

# ZMANJŠANA OBČUTLJIVOST BAKTERIJ PROTI RAZKUŽILOM, IZOLIRANIH IZ POVRŠIN NA ODDELKU ZA FIZIOTERAPIJO

URŠKA ROZMAN,<sup>1</sup> MOJCA CIMERMAN,<sup>2</sup> DARJA DUH,<sup>3</sup>  
SONJA ŠOSTAR TURK<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univerza v Mariboru, Fakulteta za zdravstvene vede, Maribor, Slovenija  
urska.rozman@um.si, sonja.sostar@um.si

<sup>2</sup> Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Slovenija  
mojca.cimerman@nlzoh.si

<sup>3</sup> Urad republike Slovenije za kemikalije, Slovenija  
darja.duh.ext@gov.si

**Povzetek** V zdravstvenih ustanovah intenzivno uporabljajo razkužila za nadzor in preprečevanje okužb, povezanih z zdravstvom in zdravstveno oskrbo. Pri stalni uporabi in izpostavljenosti razkužilom lahko bakterije razvijejo zmanjšano občutljivost ali celo odpornost. V raziskavi smo izolirali bakterijske seve iz pripomočkov za večkratno uporabo na oddelkih fizioterapije v štirih različnih ustanovah iz Slovenije in Avstrije. Za izolirane seve smo določili minimalno inhibitorno koncentracijo (MIC) različnih dezinfekcijskih robčkov, ki so jih uporabljali v ustanovah. Robčki so vsebovali aktivno snov alkohol ali kvarterne amonijeve spojine (QAC). Povprečne vrednosti MIC za razkužila na osnovi alkohola so bile med 66,61 in 148,82 g/l, za razkužila na osnovi QAC med 2,4 in 3,5 mg/L. Identificirali smo pet različnih sevov, pri katerih so bile vrednosti MIC štirikrat višje od povprečnih vrednosti, kar lahko nakazuje na zmanjšano občutljivost bakterij proti testiranim razkužilom. Spremljanje zmanjšanje občutljivosti in/ali odpornosti bakterij proti razkužilom je pomembno, saj lahko le-to vpliva tudi na pojav odpornosti bakterij proti antibiotikom. Pomembna je skrb za preudarno uporabo razpoložljivih in učinkovitih protimikrobnih sredstev, prav tako je nujno potrebno določiti jasne kriterije in protokole za spremljanje odpornosti mikroorganizmov proti razkužilom.

**Gljučne besede:**  
dezinfekcijska sredstva, zmanjšana občutljivost in odpornost bakterij, zdravstvene ustanove, pripomočki za fizioterapijo

# REDUCED SUSCEPTIBILITY OF BACTERIA TO DISINFECTANTS, ISOLATED FROM SURFACES IN THE PHYSIOTHERAPY DEPARTMENT

URŠKA ROZMAN,<sup>1</sup> MOJCA CIMERMAN,<sup>2</sup> DARJA DUH,<sup>3</sup>  
SONJA ŠOSTAR TURK<sup>1</sup>

<sup>1</sup> University of Mariboru, Faculty of Health Sciences, Maribor, Slovenia  
urska.rozman@um.si, sonja.sostar@um.si

<sup>2</sup> National laboratory of health, environment and food, Slovenia  
mojca.cimerman@nlzoh.si

<sup>3</sup> Chemicals Office of the Republic of Slovenia, Slovenia  
darja.duh.ext@gov.si

**Abstract** Disinfectants are intensively used in medical institutions to control and prevent health care associated infections. With constant use and exposure to disinfectants, bacteria can develop reduced sensitivity or even resistance. In our research, we isolated bacterial strains from reusable devices in physiotherapy departments in four different institutions from Slovenia and Austria. The minimum inhibitory concentration (MIC) of various disinfectant wipes used in institutions was determined for the isolated strains. The wipes contained the active substance alcohol or quaternary ammonium compounds (QAC). Average MIC values for alcohol-based disinfectants were between 66.61 and 148.82 g/l, for QAC-based disinfectants between 2.4 and 3.5 mg/L. We identified five different strains in which the MIC values were four times higher than the average values, which may indicate a reduced sensitivity of the bacteria against the tested disinfectants. Monitoring the reduction of susceptibility and/or resistance of bacteria to disinfectants is important, as this can also affect the emergence of bacterial resistance to antibiotics. It is important to take care of the prudent use of available and effective antimicrobial agents, and it is also absolutely necessary to establish clear criteria and protocols for monitoring the resistance of microorganisms to disinfectants.

**Keywords:**  
disinfectants,  
reduced  
susceptibility and  
resistance of  
bacteria,  
medical  
facilities,  
physiotherapy  
devices

