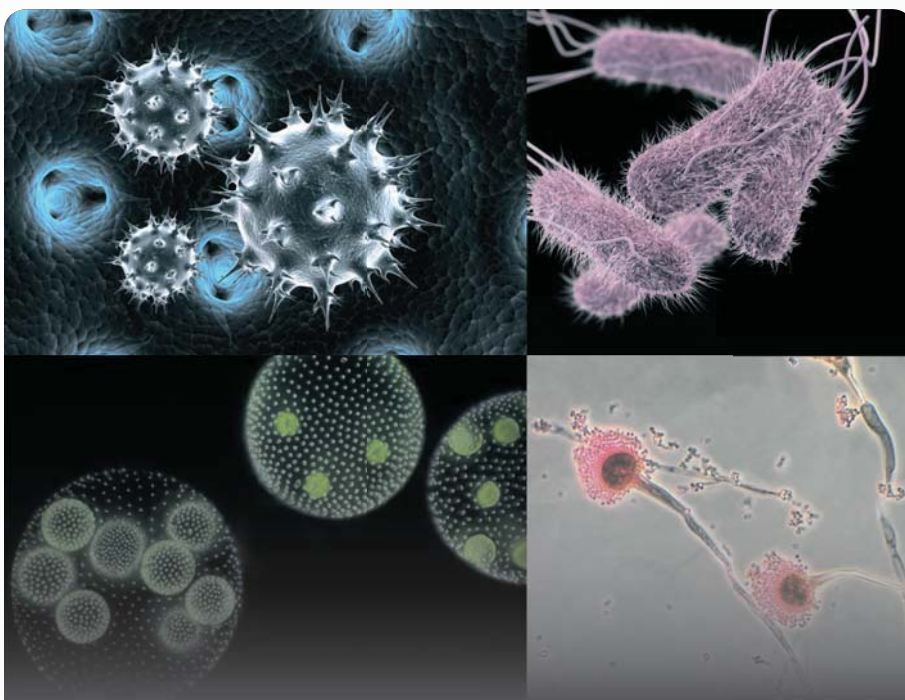


prof. dr hab. BOGUMIŁ BRYCKI
 Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Chemii,
 Pracownia Chemii Mikrobiocydów
 Kontakt: brycki@amu.edu.pl

Makroproblem z mikroświatem – dezynfekcja w środowisku pracy

Mikroświat. Fot. Bigstockphoto, Wikimedia Commons, Centers for Disease Control and Prevention



Bezpieczeństwo mikrobiologiczne środowiska pracy wymaga obniżenia populacji drobnoustrojów do poziomu niestwarzającego zagrożenia. Skuteczna dezynfekcja powietrza i powierzchni, jak również zabezpieczenie środków ochrony indywidualnej przed kolonizacją drobnoustrojami, wymaga zastosowania prawnie dozwolonych środków biobójczych. Aktywność biobójcza zróżnicowanych strukturalnie i chemicznie substancji czynnych w istotny sposób zależy od wielu czynników fizykochemicznych, w szczególności od czasu działania i stężenia. Właściwy dobór mikrobiocydów w stosunku do zidentyfikowanych zanieczyszczeń mikrobiologicznych, w połączeniu z odpowiednią techniką aplikacji, decyduje o skuteczności procesów dekontaminacyjnych.

Słowa kluczowe: dezynfekcja, substancje czynne, preparaty biobójcze, mechanizm działania, toksyczność

Macroproblem with microworld – disinfection in the work environment

The microbial safety of the work environment requires the reduction of microorganism population to the level with no risk. An effective disinfection of an air, surfaces and the personal protective equipments can be done with legal microbiocides. The antimicrobial activity of chemicals depends on many factors; the most important are concentrations and time of interaction. To get the best results of the decontamination processes, the proper choice of microbiocides and application methods must be done.

