

HANNA KRZYWICKA, JOANNA JANOWSKA, BARBARA TADEUSIAK, EWA ZARZYCKA

WRAŻLIWOŚĆ NA ŚRODKI DEZYNFEKCYJNE SZCZEPU *PSEUDOMONAS* WYIZOLOWANEGO Z WODY DESTYLOWANEJ

SENSITIVITY OF *PSEUDOMONAS* STRAIN ISOLATED FROM DISTILLED WATER TO DISINFECTANTS

Zakład Zwalczenia Skażeń Biologicznych, Państwowy Zakład Higieny,
00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24
Kierownik: dr K. Kanclerski

Porównano wrażliwość na 8 podstawowych środków dezynfekcyjnych szczepu Pseudomonas sp. wyhodowanego z wody destylowanej (WS) ze szczepem standardowym P. aeruginosa NCTC 6749 (SS). Szczep WS wykazał mniejszą wrażliwość od szczepu standardowego na czwartorzędowy związek powierzchniowo czynny, natomiast większą na: alkohol etylowy, aldehyd glutarowy, formalinę, fenol, preparaty utleniające, wyzwalające aktywny chlor.

Od ponad 40 lat znana jest zdolność bakterii, z rodzaju *Pseudomonas* sp., do przeżywania i rozmnażania się w wodzie [1] oraz w niektórych środkach antyseptycznych i dezynfekcyjnych, głównie zawierających czwartorzędowe związki amoniowe [15]. Od tego czasu datują się doniesienia, które wskazują na poważne zagrożenia, jakie z tego wynikają dla zdrowia hospitalizowanych pacjentów [16]. Temat nadal pozostaje aktualny, jako trudny problem natury praktycznej [2], szczególnie istotny w dobie intensywnego rozwoju technik medycznych i terapii immunosupresyjnej [19, 21, 22].

Zagadnienie mikrobiologicznej czystości wody zostało docenione przez oficjalne czynniki na terenie Niemiec. Znalazło to swój wyraz w zaostrzonych zaleceniach w sprawie nadzoru sanitarnego, m. in. wymagań mikrobiologicznych, na terenie basenów kąpielowych [20]. Przeprowadzone na szeroką skalę badania mikrobiologicznego zanieczyszczenia wody używanej do sprzętów medycznych dały impuls do wydania zaleceń dotyczących czystości mikrobiologicznej wody stosowanej w szpitalach [11].

W opracowaniach teoretycznych, zmierzających do zbadania mechanizmu działania środków antyseptycznych i dezynfekcyjnych oraz zjawiska oporności na te czynniki, poszukuje się wyjaśnienia trudności z opanowaniem zagrożeń, jakie stwarza obecność drobnoustrojów należących do rodzaju *Pseudomonas* w środowisku, szczególnie w środowisku szpitalnym [3, 7, 8, 9, 17, 18].

Wykonane uprzednio w Zakładzie Zwalczenia Skażeń Biologicznych PZH prace nie wskazywały na występowanie wśród badanych szczepów *Pseudomonas* sp., zjawiska oporności na stosowane w tamtym okresie środki dezynfekcyjne [10, 12, 13, 14]. Wyjątek stanowił preparat, w którym substancją czynną był bromek benzyloalkiloamo-

niowy. Badania przeprowadzone były na standardowym szczepie laboratoryjnym oraz szczepach izolowanych z płynów dezynfekcyjnych stosowanych w szpitalach.

Obecnie, w związku z sygnalizowanymi w piśmiennictwie różnicami wrażliwości na czynniki bakteriobójcze szczepów *Pseudomonas* sp. rosnących w naturalnych warunkach w środowisku wodnym, nie pasażowanych na podłożach wzrostowych, i szczepów hodowanych na podłożach, podjęto pracę, której celem było zbadanie ewentualnego występowania tych różnic [4, 6, 18].

MATERIAŁY I METODY

Środki dezynfekcyjne: aldehyd glutarowy 25% (Laboratory Supplies, Anglia), alkohol etylowy 96% (Polmos, Polska), Bardac 22–50 % chlorek didecyldimetyloamoniowy (Lonza AG, Szwajcaria), Clorina – 100% chloramina T (Lysoform, Niemcy), Fenol cz.d.a. (Merck-Schuchardt, Niemcy), Formalina – 40% formaldehyd (Przedsiębiorstwo Chemiczne Odczynniki sp. z o.o., Lublin, Polska), Presept tabletki – 5,0 g izocyjanuranu sodu (Johnson – Johnson, Medical, W. Brytania), Renalina – 4,0% kwas nadoctowy, nadtlenek wodoru (Renal System Inc. Minnetech B.V., USA).

Roztwory aldehydu glutarowego przygotowywano uwzględniając zawartość aldehydu, alkaliczowano wodorowęglanem sodu do wartości pH 7,8. Roztwory preparatu Presept przygotowywano w przeliczeniu na zawartość aktywnego chloru. Roztwory alkoholu etylowego przygotowywano w stosunku wagowym.

Płyny i podłoża: woda redestylowana; woda redestylowana, z której izolowano szczep *Pseudomonas*, sączona przez filtry Sartoriusa 0,2 nm (woda P); woda peptonowa (wg EN 1040, CEN); 8,5 g chlorek sodu, 1,0 g peptone tryptone (Difco) do 1000 ml wody; agar tryptozowo-sojowy TSA (Difco); bulion tryptozowo-sojowy TSB (Difco).