## 1 Uvod

Oprema in pripomočki za fizikalno terapijo, ki pridejo v neposreden stik s pacientovo kožo lahko omogočijo posreden prenos mikroorganizmov med pacienti (Aljadi et al., 2018; Lambert et al., 2000; Koibuchi et al., 2013, Brown, 2011). Za nadzor in preprečevanje širjenja mikroorganizmov, ki lahko povzročijo okužbe, povezane z zdravstvom in zdravstveno oskrbo, bolnišnice in druge zdravstvene ustanove intenzivno uporabljajo razkužila (Russel, 2003; McDonnell and Russell, 1999). Svetovni trg biocidov in poraba razkužil naraščata. Vrednost trga biocidov je leta 2021 znašala 11,3 milijarde USD in naj bi do leta 2026 dosegla 13,6 milijarde USD. Poleg tega je svetovna pandemija COVID-19 povzročila še večje povpraševanje in porabo razkužil za gospodinjstvo in osebno nego (Markets and Markets, 2021). Z neprekinjeno uporabo in prekomerno izpostavljenostjo razkužilom se lahko poveča razvoj zmanjšane občutljivosti bakterij na razkužila (Forman et al., 2016) v kliničnih, domačih ali industrijskih okoljih (Weber and Rutala, 2006). Zaradi povečane uporabe biocidnih pripravkov po vsem svetu, zlasti tistih, ki se pogosto uporabljajo, ni presenetljivo, da se razvije odpornost. Biocidne aktivne spojine, ki se sproščajo v okolje, nenehno ustvarjajo selektivni pritisk za odporne mehanizme (Maillard et al., 2013). Zato je potrebno več pozornosti nameniti razkužilom za osebno higieno ljudi in razkužilom za površine/materiale, zlasti v zdravstvenem okolju (European Chemicals Agency, 2018).

Preživetje bakterij po izpostavljenosti biocidom je poznano že desetletja, vendar je bila ta tema deležna malo pozornosti v primerjavi z antibiotiki (Cieplik et al., 2019). Medtem ko je odpornost na antibiotike dobro poznana in raziskana tema v znanstvenih in medicinskih skupnostih (Beyth et al., 2015; Czaplewski et al., 2016; Rios et al., 2022, Sakudo et al., 2019), se manj pozornosti namenja možnim mehanizmom navzkrižne odpornosti v primeru razkužil (Russel, 2003; Forbes et al., 2015; Wieland et al., 2017; Yazdankhah et al., 2006). Čeprav je razvoj odpornosti na biocide malo verjeten (Weber and Rutala, 2006; Goudarzi and Navidinia, 2019; Romero et al., 2017), lahko različni notranji in zunanji celični mehanizmi povzročijo zmanjšano občutljivost mikroorganizmov na razkužila (Maillard, 2002).

Namen študije je bil preveriti higieno pripomočkov na fizioterapevtskem oddelku, ki so namenjeni večkratni uporabi, in pregledati mikrobno populacijo na teh površinah ob treh različnih priložnostih: pred uporabo pacienta, po uporabi pacienta

in po dezinfekciji. Za izolirane bakterijske seve smo želeli določiti minimalno inhibitorno koncentracijo šestih različnih izdelkov za razkuževanje, ki se trenutno uporabljajo, da bi odkrili potencialno zmanjšano občutljivost bakterijskih sevov. Minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) so opredeljene kot najnižja koncentracija protimikrobnega sredstva, ki bo zavirala vidno rast mikroorganizma po inkubaciji.

## **2 Materiali in metode**

### **2.1 Vzorčenje in izolacija**

Površine izbranih naprav za večkratno uporabo v prostorih za fizioterapijo v sodelujočih zdravstvenih ustanovah so bile vzorčene z uporabo predhodno navlaženih brisov s SRK® Neutralizing Transport Medium (Copan). Vsak izbrani pripomoček je bil vzorčen na približno 25 cm<sup>2</sup> površine ob treh različnih priložnostih: pred uporabo, po uporabi in po dezinfekciji. Vzorce smo zbirali več dni, vzorce iz ene ustanove pa na isti dan.

Za določitev koncentracije mikrobne populacije na različnih vzorčenih površinah smo indirektno gojitveno metodo štetja na TSA (Tryptic Soy Agar) s pripravo serijskih desetkratnih razredčin prvotnega vzorca. Po inkubaciji smo prešteli kolonije in izračunali CFU/cm<sup>2</sup>.

Bakterije smo izolirali iz 500 µL prvotnega vzorca, ki smo ga nanесли na plošče s Tryptic Soy Agar in inkubirali 24 ur pri 37 °C. Morfološko različne kolonije smo ponovno precepili in inkubirali 24 ur pri 37 °C za izolacijo čistih kultur.

### **2.2 Identifikacija**

Bakterije so bile identificirane na ravni vrste z uporabo metode s tehnologijo ionizacije v matriksu z lasersko desorpcijo (MALDI-TOF) z MALDI Biotyper Smart (Bruker Daltonics). Zajem in obdelava podatkov je bila izvedena s programsko opremo MBT Compass (verzija 4.1) (Bruker Daltonics GmbH, Billerica, Massachusetts, ZDA) in FlexControl (verzija 3.4) (Bruker Daltonics GmbH, Billerica, Massachusetts, ZDA). Masni razpon zajema podatkov je bil m/z 4.000–17.000 Da.

### 2.3 Razkužila

Biocidni izdelki uporabljeni v sodelujočih ustanovah, so bili v obliki robčkov, kjer je razkužilo pripravljeno za uporabo in ni potrebna predpriprava ali redčenje izdelkov. Vsi izolati so bili testirani za določitev MIK za pet razkužil:

- (i) Incidin Liquid (Ecolab): 35 g propan-2-ola in 25 g propan-1-ola v 100 g raztopine;
- (ii) Sani-Cloth 70 % (PDI): 70 ml izopropilnega alkohola v 100 ml raztopine;
- (iii) Descosept Sensitive Wipes (dr. Schumacher): 45 g etanola v 100 g raztopine;
- (iv) Mikrozid Sensitive Liquid (Schülke & Mayr): 0,25 g alkil dimetilbenzilamonijevega klorida, 0,25 g didecildimetilamonijevega klorida in 0,25 g alkil etilbenzilamonijevega klorida v 100 g raztopine;
- (v) Univerzalno razkužilo površin L + R (Lohmann & Rauscher): 0,4 g alkil dimetilbenzil amonijevega klorida in 0,4 g didecildimetil amonijevega klorida v 100 g raztopine.