Keywords: disinfection, active substances, biocides, mechanism of action, toxicity

Wstęp

Drobnoustroje są najstarszymi i najbardziej rozpowszechnionymi formami życia na Ziemi. Niewielkie rozmiary oraz doskonałe zdolności przystosowawcze są podstawą ich obecności we wszystkich środowiskach, nie wyłączając ekstremalnych, takich jak kratery wulkanów czy lody Antarktydy. Drobnoustroje odgrywają fundamentalną rolę w obiegu pierwiastków, żyzności gleby, procesach trawiennych, produkcji żywności i farmaceutyków oraz biodegradacji odpadów. Mikroorganizmy są również przyczyną wielu ciężkich schorzeń i zejść śmiertelnych, zarówno wśród ludzi, jak i zwierząt. Aktywność mikroorganizmów jest ponadto przyczyną degradacji surowców i produktów żywnościowych oraz biodeterioracji materiałów technicznych.

Z tego względu, w określonych środowiskach niezmiernie ważne jest ograniczenie populacji drobnoustrojów do poziomu niestwarzającego zagrożenia. Zmniejszenie ilości drobnoustrojów do bezpiecznego poziomu na powierzchniach nieożywionych, definiowane jako dezynfekcja oraz ograniczenie populacji drobnoustrojów do poziomu niestwarzającego zagrożenia na powierzchniach ożywionych, definiowane jako antyseptyka, prowadzi się za pomocą metod fizycznych, biologicznych oraz chemicznych [1-3]. W metodach fizycznych wykorzystuje się przede wszystkim promieniowanie nadfioletowe, gazową plazmę, temperaturę – zarówno bardzo wysoką, jak i bardzo niską – oraz procesy fotokatalityczne.

W metodach biologicznych służących do ograniczenia ilości organizmów szkodliwych stosuje się niektóre bezpieczne gatunki bakterii, np. *Bacillus thuringiensis*, jak również ich metabolity, np. bakteriocyny. Z uwagi na skuteczność biobójczego działania oraz bezpieczeństwo stosowania, największe znaczenie mają metody chemiczne, w których wykorzystuje się mikrobiocydy, tj. związki chemiczne o działaniu przeciwdrobnoustrojowym.

Szkodliwe czynniki biologiczne w środowisku pracy mogą być przyczyną chorób pracowników. W zależności od zdolności wywoływania zakażenia, dzielą się na cztery grupy ryzyka, o wzrastającym zagrożeniu, przy czym „obecność w powietrzu w środowisku pracy drobnoustrojów wysoce zakaźnych z najwyższych grup ryzyka, 3. i 4., niezależnie od wielkości stwierdzonego stężenia, należy zawsze uznać za sytuację niedopuszczalną” [4].

Zapewnienie bezpieczeństwa mikrobiologicznego w środowisku pracy, czyli ograniczenie populacji drobnoustrojów do poziomu niestwarzającego zagrożenia, związane jest przede wszystkim z zapewnieniem: czystości mikrobiologicznej powietrza, czystości mikrobiologicznej powierzchni oraz czystości mikrobiologicznej środków ochrony osobistej.

Najwyższą skuteczność w ograniczeniu populacji drobnoustrojów w wymienionych obszarach uzyskuje się przy użyciu chemicznych preparatów biobójczych oraz właściwych sposobach ich aplikacji.

Preparaty biobójcze

Zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 528/2012 z 22 maja 2012 r. w sprawie udostępniania na rynku i stosowania produktów biobójczych, jak również obowiązującą w Polsce ustawą o produktach biobójczych (DzU 2002 nr 175, poz. 1433 ze zm.) i rozporządzeniem Ministra Zdrowia z 17 stycznia 2003 r. (DzU 03.16.150) w sprawie kategorii i grup produktów biobójczych wg ich przeznaczenia, „produktem biobójczym jest substancja czynna lub preparat zawierający co najmniej jedną substancję czynną, w postaciach, w jakich są dostarczane użytkownikowi, przeznaczony do niszczenia, odstraszenia, unieszkodliwiania, zapobiegania działaniu lub kontrolowania w jakikolwiek inny sposób organizmów szkodliwych przez działanie chemiczne lub biologiczne”.

