

JOANNA JANOWSKA

## WRAŻLIWOŚĆ SZCZEPÓW *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* NA ŚRODKI DEZYNFEKCYJNE

### SENSITIVITY OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* STRAINS TO THE DISINFECTANTS

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

*Porównano wrażliwość na środki dezynfekcyjne szczepów Klebsiella pneumoniae: wyizolowanego ze środowiska szpitalnego (Ks) i pochodzącego z muzeum szczepów PZH (K<sub>28</sub>) z wrażliwością testowego szczepu E. coli NCTC 8196. Zbadano działanie 7 preparatów dezynfekcyjnych. Szczepy Klebsiella wykazały większą wrażliwość na środki dezynfekcyjne niż E. coli. Jedynie w przypadku formaliny zależność ta była odwrotna.*

#### WSTĘP

Postęp w dziedzinie medycznych metod diagnostycznych i terapeutycznych, niekiedy ich inwazyjność, sprzyja szerzeniu się zakażeń szpitalnych. Poważne zagrożenie dla chorych w środowisku szpitalnym stwarza również narastające wciąż zjawisko antybiotykoooporności drobnoustrojów [10, 11, 15].

Jednym z czynników etiologicznych zakażeń szpitalnych są Gram-ujemne pałeczki *Klebsiella pneumoniae*. Zakażenia tymi drobnoustrojami stwierdzano głównie na oddziałach intensywnej opieki medycznej, noworodkowych, dziecięcych i urologicznych [1, 2, 5, 7, 12, 14].

Zakażenie następuje najczęściej w przypadkach cewnikowania dróg moczowych, naczyń krwionośnych, żywienia parenteralnego, terapii oddechowej, zabiegów chirurgicznych [4, 7, 8, 11, 12, 16].

Zasadniczą przyczyną rozprzestrzeniania się *Klebsiella pneumoniae* na terenie szpitali są zaniedbania higieniczne. Drobnoustroje przenoszone są najczęściej na rękach personelu szpitalnego, narzędziach medycznych, niekiedy drogą powietrza [2, 3, 18, 20].

Ze względu na możliwość bytowania *Klebsiella sp.* w środowisku wilgotnym obserwowano przypadki zakażenia układu oddechowego przez te bakterie znajdujące się w wodnych kondensatach w aparatach do kontrolowanego oddychania [6, 9].

W ostatnim okresie uwaga ośrodków badawczych koncentrowała się na oporności *Klebsiella sp.* na antybiotyki i cefalosporyny [4, 10, 17, 21]. Ponieważ rezerwuarem szpitalnych szczepów *Klebsiella pneumoniae* mogą być drogi pokarmowe chorych przebywających na terenie oddziałów, przedmiotem badań była zależność pomiędzy anty-

biotykoopornością wyizolowanych szczepów, a ich zdolnością przylegania do komórek nabłonkowych [3, 15].

Poczyniono również ciekawe obserwacje, z których wynika brak korelacji pomiędzy antybiotykkoopornością szczepów *Klebsiella pneumoniae*, a ich wrażliwością na działanie środków dezynfekcyjnych [32].

Ze względu na zagrożenia epidemiczne jakie stanowi *Klebsiella sp.* i rolę środowiska szpitalnego w ich rozprzestrzenianiu się, wydawało się celowe określenie wrażliwości tych drobnoustrojów na środki dezynfekcyjne oraz porównanie jej z wrażliwością szczepu testowego *E. coli*, który służy do ustalania stężeń użytkowych zalecanych do stosowania w warunkach praktycznych [13].

## MATERIAŁ I METODY

### Organizmy testowe

*E. coli* NCTC 8196

*Klebsiella pneumoniae* K28

*Klebsiella pneumoniae* Ks

Kolekcja szczepów w Londynie

muzeum szczepów Zakładu Bakteriologii PZH

szczep wyizolowany przez pracowników WSSE w czasie kontrolowania mikrobiologicznej czystości powierzchni w szpitalu.

