
АНАЛИЗА НА МЕХАНИЗМОТ НА ДЕЈСТВО И АНТИМИКРОБНАТА АКТИВНОСТ НА ОДРЕДЕНИ АНТИСЕПТИЦИ И ДЕЗИНФИЦИЕНСИ ВРЗ *BACILLUS SPP.*, *ACINETOBACTER SPP.*, *KLEBSIELLA SPP.*, *SERRATIA MARCESCENS* И *CANDIDA SPP.* КАКО ЕДНИ ОД НАЈЧЕСТИТЕ ПРЕДИЗВИКУВАЧИ НА ИНТРАХОСПИТАЛНИТЕ ИНФЕКЦИИ

Биљана Ѓорѓеска

Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, Република Македонија, biljana.gorgeska@ugd.edu.mk

Дино Карпичаров

Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, Република Македонија, dino.151533@student.ugd.edu.mk

Апстракт: Несомнено, еден од најголемите проблеми со кој се соочува модерната медицина, како и здравствениот менаџмент во болничките и другите здравствени установи, е појавата на интрахоспиталните, односно нозокомијалните инфекции. Имено, кон крајот на XIX век, во медицината, а особено во хирургијата, како една од медицинските гранки, се забележува интензивен развој. Како резултат на ваквиот развој, воспоставени се одредени базични стандарди во областа на хигиената во болниците и другите здравствени установи, овозможена е идентификација на микроорганизмите, а направен е и голем чекор во поглед на лекувањето на повеќето инфекции. И покрај ваквите авангардни промени, интрахоспиталните инфекции, остануваат голема причина за морбидитет и морталитет, поради што, истите на директен или индиректен начин, предизвикуваат зголемување на трошоците за болничка нега и зголемување на инциденцата за појава на нови здравствени ризици во општествената заедница. Токму поради овие причини се вели дека интрахоспиталните инфекции не само што претставуваат огромен проблем за модерната медицина, туку истовремено претставуваат и огромен проблем во областа на менаџирањето на трошоците во рамките на одредена здравствена установа. Појавата на резистентност на микроорганизмите спрема антибиотиците, како и појавата на нови патогени, кои може да бидат трансмитирани по различни патишта, се должи на големиот напредок на фармацевтската и медицинската биотехнологија, од една страна и нерационалната примена на антимикробните средства, од друга страна. Покрај тоа, притисокот од јавноста врз здравствените установи и недостатокот на соодветно обучен персонал, дополнително ја отежнува адекватната контрола на интрахоспиталните инфекции. Исто така, голем дел од здравствените професионалци сметаат дека со започнувањето на ерата на употреба на антибиотиците, во голема мера е искоренета можноста за појава на интрахоспиталните инфекции. Сепак, неопходно е да се знае дека одржувањето на хигиената на високо ниво во болничките и другите здравствени установи, е можеби најзначајниот чекор во поглед на искоренувањето на интрахоспиталните инфекции, а тоа може да се постигне со правилна употреба на антисептиците и дезинфициенсите, заеднички означени како биоциди. Имено, станува збор за соединенија кои имаат способност директно да ги уништуваат микроорганизмите или да го инхибираат нивниот раст, развој и продукција, а се разликуваат по тоа што антисептиците се администрираат на живи ткива, додека дезинфициенсите ги отстрануваат микроорганизмите од различни објекти, опрема или пак, од непосредната околина. Правилната употреба на антисептиците и дезинфициенсите ја намалува можноста за појава на интрахоспитални инфекции, што значи дека нивната неправилна употреба може да резултира со појава на ваков тип на инфекции.

Целите на овој труд е да се претстават некои од најчестите микроорганизми кои предизвикуваат појава на интрахоспитални инфекции; да се претстават механизмите на дејство на најчесто употребуваните антисептици и дезинфициенси во болнички услови и да се дадат насоки во поглед на тоа кој антисептик, односно дезинфициенс, би бил најсоодветен за употреба против микроорганизмот, кој се јавува во функција на причинител на интрахоспиталната инфекција.