### 2.4 Minimalna inhibitorna koncentracija

Občutljivost izolatov za dezinfekcijska sredstva na osnovi alkohola in QAC, ki se uporabljajo v sodelujočih ustanovah, je bila preverjena z določitvijo minimalne inhibitorne koncentracije (MIC). Za pripravo suspenzije inokuluma (2 ml) smo prilagodili motnost na 0,5 McFarlandovega standarda, kar ustreza približno  $1-2 \times 10^8$  CFU/mL (EUCAST, 2017). Nato smo 25  $\mu$ L te bakterijske suspenzije prenesli v 5 ml TSB, s čemer smo pridobili koncentracijo približno  $2,5-5 \times 10^5$  CFU/mL.

V vse vdolbinice sterilne mikrotitrne plošče s 96 vdolbinicami je bilo vključenih skupno 100  $\mu$ l gojišča Mueller Hinton. V prvo vrsto (vrstica A) smo dodali 200  $\mu$ L delovne koncentracije biocidne raztopine za razkužila na osnovi alkohola. Za razkužila s kvartarnimi amonijevimi spojinami (QAC) je bila raztopina biocida šestkrat razredčena za prvo vrsto, saj so bile pričakovane MIK nižje.

Nato smo v vrsto B dodali 100  $\mu$ L raztopine biocida iz vrstice A in ponavljali korake, dokler ni bila dosežena najnižja preskusna koncentracija v vrstici G. Po mešanju smo odvzeli 100  $\mu$ L raztopine iz vrste G. Vrstica H ni vsebovala biocida in je služila kot kontrola rasti. Na koncu smo v vse vdolbinice mikrotitrne plošče dodali 100  $\mu$ L bakterijske suspenzije (Schug et al., 2020; Humayoun et al., 2018; Köhler et al.,

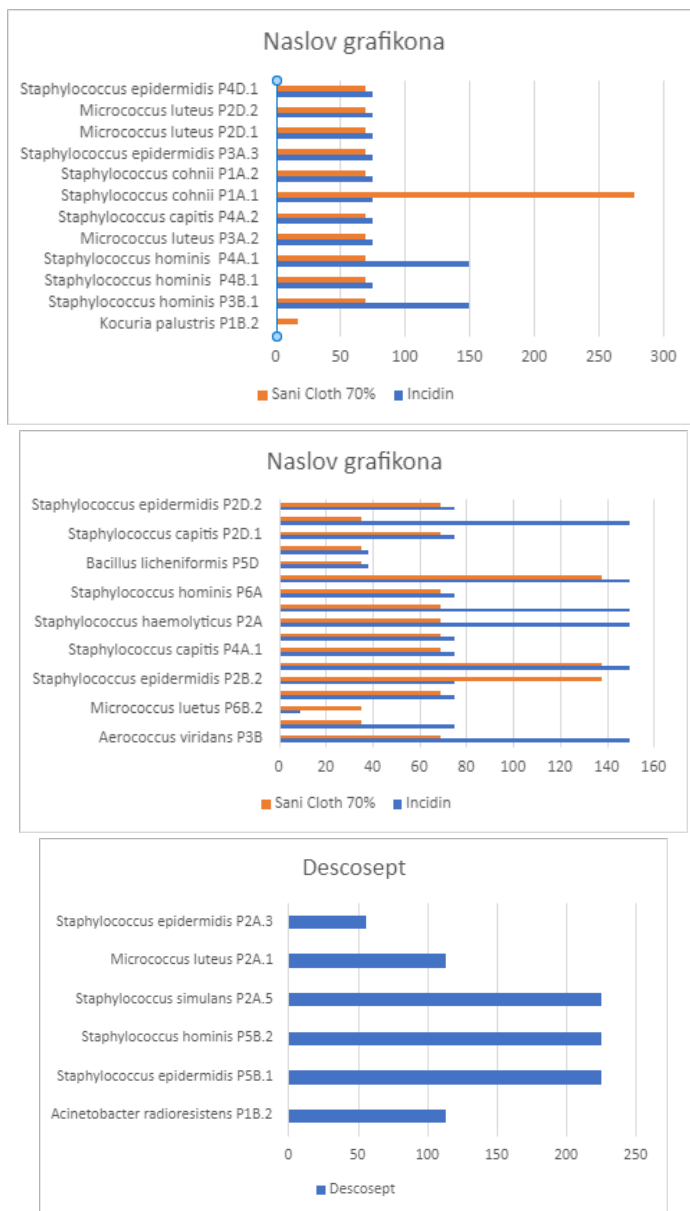
2019). Te korake smo upoštevali za vsak vzorec iz vsakega kosa opreme v vseh štirih objektih v vseh treh časovnih točkah (pred uporabo, po uporabi in po dezinfekciji).

