

STUDIUM ÚČINKU AEROSOLU A VÝPARŮ KYSELINY PEROCTOVÉ V UZAVŘENÉM STATICKÉM SYSTÉMU

Podplukovník MUDr. Bohumil TICHÁČEK, CSc.

Po vyhodnocení dosavadních pokusů, jež prokázaly vysoký sterilizační účinek aerosolu kyseliny peroctové při dynamické aplikaci na vzduch i povrch předmětů (Ticháček 1965), přistoupili jsme k prověření možností praktického využití aerosolu a výparů kyseliny peroctové v uzavřeném statickém systému.

Materiál, metodika a výsledky

Jako modelu uzavřeného statického systému jsme použili běžných komerčních PVC sáčků větších rozměrů, které jsme plnili aerosolem

kyseliny peroctové. K ověřování baktericidní účinnosti jsme použili již popsaných proužků PVC se zaschlými kapkami mikrobiální suspenze. Proužky jsme přilepovali na vnitřní stěny sáčků a po expozici jsme je zpracovávali buď kvalitativně či kvantitativně. Před vháněním aerosolu byly sáčky stlačením prakticky zbaveny vzduchu, takže bylo možno snadno a jednoduše určovat dávky aerosolu (přepočtem z výchozí koncentrace a kalibračních křivek použitého nebulizéru). Po naplnění byl sáček uzavřen tak, aby nedošlo ke ztrátám a po uplynutí zkoušené expozice byly jednotlivé čtvereč-

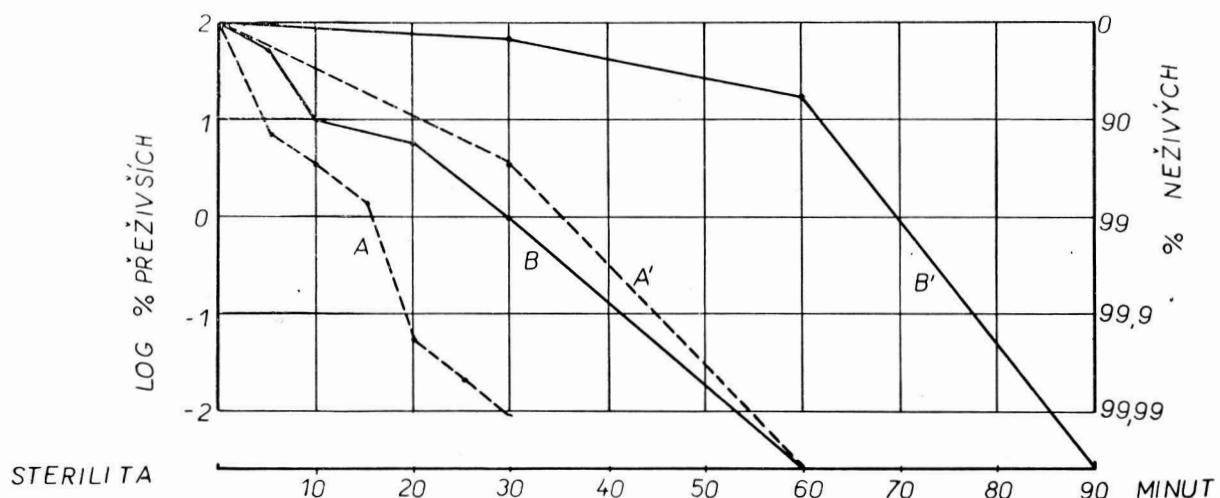
KONCENTRACE: 12 mg / 100 l

A - SERRATIA M.