Substancją czynną w preparacie biobójczym może być natomiast związek chemiczny o dobrze zdefiniowanej strukturze, mieszanina dwóch lub większej liczby związków chemicznych, substancja o nieznanym albo zmiennym składzie, złożony produkt reakcji albo materiał biologiczny, który nie może być opisany poprzez wzór chemiczny sumaryczny lub strukturalny, mikroorganizmy, m.in. bakterie, wirusy, grzyby, wyciągi oraz oleje z roślin i mikroorganizmów oraz produkty fermentacji mikroorganizmów. Chemiczne substancje czynne o działaniu przeciwdrobnoustrojowym są bardzo różnicowane, zarówno pod względem struktury, jak i właściwości [5-7]. Związki te należą do ośmiu następujących grup: 1) związki fenolowe, 2) chlorowce, 3) związki utleniające, 4) alkohole, 5) aldehydy, 6) kwasy organiczne i nieorganiczne oraz ich pochodne, 7) związki azotu, 8) związki nieorganiczne i kompleksy metaloorganiczne.

Związki fenolowe, m.in. *m*-krezol, chloroksylonol, triclosan i dichlorofen, charakteryzują się dobrą aktywnością przeciwdrobnoustrojową, jakkolwiek z ograniczoną skutecznością w stosunku do przetrwalników i wirusów hydrofilnych. Chlorowce obejmują związki nieorganiczne – chlor, podchloryn metali alkalicznych, ditlenek chloru – oraz związki organiczne – chloraminy, kwas trichloroizocyanurowy, halogenohydantoiny, jodofory, które wykazują bardzo dobrą skuteczność przeciwdrobnoustrojową. Niemniej, z uwagi na ich działanie korozyjne oraz szybką dezaktywację w obecności substancji organicznych, preparaty chlorowe nie mogą być stosowane we wszystkich środowiskach.

Związki utleniające to przede wszystkim nadtlenek wodoru, kwas nadoctowy, nadsiarczan potasu, kwas peroksyoktanowy i kwas monoperoksyftalowy, charakteryzujące się bardzo szerokim spektrum

aktywności biobójczej. Mikrobiocydy utleniające nie powodują narastania oporności drobnoustrojów.

Alkohole są powszechnie wykorzystywane w dezynfekcji i antyseptyce z uwagi na szybkość działania oraz brak pozostałości preparatu na dezynfekowanych powierzchniach. Do najczęściej stosowanych należy alkohol etylowy, izopropylowy oraz *n*-propylowy. Alkohole wykazują szybkie działanie biobójcze w stosunku do bakterii, są jednak znacznie mniej skuteczne w stosunku do wirusów i grzybów.

Aldehydy, zarówno formaldehyd, glioksal jak i aldehyd glutarowy, wykazują bardzo dobrą aktywność przeciwdrobnoustrojową w stosunku do bakterii, grzybów, wirusów, prątków oraz przetrwalników. Aldehyd glutarowy jest szczególnie skuteczny w niszczeniu przetrwalników bakteryjnych.

Kwasy organiczne, nieorganiczne oraz ich pochodne obejmują zarówno alifatyczne kwasy karboksylowe, m.in. kwas mrówkowy, glikolowy, mlekowy, nonanowy, jak również kwasy aromatyczne, takie jak kwas benzoowy i salicylowy. Związki te wykazują umiarkowane działanie biostatyczne i biobójcze.