### **3 Rezultati**

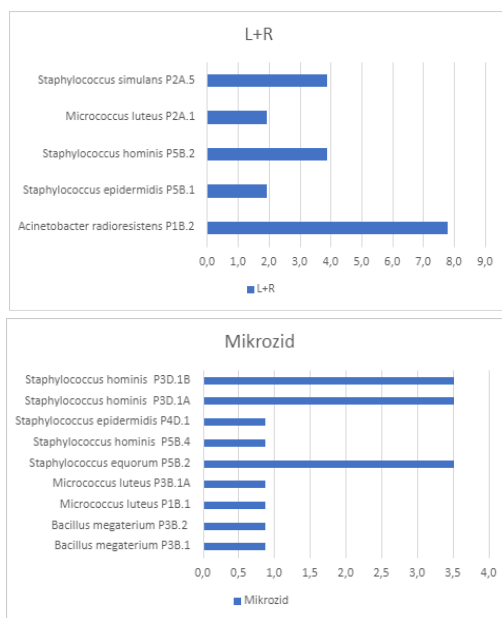
#### **3.1 Minimalna inhibitorna koncentracija**

Za ugotavljanje spremenjene ali zmanjšane občutljivosti izolatov proti izbranim razkužilom, ki so v uporabi v sodelujočih zdravstvenih ustanovah, je bila uporabljena metoda MIC. Naslednji rezultati podajajo informacije o vrednostih MIK za razkužila Incidin Liquid (Ecolab), Sani-Cloth 70 % (PDI), Descosept Sensitive Wipes (Dr. Schumacher), Mikrocid Sensitive Liquid (Schülke & Mayr) in L + R Surface Disinfect Universal (Lohmann & Rauscher) (sliki 3 in 4).

**Slika 1: Vrednosti MIC [g/L] za alkoholna razkužila Incidin, Sani-Cloth 70 % in Descosept za izolate v ustanovah (A), (B) in (C). Legenda: P—fizioterapija; O—delovna terapija; C—skupni prostor; B - pred uporabo; A - po uporabi; in D—po dezinfekciji. Prva številka je številka vzorčene naprave, druga številka je serijska številka izolata**



Povprečne vrednosti MIC alkoholnih razkužil Incidin in Sani-Cloth v obeh ustanovah ob vseh priložnostih vzorčenja znašajo 90,94 g/L oziroma 76,59 g/L. Opaženi so bili posamezni sevi, pri katerih so vrednosti MIC za Incidin dosegli 150 g/L, za Sani Cloth pa 138 g/L. Zlasti visok MIC (277 g/) smo določili za razkužilo Sani-Cloth pri sevu glede *Staphylococcus cobnii* v ustanovi A na oddelku za fizioterapijo na terapevtski blazini po uporabi. Za razkužilo Descosept na osnovi alkohola je povprečna vrednost MIC pri vseh vzorčenjih 159,5 g/L.



**Slika 2: Vrednosti MIC [mg/L] za razkužili na osnovi QAC; L + R in Mikroزيد za izolate v ustanovah (C) in (D). Legenda: P—fizioterapija; O—delovna terapija; C—skupni prostor; B - pred uporabo; A - po uporabi; in D—po dezinfekciji. Prva številka je številka vzorčene naprave, druga številka je serijska številka izolata**

Za razkužila na osnovi QAC L + R in Mikroزيد so povprečne vrednosti MIC v obeh ustanovah ob vseh priložnostih vzorčenja 3,9 oziroma 1,8 mg/L. Izstopajoči sev, kjer smo določili vrednosti MIC za razkužilo L + R pri 7,8 mg/L je bil *Acinetobacter radioresistens* v ustanovi C na oddelku fizioterapije na terapevtski blazini pred uporabo



## 4 Diskusija

Oprema in površine v bolnišnicah in zdravstvenih ustanovah so pomembne poti prenosa mikroorganizmov med pacienti, obiskovalci in zdravstvenimi delavci, zato je temeljito čiščenje, razkuževanje ali sterilizacija površin in predmetov za večkratno uporabo bistvenega pomena za nadzor in preprečevanje širjenja bolnišničnih okužb (McDonnell and Russell, 1999; Larson et al., 1996; Rutala, 1996). V tej raziskavi so bili različni predmeti za večkratno uporabo vzorčeni v štirih različnih ustanovah v štirih različnih mestih iz dveh držav ob treh različnih priložnostih. Z vzorčenjem naprav "pred uporabo" lahko določimo mikrobnno populacijo na napravah, preden pridejo v stik z naslednjim uporabnikom. Pri primerjavi koncentracij iz koraka »pred uporabo« s korakom vzorčenja »po uporabi« dobimo podatke o mikroorganizmih, ki jih bolnik med terapevtskim postopkom prenese na pripomočke. Zadnji korak vzorčenja, »po razkuževanju«, zagotavlja informacije o pravilni uporabi razkužil, učinkovitosti razkuževanja in morebitnih mikroorganizmih, ki ostanejo na napravah po razkuževanju. Po Smernicah za uredbo o biocidnih pripravkih, je izdelek ocenjen kot dovolj učinkovit, kadar je doseženo zmanjšanje koncentracije mikroorganizmov po razkuževanju za 4 do 5 logaritmskih stopenj (European Chemicals Agency, 2018). Skrb vzbujajoče je dejstvo, da so nekatere naprave kontaminirane že pred uporabo, še posebej pa je zaskrbljujoče, da ostanejo kontaminirane tudi po razkuževanju. Podobne rezultate so opazili tudi v drugih študijah, kjer je čistoča pripomočkov odstopala od predpisanih standardov in je bil velik del pripomočkov neustrezno očiščen (Anderson et al., 2011; Afle et al., 2019). Najpogosteje najdene skupine bakterij na predmetih za večkratno uporabo glede identifikacije MALDI-TOF so bile *Staphylococcus*, *Micrococcus* in *Bacillus*, kar je skladno z rezultati Afle et al. (2019).

