

DEZYNFEKCJA Z UŻYCIEM PARY: SKUTECZNOŚĆ ANTYBAKTERYJNA

Lionel PINEAU, Cecile DESBUQUOIS

BIOTECH-GERMANDE laboratory, Marseilles

Parc scientifique de Luminy, 163 Avenue de Luminy, case 927 13288 Marseille cedex 9

SŁOWA-KLUCZOWE

Czyszczenie, dezynfekcja, para, biofilm, skuteczność antybakteryjna

PODSUMOWANIE

Badania przedstawione w niniejszej pracy miały na celu dokonanie oceny skuteczności procedury stosowania pary do czyszczenia i w celach biobójczych (metoda SANIVAP) na podstawie trzech protokołów eksperymentalnych. W pierwszym badaniu oceniano skuteczność czyszczenia metodą SANIVAP powierzchni sztucznie zanieczyszczonych złożonymi zabrudzeniami. Druga seria badań polegała na ocenie biobójczej skuteczności metody SANIVAP według testu standardowego nośnika. Trzecia pozwoliła ocenić skuteczność omawianej procedury wobec biofilmów bakteryjnych powstałych na nośniku obojętnym. Uzyskane wyniki wskazują, że metoda SANIVAP cechuje się dobrą skutecznością czyszczenia złożonych zabrudzeń i biofilmów bakteryjnych połączoną z skutecznym działaniem biobójczym przeciwko bakteriom wegetatywnym, prątkom, drożdżom i grzybom, jak również bakteriom obecnym w biofilmach.

Wprowadzenie

Biobójcze właściwości pary wodnej zostały szeroko opisane, a zastosowanie pary jest najczęściej spotykanym procesem sterylizacji. Oddziaływanie pary jako źródła ciepła na żywotność mikroorganizmów jest wielorakie (denaturacja białek, rozkład kwasów nukleinowych, destabilizacja ścian i błon komórkowych...), a jej spektrum wykorzystania jest bardzo szerokie.

Para jest typowo stosowana w środowiskach zamkniętych, które są w stanie wytrzymać ciśnienie wymagane dla sterylizacji, jakkolwiek jej bezpośrednie stosowanie na powierzchniach jest znacznie mniej powszechne. Dane bibliograficzne pokazują jednak, że właściwości pary wodnej mogą być przydatne w takich dziedzinach, jak przemysł spożywczy - do odkażania tusz świeżej wołowiny lub wieprzowiny (1, 2, 3), do prania lub do czyszczenia podłóg i powierzchni. Niemniej jednak, zastosowanie pary w ochronie zdrowia, z wyjątkiem autoklawu, jest marginalne i ogranicza się do dezynfekcji basenów i kaczek (4).

Firma SANIVAP oferuje profesjonalne zastosowanie technologii dezynfekcji powierzchni (sale chorych, sale operacyjne,...) lub sprzętu medycznego (inkubatory, stoły chirurgiczne, ...) w oparciu o własny proces bazujący na wykorzystaniu pary wodnej o wysokiej temperaturze (150°C) i ciśnieniu (77,55 kPa).) Szczególnie interesująca jest metoda zastosowania wyłącznie pary o wysokiej temperaturze do usuwania zabrudzeń i niszczenia drobnoustrojów. Niemniej jednak, danych naukowych oceniających korzyści i skuteczność takich metod do czyszczenia podłóg i powierzchni na terenie szpitali jest niewiele, a ponadto istnieją wątpliwości, czy aby nie istnieje ryzyko dyspersji zanieczyszczeń przez parę pod ciśnieniem (5).

Celem badań prezentowanych poniżej była ocena czyszczenia i przeciwbakteryjnego działania procedury czyszczenia / dezynfekcji za pomocą pary (SANIVAP) względem różnych rodzajów zabrudzeń i zanieczyszczeń oraz porównanie jej, o ile to możliwe, ze standardowymi procedurami czyszczenia opierającymi się na zastosowaniu detergentów / środków dezynfekcyjnych. Badania te powinny dostarczyć nam informacji na temat rozpraszania zanieczyszczeń. Przeprowadzono trzy badania.

Przeprowadzono 3 rodzaje testów. Pierwszy z nich - w celu oceny skuteczności czyszczenia zabrudzonych powierzchni z zastosowaniem metody SANIVAP. Celem drugiego badania była ocena biobójczej skuteczności generatora pary SANIVAP z użyciem metodologii bazującej na czterech europejskich standardach stosowanych do oceny biobójczego działania środków antyseptycznych i dezynfekujących: EN 14561:2007 (6), NF EN 14562: 2006 (7) i pr EN 14563:2004 (8). Trzecią serię testów przeprowadzono w celu zweryfikowania wyników uzyskanych wcześniej przy zabrudzeniach szczególnie odpornych na działanie detergentów i chemicznych środków dezynfekujących: biofilmów bakteryjnych powstałych na nośniku obojętnym.

MATERIAŁ I METODA

Ocena skuteczności czyszczenia:

Laminat, szorstka, sterylna powierzchnia została sztucznie zanieczyszczona złożonymi zabrudzeniami zgodnie z jedną z metod proponowanych w ISO / TS 15883-5: 2006 (9) w celu oceny skuteczności czyszczenia myjek do narzędzi [100 ml odwłóknionej krwi owczej (BioMerieux 55822), 2 g świńskiej mucyny (Sigma M-2378) i 100 ml żółtek] (10, 11) oraz 1 ml zawiesiny *Staphylococcus aureus* CIP zawierającej $4,83 \cdot 10^7$ CFU / ml.