A' - SERRATIA M., CHRÁNĚNÁ 2% ŽELATINOU S 10% LAKTOZY

B - SPORY B. MEGATHERIUM

B' - SPORY B. MEGATHERIUM, CHRÁNĚNÉ 2% ŽELATINOU S 10% LAKTOZY



Graf 1. Dynamika povrchového účinku aerosolu kyseliny peroctové (12 mg/100 l) na chráněné mikroorganismy ve statických podmínkách

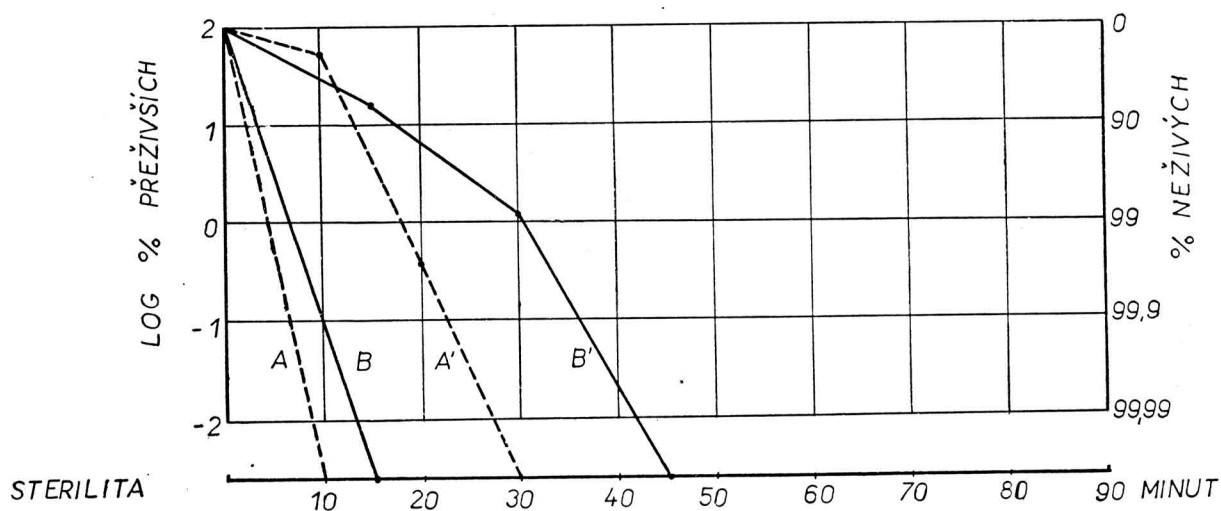
KONCENTRACE: 24 mg / 100 l

A - SERRATIA M.

A' - SERRATIA M., CHRÁNĚNÁ 2% ŽELATINOU S 10% LAKTOZY

B - SPORY B. MEGATHERIUM

B' - SPORY B. MEGATHERIUM, CHRÁNĚNÉ 2% ŽELATINOU S 10% LAKTOZY



Graf 2. Dynamika povrchového účinku aerosolu kyseliny peroctové (24 mg/100 l) na chráněné mikroorganismy ve statických podmínkách