Związki azotu stanowią najliczniejszą grupę substancji czynnych stosowanych w preparatach biobójczych. Należą do nich poliaminy alifatyczne, sole tetraalkiloamonioowe oraz pochodne guanidyny – te grupy związków azotowych skutecznie niszczą bakterie, grzyby oraz wirusy lipofilne. Wymienione substancje czynne nie wywołują zmian mutagennych, kancerogennych, teratogennych ani nie wykazują działania biokumulacyjnego. Skuteczność działania tej grupy związków, jak również bezpieczeństwo ich stosowania jest podstawą ich szerokiego, praktycznego wykorzystania.

Związki nieorganiczne i kompleksy metaloorganiczne oprócz metali, takich jak srebro i miedź, ich tlenków i wodorotlenków oraz adduktów z zeolitami, obejmują szereg soli cynku oraz kompleksów związków organicznych z miedzią. Związki te wykazują przede wszystkim działanie biostatyczne.

Mechanizm działania przeciwdrobnoustrojowego

Budowa chemiczna i reaktywność związków przeciwdrobnoustrojowych jest niezwykle różnicowana, dlatego też sposób ich działania na drobnoustroje jest różny. Mogą powodować uszkodzenia ściany komórkowej, denaturację białek i rozrywanie kompleksów nukleoproteinowych, zahamowanie procesów enzymatycznych, utlenianie grup sulfhydrylowych w białkach, zakłócenie transportu protonów i elektronów. Substancje czynne mogą również reagować z grupami aminowymi i karboksylowymi. Za uszkodzenie ściany komórkowej i związany z tym wpływ niskocząsteczkowych składników wewnątrzkomórkowych odpowiedzialne są przede wszystkim związki powierzchniowo czynne, szczególnie czwartorzędowe sole amoniowe.

Denaturację białek, rozrywanie kompleksów nukleoproteidowych oraz hamowanie aktywności enzymatycznej powodują przede wszystkim fenole, alkohole, aldehydy oraz pochodne guanidyny. Za przekształcenie grup sulfhydrylowych do mostków disiarczkowych, zakłócających przebieg procesów metabolicznych i prowadzących do śmierci komórki drobnoustrojowej, odpowiadają

głównie związki utleniające. Powinowactwo do grup aminowych wykazują głównie aldehydy, tworząc mostki metylenowe między nimi, co prowadzi do uszkodzenia struktury białka i śmierci komórki drobnoustrojowej. Zakłócenie transportu elektronów i protonów w ścianie komórkowej i błonie cytoplazmatycznej, którego efektem jest zmiana potencjału elektrycznego komórki, powodowane jest przez sole nieorganiczne i związki metaloorganiczne.

Sposoby określania skuteczności biobójczej

Skuteczność działania określonego preparatu charakteryzuje się najczęściej za pomocą wartości MIC oraz MBC. Na potrzebę badań wstępnie oceniających preparat wyznacza się przede wszystkim skuteczność działania biostatycznego, tj. najmniejsze stężenie preparatu hamujące wzrost drobnoustrojów (MIC – *Minimal Inhibitory Concentration*). Działanie biostatyczne powoduje zahamowanie podziałów komórek. Ponowny wzrost i rozwój mikroorganizmu jest możliwy po usunięciu kontaktu komórki z preparatem, co może być efektem rozcieńczenia lub neutralizacji odpowiednim środkiem chemicznym.

Do celów praktycznych stosuje się inne kryteria. Należy określić najmniejsze stężenie preparatu powodujące w czasie „t” nieodwracalne zmiany w strukturze komórki i jej metabolizmie, skutkiem czego jest śmierć komórki drobnoustrojowej. Wyznaczona wartość MBC (*MBC* – *Minimal Biocidal Concentration*) określa trwałe zmniejszenie populacji drobnoustrojów o 99,999%.