Po zanieczyszczeniu, nośniki testowe poddano czyszczeniu / dezynfekcji, a skuteczność każdej procedury oceniano poprzez określenie, liczby żywych bakterii i ilości resztkowych białek pozostałych na powierzchni nośnika testowego za każdym razem po czyszczeniu. W tym celu, do badanej powierzchni stosuje się sterylny lejek ze stali nierdzewnej i 10 ml sterylnej cieczy odzysku (Polysorbate 80: 5 ml; NaCl: 8,5034 g 1000 ml wody destylowanej) lub odpowiednio do lejka wlewa się 10 ml dodecylosiarczanu sodu (1% m / v) w celu oceny liczby żywych bakterii lub dozowania białek obecnych na powierzchni nośnika po czyszczeniu.

Badane podłoże jest równomiernie zdrapane, za pomocą sterylnej pipety, następnie zbiera się roztwór do sterylnej probówki do analizy. Wyliczenia mikrobiologiczne wykonuje się z 10 ml odzyskanego roztworu przez rozcieńczenie / inkluzję w pożywce agarowej (tryptic soy, Biomerieux 51044). Stężenie białka w 10 ml zebranego SDS określa się za pomocą testu kolorymetrycznego (MicroBCA. Optima Interchim). Wyniki wyrażone są jako liczba jednostek tworzących kolonie (CFU) na cm^2 i mikrogramów białka na 20 cm^2 .

W tym samym czasie, rozpoczyna się seria kontroli w celu zweryfikowania żywotności mikroorganizmu testowego w badanym zabrudzeniu i sprawdzenia warunków doświadczalnych aby uzyskać jednorodne i powtarzalne zanieczyszczenie nośnika testowego.

Testom i porównaniu podane są trzy procedury czyszczenia i dezynfekcji:

- "SANIVAP" Procedura składa się z jednego przejścia parą z użyciem szczotki (Prototyp SANIVAP, 2250 W) bez dalszego wycierania mikrofibry.

- "SANIVAP + PROVAP" Procedura polega na zroszeniu detergentem PROVAP, następnie zastosowaniu jednego przejścia parą z użyciem szczotki bez osłony i wytarciu mikrofibry.

- Procedura odniesienia przy użyciu detergentu / środka dezynfekującego do powierzchni (zanurzenie sterylnej mikrofibry w 0,5% (v / v) roztworze detergentu / środka dezynfekującego, wirowanie, podwójne przetarcie impregnowaną mikrofibry – (przetarcie i przetarcie powrotne.)

Ocena działania biobójczego:

Badaną zawiesinę mikroorganizmów sporządza się w mieszance tryptonu i soli (Biomerieux 42076), według NF EN 14561: 2007 i EN 14562: 2006 odnośnie szczepów bakteryjnych (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Enterococcus hirae* ATCC 10541) lub szczepów grzybów (*Candida albicans* ATCC 10231 i *Aspergillus Niger* ATCC 16404) i w sterylnej wodzie destylowanej zgodnie z zaleceniami roboczej wersji normy pr EN 14563: 2004 dla szczepów prątków (*Mycobacterium terrae* CIP 104321 i *Mycobacterium avium* CIP 105415).

Dokładną ilość żywych organizmów w każdej badanej zawieszynie kontroluje się dziesięciotnie w następujących po sobie rozcieńczeniach i inkluzjach lub rozprowadzając próbkę każdego rozcieńczenia w medium: Trypticase Soya Agar (Biomerieux 51044) dla bakterii, prątków 07:10 Agar (Difco) dla prątków i ekstrakt słodowy dla drożdży i grzybów.

Warunki inkubacji są dostosowane do każdego mikroorganizmu:

- 36 ± 2 °C przez 48 godzin dla bakterii.
- 30 ± 1 °C od 48 do 96 godzin w przypadku drożdży i grzybów.
- 36 ± 2 °C przez 21 dni dla prątków.

1 ml substancji zakłócających [albumina wołowa (USBiological A1310.05): 0,30 g, trypton-sól (Biomerieux 42076): qs 100 ml] uprzednio wysterylizowane metodą filtracji dodaje się do 9 ml badanej zawiesiny. Po homogenizacji, pobrano 50 µl próbkę mieszaniny i umieszczono na ustalonej powierzchni 1 cm² badanego podłoża (nośniki szklane 15mm x 60mm x 1mm, matowe z jednej strony). Zanieczyszczone podłoża testowe przechowywano następnie w temperaturze pokojowej aż do całkowitego wyschnięcia.

Po zanieczyszczeniu i wysuszeniu, nośniki szklane są umieszczane na metalowym podłożu w celu utrzymania ich stabilności w czasie badania. Badana powierzchnia jest następnie poddawana dwukrotnemu przetarciu za pomocą 40 centymetrowej szczotki parowej w kontakcie z badaną powierzchnią (SANIVAP zakres SV, SV 3000, 3500 W, SANIVAP) bez wycierania z ściereczką z mikrofibry. Szybkość przesuwu szczotki wynosi ok. 50 cm / sek., a czas kontaktu z inokulum wynosi około od 2 x 1 sekunda.