Inaktywatory: bulion zwykły z dodatkiem 3% Tween 80, 0,3% lecytyna, 0,1% histydyna, 0,5 % tiosiarczan sodu (do środków z aktywnym tlenem lub chlorem); bulion zwykły z dodatkiem 3% Tween 80, 0,3 % lecytyna, 0,1 % cysteina (do alkoholu, aldehydów, czwartorzędowych związków amoniowych, fenolu).

Drobnoustroje: *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 (SS), *Pseudomonas* species wyizolowany z wody destylowanej (WS). Drobnoustroje hodowano: SS na podłożu TSB; WS na wodzie P.

Podwójnie destylowaną wodę (3 l) umieszczono w butli o pojemności 5 l i przetrzymywano w temperaturze pokojowej. Po 4 tygodniach pobrano próbę, z której wykonano serię rozcieńczeń od 10^{-1} do 10^{-7} . Rozcieńczalnikiem była woda pochodząca z tej samej butli, przesączona przez sączki membranowe 0,2 nm (woda P). Z każdego rozcieńczenia pobierano 1 ml i wysiewano po 0,5 ml na 2 płytki z podłożem TSA. Z rozcieńczenia, w którym stwierdzano jednorodne pojedyncze kolonie pobierano 1 ml i umieszczano w 100 ml wody P. W celu wyizolowania czystego szczepu procedurę powtarzano trzykrotnie, w odstępach 48 godzin. Szczep zidentyfikowano jako *Pseudomonas* sp.

Wyznaczono krzywe wzrostu wyizolowanego szczepu *Pseudomonas* sp. (WS) oraz laboratoryjnego szczepu *P. aeruginosa* NCTC 6749 (SS), standardowo stosowanego do badania bakteriobójczego działania preparatów dezynfekcyjnych.

Wrażliwość szczepów na badane środki dezynfekcyjne porównywano w początkowym okresie stacjonarnej fazy wzrostu: 22–24 h dla szczepu SS i 46–48 h – dla szczepu WS [4]. Szczep WS przed ekspozycją na środki dezynfekcyjne hodowano w wodzie P, szczep SS na podłożu TSB. Do badań użyto zawiesin o gęstości od $3,0 \times 10^7$ do $6,4 \times 10^7$ j.t.k. /ml (j.t.k. – jednostki tworzące kolonie).

Współczynnik redukcji (RF) oznaczano, częściowo zmodyfikowaną metodą zawiesinową EN 1040, opracowaną przez Europejski Komitet Normalizacyjny (CEN) [5].

Roztwory preparatów przygotowywano w kolbach miarowych używając destylowanej wody. Stężenie wyjściowych roztworów wynosiło 1,25 badanego stężenia. W probówkach umieszczano 8 ml roztworu i 1 ml wody destylowanej, dodawano 1 ml zawiesiny badanych bakterii. Badania wykonywano w temperaturze $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Po odpowiednim czasie ekspozycji przenoszono 1 ml do probówki zawierającej 8 ml inaktywatora i 1 ml wody destylowanej. Inaktywowano 5 min \pm 5 sek. Wykonywano rozcieńczenia 10^{-1} , 10^{-2} . Z inaktywatora oraz każdego rozcieńczenia pobierano po 1 ml mieszaniny i posiewano po 0,5 ml na 2 płytki z TSA, które następnie inkubowano w temp. 37°C .

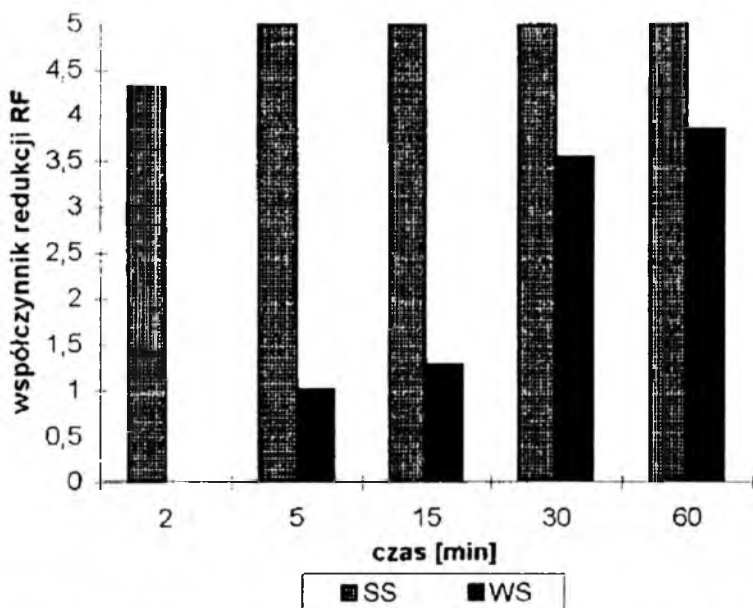
Równolegle w badaniu kontrolnym określano liczbę drobnoustrojów w wyjściowej zawieszynie, stosując analogicznie posiewy z kolejnych rozcieńczeń (10^{-3} – 10^{-6}).

Wyroste kolonie liczono po 24 h inkubowania szczepu SS oraz 48 i 72 h szczepu WS. Liczbę drobnoustrojów obliczano jako średnią ważoną.

Redukcję liczby drobnoustrojów pod wpływem działania roztworów środka dezynfekcyjnego obliczono zgodnie ze wzorem $\text{RF} = \log N - \log N_1$ (RF – współczynnik redukcji, N – początkowa liczba bakterii w mieszaninie reagującej, N_1 – liczba bakterii po ekspozycji w badanym roztworze).