Czynniki wpływające na skuteczność działania środków biobójczych

Na skuteczność działania przeciwdrobnoustrojowego określonego preparatu, oprócz natury substancji czynnej, wpływa szereg czynników, spośród których do najistotniejszych należą: 1) czas działania, 2) stężenie preparatu, 3) temperatura, 4) pH, 5) twardość wody, 6) ilość drobnoustrojów, 7) obciążenie białkowe oraz, 8) obecność związków powierzchniowo czynnych. Zmiany w strukturze komórki i jej metabolizmie wskutek działania preparatu biobójczego są efektem procesów fizycznych oraz reakcji chemicznych z określonymi składnikami komórki drobnoustrojowej. Skuteczność tych procesów jest uwarunkowana przede wszystkim stężeniem preparatu oraz czasem jego działania. Na podstawie badań wykazano, że iloczyn stężenia preparatu i czasu działania wywołujący określony efekt biobójczy jest dla danej grupy substancji czynnych wielkością stałą. Zależność tę Watson i wsp. przedstawili za pomocą wyrażenia [5]:

$$c_1^n \cdot t_1 = c_2^n \cdot t_2$$

gdzie: *c* – stężenie, *t* – czas działania, *n* – współczynnik stężenia wyznaczony empirycznie dla danej grupy substancji czynnych.

Wynika stąd, że uzyskanie takiego samego efektu biobójczego przy zmianie jednego czynnika, wymaga proporcjonalnej zmiany również drugiego parametru.

Przykładowe zmiany czasu działania biobójczego w odniesieniu do kilku grup substancji czynnych,

Tabela. Skuteczność efektu biobójczego w zależności od czasu działania i stężenia substancji czynnej
 Table. The biocidal efficacy vs. time of action and the concentration of active substances

Substancje czynne	η	Wielokrotność czasu działania	
		dwukrotne rozcieńczenie (C/2)	trzykrotne rozcieńczenie (C/3)
Czwartorzędowe sole amoniowe	1	2	3
Aldehydy	1	2	3
Fenole	6	64	729
Alkohole	10	1024	59000

wobec których zmniejszono stężenia dwukrotnie (C/2) lub trzykrotnie (C/3) przedstawiono w tabeli.

Szczególnie duże zmiany występują w stosunku do alkoholi, które są podstawowymi składnikami preparatów antyseptycznych. Dwukrotne zmniejszenie stężenia preparatu alkoholowego, wobec którego współczynnik stężenia η wynosi 10, wymaga ponad 1000-krotnego wydłużenia czasu działania, w celu uzyskania takiego samego efektu biobójczego.

Ponieważ czas działania nierozcieńczonego preparatu antyseptycznego wynosi standardowo 30 sekund, stąd też skuteczny efekt biobójczy preparatu alkoholowego, dwukrotnie rozcieńczonego, uzyskać można dopiero po 8 godzinach. Rozcieńczenie preparatów dezynfekujących powoduje zatem drastyczne zmniejszenie ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej.

Toksyczność preparatów biobójczych

Zapewnienie bezpieczeństwa mikrobiologicznego w środowisku pracy wymaga stosowania preparatów chemicznych, które z kolei, niewłaściwie dobrane i źle stosowane, mogą stać się źródłem zagrożenia dla użytkowników. Najomocniej rodzaju zanieczyszczeń mikrobiologicznych jest kluczowa dla prawidłowego doboru typu preparatów dezynfekujących. Zamiast stosowania preparatów o szerokim spektrum aktywności biobójczej, ale w dużych stężeniach, można użyć selektywnie działających preparatów w mniejszych stężeniach. Na przykład skuteczną dekontaminację obszarów skolonizowanych grzybami przeprowadza się za pomocą związków azotu, w szczególności poliamin i czwartorzędowych soli amoniowych, a nie za pomocą związków utleniających, które mają ograniczoną zdolność bójczą w stosunku do grzybów.