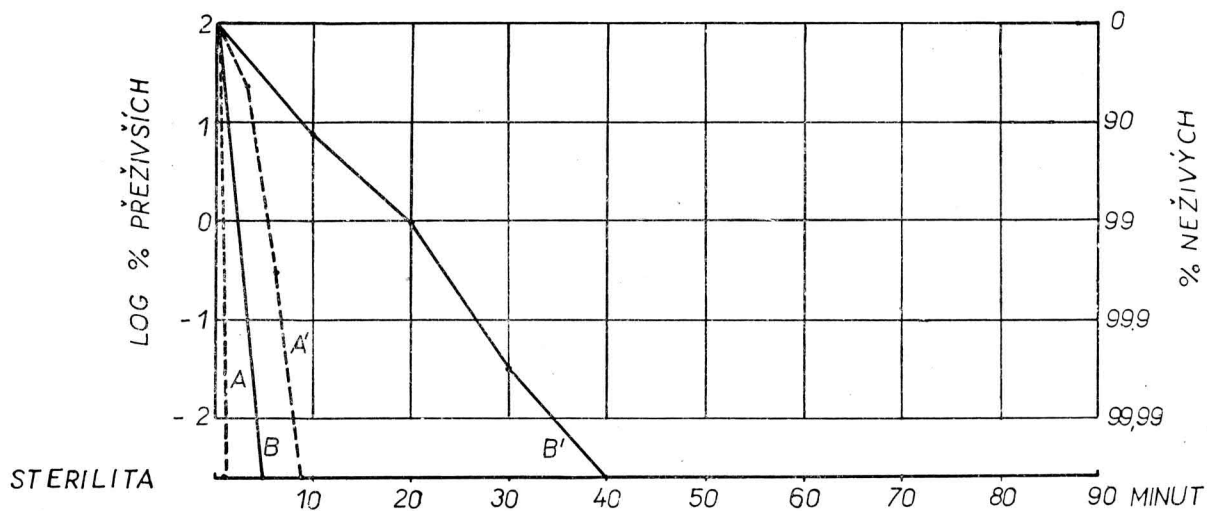
KONCENTRACE: 36 mg / 100 l

A - SERRATIA M.

A' - SERRATIA M., CHRÁNĚNÁ 2% ŽELATINOU S 10% LAKTOZY

B - SPORY B. MEGATHERIUM

B' - SPORY B. MEGATHERIUM, CHRÁNĚNÉ 2% ŽELATINOU S 10% LAKTOZY



Graf 3. Dynamika povrchového účinku aerosolu kyseliny peroctové (36 mg/100 l) na chráněné mikroorganismy ve statických podmínkách

ky, odstríhané z proužků, obvyklým způsobem zpracovány. Tak bylo dosaženo toho, že rozprašená kyselina přešla v uzavřeném prostoru do své rovněž účinné plynné fáze. Uzavřený prostor takto nasycený umožnil pak vysoce účinnou dezinfekci v poměrně krátkých časových intervalech.

První část pokusů srovnávala účinek na naše modelové testovací kmeny, chráněné i nechráněné, při stoupající koncentraci. Z grafů 1, 2, 3 a tab. 1 vyplývá dynamika dezinfekčního účinku a je možno odečíst hodnoty koncentrací a expozičních pro dosažení dezinfekčního či sterilizačního účinku.

Tabulka 1. Účinek výparů získaných jednorázovým nasycením uzavřeného prostoru aerosolem kyseliny peroctové

Kmen	Nechráněné mikroby, zaschlé na povrchu PVC folie		Mikroby chráněné 2% želatinou s 10% laktózy, zaschlé na povrchu PVC folie	
	$\frac{K}{t}$	k	$\frac{K}{t}$	k
99% redukce živých mikroorganismů				
Serratia marcescens	$\frac{24}{4}$	0,754	$\frac{36}{3}$	0,666
spory B. megatherium	$\frac{36}{4}$	0,500	$\frac{36}{20}$	0,108

sterilizační účinek				
Serratia marcescens	$\frac{24}{5}$	0,603	$\frac{36}{9}$	0,380
spory B. megatherium	$\frac{36}{5}$	0,657	$\frac{36}{50}$	0,094

Legenda: $\frac{K}{t}$ – účinná koncentrace v mg/100 l
 – čas v minutách
 k – $\frac{\log n_0 - \log n_t}{t}$ (konstanta hynutí)
 n_0 – počet živých mikrobů v kontrole
 n_t – počet živých mikrobů po dezinfekci

Koncentrace 36 mg/100 l, odpovídající rozprašování 3% roztoku kyseliny peroctové okalibrováním dezinfekčním nebulizérem popsaným v prvních pokusech (při rychlosti průtoku 25 l/min.), účinkovala sterilizačně na nechráněnou Serratia marcescens do 1 min., na chrá-

něnou do 9 min., na nechráněné spory B. megatherium do 5 min., na chráněné do 50 min.

Při nižších koncentracích aerosolu jsou pak příslušné hodnoty expozičních delší, jak vyplývá z tabulek.