WYNIKI

W początkowym okresie badań jako wartość stałą przyjęto stężenie roztworu środka dezynfekującego. Wartością zmienną był czas działania. W układzie tym zbadano preparat Bardac 22 w stężeniu 0,005%.



Ryc. 1. Redukcja liczby bakterii poddanych działaniu roztworów 0,005% Bardac 22 w zależności od czasu działania.

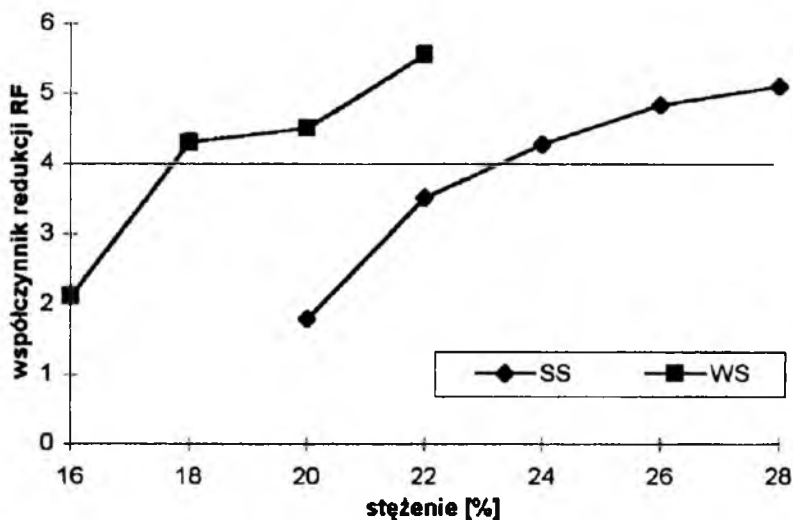
Reduction of viable number of bacteria in solution of 0,005 % Bardac 22.

SS – *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749; WS – *Pseudomonas* sp. izolowany z wody destylowanej (strain isolated from distilled water).

Wyniki uzyskane dla preparatu Bardac 22 przedstawia ryc. 1.

Wskazują one na wyraźnie większą wrażliwość na preparat szczepu SS niż szczepu WS. W przypadku aldehydu glutarowego wrażliwość szczepów kształtowała się odwrotnie. Dla szczepu WS współczynnik redukcji RF wynosił: w czasie 5 min – 0,2; w czasie 10 min – > 5. Natomiast dla szczepu SS, RF określony w czasie 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h i 6 h przedstawiał odpowiednio następujące wartości – 0,35; 0,55; 0,82; 0,92; 1,04 i 1,07.

Badania kontynuowano przyjmując za wartość stałą czas działania. Porównano stężenia roztworów działających bakteriobójczo na oba szczepy w czasie 15 min ekspozycji. Zbadano 8 środków należących do podstawowych grup chemicznych występujących w preparatach dezynfekcyjnych. Oznaczono RF dla nie mniej niż 5 rozcieńczeń każdego środka. Uzyskane wyniki obrazują ryc. 2 – 9.

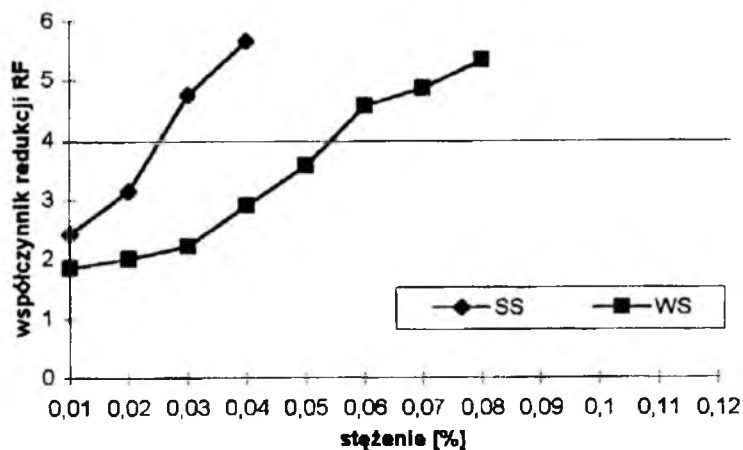


Ryc. 2. Redukcja liczby bakterii poddanych działaniu roztworów alkoholu etylowego, czas działania 15 min.

Ryc. 2. Reduction of viable number of bacteria in solution of ethyl alcohol, exposure time 15 min.

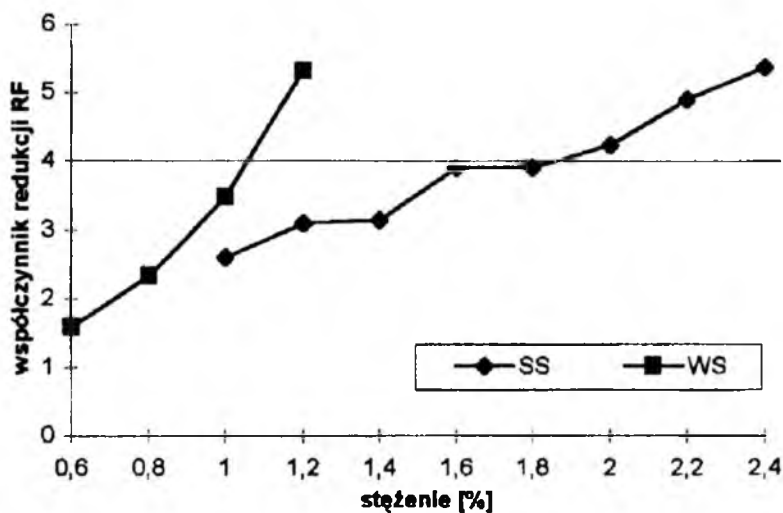
SS – *P. aeruginosa* NCTC 6749; WS – *Pseudomonas* sp. izolowany z wody destylowanej (strain isolated from distilled water).