Szczepy przechowywano jako kłutą hodowlę na pożywce przeznaczonej do przechowywania szczepów [22]. Z jednej probówki (z hodowli kłutej) przygotowywano szereg posiewów na skosy agarowe, z których przesiewano drobnoustroje do bulionu.

Do badań używano bakterii z pierwszego pasażu w bulionie.

Podłoża: agar do przechowywania szczepów, agar zwykły, bulion zwykły, bulion z inaktywatorem [13].

### Środki dezynfekcyjne:

fenol	– odpowiadający wymaganiom IV FP,
lizol	– 50% krezol, 22% kwasy tłuszczowe, prod. Bydgoska Spółdzielnia „Technochemia”,
septyl	– 7,5% o-fenylofenol, 3,3% p-tert-amylofenol, prod. Chemiczno-Farmaceutyczna Spółdzielnia „Septoma” Warszawa,
chloramina	– p-toluenosulfonochloramid sodu, (23–26% wolnego chloru), prod. Zakłady Chemiczne „Chemifarm” Chorzów,
formalina	– 37% aldehyd mrówkowy, 10–15% alkohol metylowy, prod. Zakłady Azotowe Tarnów,
aldehyd glutarowy	– 25%, prod. Koch-Light Laboratory, Anglia,
laurosept	– 25% bromek laurylopirydyniowy, prod. „Polfa” Grodzisk Mazowiecki

W badaniach zastosowano metodę zawiesinową [13]. Badania wykonano w nie mniej niż trzech powtórzeniach dla każdego szczepu.

Aktywność bakteriobójczą roztworów dezynfekcyjnych określono w czasie ekspozycji 5, 10, 15, 30, 60 i 90 minut.

Gęstość optyczną zawiesiny ustalono spektrofotometrycznie na 53% przepuszczalności w kolorymetrze spektralnym Specol przy długości fali 650 nm, co odpowiada  $5 \times 10^8$  j.t.k/cm<sup>3</sup> (j.t.k. – jednostki tworzące kolonie).

Doświadczenia przeprowadzano w temp. 20°C. Po ekspozycji bakterie inkubowano w bulionie przez 24 h w temp. 37°C. Stężenia roztworów środków dezynfekcyjnych podano w przeliczeniu na preparat, a nie na substancję czynną, ponieważ część użytych w badaniu środków dezynfekcyjnych jest wieloskładnikowa.

Wrażliwość szczepów na środki dezynfekcyjne oceniono porównując wartości stężeń roztworów działających bakteriobójczo w czasie 10 minut.

### WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wartości stężeń roztworów środków dezynfekcyjnych działających bakteriobójczo na szczep *Klebsiella pneumoniae* (K<sub>S</sub>) oraz na szczep *E. coli* przedstawiono w tabeli I.

Tabela I. Porównanie wrażliwości na działanie środków dezynfekcyjnych testowego szczepu *Escherichia coli* NCTC 8196 ze szczepem *Klebsiella pneumoniae* wyizolowanym ze środowiska szpitalnego K<sub>S</sub>)  
Comparison of the sensitivity of the referent strain *Escherichia coli* NCTC 8196 and *Klebsiella pneumoniae* strain isolated from hospital environment (K<sub>S</sub>) to disinfectants

Metoda zawiesinowa	Organizmy badane		Stosunek stężeń <i>E.coli</i> /K <sub>S</sub>
Metoda zawiesinowa	<i>E. coli</i>	K <sub>S</sub>	
Czas ekspozycji 10 minut			
Stężenie środka dezynfekcyjnego w %			
Temperatura 20°C			
Suspension method [13]			
Exposure time 10 min			
Concentration of disinfectants in %			
Temperature 20°C			
Środek dezynfekcyjny			
fenol	1,0	1,0	1,00
septyl	0,30	0,27	1,11
lizol	1,00	0,88	1,14
chloramina	1,10	0,038	2,63
formalina	3,50	6,80	0,51
aldehyd glutarowy	0,08	0,08	1,00
laurosept	0,07	0,07	1,00

Podane w tabeli wartości stężeń odnoszą się do czasu ekspozycji 10 minut, w którym zgodnie ze stosowaną metodą dokonuje się interpretacji uzyskanych wyników.