Po ověření dynamiky velmi příznivého účinku na naše modelové kmeny provedli jsme stejným způsobem kvalitativní ověření účinku na některých z dalších běžných kmenů (tab. 2).

KONCENTRACE KYSELINY PEROCTOVÉ 12 mg / 100 l

KMEN	EXPOZICE V MIN			KONTROLA
	5	10	15	
ESCHERICHIA COLI	■	▨		■
PROTEUS VULGARIS				
SALMONELLA ENTERITIDIS				
PSEUDOMONAS AERUGINOSA	▨			
AEROBACTER AEROGENES	■			
KLEBSIELLA PNEUMONIAE				
STAPHYLOCOCCUS PYOGENES	▨			
STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS	▨	▨		
SARCINA LUTEA				
TRICHOPHYTON SCHÖNLEINI				
CANDIDA ALBICANS				

□ VŠECHNY VZORKY STERILNÍ
 ■ VŠECHNY VZORKY POZITIVNÍ
 ▨ ČÁSTEČNÝ ÚČINEK

Tabulka 2. Kvalitativní účinek aerosolu kyseliny peroctové na různé mikroorganismy ve statických podmínkách

Šlo o kmeny: E. coli, č. prot. B 12, Proteus vulgaris, č. prot. 4732, Salmonella enteritidis, č. prot. 4423, Pseudomonas aeruginosa č. prot. 4675, Aerobacter aerogenes, č. prot. 5844, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus pyogenes č. prot. 5458, Staphylococcus epidermidis, č. prot. 5885, Sarcina lutea, sb. kmen č. 24, Trichophyton Schönleini, sb. kmen č. 4, Candida albicans, č. prot. 4732. Všechny kmeny známých a typických vlastností. Většina těchto kmenů byla zabita do 10 min., všechny pak, včetně zástupce plísní a kvasinek, do 15 min. při použití koncentrace 12 mg/100 l.

Abychom získali představu o účinnosti aerosolu a výparů peroctové kyseliny na materiálu s extrémně ztíženými podmínkami pro dezinfekci, zvolili jsme jako model umělou polyesterovou tkaninu, prosycenou spory B. me-

gatherium, chráněnými 2% želatinou s 10 % laktózy. Výsledky jsou uvedeny v tab. 3 a je z nich zřejmé, že i v těchto neobvyklých podmínkách došlo ke spolehlivé sterilizaci umělé tkaniny do 5 min. při koncentraci 60 mg/100 l.

EXPOZICE V MIN	KONCENTRACE V mg /100 l			KONTROLA
	36	48	60	
5	■	■	■	□
10	■	■	■	□
15	■	■	■	□
20	■	■	■	□
30	■	▨	■	□
45	■	▨	■	□
60	■	▨	■	□

- VŠECHNY VZORKY STERILNÍ
- VŠECHNY VZORKY POZITIVNÍ
- ▨ ČÁSTEČNÝ ÚČINEK

Tabulka 3. Účinek aerosolu kyseliny peroctové na polyesterovou tkaninu, masivně kontaminovanou chráněnými spory B. megatherium

Při aerosolové dezinfekci tkanin záleží mnoho na druhu a vlastnostech tkaniny samotné. Tuto skutečnost ilustruje tab. 4.

Vyplývá z ní rozdíl v koncentracích kyseliny peroctové a expozičních při účinku na stejno-krojovou přízi a košilovinu za jinak stejných podmínek. V žádném případě nebylo zjištěno zjevné poškození tkaniny po dezinfekci.