За реализација на овие цели, како метод на работа беше користен Kirby–Bauer диск–дифузиониот метод, а како хранителна подлога беше користен агарот по Müeller–Hinton. Зоната на инхибиција, преку која се изразува антимикробната активност, беше мерена со помош на линијар и изразена во милиметри (mm).

Врз основа на добиените резултати, утврдивме кој антисептик, односно дезинфициенс, е најдобро да се користи против микроорганизмите кои беа опфатени со ова истражување.

Клучни зборови: Бензалкониум хлорид; Формалдехид; Водороден пероксид; Етанол; Борна киселина; Повидон јод; Интрахоспитални инфекции

1. ВОВЕД

Под поимот интрахоспитална инфекција се подразбира секоја инфекција која се јавува за време на престојот на пациентот во одредена здравствена установа, а која не претставува главна причина поради која пациентот бил хоспитализиран (Ducel, G. et al., 1979). Поконкретно, интрахоспитална инфекција е секоја инфекција која се јавува во одредена здравствена установа, односно инфекција за која не постои доказ дека се јавила или пак, настанал период на инкубација на истата за време на приемот на пациентот во здравствената установа. Оваа дефиниција ги опфаќа и оние инфекции кои се јавуваат после исписот на пациентот од здравствената установа, како и професионалните инфекции кои се јавуваат помеѓу персоналот вработен во здравствената установа (Benenson, A. S., 1995). Интрахоспиталните инфекции може да се класифицираат според потеклото во две поголеми групи: ендогени и егзогени инфекции. Ендогени интрахоспитални инфекции се оние инфекции предизвикани од инфективни микроорганизми лоцирани на самата кожа на пациентот или на неговата гастроинтестинална или горна респираторна флора. Егзогените интрахоспитални инфекции може да се поделат на крос-инфекции или инфекции од околината. Интрахоспиталните крос-инфекции се оние инфекции кои потекнуваат од хоспитализирано лице или од персоналот вработен во здравствената установа, а интрахоспитални инфекции од околината се инфекции кои потекнуваат од медицинските инструменти, храната или други компоненти на болничкиот сервис (Slack, R. et al., 2006). Постојат повеќе фактори кои влијаат на појавата и развојот на интрахоспиталните инфекции, меѓу кои најзначајни се: видот на микроорганизмот, здравствената состојба на пациентот, факторите од околината и бактериската резистентност (*A practical guide for prevention of hospital-acquired infections*, 2002). Интрахоспиталните инфекции може да бидат предизвикани од страна на различни микроорганизми, вклучително и бактериите: *Bacillus spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Klebsiella spp.* и *Serratia marcescens*, но и габата *Candida spp.*, опфатени со овој труд. Доколку во болничките услови не се почитуваат препораките за дезинфекција на сите инструменти вклучени во дијагностичките и терапевтските активности применети на пациентите, како и препораките за дезинфекција на кожата на пациентот или здравствениот персонал при непосреден контакт со самиот пациент, голема е веројатноста дека ќе дојде до појава на интрахоспитални инфекции. Токму овој труд во предвид ги зема едни од најчестите предизвикувачи на интрахоспиталните инфекции и за сите нив предлага најсоодветно средство, односно антисептик или дезинфициенс, кое ќе овозможи нивна ерадикација.

2. МЕХАНИЗАМ НА ДЕЈСТВО НА КОРИСТЕНИТЕ АНТИСЕПТИЦИ И ДЕЗИНФИЦИЕНСИ

2.1. ФОРМАЛДЕХИД

Формалдехидот врши денатурација на протеините, така што интеракцијата со протеините настанува на ниво на пептидна врска, но може да биде вклучена и аминокиселина и во сосем мал процент и фенолната група. (Fraenkel-Conrat, H., 1961). Покрај наведениот механизам, формалдехидот може да предизвикува и алкилација на нуклеинските киселини, што значи дека истиот може да го менува генетскиот материјал, при што се зголемува можноста за појава на мутации. Според тоа, може да се заклучи дека формалдехидот претставува мутагено средство (Loveles, A., 1951). Според Центарот за безбедност на храната и јавното здравје при Државниот Универзитет во Ајова, формалдехидот е високо ефикасен кога станува збор за дејството врз Грам позитивните и Грам негативните бактерии и ефикасен кога станува збор за дејството врз фунги, односно фунгални спори (*The Antimicrobial Spectrum of Disinfectants*, 2008).