Wrażliwość szczepu *Pseudomonas* sp. wyizolowanego z destylowanej wody porównano z wrażliwością laboratoryjnego szczepu wzorcowego, biorąc pod uwagę stężenia powodujące redukcję odpowiadającą RF = 4; obie wartości odczytywano z wykresów (tab. I).



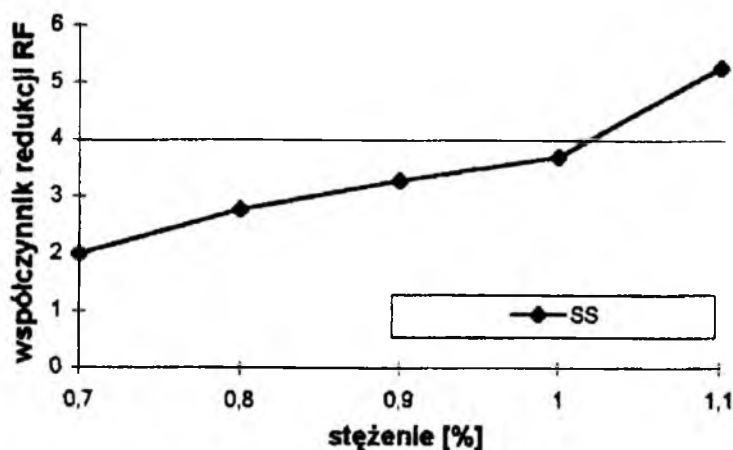
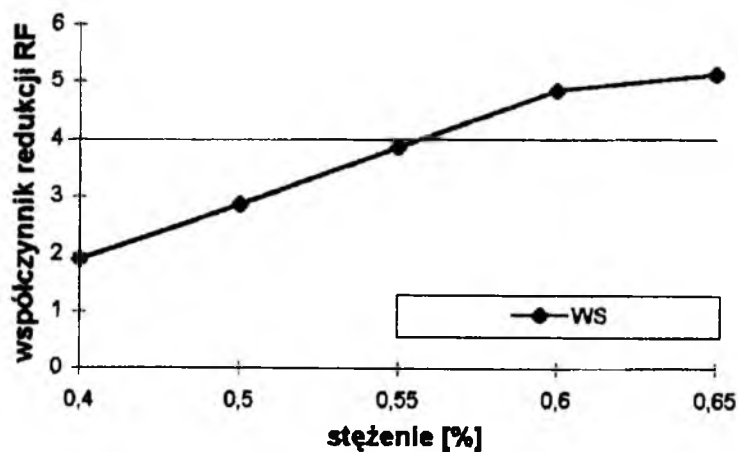
Ryc. 3. Redukcja liczby bakterii poddanych działaniu roztworów aldehydu glutarowego, czas działania 15 min.

Reduction of viable number of bacteria in solution glutaraldehyde, exposure time 15 min.
 SS – *P. aeruginosa* NCTC 6749; WS – *Pseudomonas* sp. izolowany z wody destylowanej (strain isolated from distilled water).



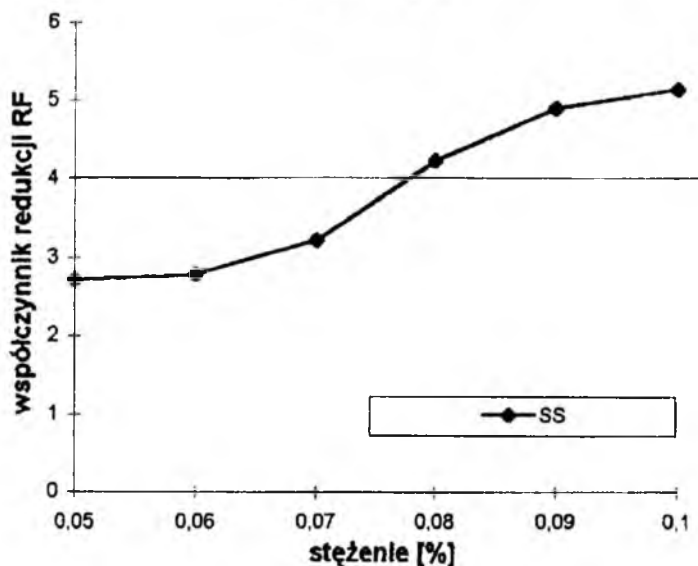
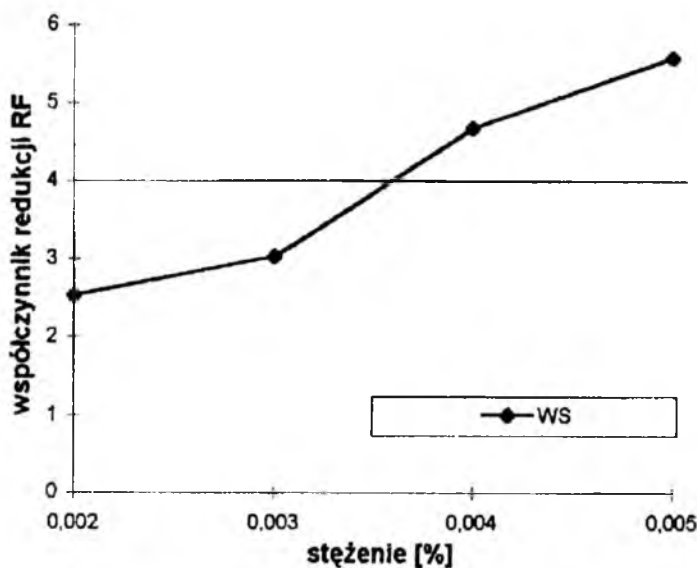
Ryc. 4. Redukcja liczby bakterii poddanych działaniu roztworów formaliny, czas działania 15 min.

