

615.777/779

MONITOROVÁNÍ ANTIMIKROBIÁLNÍ ÚČINNOSTI DEZINFEKČNÍCH PŘÍPRAVKŮ POMOCÍ OTISKOVÝCH METOD

Mjr. MUDr. Roman CHLÍBEK, doc. Ing. Marie HARTMANOVÁ, CSc.
Katedra epidemiologie Vojenské lékařské akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové
(rektor: plk. doc. MUDr. Svatopluk Býma, CSc.)

Úvod

Nedílnou součástí kontrolní činnosti ve zdravotnických zařízeních je praktické ověřování účinnosti dezinfekčních přípravků a dezinfekčních postupů.

K dispozici máme celou řadu kvantitativních a kvalitativních vyšetřovacích postupů pro monitorování antimikrobiální účinnosti dezinficiens a současně bakteriální kontaminace nemocničního prostředí.

Jako přímé metody se používají metody prokazující mikrobiální kontaminaci kultivací mikrobusů sejmутých z povrchů a předmětů. Průkaz přítomnosti živých mikroorganismů na plochách a předmětech je možný kvalitativními nebo kvantitativními metodami či kombinací obou.

V poslední době se dává větší přednost kvantitativním metodám s vyhodnocením počtu zárodků na určené ploše. Mezi kvantitativní metody zařazujeme otisky jednak v podobě přímé otiskové metody, nebo nepřímé otiskové metody.

Princip přímých otiskových metod spočívá v přímém otisknutí vyšetřované plochy, její velikost je dána velikostí otiskové destičky, na živnou půdu s následnou kultivací v termostatu za určené teploty a odečtení počtu zárodků (CFU) na dané ploše s následným přepočtem zpravidla na plochu 1 dm².

Otiskové metody byly používány a zpracovány již v minulosti, např. v pracích Přivory, Gawlase, Klimeše, Bolka a Toršové.

Cíl

Cílem bylo posouzení efektu otiskových metod s použitím komerčních setů při hodnocení antimikrobiální účinnosti testovaného dezinficiens. Naší snahou bylo kvantitativní zhodnocení úrovně bakteriální kontaminace před použitím a bezprostředně po použití dezinficiens.

Materiál a metodika

Ke kvantitativnímu zhodnocení bakteriální kontaminace nemocničního prostředí před použitím dezinficiens jako kontroly a po použití tohoto dezinficiens jako pokusu jsme použili přímou otisko-

vou metodu s kontaktními otisky Biotest HYCON (Merck, s. r. o., Praha).

Tyto kontaktní otisky pro kvantitativní stanovení mikroorganismů na površích jsou zatavené flexibilní fóliové proužky plněné různými kultivačními půdami.

Existuje několik typů těchto kontaktních otisků:

Typ TC (total count) s agarem světle žluté barvy s neutralizátorem, který je používán k určení celkového počtu všech životaschopných mikroorganismů na kontrolovaných plochách, a proto je vhodný také k hodnocení účinnosti plošných dezinficiens.

Typ B s agarem červené barvy, který je používán k stanovení růstově náročnějších mikroorganismů. Tyto mikroorganismy pak rostou na kultivační půdě v bezbarvých nebo částečně pigmentovaných koloniích, občas se zónou hemolýzy.

Typ C (coliform bacteria) s agarem hnědočervené barvy je používán k stanovení koliformních bakterií, které rostou v červených koloniích, ostatní enterobaktérie jsou bezbarvé.

Typ YM (yeasts and moulds) s agarem růžové barvy je používán k stanovení celkového počtu kvasinek a mikroskopických vláknitých hub. Kvasinky zde rostou v růžovém zabarvení. Současně jsou u tohoto typu přidány do kultivační půdy gentamycin a trimethoprim k inhibici růstu možné kontaminující flóry.

Typ PEN (with Penase) se složením půdy stejným jako u typu TC, navíc přidaná penasa umožňuje inaktivaci penicilínu užití ve farmaceutickém průmyslu.