Učinkovitost dezinfekcije lahko pripišemo različnim dejavnikom, kot so izbira prave vrste in koncentracije dezinfekcijskega sredstva, čas interakcije, način nanosa ter moč in smer brisanja. Vsakemu razkužilu so priložena navodila za uporabo in shranjevanje, saj le to pomembno vpliva na učinkovitost razkuževanja. Če se ne uporablja po navodilih, se lahko vloga razkužila hitro spremeni in samo razkužilo lahko postane vir okužbe (Song et al., 2019). Drug pomemben dejavnik, ki vpliva na ustrezno higieno, je ustrezno izobraženo osebje, opremljeno z navodili in usposabljanjem za učinkovito razkuževanje (Boyce, 2016; Dumigan et al., 2010).

Študije kažejo, da lahko bakterije zaradi nenehne uporabe in izpostavljenosti razkužilom zaradi prilagoditvenih mehanizmov razvijejo zmanjšano občutljivost na razkužila (Forman et al., 2016).

Za določanje odpornosti ali zmanjšane občutljivosti na razkužila (in antibiotike) se pogosto uporablja metoda določanja minimalne inhibitorne koncentracije (MIC). Ekološki koncept odpornosti na antibiotike, kot ga je opredelil Evropski odbor za protimikrobno občutljivost (EUCAST), pravi, da je "mikroorganizem opredeljen kot divja vrsta, ki nima pridobljenih in mutacijskih mehanizmov odpornosti proti protimikrobnemu sredstvu". Vsak izolat z MIC nad epidemiološko mejno vrednostjo (ECOFF), ki je zgornja meja normalne porazdelitve MIK za dano protimikrobno sredstvo in določeno vrsto, velja za odpornega (Brown, 2011; Martínez-Suárez et al., 2016). V primeru proučevanja odpornosti na biocide pa do sedaj še niso bile postavljene meje ECOFF in ni jasnih kriterijev za ugotavljanje, ali je mikroorganizem občutljiv na razkužilo ali ne. Podatke o odpornosti bakterij na razkužila je pogosto težko interpretirati in primerjati zaradi odsotnosti jasnih kriterijev za opredelitev mikroorganizma kot odpornega na razkužila in pomanjkanja standardiziranih testov za preverjanje in vitro občutljivosti na razkužila (Buffet-Bataillon et al., 2012; Cowley et al., 2015). Glede na objave naj bi se bakterije »prilagodile« na učinkovino, ko je MIC biocida vsaj štirikrat višji od začetnega MIC (McDonald et al., 2001).

Zato lahko uporabimo povprečne vrednosti MIC, pridobljene iz posameznih laboratorijskih študij, izvedenih pod relativno podobnimi pogoji. Opaženo relevantno povečanje vrednosti MIC lahko kaže na zmanjšano občutljivost ali celo odpornost. Medtem ko se zmanjšana občutljivost razlaga kot povišana vrednost MIC ali območje povečanega premera v difuzijskem testu diska, se odpornost razume kot zaviranje rasti bakterij. Glede na verjetnost, da so odporni sevi izbrani izmed sevov z že obstoječo zmanjšano občutljivostjo, lahko to razmerje odraža prisotnost različnih selektivnih pritiskov, ki so odgovorni za vsako populacijo (Rodloff et al., 2008; Conrad et al., 1996; Gales et al., 2000; Ozeki et al., 1997; Manaye et al., 2021). Pri razlagi rezultatov je potrebno upoštevati koncentracijo uporabljenih razkužil med uporabo, saj je koncentracija med uporabo običajno višja od dejanskih izmerjenih vrednosti MIC. V tem primeru ne moremo govoriti o odpornosti, temveč le o zmanjšani občutljivosti (Brown, 2011).

V tej študiji se vrednosti MIC za razkužila na osnovi alkohola za večino izolatov gibljejo med 35 in 225 g/L, kar je primerljivo z drugimi študijami (Mazzola et al., 2009; Kot band Sayed, 2015; Kampf and Kramer, 2004). V ustanovi A na fizioterapevtskem oddelku je bil na terapevtski blazini po uporabi le en izstopajoč sev *Staphylococcus cohnii*, kjer je bila vrednost MIC štirikrat višja od povprečne vrednosti drugih sevov *Staphylococcus*, kar lahko kaže na zmanjšano občutljivost (McDonald et al., 2001). Vrednosti MIC za druge testirane seve se gibljejo v približno istem območju, kar podpira tudi že ugotovljeno, da ni znano, da bi razkužila na osnovi alkohola povzročila odpornost bakterij, kar omogoča njihovo široko splošno uporabo (Vijayakumar et al., 2018). Za razkužila QAC so vrednosti MIC izolatov v območju med 0,9 in 7,8 mg/L, kar ne pomeni zmanjšane občutljivosti, saj so te vrednosti primerljive z drugimi študijami (Buffet-Bataillon et al., 2012; Maertens et al., 2019; Ramzi et al., 2020; World Health Organization, 2007). Identificirali smo tri različne seve, pri katerih so bile vrednosti MIC štirikrat višje od povprečnih vrednosti, kar verjetno kaže na zmanjšano občutljivost (McDonald et al., 2001). Kljub tej ugotovitvi je spremljanje odpornosti proti razkužilom na osnovi QAC pomembno, saj je lahko uporaba kvarternih amonijevih spojin (QAC) potencialno ključno gonilo pri pojavu protimikrobne odpornosti (Cowley et al., 2015). Večina formulacij QAC ne zahteva izpiranja z vodo po nanosu; tako se lahko stik med bakterijami in QAC podaljša (World Health Organization, 2007). Dolgotrajna izpostavljenost QAC z nizko kemijsko reaktivnostjo, ki se ne nevtralizira hitro, lahko izpostavi mikrobne skupnosti subinhibitornim koncentracijam. To bi lahko spodbudilo preživetje manj občutljivih sevov (McBain et al., 2002).