Strefy zanieczyszczone wirusami najskuteczniej dekontaminuje się z kolei preparatami utleniającymi lub preparatami zawierającymi aldehyd glutarowy. Toksyczność ostra wyrażona za pomocą LD_{50} , w odniesieniu do większości substancji czynnych stosowanych w preparatach biobójczych przekracza wartość 200 mg/kg m.c., stąd też, zgodnie z Ustawą z dnia 25 lutego 2011 r. o substancjach chemicznych i ich mieszaninach (DzU 2011 nr 63, poz. 322) należą one do związków szkodliwych [8,9]. Wartość LD_{50} w odniesieniu do chlorku didecylodimetyloamonowego, powszechnie stosowanej substancji czynnej w preparatach biobójczych, wynosi 262 mg/kg m.c. [10]. Wartość LD_{50} dla aldehydu glutarowego, który jest najczęściej stosowaną substancją czynną w aldehydowych preparatach dezynfekcyjnych, wynosi 246 mg/kg m.c. [11].

Aldehyd glutarowy jest związkiem o charakterystycznym zapachu i niskiej prężności par, wynoszącej 2,03 Pa w temperaturze 20 °C [12]. Próg wyczuwalności aldehydu glutarowego wynosi

0,04 ppm [12]. Wartość ta jest niezwykle istotna, ponieważ najwyższe dopuszczalne stężenie (NDS) w odniesieniu do aldehydu glutarowego jest wielokrotnie wyższe i wynosi 0,4 mg/m³ [13]. Bardzo niski próg wyczuwalności aldehydu glutarowego jest ostrzeżeniem przed możliwością przekroczenia NDS i wynikającą stąd koniecznością stosowania preparatów aldehydowych jedynie w dobrze wentylowanych pomieszczeniach.

Techniki aplikacji produktów biobójczych

Zapewnienie bezpieczeństwa mikrobiologicznego środowiska pracy wymaga zastosowania preparatów biobójczych do: dezynfekcji powierzchni, dezynfekcji powietrza oraz utrzymania czystości mikrobiologicznej środków ochrony osobistej.

Powierzchnie poddawane dezynfekcji muszą być umyte i suche. Proces mycia powierzchni zależy od materiału, z którego jest wykonana i obejmuje mycie preparatami alkalicznymi, kwaśnymi lub neutralnymi. Dezynfekcja powierzchni zanieczyszczonych i mokrych jest nieskuteczna i może prowadzić do wytwarzania form opornych drobnoustrojów. Najczęściej dezynfekcję prowadzi się metodą oprysku niskociśnieniowego lub metodą pianową, która przedłuża czas kontaktu środka biobójczego z powierzchnią. Powierzchnie po dezynfekcji muszą być spłukane wodą o parametrach odpowiadających wodzie pitnej. Skuteczne wyeliminowanie mikroorganizmów ze środowiska pracy, po przeprowadzeniu procesu dezynfekcji powierzchni, wykonuje się metodą aerolizacji. Aerolizacja preparatu biobójczego, o wymiarach cząstek od 0,5-50 μ m wprowadza się do pomieszczenia za pomocą generatorów aerozolu i pozostawia na żądany czas (od kilkudziesięciu minut do kilkunastu godzin, w zależności od rodzaju zanieczyszczeń mikrobiologicznych i typu pomieszczenia). Aerolizacja jest niezwykle skuteczną metodą dekontaminacji powietrza i powierzchni, z uwagi na wprowadzenie drobin preparatu dezynfekującego we wszystkie zakamarki i szczeliny, które mogą być rezerwuarem drobnoustrojów i źródłem ich proliferacji.

Utrzymanie czystości mikrobiologicznej środków ochrony indywidualnej jest niezwykle ważne z punktu widzenia zapewnienia bezpieczeństwa mikrobiologicznego w środowisku pracy. Materiały włókiennicze, naturalne lub syntetyczne, z których wykonana jest duża część środków ochrony indywidualnej, są bardzo łatwo kolonizowane przez bakterie i grzyby. Zanieczyszczone mikroorganizmami materiały tekstylne mogą powodować reakcje uczuleniowe u użytkowników. Funkcjonalizowanie materiału mikrobiocydami w istotny sposób ogranicza proces kolonizacji. Mikrobiocydy wprowadza się do materiałów włókienniczych na etapie ich wytwarzania lub w procesach wykończeniowych. Wprowadzanie mikrobiocydów do materiałów w formie

mikrokapsuł polimerowych, które otwierają się pod wpływem wilgoci lub temperatury i uwalniają substancje o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, pozwala na opracowanie materiału odpowiadającego bardzo specyficznym wymaganiom.