Reduction of viable number of bacteria in solution formalin, exposure time 15 min.
 SS – *P. aeruginosa* NCTC 6749; WS – *Pseudomonas* sp. izolowany z wody destylowanej (strain isolated from distilled water).



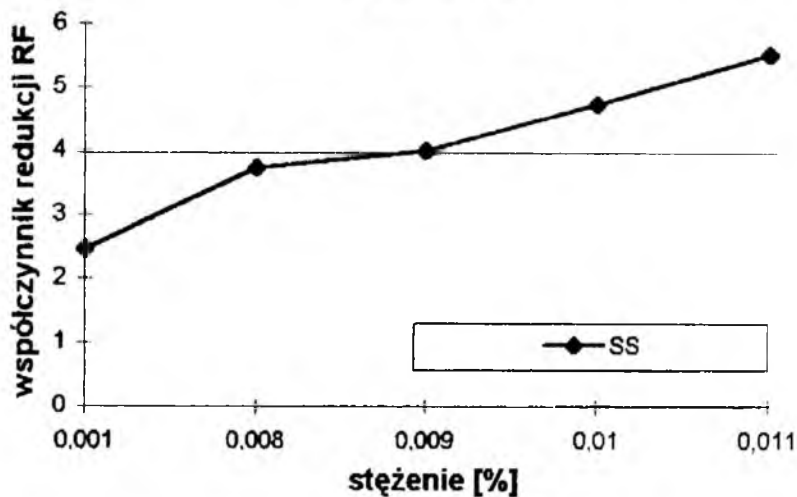
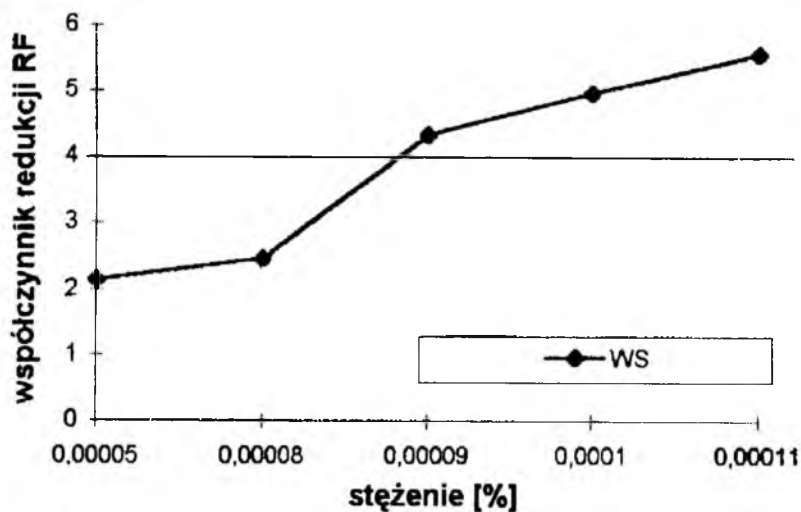
Ryc. 5. Redukcja liczby bakterii poddanych działaniu roztworów fenolu, czas działania 15 min.

Reduction of viable number of bacteria in solution phenol, exposure time 15 min.
SS - *P. aeruginosa* NCTC 6749; WS - *Pseudomonas* sp. izolowany z wody destylowanej (strain isolated from distilled water).