Efekt przeniesienia nieodłącznie związany z przesuwem szczotki (ruch do przodu i do tyłu) na metalowym podłożu wokoło podłoża testowego ocenia się za pomocą wymazu obszaru (około 50 cm²) otaczającego powierzchnię testową (Nt). Równoległe do tych testów, dla każdego drobnoustroju, utrzymuje się w temperaturze pokojowej zanieczyszczone podłoże testowe na czas potrzebny do przeprowadzenia badań w celu określenia wyjściowego poziomu skażenia mikroorganizmu (Nw) i potwierdzenia warunków doświadczalnych.

Po zastosowaniu metody SANIVAP (N) lub aby sprawdzić warunki doświadczalne (Nw); nośniki umieszcza się w próbówce zawierającej 10 ml roztworu zobojętniającego [Polysorbate 80 (P17 SIGMA-54): 50 ml, tiosiarczan sodu (Sigma S85-03): 5 g, saponiny (SIGMA S79-00): 10 g, lecytynę (Sigma P53): 10 g, bulion tryptonowo sojowy (Biomerieux 42100): qsp500 ml] i około 1 ml sterylnych szklanych kulek średnicy od 0,25 do 0,5 mm. Probówki zawierające podłoże testowe są następnie wirowane przez około 30 sekund, a liczby żywych mikroorganizmów obecnych na mililitr określa się przez następujące po sobie dziesięciokrotne rozcieńczenia i inkluzje do medium.

Po inkubacji zliczono liczbę żywych organizmów, a wyniki wyrażono w CFU / cm². Dla każdego drobnoustroju wykonuje się trzy testy. W końcu oblicza się dla każdego szczepu dziesiętną logarytmiczną redukcję liczby mikroorganizmów obecnych na nośniku testowym przed czyszczeniem (NW) i po czyszczeniu (N) według wzoru:

$$R = \frac{NW}{N} \quad \text{gdzie } \log_{10}R = \log_{10}NW - \log_{10}N$$

Ocena skuteczności względem biofilmów bakteryjnych:

Na podłożu obojętnym (średnica wewnętrzna probówki Tygon ® 6,4 mm) formowane są biofilny *Pseudomonas aeruginosa* CIP A22, jak opisano w Załączniku F do normy ISO / TS 15883-5: 2006 (1) Segmenty probówki zanieczyszczone biofilmem (około 10⁸ bakterii / cm²) są cięte wzdłużnie do uzyskania pół-cylindrycznej powierzchni o długości 4 cm, i pow. od 4 do 4,5 cm². Te podłoża testowe są następnie poddawane różnym procedurom (SANIVAP, SANIVAP + PROVAP i detergent / środek dezynfekujący do powierzchni).

Skuteczność każdej procedury oceniano przez określenie po czyszczeniu:

- Liczby zdolnych do życia bakterii wciąż obecnych na wewnętrznej powierzchni probówki Tygon ®. W tym celu, po czyszczeniu, zanurza się segmenty probówki Tygon ® w 10 ml roztworu zobojętniającego [Lecytyna (Sigma P-5394): 2% (p / v), tiosiarczan sodu (Sigma, S-030 85): 5% (m / v) Tween 80 (Sigma, p-1754): 10% (v / v), histydyna (Sigma H-8000), 1% (w / v) bulion tryptonowo sojowy (BioMerieux, 51019): qs 100 ml]. Probówkę nie się wzdłużnie na cztery identyczne segmenty. Segmenty i roztwór neutralizujący wkłada się następnie do probówki zawierającej sterylne szklane kulki i miesza przez około 1 minutę (Vortex 2, 5 Shake, Scientific Industries, Bioblock, FRANCJA). Żywe bakterie zawarte w mieszaninie są następnie zliczane poprzez rozcieńczenie / inkluzję w Tryptic Soya Agar (Biomerieux 51044). Po inkubacji w ciągu 24 do 48 godzin w temperaturze 36 ± 2 ° C, zliczono kolonie, a wyniki wyrażono jako liczbę żywych bakterii na cm².
- Pozostałości białka i polisacharydy na wewnętrznej powierzchni probówki Tygon ®. Po czyszczeniu, segment probówki Tygon ® umieszcza się w 3 ml sterylnej wody destylowanej, w której wewnętrzna powierzchnia probówki Tygon ® została zdrapana. Pozostałości polisacharydów i białek na wewnętrznej powierzchni probówki Tygon ® oblicza się na podstawie stężenia białek i polisacharydów, mierzone w 3 ml sterylnej wody destylowanej stosując odpowiednio metodę Lowry (12) i Dubois (13).

WYNIKI

Ocena skuteczności czyszczenia:

Wyniki przedstawione w **Tabeli I** oraz na **Rys. 1** wskazują, że procedury "SANIVAP" i "SANIVAP + PROVAP" mają porównywalną skuteczność czyszczenia zabrudzeń i wywołują redukcję stężenia białek znajdujących się na powierzchni podłoża testowego o około 98%. W obu procedurach średnia resztkowego białka po czyszczeniu wynosi około 112 $\mu\text{g}/20\text{cm}$.