K posouzení účinnosti dezinfekčního přípravku jsme zvolili kontaktní otisky typu TC ve složení pepton, chlorid sodný, lecitin, histidin, tween 80, agar o hodnotě pH 7,3 ± 0,2. Kultivační půda byla testována výrobcem na růst následujících kultur s dobrým výsledkem:

Staphylococcus aureus, ATCC 12600
Escherichia coli, ATCC 11775
Bacillus subtilis, ATCC 6633
Aspergillus niger, ATCC 9642
Candida albicans, ATCC 2091
Pseudomonas aeruginosa, ATCC 9027

Při vlastním použití se odtrhne zatavená fólie z kontaktního proužku (přibližně 2 cm) a vyjme se agarový proužek s kultivační půdou. Touto stranou se přitlačí agar na testovanou plochu a mírným tlakem se zhotoví otisk. Pak se otisk vrátí do plastického obalu agarovou plochu směrem dolů a vše se uzavře plastickým náplekem. Nakonec jsme pro lepší přehlednost otisky označili štítkem s popisem. Po transportu do laboratoře, který následoval bezprostředně po skončení odběru, jsme otisky vložili do termostatu na dobu 24 hodin při teplotě 37 °C. Kontaktní otisky typu B se kultivují při 36 °C, u typu YM po dobu 3-5 dní při 30 °C nebo při pokojové teplotě.

Po inkubaci je možné okamžitě spočítat celkový počet kolonií přímo přes průhledný obal. Počet zárodků (CFU) spočítaný na ploše kultivační půdy, která je 25 cm², může být zapsán jako počet CFU/dm² (pro tuto kalkulaci je nutné počet zárodků vynásobit čtyřmi). Po odečtení počtu zárodků jsme otisky s narostlými mikroorganismy zlikvidovali v autoklávu. Při práci s těmito otisky je nutné dodržet několik zásad:

- před použitím nesmí být otisky vyschlé nebo kontaminované
- je třeba vyvarovat se sekundární kontaminace během či po otiskování dané testované plochy
- otisk by se měl vkládat do plastického obalu vždy kultivační půdou směrem dolů, abychom se vyvarovali zatékání možné kondenzované vody na půdu během kultivace.

Kontaktní otisky by měly být skladovány v chladu při teplotě od 2 do 8 °C, v temnu a v originálním balení. Otisky by neměly být používány po stanovené době expirace, která je viditelně označena na každém balení.

Pomocí této metody jsme ověřovali laboratorně získané výsledky antimikrobiální aktivity dezinfekčního preparátu na plochy.

Otisky k posouzení účinnosti plošné dezinfekce po použití testovaného dezinfekčního prostředku jsme prováděli na vybraných odděleních Fakultní nemocnice Hradec Králové a na hemodialyzačním oddělení Klaudiánovy nemocnice Mladá Boleslav. Nejprve jsme provedli základní kvantitativní monitoring mikrobiální kontaminace vybraných frekventovaných míst jako kontrolu. Poté jsme provedli otisky po provedené plošné dezinfekci dezinfekčním přípravkem PRESEPT v koncentracích 1 g/dm³ (4 tablety po 2,5 g/10 l) na podlahy a 0,5 g/dm³ (2 tablety po 2,5 g/10 l) na stěny a umývadla spolu s 20 ml detergentu (Jar) po 30minutové expoziční době. Na oddělení hemodialýzy jsme používali také koncentrace 1 g/dm³ a na podlahu chodby koncentraci 0,5 g/dm³. Celkem bylo provedeno 92 otisků.

Výsledky

Výsledky otisků v počtech CFU/dm² jsou uvedeny v následujících tabulkách.

Tabulka 1

Kvantitativní hodnocení účinnosti plošné dezinfekce na vybraných odděleních FN Hradec Králové

PRACOVNÍSTĚ	ODBĚROVÉ MÍSTO	POČET CFU/dm ²			
		KONTROLA	POKUS 1	POKUS 2	POKUS 3
Neurochirurgie JIP	podlaha pokoje	240	12	36	68
	stěna pokoje	20	0	4	0
	obklady nad umývadlem	35	0	28	0
	stěna umývadla	480	0	52	92
Infekční klinika JIP	podlaha pokoje	200	32	64	60
	stěna pokoje	48	0	0	48
	obklady nad umývadlem	8	0	4	0
	stěna umývadla	78	0	0	76
Dětská klinika oddělení hematologie a onkologie	podlaha pokoje	620	49	40	320
	stěna pokoje	8	4	0	0
	obklady nad umývadlem	31	9	4	4
	stěna umývadla	30	62	100	32
	podlaha na chodbě	359	97	280	282
	stěna na chodbě	66	17	40	40
II. interní klinika OHIP*	podlaha pokoje	200	100	100	292
	stěna pokoje	60	0	40	0
	obklady nad umývadlem	16	30	32	4
	stěna umývadla	208	104	160	140