Domnevajo, da razširjena uporaba razkužil vpliva na povečanje deleža bakterij, odpornih na antibiotike (McDonnell and Russell, 1999). Odpornost bakterij na običajno uporabljena razkužila, kot tudi indukcija navzkrižne odpornosti na antibiotike, je že dokazana (Russell, 2003; Yazdankhah et al., 2006). Če bi se odpornost in pogostost mutacij povečala in razvila proti številnim pogosto uporabljenim razkužilom v kliničnih in industrijskih okoljih, bi lahko samo to obremenilo svetovno javno zdravje (O'Neill et al., 2016).

## 5 Zaključek

Poročilo o protimikrobni odpornosti iz leta 2016 napoveduje zaskrbljujoč scenarij, saj naj bi se umrljivost, ki jo je mogoče pripisati odpornosti mikrobov, do leta 2050 globalno povečala s trenutnih 700.000 na 10 milijonov smrti letno (O'Neill et al., 2016). Raziskave v lokalnem kliničnem okolju so nujno potrebne, da bi prispevali novo znanje o povezavi med uporabo razkužil in odpornostjo bakterij na razkužila ter njihovi povezavi z odpornostjo na antibiotike. Glede na razširjeno uporabo večkratno odpornih bakterij proti antibiotikom in možnost povečane odpornosti proti razkužilom, ki narašča v skupnosti, je potrebna preudarna uporaba razpoložljivih in še vedno učinkovitih protimikrobnih sredstev. Potrebno je pretehtati tveganja in koristi uporabe razkužil v zdravstvenih ustanovah, da bi prepoznali in določili dodatne varnostne ukrepe za razvoj in uporabo razkužil. Smiselno bi bilo redno spremljanje občutljivosti bakterij na razkužila, s čimer bi preprečili širjenje odpornosti bakterij na razkužila in antibiotike (Hardy et al., 2018). Prav tako bi bilo nujno treba določiti jasna merila za opredelitev mikroorganizma kot odpornega na razkužila z določitvijo vrednosti ECOFF in standardizacijo protokolov za testiranje odpornosti mikroorganizmov na razkužila.

### Zahvala

Raziskavo je finančno podprl nacionalni raziskovalni program (P2-0118) in SANLAS Holding GmbH. Za statistično pomoč se zahvaljujemo g. Primožu Kocbeku.

### Reference

- Aljadi, S.H.; Al-Shemmari, M.; Al-Ramzi, J.; Al-Abdullatif, S.; Hajeyah, Z.; Jamal, L.; Al-Bahar, S. Bacterial contamination in physical therapy departments in the State of Kuwait. *J. Phys. Ther. Sci.* 2017, 29, 1014–1018.
- Lambert, I.; Tebbs, S.; Hill, D.; Moss, H.; Davies, A.; Elliott, T. Interferential therapy machines as possible vehicles for crossinfection. *J. Hosp. Infect.* 2000, 44, 59–64.
- Koibuchi, H.; Kotani, K.; Taniguchi, N. Ultrasound probes as a possible vector of bacterial transmission. *Med. Ultrason.* 2013, 15, 41–44.
- Brown, D. Disposable vs reusable electrocardiography leads in development of and cross-contamination by resistant bacteria. *Crit. Care Nurse* 2011, 31, 62–68.
- Russell, A.D. Biocide use and antibiotic resistance: The relevance of laboratory findings to clinical and environmental situations. *Lancet Infect. Dis.* 2003, 3, 794–803.
- McDonnell, G.; Russell, A.D. Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. *Clin. Microbiol. Rev.* 1999, 12, 147–179. Available online: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9880479> (accessed on 27 January 2017).