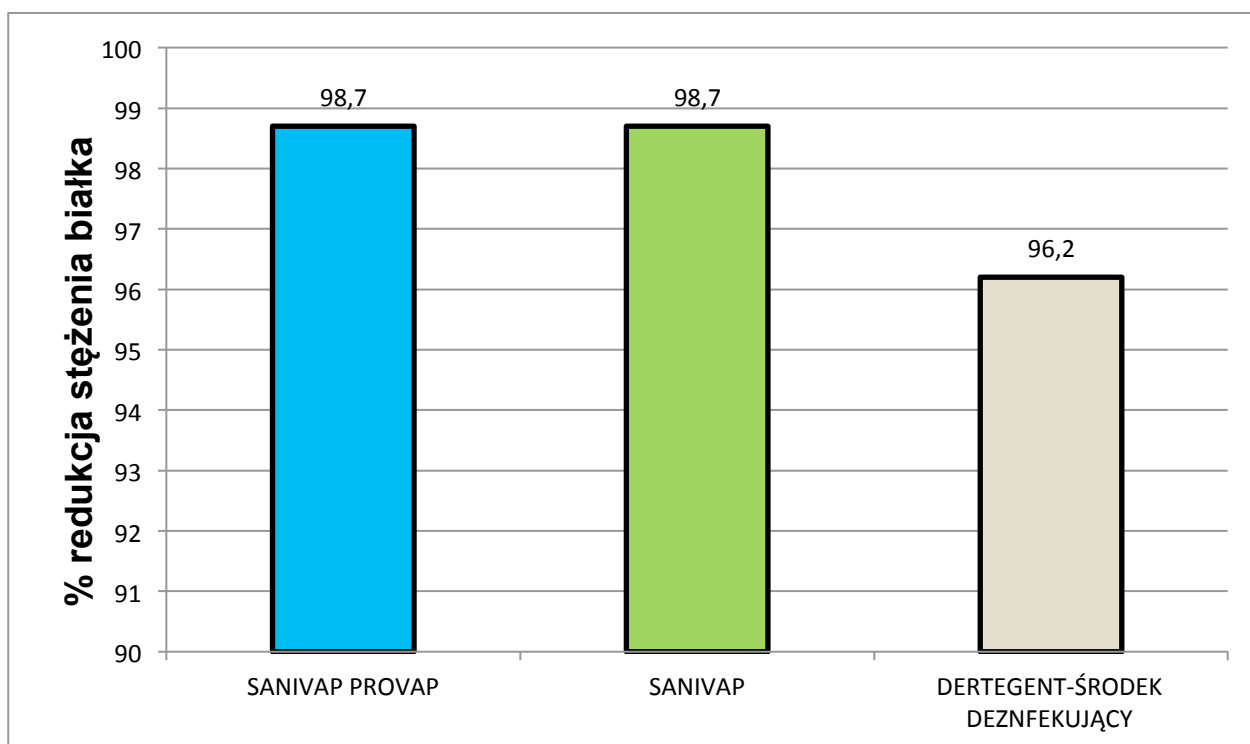
Zastosowanie procedury "DETERGENT-ŚRODEK DEZYNFEKCYJNY" nie zapewnia tego samego poziomu skuteczności i zmniejszenie stężenia białka jest nieco niższe (96%) przy średnim stężeniu białka pozostającego po czyszczeniu wynoszącym 327 $\mu\text{g}/20\text{cm}^2$.

Te wstępne wyniki są potwierdzone przez analizę zliczania bakterii, co potwierdza, że procedury "SANIVAP" i "SANIVAP + PROVAP" powodują zmniejszenie ilości żywych bakterii obecnych pierwotnie na powierzchni podłoża testowego o co najmniej 3,3 jednostek, redukcja z użyciem "DERTEGENTU - ŚRODKA DEZNFEKUJACEGO" wyniosła tylko około 2,2 jednostek.

Tabela I: Porównanie skuteczności trzech procedur czyszczenia / dezynfekcji nośników zanieczyszczonych zabrudzeniami złożonymi: Wartości resztkowego stężenia bakterii oraz białek pozostałych na podłożu testowym po zastosowaniu badanej procedury

PARAMETERY	PROCEDURA			
	KONTROLA	DETERGENT- ŚRODEK DEZNFEKUJĄCY	SANIVAP PROVAP	SANIVAP
Stężenie mikroorganizmów (CFU/20 cm ²)	7700 ± 1100	127,8 ± 109,1	2,7 ± 3,6	8,0 ± 8,0
Stężenie białka (μg /20 cm ²)	8550 ± 425,6	327,6 ± 163,9	112,1 ± 14,1	111,8 ± 32,3

Rysunek 1: Porównanie skuteczności trzech procedur czyszczenia / dezynfekcji powierzchni testowych zanieczyszczonych zabrudzeniami złożonymi



Bardziej szczegółowa analiza danych wykazuje również wysoką zmienność wyników uzyskanych po zastosowaniu procedury z użyciem detergentu-środka do dezynfekcji powierzchni w porównaniu do dwóch procedur z użyciem generatora SANIVAP.