V dalším jsme se pokusili přenést do našeho praktického pokusu model obuvi zasažené plísní. Vycházeli jsme jednak z mnohokrát ověřeného mykocidního účinku roztoků (Kruse a spol. 1963, 1964, Ticháček 1964) a postupovali jsme takto:

Testovací suspenzi spor plísně o denzitě 202 400 spór v 1 mm³ jsme vtírali tampónem

EXPOZICE V MIN	SERRATIA MARCESCENS CHRÁNĚNÁ 2% ŽELATINOU S 10% LAKTOZY							
	KOŠILOVINA				STEJNOKROJ. PŘÍZE			
	KONCENTRACE KYSELINY PEROCTOVÉ V mg /100 l							
	12	24	36	K	12	24	36	K
5	■	■	■	■	■	■	■	■
10	■	■	■	■	■	■	■	■
15	■	■	■	■	■	■	■	■
20	■	■	■	■	■	■	■	■
30	■	■	■	■	■	■	■	□

- VŠECHNY VZORKY STERILNÍ
- VŠECHNY VZORKY POZITIVNÍ
- K - KONTROLA

Tabulka 4. Účinek aerosolu kyseliny peroctové na Serratia marcescens v ochranném prostředí na tkaninách různého druhu

na čtverečky kůže, které jsme pak po zasušení volně vkládali do pokusných sáčků. Kůži jsme používali jednak nesterilní, jednak sterilizovanou ponořením do 5% roztoku kyseliny peroctové na 2 hod., s následným 5násobným opakovaným důkladným oplachováním sterilní destilovanou vodou a 24hod. vysoušením ve sterilní Petri misce. Tímto způsobem byly získány vhodné sterilní vzorky, zbavené všech stop peroctové kyseliny. Přesto, že jde o pouhou metodickou součást pokusu, jsou výsledky tak překvapující a významné, neboť dosud žádný sterilizační zásah nedokázal sterilizovat kůži bez většího poškození. Zejména snaha o účinnou sterilizaci kůže varem vedla k jejímu vysokému poškození.

V průběhu zkoušení expoziční jsme sáčky několikrát pohybovali, aby došlo k lepšímu styku celého povrchu kůže s účinnými složkami v uzavřeném prostředí. Po expoziční a 10minutovém odvětrání vzorků jsme vsazovali jednotlivé čtverečky (sazenicovým způsobem, asi z 1/2 objemu) do agarů, obsahujícího 4 % maltózy a 1 % peptonu. Výsledky, včetně kontrol jsme odečetali za 6, 12 a 21 dnů. Tento jednoduchý způsob se nám velmi osvědčil a potvrdil, že je

TEST-MATERIÁL: KŮŽE, KONTAMINOVANÁ
TRICHOPHYTON SCHÖNLEINI / MODEL OBUVI /

KONCENTRA- CE K.P. V mg / 100 l	EXPOZICE V MIN						KONTR- OLA
	5	10	15	30	60	90	
12	■	■	■	■	■	■	■
24	■	■	■	■	■	■	■
36	□	□	□	□	□	□	■

□ VŠECHNY VZORKY STERILNÍ

■ VŠECHNY VZORKY POZITIVNÍ

▨ ČÁSTEČNÝ ÚČINEK

Tabulka 5. Účinek aerosolu kyseliny peroctové na kůži kontaminovanou *Trichophyton Schönleini* (model obuvi)

možno sterilizovat kůži bez zjevného poškození při koncentraci 24 mg/100 l do 60 min. a při koncentraci 36 mg/100 l již po 5minutovém působení (tab. 5).

Diskuse

Z prací zabývajících se studiem mechanismu účinku dezinfekčních aerosolů vyplývá, že k vlastnímu působení dochází při kondenzaci částic páry dezinfekční látky na povrchu mikrobiální buňky (Nash 1951, Puck a spol. 1943), nebo rozpuštěním částice páry uvnitř buňky, je-li látka rozpustná ve vodě či v buněčných lípoidech. V tomto směru se tedy uplatňuje příznivě enormní zvětšení povrchu rozptýlením do pokud možno nejmenšího systému. Některé experimenty dokonce dokazují, že tam, kde nebyl možný vznik par dezinfekčního prostředku, neprojevil se ani dezinfekční účinek (Puck 1947). Z řečeného vyplývá, že se na dezinfekční aerosol nemůžeme dívat jako na statický systém. Procesy kondenzace a evaporizace jsou v takovém vzájemném vztahu, že vlivem základních fyzikálních podmínek prostředí (rozdíly v tenzi par) přechází neustále jedna forma v druhou. Pro baktericidní látky určené k dezinfekci vzduchu je výhodné nízké napětí par.