Zestawione wyniki wskazują, że wartości stężeń roztworów 5 środków dezynfekcyjnych działających bakteriobójczo na K<sub>S</sub> były równe lub mniejsze w porównaniu z takimi wartościami uzyskanymi dla *E. coli*. W przypadku fenolu, septylu, lizolu, aldehydu glutarowego, lauroseptu stosunek wymienionych wyżej stężeń dla *E. coli* do takich samych stężeń dla K<sub>S</sub> wynosił odpowiednio 1,00; 1,11; 1,14; 1,00; 1,00. Dwukrotnie większą wrażliwość K<sub>S</sub> od wrażliwości *E. coli* zaobserwowano w badaniu chloraminy – wartość stosunku stężeń wynosiła 2,63.

Formalina była jedynym środkiem spośród badanych, przy którym wrażliwość K<sub>S</sub> odbiegała od ogólnej tendencji i była mniejsza niż wrażliwość *E. coli*. Wartości stężeń

roztworów formaliny działających bakteriobójczo wynosiły dla  $K_s$  6,8, a dla *E. coli* 3,5, co daje wartość stosunku stężeń 0,51.

Przedstawione wyżej dane dotyczące najmniejszej spośród badanych szczepów wrażliwości testowanego szczepu *E. coli* na środki dezynfekcyjne mają znaczenie praktyczne. Wskazują, że roztwory środków dezynfekcyjnych o stężeniach wytypowanych na podstawie badań wykonanych z zastosowaniem testowego szczepu będą działały skutecznie w przypadku zanieczyszczenia środowiska *K. pneumoniae*. Wyniki dotyczące formaliny nie przekładają się w zasadzie na warunki praktyczne: ze względów toksykologicznych nie jest zalecana do dezynfekcji powierzchni, natomiast preparaty formalinowe przeznaczone do dezynfekcji narzędzi zawierają w swoim składzie również związki należące do grupy charakteryzującej się podaną wyżej aktywnością.

Tabela II. Porównanie wrażliwości na działanie środków dezynfekcyjnych laboratoryjnego szczepu *Klebsiella pneumoniae* ( $K_{28}$ ) ze szczepem *Klebsiella pneumoniae*, wyizolowanym ze środowiska szpitalnego ( $K_s$ )  
Comparison of the sensitivity of the strain *Klebsiella pneumoniae* ( $K_{28}$ ) and *Klebsiella pneumoniae* strain isolated from hospital environment ( $K_s$ ) to disinfectants

Metoda zawieszinowa	Suspension method [13]
Czas ekspozycji 10 minut	Exposure time 10 min
Stężenie środka dezynfekcyjnego w %	Concentration of disinfectants in %
Temperatura 20°C	Temperature 20°C

Środek dezynfekcyjny	Organizmy badane		Stosunek stężeń $K_s/K_{28}$
	$K_{28}$	$K_s$	
fenol	0,9	1,0	1,11
septyl	0,23	0,27	1,17
lizol	0,76	0,88	1,16
chloramina	0,018	0,038	2,11
formalina	5,5	6,80	1,24
aldehyd glutarowy	0,06	0,08	1,33
laurosept	0,06	0,07	1,17

W tabeli II przedstawiono stosunek stężeń roztworów środków dezynfekcyjnych działających bakteriobójczo na szczep szpitalny *Klebsiella pneumoniae* ( $K_s$ ) do analogicznych stężeń roztworów środków dezynfekcyjnych działających na szczep muzealny *Klebsiella pneumoniae* ( $K_{28}$ ).

Szczep  $K_s$  wykazywał nieznacznie mniejszą wrażliwość na badane środki dezynfekcyjne od muzealnego szczepu  $K_{28}$ . Stosunek stężeń mieścił się w granicach 1,11 – 1,33. Jedynie chloramina działała w stężeniu 2,11 większym na szczep szpitalny.