Ocena działania biobójczego:

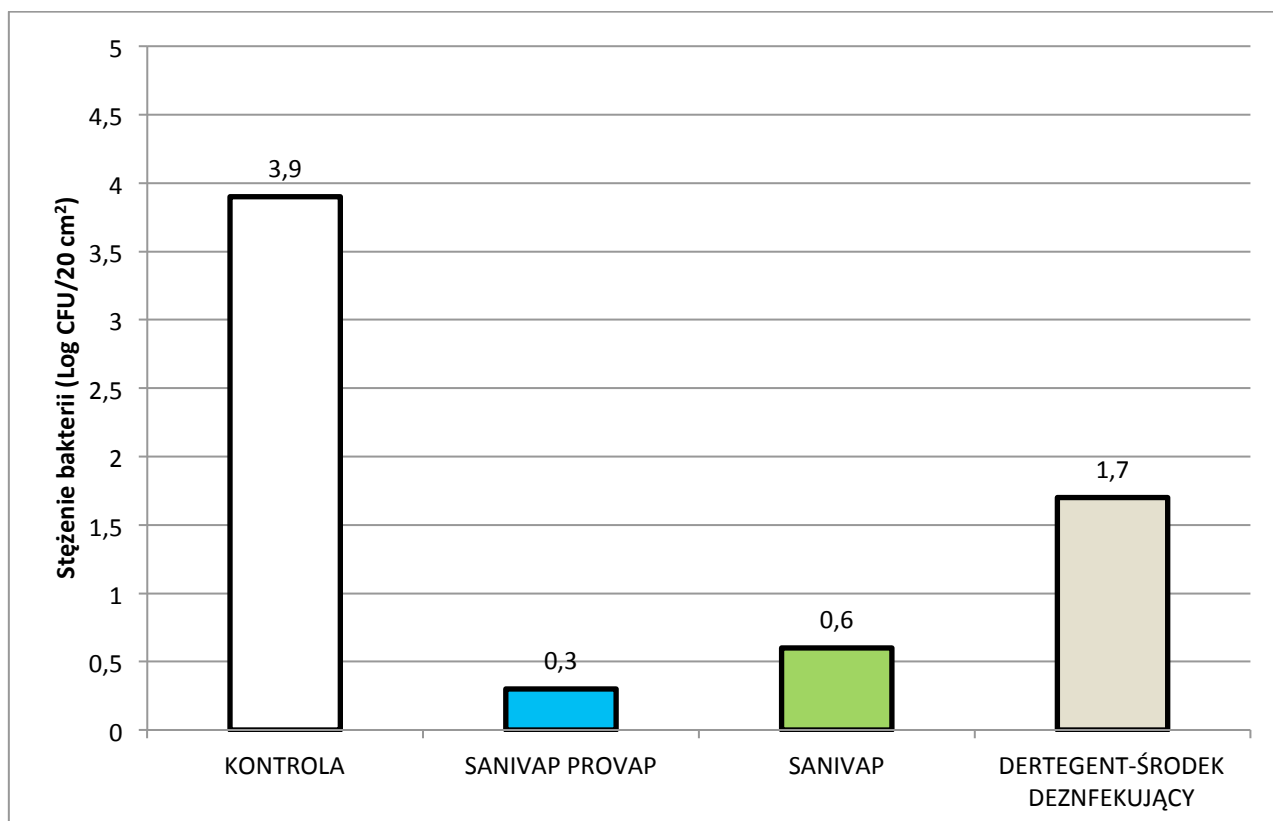
Badania przeprowadzone za pomocą metody opartej na NF EN 14561:2007 (patrz **Tabela II**) wskazują, że metoda SANIVAP, po kontakcie z szczotki parowej 40 cm z badaną powierzchnią, powoduje zmniejszenie ilości żywych bakterii osadzonych na nośniku szklanym w obecności substancji zakłócających (czyste warunki: 0,3 g / l albuminy) do 5,8 jednostek log₁₀ w przypadku *Enterococcus hirae* ATCC 10541. Redukcje te są większe niż odpowiednio 6,0 jednostek log₁₀ i 5,8 jednostek log₁₀ w przypadku *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 i *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Tabela II: Określenie działania biobójczego SANIVAP metodą parową zgodnie z metodą badania opartą o normy NF EN 14561: 2007, EN 14562 lub wersję roboczą pR EN 14563 dziesiętna redukcja logarytmiczna (R) pomiędzy liczbą żywych mikroorganizmów obecnych na powierzchni badanej przed czyszczeniem (NW) i po czyszczeniu z użyciem generatorem pary SANIVAP (N). Nt: liczba żywych mikroorganizmów obecnych na powierzchni w otaczających obszar zanieczyszczony na początku.

Mikroorganizmy	Nw (Nb. CFU/ cm ²)	N (Nb.CFU/ cm ²)	R	Nt (Nb. CFU/ 50 cm ²)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	2,2.10 ⁸	<1,4.10 ²	>6,1	<1
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1,1.10 ⁸	< 1,4.10 ²	>5,8	<1
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541	6,3.10 ⁸	9.3.10 ²	5,8±0,0	18
<i>Mycobacterium terrae</i> CIP 104321	1,4.10 ⁷	<1,4. 10 ²	> 5,0	<1
<i>Mycobacterium avium</i> CIP 105415	6.9.10 ⁷	<1,4. 10 ²	> 5,7	<1
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	4,5.10 ⁶	<1,4. 10 ²	>4,5	<1
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404.	1,4.10 ⁶	<1,4. 10 ²	>4,0	<1
<i>Bacillus subtilis</i> CIP 52.62	1,1.10 ⁸	5,2. 10 ⁵	2,3 ±0,1	>150
<i>Bacillus cereus</i> CIP 105151	2,5.10 ⁷	6,2. 10 ⁶	0,6 ±0,0	>150

Wyniki badań przeprowadzonych z prątkami za pomocą metody opartej na wersji roboczej normy pr EN 14563:2004, pokazują, że po jednym czyszczeniu, zmniejszenie początkowego obciążenia drobnoustrojów jest wyższe niż 5,0 jednostek log₁₀ i 5,7 jednostek log₁₀ odpowiednio dla *Mycobacterium terrae* CIP 104321 i *Mycobacterium avium* CIP 105415.