2.2. ЕТАНОЛ

Носител на бицидната активност во структурата на етанолот е хидроксилна група, која врши сапонификација на липидите од клеточната мембрана на микроорганизмот. Сепак, главниот механизам на дејство на етанолот се базира на неговата способност да врши денатурација на протеините од клеточната мембрана, при што истиот пенетрира во интрацелуларниот простор, каде интерферира на метаболичко ниво (Maris, P., 1995). Ваквиот ефект може да биде ограничен доколку етанолот не е употребен во вистинска концентрација бидејќи етанолот е поефикасен во пониски концентрации (60–90%), отколку во повисоки концентрации (96%) (McDonnell, & Russell, 1999). Имено, 96% етанол предизвикува коагулација на протеините од мембраната на микроорганизмот, како резултат на што, се образува цврста протеинска бариера околу микроорганизмот, која ја оневозможува пенетрацијата на етанолот во внатрешноста на микроорганизмот, каде би требало истиот да делува. На овој начин, микроорганизмите нема да бидат уништени, туку ќе егзистираат во латентна состојба. Меѓутоа, 70% раствор на етанол предизвикува постепена коагулација на протеините од мембраната на микроорганизмот, при што етанолот полесно навлегува во внатрешноста на микроорганизмот и на тој начин предизвикува негово уништување. Според

тоа, 96% раствор на етанол, кој е употребуван за целите на овој труд, не треба да покаже ефект врз селектираните микроорганизми.

2.3. БОРНА КИСЕЛИНА

Борната киселина е пример за слаба киселина што значи дека истата има понизок степен на дисоцијација. Според тоа, слободно може да се заклучи дека борната киселина ќе се одликува со слаба биоцидна активност. Како и да е, при дисоцијација на оваа киселина се ослободуваат водородни јони кои преку промена на цитоплазматската рН вредност би можеле да предизвикаат уништување на микроорганизмот. Слично како и кај етанолот, така и кај борната киселина, одлучувачки фактор за биоцидниот ефект, е концентрацијата во која истата се употребува. Според тоа, 3% раствор, кој е користен за целите на овој труд, не треба да покаже ефект или пак, би можел да покаже мал ефект врз селектираните микроорганизми.

2.4. ВОДОРОДЕН ПЕРОКСИД

Водородниот пероксид постојано се разградува до вода и насцентен кислород, кој претставува силно оксидирачко средство, поради што е носител на површинскиот ефект на водородниот пероксид. На клеточно ниво, механизмот на дејство на водородниот пероксид се објаснува преку *Haber-Weiss*-овата реакција. Имено, кога водородниот пероксид ќе навлезе во интрацелуларниот простор, реагира со супероксидот ($\bullet\text{O}_2^-$) и се добиваат слободни хидроксидни радикали ($\bullet\text{OH}$) (Haber, & Weiss, 1934), кои ги напаѓаат есенцијалните клеточни компоненти, уништувајќи го микроорганизмот. Според Центарот за безбедност на храната и јавното здравје при Државниот Универзитет во Ајова, водородниот пероксид е ефикасен кога станува збор за дејството врз Грам позитивните и Грам негативните бактерии, но поседува лимитирана ефикасност кога врз фунгите, односно фунгалните спори (*The Antimicrobial Spectrum of Disinfectants*, 2008).