Z uvedených důvodů není tedy správné odělovat kategoricky aplikaci aerosolovou od aplikace ve formě výparů. To platí v různém stupni o mechanismu účinku všech dezinfekčních aerosolů, avšak u kyseliny peroctové je přechod v plynnou fázi v důsledku jejího napětí par tak rychlý a významný, že Greenspan a spol. (1955) uvádějí v zásadě jen dvě aplikační formy: liquid phase a vapor (gas) phase. Plynné fáze může pak být dosaženo buď odpařováním tekutiny nebo jemnou nebulizací, což je z různých hledisek a v soulase s našimi vlast-

ními zkušenostmi výhodnější a hlavně účinnější.

Jednorázová aplikace aerosolu kyseliny peroctové do uzavřeného systému vytváří pro uplatnění se těchto mechanismů optimální podmínky.

Závěry

1. Využití baktericidního účinku aerosolu a výparů kyseliny peroctové ve statických podmínkách se ukázalo velmi výhodným. Koncentrace 36 mg/100 l, jednorázově aplikovaná do uzavřeného prostoru, účinkovala sterilizačně na zaschlou a jinak nechráněnou *Serratia marcescens* do 1 minuty, v ochranném prostředí bylo nutno prodloužit expozici do 9 minut. Nechráněné spory hynuly ve stejných podmínkách za 5 min., zabití chráněných spor si vyžádalo prodloužení expozice na 50 minut.

2. V podmínkách statického účinku výparů, získaných rozprášením kyseliny peroctové do uzavřeného prostoru, bylo možno bezpečně prokázat sterilizační účinek i tam, kde bylo užito modelu běžnými způsoby dosud nesterilizovaného. Takovým modelem byla polyesterová tkanina, prosycená suspenzí spor, chráněných želatinou a laktózou. Bylo ovšem třeba použít koncentrace dosti vysoké — 60 mg/100 l při expozici 5 min. Druh tkaniny, použité jako nosič testované suspenze, podstatně ovlivňoval rychlost účinku.

3. Stejným způsobem bylo možno sterilizovat kůži, kontaminovanou masívně sporama plísňe *Trichophyton Schönleini* při koncentraci 24 mg/100 l za 60 min. a při koncentraci 36 mg/100 l již od 5 min.

Za technickou spolupráci děkuji Libuši Klouzalové a Vladimíru Bubínkovi.

Souhrn

Autor předkládá výsledky studia účinku aerosolu a výparů kyseliny peroctové v uzavřeném statickém systému.

V kvalitativních i kvantitativních modelových pokusech stanovil autor účinné koncentrace a expozice pro nejtypičtější situace. Použitá metodika — jednorázové naplnění uzavíratelného vaku aerosolem — představuje současně nejjednodušší způsob praktického využití sterilizačního účinku výparů kyseliny peroctové.

Literatura

Greenspan F. a spol.: Proc. the 42. ann. meet. of the Chem. Spec. Manuf. Ass., Dec., 5, 6, 7, 1955.

Kruse R. H. a spol.: Appl. Microbiol. I. 11, 436-445, 1963, II. 12, 155-160, 1964.

Nash T.: The J. of Hyg., 49, 389-399, 1961.

Puck T. T.: J. Exptl. Med., 85, 6, 729, 1947.

Puck T. T. a spol.: J. Exptl. Med., 78, 387-406, 1943.

Ticháček B.: Voj. zdrav. 1., 1, 2, 46-51, 1964.

Ticháček B.: Voj. zdrav. 1., 1965, v tisku.