Rysunek 2: Porównanie skuteczności trzech procedur czyszczenia / dezynfekcji podłoża testowego zanieczyszczonego złożonymi zabrudzeniami: wartości rezydualnych poziomów zanieczyszczeń po czyszczeniu



Badania przeprowadzone za pomocą metody opartej na NF EN 14562: 2006 wykazują, że po dwóch przejściach szczotki parowej zanotowano redukcję wyższą niż odpowiednio 4,5 i 4,0 jednostek logarytmicznych, dla szczepów testowych *Candida albicans* ATCC 10231 i *Aspergillus niger* ATCC 16404.

Z drugiej strony, badania przeprowadzone na podłożu zanieczyszczonym przetrwalnikami bakterii wskazują, że zastosowanie pary wywołuje tylko niewielką redukcję początkowego ładunku mikrobiologicznego ($R = 2,3 \pm 0,1 \log 10$ dla przetrwalników *Bacillus subtilis* CIP 52,62 i $R = 0,6 \pm 0,0$ dla przetrwalników *Bacillus cereus* CIP 105151).

Próbki pobrane metodą „pędzelkowania” nie wykazują przeniesienia żywych mikroorganizmów z podłoża testowego na zewnątrz, z wyjątkiem badań wykonywanych z *Enterococcus hirae* ATCC 10541, dla których określono średnią 18 CFU / 50 cm². Podobnie w przypadku przetrwalników bakterii, zdolne do życia przetrwalniki bakterii (> 150 CFU/50 cm²) przenoszą się z podłoża testowego na przyległe powierzchnie.

Ocena skuteczności przeciwko biofilmom bakteryjnym:

Porównanie skuteczności trzech badanych procedur (Rys. 3) wykazuje, że przy resztkowej ilości żywych bakterii 10 CFU/cm², tj. zmniejszenie o 7,0 jednostek log₁₀, procedura "SANIVAP + PROVAP" powoduje większą redukcję niż procedury "SANIVAP" lub "detergent/środek dezynfekujący" odpowiednio 4,7 log₁₀ i 1,7 jednostek logarytmicznych).

Rysunek 3: Ocena czyszczenia i / lub działania biobójczego trzech testowanych procedur przeciwko *Pseudomonas aeruginosa* CIP A22: średnia liczba żywych bakterii (log,) obecnych w biofilmie, średnie stężenie pozostałego białka i polisacharydów na wewnętrznej powierzchni Tygon ® zastosowaniu trzech badanych metod.

[od tłumacza: w tym miejscu jest wykres, którego nie udało się odtworzyć]

30,0

25,0

20,0

15,0

10,0

5,0

0,0

Liczba żywych bakterii
(Log. Nb. UFC/ cm²)

Stężenie
białek (µg/cm²)

KONTROL Środek dezynfekcyjny do powierzchni Sanivap Sanivap + Provap

Porównanie stężenia białka pozostałego na nośnikach testowych po zastosowaniu badanej procedury pokazują, że wszystkie trzy procedury charakteryzują się skutecznością czyszczenia, powodując zmniejszenie ilości białka powyżej lub równo 60%. Metoda "SANIVAP + PROVAP" powoduje większą redukcję niż pozostałe dwie metody, z pozostałym stężeniem wynoszącym 6,2 µg/cm² i redukcją 73%. Ilość pozostałego białka po zastosowaniu metody "SANIVAP" (7,3 µg/cm²), a po użyciu "Detergentu /środku dezynfekującego" (9,4 µg / cm²), a redukcja wyniosła odpowiednio 68% i 60%.

Nawet, gdyby możliwa była zmiana tych wartości ze względu na fakt, że ilość polisacharydów pozostałych na powierzchni jest dość niska i zmienna, wyniki potwierdzają, że skuteczność metody czyszczenia "SANIVAP + PROVAP" (redukcja 68,8%) jest wyższa niż skuteczność metody "SANIVAP" (redukcja 62,3%), a także wyższa od procedury z użyciem Detergentu-środka dezynfekującego (redukcja 58,4%).

DYSKUSJA

Ocena skuteczności czyszczenia:

Przy stężeniu resztkowym białka poniżej 6 $\mu\text{g} / \text{cm}^2$, skuteczność czyszczenia dwóch procedur z wykorzystaniem metody SANIVAP może być uznana za zadowalającą. Obydwie procedury są bardziej wydajne i bardziej powtarzalne, niż metoda przy użyciu detergentu-środka dezynfekującego. Nawet wtedy, gdy o wiele bardziej istotne różnice w skuteczności notowanej przy metodzie z użyciem detergentu-środka dezynfekującego zależą prawdopodobnie od gęstości zabrudzeń stosowanych w tych badaniach, pokazują one trudność w odtworzeniu tego rodzaju procesu ruchu w opisanych warunkach doświadczalnych, który wywołuje lepszą skuteczność. Dobre wyniki uzyskane w tych badaniach w zakresie zmniejszenia obciążenia bakteryjnego na podłożu testowym nie potwierdzają obaw zgłaszanych przez White LF (14) odnośnie niższej skuteczności pary przeciwko *Staphylococcus aureus*.

