* stopnia według skali McFarlanda. Następnie po 5 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

* tak duża gęstość optyczna zawiesiny podyktowana była trudnościami w uzyskaniu trwałego i odpowiednio licznego aerozolu pałeczek *Klebsiella pneumoniae* wewnątrz komory, co związane jest z faktem, że droga aerogenna nie jest podstawową drogą transmisji tych bakterii

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 zawiesziny drobnoustrojów pobierano po 0,01 i 0,02 m³.

Hodowlę pałeczek *K. pneumoniae* prowadzono na podłożu Columbia Agar Base (Becton-Dickinson) z dodatkiem 5% krwi baraniej w temperaturze 37°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 pałeczek obecnych w powietrzu po nebulizacji zawiesin (tab. 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>K. pneumoniae</i> wielolekowrażliwy	1,50×10 ¹ (±7,00×10 ⁰)*	n.w.**	100,00 ^a
<i>K. pneumoniae</i> NDM-1	2,66×10 ⁴ (±3,21×10 ²)	4,21×10 ² (±1,51×10 ²)	84,16 ^b

* - odchylenie standardowe

** - nie wykryto

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

Po przeprowadzonej nebulizacji, stwierdzono, że szczep wielolekowrażliwy *K. pneumoniae* zdecydowanie trudniej rozprzestrzenił się w formie aerozolu niż szczep NDM-1 (tab. 1).

Zastosowanie urządzenia Induct 750 firmy ActivTek spowodowało wyraźny spadek liczby obu szczepów *K. pneumoniae* obecnych w powietrzu. W przypadku szczepu NDM-1 uzyskano spadek j.t.k. na poziomie około 84%, a w przypadku szczepu wielolekowrażliwego liczba j.t.k. spadła poniżej poziomu wykrywalności (100%) (tab. 1).

5. WNIOSKI

1. Urządzenie Induct 750 jest skuteczne w eliminacji badanych szczepów pałeczek *K. pneumoniae*.
2. W przeprowadzonym doświadczeniu uzyskano istotne różnice w poziomie skuteczności urządzenia w zależności od lekooporności szczepu *K. pneumoniae*.
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 rozprzestrzenianie się szczepów *K. pneumoniae* drogą erogenną.

Bydgoszcz, 22.06.2017 r.

.....
MIEJSCOWOŚĆ, DATA

PREZES
Stowarzyszenia „Rozwój Mikrobiologii”

prof. dr hab. n. med.
Eugenia Gospodarska

.....
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.