- Markets and Markets, Biocides Market by Type (Oxidizing Biocides, Non-Oxidizing Biocides), Application (Water Treatment, Personal Care, Wood Preservation, Paints & Coating), and Region (APAC, North America, Europe, MEA, and South America)- Global Trends and Forecasts to 2026. Biocides Market. 2021. Available online: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/plant-based-protein-market-14715651.html> (accessed on 8 July 2021).
- Forman, M.E.; Fletcher, M.H.; Jennings, M.C.; Duggan, S.M.; Minbiole, K.P.C.; Wuest, W.M. Structure-Resistance Relationships: Interrogating Antiseptic Resistance in Bacteria with Multicationic Quaternary Ammonium Dyes. *ChemMedChem* 2016, 11, 958–962.
- Weber, D.J.; Rutala, W.A. Use of Germicides in the Home and the Healthcare Setting Is There a Relationship Between Germicide Use and Antibiotic Resistance? *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2006, 27, 1107–1119.
- Maillard, J.-Y.; Bloomfield, S.; Coelho, J.R.; Collier, P.; Cookson, B.; Fanning, S.; Hill, A.; Hartemann, P.; McBain, A.J.; Oggioni, M.; et al. Does microbicide use in consumer products promote antimicrobial resistance? A critical review and recommendations for a cohesive approach to risk assessment. *Microb. Drug Resist.* 2013, 19, 344–354.
- European Chemicals Agency. Guidance on the Biocidal Products Regulation, Finland. 2018. Available online: [https://echa.europa.eu/documents/10162/23036412/bpr\\_guidance\\_vol\\_i\\_parts\\_abc\\_en.pdf/31b245e5-52c2-f0c7-04db-8988683cbc4b](https://echa.europa.eu/documents/10162/23036412/bpr_guidance_vol_i_parts_abc_en.pdf/31b245e5-52c2-f0c7-04db-8988683cbc4b) (accessed on 30 June 2022).
- Cieplik, F.; Jakubovics, N.S.; Buchalla, W.; Maisch, T.; Hellwig, E.; Al-Ahmad, A. Resistance toward chlorhexidine in oral bacteria-is there cause for concern? *Front. Microbiol.* 2019, 10, 587.
- Beyth, N.; Hourri-Haddad, Y.; Domb, A.; Khan, W.; Hazan, R. Alternative antimicrobial approach: Nano-antimicrobial materials. *Evid.-Based Complement. Altern. Med.* 2015, 2015, 246012.
- Czaplewski, L.; Bax, R.; Clokie, M.; Dawson, M.; Fairhead, H.; Fischetti, V.A.; Foster, S.; Gilmore, B.F.; Hancock, R.E.W.; Harper, D.; et al. Alternatives to antibiotics—A pipeline portfolio review. *Lancet Infect. Dis.* 2016, 16, 239–251.
- Rios, A.C.; Moutinho, C.G.; Pinto, F.C.; Del Fiol, F.S.; Jozala, A.; Chaud, M.V.; Vila, M.M.; Teixeira, J.A.; Balcão, V.M. Alternatives to overcoming bacterial resistances: State-of-the-art. *Microbiol. Res.* 2016, 191, 51–80. [CrossRef] *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2022, 19, 14690 11 of 13
- Sakudo, A.; Yagyu, Y.; Onodera, T. Disinfection and Sterilization Using Plasma Technology: Fundamentals and Future Perspectives for Biological Applications. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20, 5216.
- Forbes, S.; Latimer, J.; Bazaïd, A.; McBain, A.J. Altered competitive fitness, antimicrobial susceptibility, and cellular morphology in a triclosan-induced small-colony variant of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2015, 59, 4809–4816.
- Wieland, N.; Boss, J.; Lettmann, S.; Fritz, B.; Schwaiger, K.; Bauer, J.; Hölzel, C. Susceptibility to disinfectants in antimicrobial-resistant and -susceptible isolates of *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from poultry-ESBL/AmpC phenotype of *E. coli* is not associated with resistance to a quaternary ammonium compound, DDAC. *J. Appl. Microbiol.* 2017, 122, 1508–1517.
- Yazdankhah, S.P.; Scheie, A.A.; Hoiby, E.A.; Lunestad, B.-T.; Heir, E.; Fotland, T.; Naterstad, K.; Kruse, H. Triclosan and Antimicrobial Resistance in Bacteria: An Overview. *Microb. Drug Resist.* 2006, 12, 83–90.
- Goudarzi, M.; Navidinia, M. Overview Perspective of Bacterial Strategies of Resistance to Biocides and Antibiotics. *Arch. Clin. Infect. Dis.* 2019, 14, 65744.
- Romero, J.L.; Burgos, M.J.G.; Pérez-Pulido, R.; Gálvez, A.; Lucas, R. Resistance to Antibiotics, Biocides, Preservatives and Metals in Bacteria Isolated from Seafoods: Co-Selection of Strains Resistant or Tolerant to Different Classes of Compounds. *Front. Microbiol.* 2017, 8, 1650.
- Maillard, J.Y. Bacterial target sites for biocide action. *Symp. Ser. Soc. Appl. Microbiol.* 2002, 16S–27S. Available online: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12481825> (accessed on 1 June 2022).