2.5. БЕНЗАЛКОНИУМ ХЛОРИД

Бензалкониум хлоридот манифестира биоциден ефект во пет чекори. Во првиот чекор пенетрира во клеточниот ѕид; во вториот чекор се врзува за протеините или липидите од клеточната мембрана; во третиот чекор настанува истекување на нискомолекуларен интрацелуларен материјал; во четвртиот чекор настанува деградација на протеините и нуклеинските киселини; во петтиот чекор, настанува лиза на клеточниот ѕид, поради ослободување на автолитички ензими (Salton, M. R., 1968). Според Центарот за безбедност на храната и јавното здравје при Државниот Универзитет во Ајова, бензалкониум хлоридот поседува висока ефикасност кога станува збор за дејството врз Грам позитивните бактерии, оптимална ефикасност кога станува збор за дејството врз Грам негативните бактерии и лимитирана ефикасност кога станува збор за дејството врз фунгите, односно фунгалните спори (*The Antimicrobial Spectrum of Disinfectants*, 2008).

2.6. ПОВИДОН ЈОД

Повидон јодот се подготвува во различни концентрации и добиените раствори се разликуваат според динамичкиот вискозитет. Највисоката дозволена концентрација за негова употреба како антисептик е 10% и овој раствор поседува највисок динамички вискозитет, кој изнесува 3.572 mPa s (Panzova, & Bogdanov, 1990). Јодот од повидон јодот пенетрира во интрацелуларниот простор на микроорганизмите, каде ги напаѓа основните клеточни компоненти, предизвикувајќи смрт на микроорганизмот. Ги намалува и потребите за кислород на аеробните микроорганизми, интерферира на ниво на респираторен синџир и го блокира транспортот на електрони преку електрофилни реакции со ензимите од респираторниот синџир (Maris, 1995). Според Центарот за безбедност на храната и јавното здравје при Државниот Универзитет во Ајова, јодот е ефикасен кога станува збор за дејството врз Грам позитивните, Грам негативните бактерии, вклучително и фунгалните спори (*The Antimicrobial Spectrum of Disinfectants*, 2008).

3. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОД НА РАБОТА

Испитувани антисептици и дезинфициенси – бензалкониум хлорид (5%), формалдехид (5%), водороден пероксид (3%), етанол (96%), борна киселина (3%), повидон јод (10%); Изолирани соеви на микроорганизми од пациенти – изолирани соеви на Грам позитивната бактерија *Bacillus spp.*, изолирани соеви на Грам негативните бактерии *Acinetobacter spp.*, *Klebsiella spp.* и *Serratia marcescens* и изолирани соеви на габата *Candida spp.*; филтер хартија, перфоратор, еза, епрувети, стерилна дестилирана вода, дензитометар, петриеви плочи, хранителна подлога: агар по *Müller-Hinton*, стапчиња за брис, пинцета, пламеник, термостат, линијар. За тестирање на осетливоста на микроорганизмите беше користена *Kirby-Bauer* диск дифузионата метода (*Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*, 2009). Оваа метода може да се користи за испитување на осетливоста кон повеќе антибиотици и хемотерапевтици, а со оглед на фактот што антисептиците и дезинфициенсите поседуваат сличен ефект, методот го искористивме за испитување на осетливоста кон селектираните антисептици и дезинфициенси. Со цел поефикасно спроведување на експериментот, а и поради фактот што не постојат стандардизирани дискови со антисептици и

дезинфициенци, оваа метода претрпе одредени модификации, така што се состави протокол за работа од неколку чекори: подготовка на кружни парчиња од филтер хартија, подготовка на суспензија од микроорганизми, засадување на суспензијата од микроорганизмите на хранилиште, апликација на антисептиците / дезинфициенсите на подлогата, инкубација на подлогата, анализа на зоните на инхибиција.