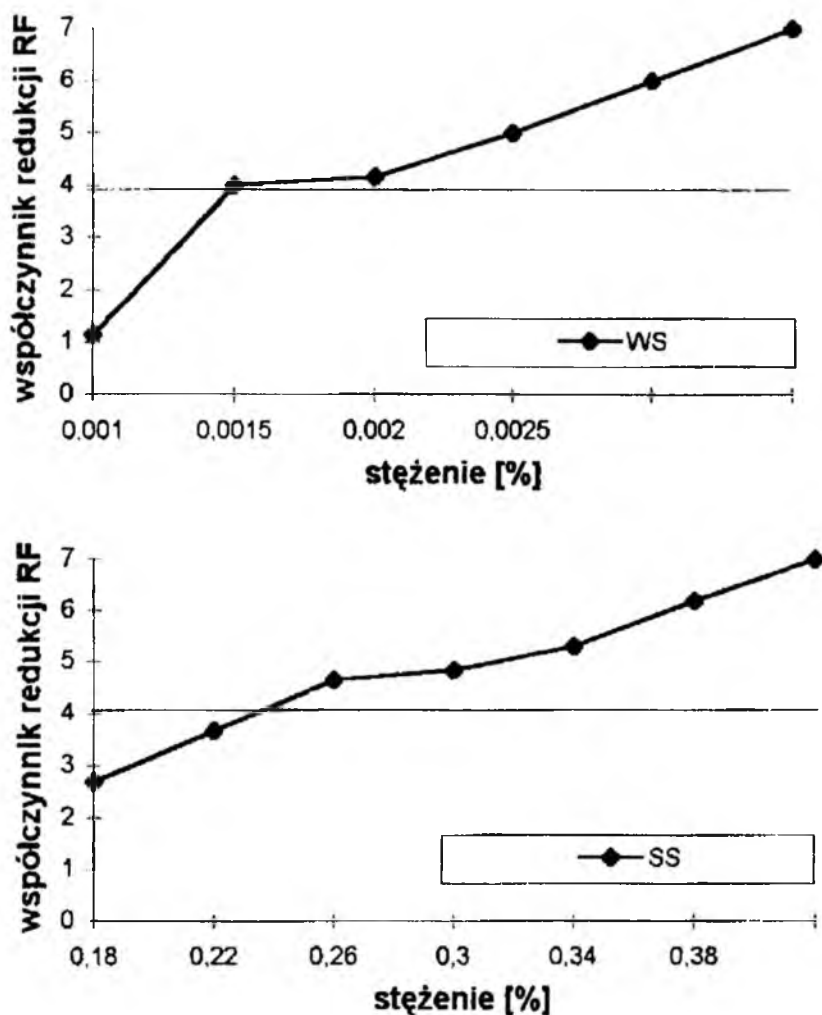


Ryc. 6. Redukcja liczby bakterii poddanych działaniu roztworów Renaliny, czas działania 15 min.

Reduction of viable number of bacteria in solution Renalin, exposure time 15 min.
SS – *P. aeruginosa* NCTC 6749; WS – *Pseudomonas* sp. izolowany z wody destylowanej (strain isolated from distilled water).



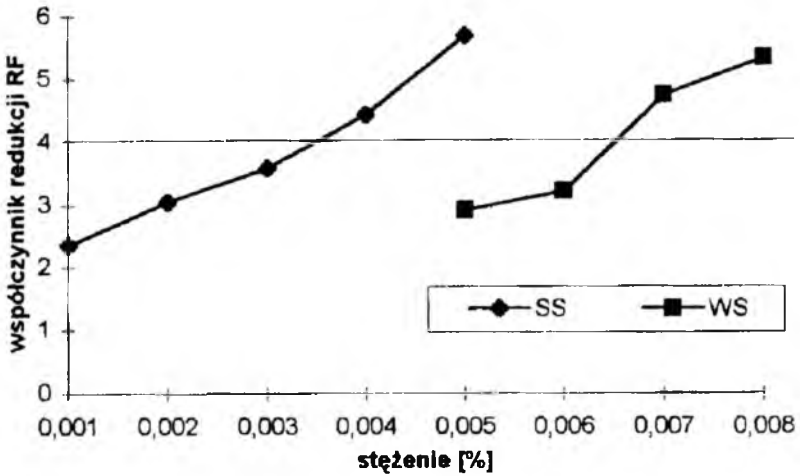
Ryc. 7. Redukcja liczby bakterii poddanych działaniu roztworów Presept, czas działania 15 min.
Reduction of viable number of bacteria in solution Presept, exposure time 15 min.
SS – *P. aeruginosa* NCTC 6749; WS – *Pseudomonas* sp. izolowany z wody destylowanej
(strain isolated from distilled water).



Ryc. 8. Redukcja liczby bakterii poddanych działaniu roztworów chloraminy T, czas działania 15 min.

Reduction of viable number of bacteria in solution chloramine - T, exposure time 15 min.

SS - *P. aeruginosa* NCTC 6749; WS - *Pseudomonas* sp. izolowany z wody destylowanej (strain isolated from distilled water).



Ryc. 9. Redukcja liczby bakterii poddanych działaniu roztworów Bardac 22, czas działania 15 min. Reduction of viable number of bacteria in solution Bardac 22, exposure time 15 min. SS – *P. aeruginosa* NCTC 6749; WS – *Pseudomonas* sp. izolowany z wody destylowanej (strain isolated from distilled water).

Tabela I Porównanie wrażliwości na środki dezynfekcyjne szczepu *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 (SS) z wrażliwością szczepu *Pseudomonas* sp. izolowanego z wody destylowanej (WS), współczynnik redukcji RF = 4.

Czas działania 15 min

Temperatura 20°C

Comparison of the sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 (SS) and *Pseudomonas* sp. strain originally isolated from distilled water (WS) to disinfectants; reduction factor RF=4

Exposure time 15 min

Temperature 20°C

Środek dezynfekcyjny	Stężenie środka dezynfekcyjnego w %		Stosunek stężeń SS/WS
	szczep SS	szczep WS	
Alkohol etylowy	23,2	17,8	1,30
Aldehyd glutarowy	0,055	0,026	2,10
Formalina	1,82	1,07	1,70
Fenol	1,02	0,55	1,85
Clorina	0,234	0,0015	156,00
Presept	0,0084	0,000087	96,50
Renalina	0,0776	0,00361	21,50
Bardac 22	0,00355	0,0065	0,55

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Jak wynika z wykresów 2 – 5 stężenia roztworów, działających bakteriobójczo w czasie 15 min na oba szczepy, mieszczą się w zbliżonym rzędzie wartości i wynoszą dla:

alkoholu etylowego 16 – 28%; aldehydu glutarowego 0,01 – 0,08%; formaliny 0,6 – 2,4%; fenolu 0,4 – 1,1%.

Znaczne różnice wrażliwości obu szczepów wystąpiły w przypadku środków działających utleniająco, a mianowicie Renaliny, w której substancją czynną jest kwas nadoctowy i nadtlenek wodoru, Preseptu i chloraminy T – związków wyzwalających aktywny chlor. Związki te charakteryzują się dużą reaktywnością, wiążą się intensywnie z grupami sulfhydrylowymi (SH) białek [18].

We wszystkich omawianych przypadkach szczep wyizolowany z destylowanej wody był bardziej wrażliwy, na badane środki dezynfekcyjne, od szczepu wzorcowego (tab. I).