Omówione wyżej wartości wskazują, że wrażliwość szczepu szpitalnego była nieznacznie mniejsza w porównaniu z wrażliwością szczepu muzealnego.

## WNIOSKI

1. Obydwa badane szczepy *Klebsiella pneumoniae* wykazują nieznaczne różnice we wrażliwości na badane środki dezynfekcyjne. Szczep izolowany ze środowiska szpitalnego charakteryzuje się mniejszą wrażliwością niż szczep muzealny.

2. Oba szczepy *Klebsiella pneumoniae* wykazały większą wrażliwość na środki dezynfekcyjne niż szczep testowy *E. coli*. Wyjątek stanowi formalina, przy zastosowaniu której szczepy *Klebsiella* wykazały mniejszą wrażliwość.

3. W związku z przyjętą w metodzie badania środków dezynfekcyjnych interpretacją wyników można uznać, że stężenia użytkowe, wytypowane na podstawie badań wykonanych z zastosowaniem testowego szczepu *E. coli*, będą działały skutecznie w przypadku zanieczyszczenia środowiska *Klebsiella pneumoniae*.

J. Janowska

SENSITIVITY OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* STRAINS TO THE DISINFECTANTS

## Summary

The sensitivity of 2 *Klebsiella* strains (isolated from hospital environment – K<sub>S</sub> and museum – K<sub>28</sub>) to 7 disinfectants with the sensitivity of referent strain *E. coli* NCTC 8196 were compared. Suspension method was applied. Determined the sensitivity *Klebsiella* strains for phenol, septyl, lizol, chloramine, formalin, glutaraldehyde and laurosept in compare with sensitivity of *E. coli* during 10 minutes of exposure.

Certify the insignificant of difference in testing sensitivity of both *Klebsiella* strains on the majority disinfectants and more sensitive those strains than referent strain *E. coli*.

In the case of chloramine the difference was almost two fold – the value concentration ratio of the solutions giving bactericidal effect for *E. coli* in comparing the some concentration for K<sub>S</sub> was 2.3.

Only in the case of formalin the sensitivity of *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae* was inverse – the value of concentration ratio was 0.51 – *E. coli* strain was 1.9 more sensitive than K<sub>S</sub> strain and 1.6 more sensitive than K<sub>28</sub> strain.

## PIŚMIENNICTWO

1. Barsic B., Beus I., Marton E., Himbele J., Kuzmanovic N., Bejuk D., Boras A., Klinar I.: Antibiotic resistance among gram-negative nosocomial pathogens in the intensive care unit: results of 6-year body-site monitoring. Clin. Ther. 1997, 4, 691.
2. Bermudes M., Arpin C., Jude F., el-Harrif Z., Bebear C., Quentin C.: Molecular epidemiology of an outbreak due to extended spectrum beta-lactamase producing enterobacteria in a French hospital. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1997, 7, 523.
3. Boye C.S., Diop A., Kaire O., Ndoye I., Moreau J.C., Niang N.S., Diadhion F., Mboup S.: Phenotypic differences of nosocomial bacterial strains isolated in the obstetric-gynecology service of the University Hospital Centre of Dakar. Bull. Soc. Pathol. Exot. 1996, 4, 245.
4. Branger C., Bruneau B., Lesimple A.L., Bouvet P.J.M., Berry P., Sevali-Garcia J., Lambert-Zechovsky N.: Epidemiological typing of extended – spectrum  $\beta$ -lactamase – producing *Klebsiella pneumoniae* isolates responsible for five outbreaks in a university hospital. J. Hosp. Infect. 1997, 36, 23.
5. Chandrashekar M.R., Rathish K.C., Nagesha C.N.: Reservoirs of noscomial pathogens in neonatal intensive care unit. J. Indian Med. Assoc. 1997, 3, 72.