Podsumowanie

Obniżenie populacji drobnoustrojów w środowisku pracy jest niezbędnym warunkiem zapewnienia bezpieczeństwa pracy. Najskuteczniejszy proces dezynfekcji powietrza i powierzchni, jak również profilaktyczne zabezpieczenie środków ochrony indywidualnej prowadzi się za pomocą zarejestrowanych preparatów biobójczych, co gwarantuje skuteczność działania przeciwdrobnoustrojowego oraz bezpieczeństwo stosowania.

Analiza mikrobiologiczna środowiska pracy, wskazująca na rodzaj zanieczyszczeń mikrobiologicznych, umożliwia optymalny dobór preparatów dezynfekujących. Właściwy dobór mikrobiocydów pozwala na skuteczną dekontaminację środowiska i zminimalizowanie liczby użytych środków chemicznych. Kluczowymi elementami procesu dekontaminacji, oprócz właściwego doboru preparatów biobójczych, jest również ich odpowiednie zastosowanie. Przygotowanie strefy poddawanej dezynfekcji poprzez jej uprzednie czyszczenie i mycie, jak również przestrzeganie zalecanych stężeń preparatów i czasu ich działania, jest warunkiem niezbędnym gwarantującym skuteczność dezynfekcji.

PIŚMIENICTWO

[1] Fraise A.P., Lambert P.A. and Maillard J.-Y. (eds.). *Russell, Hugo and Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization*. Blackwell Publishing, 4th edition, Malden 2004

[2] Maniannan G. (ed.) *Disinfection and Decontamination; Principles, Applications and Related Issues*. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton 2008

[3] Stanga M. *Sanitation: Cleaning and Disinfection in the Food Industry*. Wiley-VCH, Weinheim 2010

[4] Skowroń J., Górny R.L. *Szkodliwe czynniki biologiczne [w:] Augustyńska D., Pośniak M. (red.) Czynniki szkodliwe w środowisku pracy; wartości dopuszczalne*. CIOP PIB, wyd. VIII, Warszawa 2012

[5] Block S.S. (ed.) *Disinfection, Sterilization, and Preservation*. Lippincott Williams and Wilkins, 5th edition, Philadelphia 2001

[6] Paulus W. (ed.) *Directory of Microbiocides for the Protection of Materials. A Handbook*. Springer, Dordrecht 2005

[7] Wallhäußer K.H. *Praxis der Sterilisation Desinfektion-Konservierung, Keimidentifizierung-Betriebshygiene*. 5. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1995

[8] Hathaway G.J., Proctor N.H., Hughes J.P., Fischman M.L., *Proctor and Hughes' Chemical Hazards of the Workplace*. 3Ed., Van Nostrand Reinhold, New York 1991

[9] Seńczuk W. (ed.) *Toksykologia współczesna*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005

[10] Didecyl Dimethyl Ammonium Chloride (DDAC), Risk Assessment, Office of Pesticide Programs, Antimicrobials Division, U.S. Environmental Protection Agency, Arlington 2006

[11] Glutaraldehyde, OECD SIDS, UNEP Publications, 1998

[12] Glutaraldehyde, National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme, Australian Government Publishing Service, Canberra 1994

[13] Augustyńska D., Pośniak M. (red.), *Czynniki szkodliwe w środowisku pracy; wartości dopuszczalne*, Wyd. VIII, CIOP PIB, Warszawa 2012