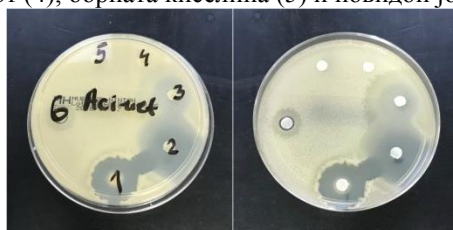
4. РЕЗУЛТАТИ

Врз основа на добиените резултати за *Bacillus spp.* може да се заклучи дека истата е најчувствителна на бензалкониум хлоридот (1) (22 mm), но задоволителен ефект покажал и водородниот пероксид (3) (15 mm). Сепак, бактеријата е резистентна спрема: формалдехидот (2), етанолот (4), борната киселина (5) и повидон јодот (6).



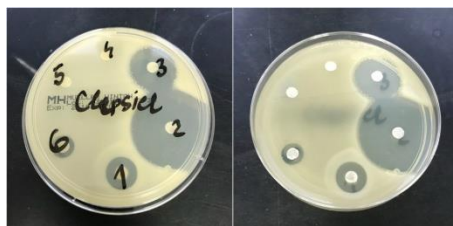
Слика 1. Приказ на ефектот на антисептиците / дезинфициенсите врз соевите на *Bacillus spp.*

Врз основа на добиените резултати за *Acinetobacter spp.* може да се заклучи дека истата е чувствителна на бензалкониум хлоридот (1) (20 mm) и формалдехидот (2) (20 mm). Сепак, бактеријата е резистентна спрема: водородниот пероксид (3), етанолот (4), борната киселина (5) и повидон јодот (6).



Слика 2. Приказ на ефектот на антисептиците / дезинфициенсите врз соевите на *Acinetobacter spp.*

Врз основа на добиените резултати за *Klebsiella spp.* може да се заклучи дека истата е најчувствителна на формалдехидот (2) (35 mm), но задоволителен ефект покажале и водородниот пероксид (3) (23 mm) и бензалкониум хлоридот (1) (13 mm). Сепак, бактеријата е резистентна спрема: етанолот (4), борната киселина (5) и повидон јодот (6).



Слика 3. Приказ на ефектот на антисептиците / дезинфициенсите врз соевите на *Klebsiella spp.*

Врз основа на добиените резултати за *Serratia marcescens* може да се заклучи дека истата е чувствителна на бензалкониум хлоридот (1) (15 mm) и формалдехидот (2) (15 mm). Сепак, бактеријата е резистентна спрема: водородниот пероксид (3), етанолот (4), борната киселина (5) и повидон јодот (6).



Слика 4. Приказ на ефектот на антисептиците / дезинфициенсите врз соевите на *Serratia marcescens*

Врз основа на добиените резултати за *Candida spp.* може да се заклучи дека истата е најчувствителна на бензалкониум хлоридот (1) (23 mm), но задоволителен ефект покажале и водородниот пероксид (3) (16 mm) и формалдехидот (2) (13 mm). Сепак, габата е резистентна спрема: етанолот (4), борната киселина (5) и повидон јодот (6).



Слика 5. Приказ на ефектот на антисептиците / дезинфициенсите врз соевите на *Candida spp.*