6. Cordero L., Ayers W., Davis K.: Neonatal airway colonization with gram-negative bacilli: association with severity of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1997, 1, 18.
7. Darouiche R.O., Safar H., Raod I.I.: *In vitro* efficacy of antimicrobial-coated bladder catheters in inhibiting bacterial migration along catheter surface. *J. Infect. Dis.* 1997, 4, 1109.
8. Fryklund B., Haggman S., Burman L.G.: Transmission of urinary bacterial strains between patients with indwelling catheters – nursing in the same room and in separate rooms compared. *J. Hosp. Infect.* 1997, 36, 147.
9. Gorman L.J., Sanai L., Notman A.W., Grant I.S., Masterton R.G.: Cross infection in an intensive care unit by *Klebsiella pneumoniae* from ventilator condensate. *J. Hosp. Infect.* 1993, 23, 27.
10. Johnson A.P., Weinbren M.J., Ayling-Smith B., Du Bois S.K., Amyes S.G.B., George R.C.: Outbreak of infection in two UK hospitals caused by a strain of *Klebsiella pneumoniae* resistant to cefotaxime and ceftazidime. *J. Hosp. Infect.* 1992, 20, 97.
11. Jumaa P., Chattopadhyay B.: Pseudobacteraemia with multiply – resistant *Klebsiella pneumoniae* resulting from contamination from the blood gas machine on a neonatal unit. *J. Hosp. Infect.* 1992, 22, 251.
12. Kil K.S., Darouiche R.O., Hull R.A., Mansouri M.R., Musher D.M.: Identification of a *Klebsiella pneumoniae* strain associated with nosocomial urinary tract infection. *J. Clin. Microbiol.* 1997, 35, 2370.
13. Krzywicka H., Bielicka A., Janowska J., Jaszczuk E., Tadeusiak B.: Metody badania aktywności bakteriobójczej preparatów dezynfekcyjnych. *Wyd. Met. PZH.* 1981.
14. Lhopital S., Bonacorsi S., Meis D., Brahimi N., Mathy S., Navarro J., Aigrain Y., Bingen E.: Molecular markers for differentiation of multiresistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in a pediatric hospital. *Infect. Control Hosp. Epidemiol* 1997, 11, 743.
15. Di Martino P., Sirot D., Joly B., Rich C., Darfeuille-Michaud A.: Relationship between adhesion to intestinal Caco-2 cells and multidrug resistance in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. *J. Clin. Microbiol.* 1997, 35, 1499.
16. Peña C., Pujol M., Ricart A., Ardanuy C., Ayats J., Liñares J., Garrigosa F., Ariza J., Gudiol F.: Risk factors for faecal carriage of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL-KP) in the intensive care unit. *J. Hosp. Infect.* 1997, 35, 9.
17. Polh C.L., Yap S.C., Yeo M.: Pulsed-field gel electrophoresis for differentiation of hospital isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *J. Hosp. Infect.* 1993, 24, 123.
18. Rudnick J.R., Beck-Sague C.M., Anderson R.L., Schable B., Miller J.M., Jarovis W.S.: Gram-negative bacteremia in open-heart-surgery patients traced to probable tap-water contamination of pressure monitoring equipment. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 1996, 5, 281.
19. Rutala W.A., Stiegel M.M., Sarubbi F.A., Weber D.J.: Susceptibility of antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant hospital bacteria to disinfectants. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 1997, 6, 417.
20. Soulier A., Barbut F., Ollivier J.M., Petit J.C., Lienhart A.: Decreased transmission of Enterobacteriaceae with extended-spectrum beta-lactamases in an intensive care unit by nursing reorganization. *J. Hosp. Infect.* 1995, 2, 89.
21. Vercauteren E., Descheemaeker P., Ieven M., Sanders C.C., Goossens H.: Comparison of screening methods for detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and their prevalence among blood isolates of *E. coli* and *Klebsiella* spp. in Belgian Teaching Hospital. *J. Clin. Microbiol.* 1997, 35, 2119.
22. Zaleśka H., Teisseyre T., Janczura E.: *Pożywki bakteriologiczne.* *Wyd. Met. PZH.* 1973. 44.