W tym układzie badań potwierdziła się, zaobserwowana uprzednio, różnica wrażliwości obu szczepów na preparat Bardac 22. Spośród 8 zbadanych przedstawicieli podstawowych grup środków dezynfekcyjnych jedynie Bardac 22 (czwartorzędowy związek amoniowy) wykazywał większą aktywność w stosunku do szczepu wzorcowego. Mniej wrażliwy na ten środek był szczep wyizolowany z wody.

Wiele jest opracowań dotyczących wrażliwości szczepów *Pseudomonas* sp. na antybiotyki, znacznie mniej na środki dezynfekcyjne [3, 9, 18].

Powszechnie wiadomo, że pierwszym etapem działania bakteriobójczego jest powierzchnia komórki. Od jej budowy zależy możliwość penetracji substancji do błony cytoplazmatycznej i wewnętrznych struktur komórki. Budowa osłon komórkowych drobnoustrojów Gram ujemnych zależy od warunków, m.in. chemicznych właściwości środowiska, w jakich następuje ich rozwój. Dotyczy to zarówno osłon zewnętrznych jak i błony cytoplazmatycznej np. zawartości w nich fosfolipidów, poryn, lipopolisacharydów i kationów [18].

Wzrost drobnoustrojów w środowisku ubogim w węgiel powoduje zmniejszenie wrażliwości komórek na czwartorzędowe związki amoniowe [18]. Może to stanowić wyjaśnienie, stwierdzonej w naszych badaniach mniejszej wrażliwości na Bardac 22 szczepu wyizolowanego z destylowanej wody i hodowanego w jej przesączu, od wrażliwości wzorcowego szczepu hodowanego w TSB.

W przypadku pozostałych związków aktywnych bakteriobójczo można przyjąć, że większa dostępność substancji organicznych w podłożu wzrostowym sprzyja kształtowaniu się w szczepie SS chemicznych struktur komórkowych utrudniających dostęp czynnika bakteriobójczego do strategicznych miejsc odpowiedzialnych za śmierć komórki.

Jeżeli przyjąć, że podstawowy mechanizm działania trzech związków charakteryzujących się najbardziej zróżnicowaną aktywnością w stosunku do obu szczepów, polega na reakcji z grupami –SH, w szczepie WS, rosnącym w środowisku ubogim w substancje organiczne, grupy te są znacznie łatwiej dostępne niż w szczepie SS.

Bakterie z rodzaju *Pseudomonas* wykazujące zdolność rozmnażania się w wodzie destylowanej są wrażliwe na działanie niektórych powszechnie stosowanych środków dezynfekcyjnych (alkoholowych, utleniających, chlorowych, aldehydowych, fenolowych) w stopniu większym niż szczep standardowy stosowany do wyznaczania stężeń użytkowych preparatów dezynfekcyjnych. Natomiast są wyraźnie mniej wrażliwe niż szczep standardowy na działanie chlorku didecyldimetyloamoniowego, przedstawiciela czwartorzędowych związków amoniowych.

Ze względu na ograniczone działanie czwartorzędowych związków amoniowych na bakterie Gram ujemne oraz właściwości bakterii z rodzaju *Pseudomonas* występujących

w wodzie, środki te nie powinny być stosowane do dezynfekcji zbiorników z wodą, np. w nawilżaczach w inkubatorach, aparatach do kontrolowanego oddechu.

WNIOSKI

Woda destylowana nie jest wodą wolną od drobnoustrojów. W czasie kilku godzin może nastąpić rozmnożenie bakterii do poziomu zagrażającego zdrowiu. Woda destylowana jest powszechnie stosowana w zakładach opieki zdrowotnej do płukania narzędzi i sprzętu medycznego oraz w niektórych zabiegach diagnostycznych i terapeutycznych. W przypadku, gdy poziom czystości sprzętu powinien odpowiadać wysokiemu poziomowi dezynfekcji, należy stosować wodę sterylną lub wodę destylowaną świeżo przegotowaną.

Na podstawie uzyskanych wyników oraz uprzednio poczynionych obserwacji [10, 12, 13, 14] można wnioskować, że 7 spośród 8 zbadanych środków dezynfekcyjnych może być bezpiecznie stosowanych w praktyce, w parametrach stężenia i czasu wyznaczonych przy użyciu wzorcowego laboratoryjnego szczepu. Odnosi się to do sytuacji, gdy drobnoustroje są luźno związane z powierzchnią lub znajdują się bezpośrednio w roztworze dezynfekcyjnym.

Wniosek nie jest uprawniony w przypadku, gdy powierzchnia jest skolonizowana przez drobnoustroje tworzące biofilm. Stanowi on przylegającą, zwartą strukturę bakterii (mono lub wielogatunkową) oraz zanieczyszczeń przytwierdzonych wydzielanym przez komórki polisacharydem (glycocalyx). Drobnoustroje w zwartej strukturze są mało dostępne, ponadto mogą charakteryzować się odmienną od wynikającej z ww. badań, wrażliwością na środki dezynfekcyjne.

H. Krzywicka, J. Janowska, B. Tadeusiak, E. Zarzycka

SENSITIVITY OF *PSEUDOMONAS* STRAIN ISOLATED FROM DISTILLED WATER TO DISINFECTANTS

Summary

The aim of the study was to compare *Pseudomonas* sp. strain isolated from distilled water and grown on the sterile filtrate from this water with the referent strain of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 grown under the standard conditions, with the respect to their sensitivity to eight common disinfectants. Partly modified EN 1040 method was applied.