5. ЗАКЛУЧОК

Антисептиците и дезинфициенсите претставуваат интегрален дел од болничките одделенија бидејќи со нивна правилна употреба се спречува појавата на интрахоспитални инфекции. Имено, доколку антисептиците и дезинфициенсите не се употребуваат соодветно, тогаш голема е веројатноста дека ќе дојде до појава на интрахоспитална инфекција. Во такви случаи потребно е да се идентификува патогенот која ја предизвикал таквата инфекција, а потоа да се пристапи кон избор на метод или средство со кое ќе се овозможи негова комплетна ерадикација. Па така, ако се знае кој антисептик, односно дезинфициенс, поседува најголема активност спрема патогенот причинител на инфекцијата, тогаш веднаш може да се пристапи кон употреба на тој антисептик, односно дезинфициенс. Кога станува збор за биоцидната активност на бензалкониум хлоридот, треба да се напомене дека она што беше поставено, беше и потврдено преку овој експеримент. Имено, бензалкониум хлоридот навистина манифестираше најголема ефикасност спрема Грам позитивната бактерија, умерена ефикасност спрема Грам негативните бактерии, а манифестираше и задоволителен ефект спрема *Candida spp.* Слично како и бензалкониум хлоридот, така и формалдехидот ги потврди очекуваните резултати, односно манифестираше задоволителен ефект спрема испитуваните микроорганизми. Од водородниот пероксид се очекуваше да манифестира задоволителна ефикасност спрема Грам позитивната и Грам негативните бактерии, како и лимитирана ефикасност спрема *Candida spp.* Доколку се простудираат добиените резултати, лесно може да се заклучи дека и водородниот пероксид, исто како и бензалкониум хлоридот и формалдехидот, го манифестираше ефектот којшто се очекувал од него. Поставената хипотеза се потврди и за етанолот, поконкретно 96% етанол. Ова средство не покажа никаква активност спрема испитуваните микроорганизми, што беше и за очекување бидејќи истиот беше употребен во несоодветна концентрација. Како што се очекуваше, борната киселина поради слабата дисоцијација во водена средина, не манифестираше задоволителен биоциден ефект, односно не покажа антимикуробна активност спрема испитуваните микроорганизми. Поради високата вредност за динамичкиот вискозитет на 10% раствор на повидон јод, најверојатно кружните парчиња од филтер хартијата треба да бидат наквасени подолго време во растворот, со цел да прифатат поголемо количество од хемикалијата, поради што истата понатаму би дала соодветна зона на инхибиција, што не беше случај во конкретниот експеримент. Исто така, евидентно е дека Грам негативните бактерии се порезистентни во споредба со Грам позитивните бактерии, што секако е за очекување бидејќи Грам негативните бактерии имаат покомплексна градба на клеточниот ѕид во споредба со Грам позитивните бактерии.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] American Society for Microbiology (2009). *Kirby–Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. Retrieved from <http://www.asmscience.org/docserver/fulltext/education/protocol/protocol.3189.pdf>
- [2] Benenson, AS. (1995). *Control of communicable diseases manual* (16th edition). Washington, American Public Health Association.
- [3] DuceL, G. et al. (1979). *Guide pratique pour la lutte contre l'infection hospitalière*. WHO/BAC/79.1.
- [4] Fraenkel–Conrat, H. (1961). *Chemical modification of viral ribonucleic acid. I. Alkylating agents*. *Biochimica et biophysica acta*, 49: 169–80.
- [5] Greenwood, D., Slack, R., Peutherer, J., Barer, M. (2007). *Medical Microbiology. A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Diagnosis and Control* (17th edition). Churchill Livingstone, Elsevier.

- [6] Haber, F., Weiss, J. (1934). *The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts*. Proc R Soc Lond A, 147: 332–51.
- [7] Loveles, A. (1951). *Qualitative aspects of the chemistry and biology of radiomimetic (mutagenic) substances*. Nature, 167 (4244): 338–42.
- [8] Maris P. (1995). *Modes of action of disinfectants*. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 14, (1), pp. 47-55.
- [9] McDonnell G., & Russell A. D. (1999). *Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance*. Clinical Microbiology Reviews, 12 (1): 147–179.
- [10] Panzova, B., Bogdanov, B. (1990). *Physicochemical basis for the microbicidal action of disinfection solutions. I. Polyvinylpyrrolidone–iodine*. International Journal of Pharmaceutics, 65: 35–41.
- [11] Salton, M. R. (1968). *Lytic agents, cell permeability, and monolayer permeability*. The Journal of general physiology, 52 (1): 227–52.
- [12] The Center for Food Security & Public Health, Iowa State University (2008). *The Antimicrobial Spectrum of Disinfectants*. Retrieved from <http://www.cfsph.iastate.edu/Disinfection/Assets/AntimicrobialSpectrumDisinfectants.pdf>
- [13] World Health Organization (2002). *Prevention of hospital–acquired infections. A practical guide* (2nd edition). Retrieved from <http://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/en/whocdscsreph200212.pdf>