Ocena działania biobójczego:

W opisanych warunkach eksperymentalnych, logarytmiczne redukcje uzyskane dla badanych drobnoustrojów po zastosowaniu metody SANIVAP, są wyższe niż te wymagane w normach EN 14561:2007, EN 14562:2006 i wersji roboczej normy pr EN 14563 (grudzień 2004r.), aby zakwalifikować bakteriobójcze, grzybobójcze i prątkobójcze działanie chemicznego środka dezynfekującego stosowanego do instrumentów (narzędzia chirurgiczne, sprzęt do znieczulenia, endoskopy, etc.). Wyniki te potwierdzają wyniki opublikowane przez A. Haasa (15) w 1998 roku, w którym w podobny sposób uzyskano logarytmiczną redukcję wyższą niż 5 jednostek log dla trzech mikroorganizmów (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* i *Candida albicans*) w przypadku trzech rodzajów podłoża (płytki, drewno i dywan) po czyszczeniu w czasie 5 sekund w odległości 2,5 cm.

Interpretacja działania w oparciu o nośniki testowe sztucznie zanieczyszczone przetrwalnikami bakterii jest dość trudna, ponieważ, nie opracowano w Europie badania zgodnie z etapem II (symulowane stosowane warunki testy lub badania powierzchniowe) do oceny aktywności prątkobójczej środków dezynfekcyjnych stosowanych w obszarze medycznym.

Jednakże, w oparciu o wymagania normy EN 14347 (16), otrzymane wyniki są poniżej minimum wymaganego dla podstawowego działania prątkobójczego (redukcja 4 log). Nawet jeśli wyniki te pokazują ograniczenia metody SANIVAP, należy uznać je za niedopuszczalne, ponieważ działanie prątkobójcze jest wymagane tylko w przypadku obróbki końcowej krytycznych urządzeń medycznych wprowadzanych w przestrzeń sterylną (17), podczas gdy metoda SANIVAP jest stosowana głównie do dezynfekcji

podłóg i powierzchni (bioczyszczenie).

Zgodnie z wymogami stosowanymi przez Francuskie Towarzystwo na rzecz Czystości w Szpitalach (SFHH), detergenty i środki dezynfekujące stosowane do podłóg i powierzchni (18), muszą mieć podstawowe działanie bakteriobójcze i drożdżobójcze (*Candida albicans*) [EN 1040 (19) i EN 1275 (20)], a także działanie bakteriobójcze w warunkach brudnych przy 15 minutowym czasie kontaktu. Dlatego, nawet jeżeli metody stosowane w tym badaniu (badania na podłożu szklanym) różnią się od tych stosowanych przez SFHH (testy zawiesiny), działania ustalone dla procesu SANIVAP można uznać za zadowalające.

Dodatkowe badania będą jednak przeprowadzone w celu potwierdzenia, zgodnie z wymaganiami SFHH, bakteriobójczego działania pary wytwarzanej w procesie SANIVAP w obecności większych ilości substancji zakłócających (badanie w warunkach brudnych).

Nawet jeśli nie są one konieczne, ocena działania grzybobójczego (z *Aspergillus niger*) i prątkobójczego (*Mycobacterium avium* i *Mycobacterium terrae*) metody czyszczenia / dezynfekcji SANIVAP może być interesujące dla niektórych obszarów ryzyka.

Badania przeprowadzone poprzez „pędzelkowanie” okolic początkowo zanieczyszczonych pokazują, że ryzyko rozprzestrzeniania się drobnoustrojów poza badaną powierzchnię z parą wodną pod ciśnieniem nie mogą być wykluczone. Jednakże, wyniki pokazują, że zjawisko to jest ograniczone tylko do mikroorganizmów mniej wrażliwych na ciepło, jak przetrwalniki *Bacillus cereus* i *Bacillus subtilis* oraz - w mniejszym stopniu *Enterococcus hirae*.

Ocena działania na biofilmy:

Wyniki badań wykonanych na biofilmach potwierdzają lepszą skuteczność metody SANIVAP, niż metody z użyciem detergentu / środka dezynfekującego w celu usunięcia składników biofilmu i dezaktywacji żywych bakterii. Wyniki te potwierdzają zainteresowanie tą metodą, dostrzegając, że inaktywacja bakterii w biofilmie jest bardzo prosta, podczas gdy ich usunięcie jest trudniejsze. (21)

WNIOSKI

W opisanych warunkach eksperymentalnych, wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że metoda SANIVAP do czyszczenia / dezynfekcji cechuje się dobrą skutecznością czyszczenia złożonych zabrudzeń i biofilmów bakteryjnych. Działanie oczyszczające uzupełnia działanie biobójcze bakterii, prątków, drożdży i grzybów, w tym bakterii przylegających w biofilmach. Według Francuskiego Towarzystwa na Rzecz Czystości w Szpitalach (22), metoda parowa zapewnia wszelką wymaganą skuteczność czyszczenia i dezynfekcji podłóg i powierzchni (bioczyszczenie).