The reduction factor (RF) for at least five concentrations of each of the products were determined. The linear relationship between concentration of the disinfectants and RF was established in a graphic form.

Sensitivity of the strains was compared at the RF = 4. The WS strain was found to be more sensitivity than the referent strain to the disinfectants. The ratio concentrations of the solutions that were effective during 15 minutes against both the strains were; 1,3 for ethyl alcohol; 2,1 for glutaraldehyde; 1,7 for formalin; 1,85 for phenol.

In the case of chloramine-T, the sodium salt of dichloroisocyanuric acid, and peracetic acid the ratios of concentrations were 156,0; 96,5 and 21,5 respectively. They indicate much higher sensitivity of the strain isolated from distilled water to these chemicals.

Autorki dziękują Pani Elżbiecie Marciniak za pomoc techniczną w wykonaniu badań, Pani mgr Beacie Sikorskiej za graficzne przedstawienie wyników.

Our study shows that *Pseudomonas* strain is more sensitive than referent strain to the following disinfectants: alcohols, aldehydes; chlorine, peroxygen and phenolic compounds. On the other hand *Pseudomonas* strain is less sensitive to quaternary ammonium compounds.

PIŚMIENNICTWO

1. Arseni A., Kuomentakou I.: Viability of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Bact., 1964, 87, 1253.
2. Botzenhart K., Ruden H.: Hospital infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*, in: Doring G., Holder I., Botzenhart K. Ed.: Basic Research and Clinical Aspects of *Pseudomonas aeruginosa*. Basel, Karger, 1987, 1.
3. Bryan L.: Resistance of Antimicrobial Agents: The General Nature of the Problem and the Basis of Resistance, in: *Pseudomonas aeruginosa*, Ed. R. G. Doggett, Academic Press, Inc. New York, 1979, 219.
4. Carson L., Favero M., Bond W., Peterson N.: Factors affecting comparative resistance of naturally occurring and subcultured *Pseudomonas aeruginosa* to disinfectants. Appl. Microbiol., 1972, 23, 5, 863.
5. European Standard EN 1040 (CEN): Chemical Disinfectants and Antiseptics – Basic Bactericidal Activity – Test Method and Requirements (phase 1), 1997.
6. Favero N., Carson L.: *Pseudomonas aeruginosa*: Growth in distilled water from hospitals. Science, 1971, 173, 836.
7. Heinzel M., Bellinger H.: Mikrobiologische Untersuchungen an dezentralen Dosiergeräten für Desinfektionsmittel. Teil I: Keimgehaltsuntersuchungen. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B, 1981, 174, 299.
8. Heinzel M., Bellinger H.: Mikrobiologische Untersuchungen an dezentralen Dosiergeräten für Desinfektionsmittel. Teil 2: Resistenzverhalten der isolierten Bakterien. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B, 1982, 176, 47.
9. Heinzel M.: The phenomenon of resistance to disinfectants and preservatives, in: Industrial Biocides, Ed. Payne K., Critical Reports on Applied Chemistry, 1988, 23 52.
10. Janowska J., Krzywicka H.: Oporność bakterii na działanie niektórych środków dezynfekcyjnych. Cz. I. Preparaty fenolowe i aldehydowe. Roczn. PZH, 1980, 31, 534.
11. Kober P., Werner P.: Keimgehalt in Trinkwasser- und Aqua-dest. – Proben in Krankenhäusern Mecklenburg – Vorpommerns 1992 bis 1996. Hyg.Med., 1997, 22, 123.
12. Krzywicka H., Janowska J., Tadeusiak B.: Zwalczanie *Pseudomonas aeruginosa* roztworami chemicznych środków dezynfekcyjnych. Roczn. PZH, 1980, 31, 237.
13. Krzywicka H.: Skuteczność bakteriobójcza płynów dezynfekcyjnych stosowanych w szpitalach. Roczn. PZH, 1980, 31, 527.
14. Krzywicka H., Janowska J.: Oporność bakterii na działanie niektórych środków dezynfekcyjnych. Cz. II. Chloramina i preparaty jodoformowe. Roczn. PZH, 1981, 32, 371.
15. Lowbury E.: Contamination of cetrimide and other fluid with *Pseudomonas pyocyanea*. Brit. J. Ind. Med., 1951, 8, 22.
16. Plotkin S., Austrian P.: Bacteremia caused of *Pseudomonas* sp. following the use of materials stored in solutions of cationic surface active agent. Amer. J. Med. Sci., 1958, 235, 621.
17. Romano G. et. al.: Vorkommen gramnegative Bakterien in enthärtetem Trinkwasser. Zbl. Hyg., 1997, 200, 152.
18. Russell A., Chopra I.: Understanding Antibacterial Action and Resistance. II ed., Ellis Horwood, London, 1996, 101 and 144.
19. Rudnicki J.: Gram-negative bacteria in open-heart-surgery patients traced to probable tap-water contamination of pressure-monitoring equipment. Infect. Control Hosp. Epidemiol., 1996, 17, 281.
20. Sacre C.: Mikrobiologische Anforderungen und Überwachung des Umfelds in Schwimmbädern. Hyg. Med., 1997, 22, 410.

21. *Stampi S. et al.*: Effect of water softening and heating on microbial contamination of Dental Unit Systems. *Zbl. Hyg.*, 1996, 198, 522.
22. *Vess R. et al.*: The colonization of solid PVC surfaces and the acquisition of resistance to germicides by water microorganisms. *J. Appl. Bacteriol.*, 1993, 74, 2, 215.

Otrzymano: 1997.11.24