OHIP - oddělení hematologické intenzivní péče

Tabulka 2

Kvantitativní hodnocení účinnosti plošné dezinfekce na oddělení hemodialýzy nemocnice Mladá Boleslav

MÍSTO OTISKU	Počet CFU/dm ²	
	KONTROLA	POKUS
Podlaha oddělení	10 ²	20
Stěna oddělení	8	10
Obklady nad umývadlem	0	0
Stěna umývadla	10 ²	10
Konstrukce lůžka	72	0
Dveře pod klikou	0	0
Konektory přístroje Gambro	10	8
Stěna venózního měřiče	10	0
Prostor za vývodem přístroje	4	0
Podlaha na chodbě	10 ²	10

Závěr

Otiskovou metodou jsme si ověřili účinnost správně prováděné plošné dezinfekce povrchů a ploch vhodným dezinfekčním přípravkem.

Byl prokázán značný úbytek počtu zárodků po plošné dezinfekci, zejména na stěnách a umývadlech, na podlaze sálu hemodialýzy. Otiskovými metodami byl zaznamenán kvantitativní úbytek CFU po použití testovaného dezinficiens. Pokles CFU byl minimálně o 1-2 logaritmické řády. Získané výsledky terénního pokusu jsou o něco horší než výsledky získané v laboratorních podmínkách. Myslíme si, že je to způsobeno prováděním otisků za běžného provozu na odděleních, kde po provedení plošné dezinfekce dochází opět k postupné kontaminaci ploch, což je zvláště patrné na výsledcích z podlah oddělení.

Výhodou této otiskové metody je standardnost provedení, zabezpečení přesně definované plochy otisku, možnost rychlého kvantitativního zhodnocení počtu zárodků po proběhlé kultivaci. Samozřejmě odpadá problém s transportem, pomnožování a vyočkování. Při správně provedeném postupu otisku je minimalizováno riziko sekundární kontaminace kultivační půdy, která po celou dobu nepříjde do styku s ničím jiným než s kontrolovanou plochou.

V porovnání s různými improvizovanými pomůckami pro otisky je nízká spotřeba kultivační půdy. Určitou nevýhodou je poměrně menší flexibilita (např. v porovnání s Agarflexem) a tím omezené použití na nerovné předměty či plochy a dále vyšší cena v porovnání s jinými otiskovými soupravami (asi 90 Kč/ks).

Otiskové metody umožňují snadné bakteriologické monitorování prostředí zdravotnických zařízení, provádění kontroly účinnosti plošné dezinfekce.

Těmito metodami s použitím komerčních otiskových setů lze dobře ověřovat antimikrobiální účinnost jednotlivých dezinfekčních přípravků po laboratorních pokusech přímo za provozu v reálném prostředí zdravotnických zařízení.

Současně tyto metody umožňují rychle odhalovat riziková místa na jednotlivých pracovištích a tím včas účinně zasáhnout do boje s potenciálním zdrojem nozokomiálních infekcí.

Souhrn

Autoři prezentují své zkušenosti s používáním přímých otiskových metod jako kvantitativní metody ověřování účinnosti dezinfekčních přípravků a dezinfekčních postupů. Cílem práce bylo posouzení efektu komerčních otiskových setů Biotest-HYCON (Merck, s. r. o., Praha) při ověřování antimikrobiální účinnosti testovaného dezinficiens pro plošnou dezinfekci na vybraných odděleních zdravotnických zařízení.

Tyto kontaktní otisky umožňují standardnost provedení, minimalizaci rizika sekundární kontaminace kultivační půdy a rychlé kvantitativní vyhodnocení účinnosti dezinfekčních postupů. Proto jsou vhodné pro provádění kontroly účinnosti plošné dezinfekce a pro snadné bakteriologické monitorování prostředí zdravotnických zařízení.

Klíčová slova: Otiskové metody; Plošná dezinfekce; Kontrola.