Na koniec, ze względu na wiele zalet tej metody, dość łatwo jest rozważyć, czy przystosowane urządzenia są dostępne, lub czy opisane są szczególne protokoły, do innych zastosowań w obszarach medycznych, włączając wyroby medyczne.

BIBLIOGRAFIA

1. Trivedi S, Reynolds AE, Chen J. Wykorzystanie komercyjnego domowego systemu czyszczenia parowego do odkażania wołowiny i tusz wieprzowych przez cztery małe lub bardzo małe zakłady przetwórstwa mięsa w Georgii. *J Food Prot.* 2007; Marzec; 70(3):635-40.
2. Castillo A, Lucia LH, Goodson KJ et al. Odkażanie tkanki powierzchniowej tusz wołowych samą parą w podciśnieniu i w połączeniu z natryskiem gorącą wodą i kwasem mlekowym. *J Food Prot.* 1999; Luty; 62(2): 146-151.
3. Sofos JN, Smith GC. Bez kwasowe technologie odkażania mięsa: badania modelowe oraz zastosowania komercyjne. *Int J Food Microbiol.* 1998; 10 listopada; 44(3):171-88.
4. Ayliffe GA, Collins BJ, Deverill CEA. Testy dezynfekcji z użyciem temperatury w myjkach do basenów. *J. Clin. Path.* 1974; 27, 760-763.
5. Anonim. Czyszczenie parą i stosowanie mikrofibry. *Health Estate* 2007; Wrzesień; 61(8):39-42.
6. NF EN 14561: Marzec 2007 : Chemiczne środki antyseptyczne i dezynfekcyjne - Badanie ilościowe do oceny działania bakteriobójczego chemicznych środków dezynfekcyjnych stosowanych do instrumentów w medycynie - Metoda i zalecenia badawcze (faza 2, etap 2).
7. NF EN 14562: Wrzesień 2006: Chemiczne środki antyseptyczne i dezynfekcyjne - Badanie ilościowe do oceny działania grzybobójczego i drożdżobójczego chemicznych środków dezynfekcyjnych do instrumentów stosowanych w medycynie - Metoda i zalecenia badawcze (faza 2, etap 2).
8. pr EN 14563: Chemiczne środki antyseptyczne i dezynfekcyjne (12/2004) — Badanie ilościowe do oceny działania prątkobójczego lub gruźliczobójczego lub chemicznych środków dezynfekujących do instrumentów stosowanych w medycynie - Metoda i zalecenia badawcze (faza 2, etap 2).
9. ISO/TS 15883-5: 2006, Myjki — Część 5: Zabrudzenia i metody potwierdzające skuteczność czyszczenia
10. BS 2745-3:1993, Myjki do celów medycznych - Część 3: Specyfikacja myjek / sterylizatorów z wyjątkiem tych używanych do czyszczenia pojemników z odpadami ludzkimi i do prania.
11. Health Technical Memorandum 2030, Myjki — Atestacja i weryfikacja — The Stationery Office, London. 1997 ISBN 0-11-322071-5.
12. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK et al. Kolorymetryczna metoda oznaczania cukru i substancji pokrewnych, *Anal. Chem.* 1956; 28: 350-355.
13. Lowry OR, Roserbrough NH, Farr AL et al. Pomiar białka z odczynnika fenolowego Folin, *J Biol. Chem.* 1951; 193:256-275.
14. White LF, Dancer SJ, Robertson C Ocena mikrobiologiczna metod czyszczenia w szpitalu *Int J Environ Health Res.* 2007; Sierpień: 17(4):285-295.
15. Haas A, Platz S, Eichhorn W et al. Efekt zastosowania pary na podstawie mikrobiologicznych i parazytologicznych procedur badawczych. *Zentralbl Hyg Umweltmed.* 1998; Grudzień; 201(4-5) 337-47.
16. EN 14347, Chemiczne środki antyseptyczne i dezynfekcyjne — Podstawowe działanie przetrwalnikobójcze. Metoda i zalecenia badawcze (faza 1, etap 1).

17. Podręcznik dobrych praktyk w dezynfekcji urządzeń medycznych. Naczelna Francuska Rada Higieny Publicznej, sekcja profilaktyki chorób zakaźnych. Krajowy Komitet Techniczny ds. zakażeń szpitalnych. 1998.
18. Societe Frangaise d'Hygiene Hospitaliere. Liste positive disinfectants 2006.
19. EN 1040. Chemiczne środki antyseptyczne i dezynfekcyjne — ilościowe badanie zawiesinowe w celu oceny podstawowego bakteriobójczego działania chemicznych środków dezynfekcyjnych i antyseptycznych - Metoda i wymagania badawcze (Faza 1)
20. EN 1275 Chemiczne środki antyseptyczne i dezynfekcyjne — ilościowe badanie zawiesinowe w celu oceny podstawowego grzybobójczego i drożdżobójczego działania chemicznych środków dezynfekcyjnych i antyseptycznych - Metoda i zalecenia badawcze (Faza 1)
21. Exner M, Tuschewitzki GJ, Scharnagel J. Wpływ na biofilmy przez stosowanie chemicznych środków dezynfekcyjnych i czyszczenie mechaniczne. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [B], 1987; Kwiecień;183(5-6):549-63
22. Opinia Francuskiego Towarzystwa ds. Higieny Szpitalnej na temat metody czyszczenia i dezynfekcji parą.
<http://www.sanivap.fr/pages/avis/accueil.html>