- EUCAST, Eucast: Disk Diffusion Methodology. Antimicrobial Susceptibility Testing EUCAST Disk Diffusion Method. 2017. Available online: [https://www.eucast.org/ast\\_of\\_bacteria/disk\\_diffusion\\_methodology](https://www.eucast.org/ast_of_bacteria/disk_diffusion_methodology) (accessed on 7 October 2022).
- Schug, A.R.; Bartel, A.; Scholtzek, A.D.; Meurer, M.; Brombach, J.; Hensel, V.; Fanning, S.; Schwarz, S.; Feßler, A.T. Biocide susceptibility testing of bacteria: Development of a broth microdilution method. *Vet. Microbiol.* 2020, 248, 108791.
- Humayoun, S.B.; Hiott, L.M.; Gupta, S.; Barrett, J.B.; Woodley, T.A.; Johnston, J.J.; Jackson, C.R.; Frye, J.G. An assay for determining the susceptibility of Salmonella isolates to commercial and household biocides. *PLoS ONE* 2018, 13, e0209072.
- Köhler, A.T.; Rodloff, A.C.; Labahn, M.; Reinhardt, M.; Truyen, U.; Speck, S. Evaluation of disinfectant efficacy against multidrugresistant bacteria: A comprehensive analysis of different methods. *Am. J. Infect. Control* 2019, 47, 1181–1187.
- Larson, E.L.; Morton, H.E. Antiseptics. In *APIC Infection Control & Applied Epidemiology: Principles & Practices*; Olmstad, R.N., Ed.; Mosby-Year Book, Inc.: St. Louis, MO, USA, 1996; pp. 19-1–19-7.
- Rutala, W.A. APIC guideline for selection and use of disinfectants. 1994, 1995, and 1996 APIC Guidelines Committee. Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, Inc. *Am. J. Infect. Control* 1996, 24, 313–342. Available online: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8870916> (accessed on 3 October 2018).
- European Chemicals Agency. Guidance on the Biocidal Products Regulation Volume II Efficacy-Assessment and Evaluation (Parts B+C); European Chemicals Agency: Helsinki, Finland, 2018.
- Anderson, R.E.; Young, V.; Stewart, M.; Robertson, C.; Dancer, S.J. Cleanliness audit of clinical surfaces and equipment: Who cleans what? *J. Hosp. Infect.* 2011, 78, 178–181.
- Afle, F.C.D.; Agbankpe, A.J.; Johnson, R.C.; Hounbégnon, O.; Houssou, S.C.; Bankole, H.S. Healthcare-associated infections: Bacteriological characterization of the hospital surfaces in the University Hospital of Abomey-Calavi/so-ava in South Benin (West Africa). *BMC Infect. Dis.* 2019, 19, 28.
- Song, X.; Vossebein, L.; Zille, A. Efficacy of disinfectant-impregnated wipes used for surface disinfection in hospitals: A review. *Antimicrob. Resist. Infect. Control* 2019, 8, 139.
- Boyce, J.M. Modern technologies for improving cleaning and disinfection of environmental surfaces in hospitals. *Antimicrob. Resist. Infect. Control* 2016, 5, 10.
- Dumigan, D.G.; Boyce, J.M.; Havill, N.L.; Golebiewski, M.; Balogun, O.; Rizvani, R. Who is really caring for your environment of care? Developing standardized cleaning procedures and effective monitoring techniques. *Am. J. Infect. Control* 2010, 38, 387–392.
- Brown, D. EUCAST Definitions (and Breakpoint Table, MIC and Zone Distribution Website Conventions), ECCMID 2011, Milan. Available online: [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/EUCAST\\_Presentations/2011/EW1\\_Brown\\_Definitionsf2.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/EUCAST_Presentations/2011/EW1_Brown_Definitionsf2.pdf) (accessed on 1 June 2022).
- Martínez-Suárez, J.V.; Ortiz, S.; López-Alonso, V. Potential impact of the resistance to quaternary ammonium disinfectants on the persistence of *Listeria monocytogenes* in food processing environments. *Front. Microbiol.* 2016, 7, 638.
- Buffet-Bataillon, S.; Tattevin, P.; Bonnaure-Mallet, M.; Jolivet-Gougeon, A. Emergence of resistance to antibacterial agents: The role of quaternary ammonium compounds—A critical review. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2012, 39, 381–389.
- Cowley, N.L.; Forbes, S.; Amézquita, A.; McClure, P.; Humphreys, G.J.; McBain, A.J. Effects of Formulation on Microbicide Potency and Mitigation of the Development of Bacterial Insusceptibility. *Appl. Environ. Microbiol.* 2015, 81, 7330–7338.
- McDonald, L.C.; Chen, F.-J.; Lo, H.-J.; Yin, H.-C.; Lu, P.-L.; Huang, C.-H.; Chen, P.; Lauderdale, T.-L.; Ho, M. Emergence of Reduced Susceptibility and Resistance to Fluoroquinolones in

- Escherichia coli in Taiwan and Contributions of Distinct Selective Pressures. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001, 45, 3084–3091.
- Rodloff, A.; Bauer, T.; Ewig, S.; Kujath, P.; Müller, E. Susceptible, Intermediate, and Resistant—The Intensity of Antibiotic Action. *Dtsch. Arztebl. Int.* 2008, 105, 657–662.
- Conrad, S.; Oethinger, M.; Kaifel, K.; Klotz, G.; Marre, R.; Kern, W.V. gyrA mutations in high-level fluoroquinolone-resistant clinical isolates of Escherichia coli. *J. Antimicrob. Chemother.* 1996, 38, 443–456.
- Gales, A.C.; Gordon, K.A.; Wilke, W.W.; Pfaller, M.A.; Jones, R.N. Occurrence of single-point gyrA mutations among ciprofloxacin-susceptible Escherichia coli isolates causing urinary tract infections in Latin America. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2000, 36, 61–64.
- Ozeki, S.; Deguchi, T.; Yasuda, M.; Nakano, M.; Kawamura, T.; Nishino, Y.; Kawada, Y. Development of a rapid assay for detecting gyrA mutations in Escherichia coli and determination of incidence of gyrA mutations in clinical strains isolated from patients with complicated urinary tract infections. *J. Clin. Microbiol.* 1997, 35, 2315–2319.
- Manaye, G.; Muleta, D.; Henok, A.; Asres, A.; Mamo, Y.; Feyissa, D.; Ejeta, F.; Niguse, W. Evaluation of the Efficacy of Alcohol-Based Hand Sanitizers Sold in Southwest Ethiopia. *Infect. Drug Resist.* 2021, 14, 547–554.
- Mazzola, P.G.; Jozala, A.F.; Novaes, L.C.D.L.; Moriel, P.; Penna, T.C.V. Minimal inhibitory concentration (MIC) determination of disinfectant and/or sterilizing agents. *Braz. J. Pharm. Sci.* 2009, 45, 241–248.
- Kotb, S.; Sayed, M. Sensitivity of Methicillin-Resistance and Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus Strains to Some Different Disinfectants. *Int. J. Livest. Res.* 2015, 5, 45.
- Kampf, G.; Kramer, A. Epidemiologic Background of Hand Hygiene and Evaluation of the Most Important Agents for Scrubs and Rubs. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004, 17, 863–893.
- Vijayakumar, R.; Sandle, T.; Al-Aboody, M.S.; AlFonaison, M.K.; Alturaiki, W.; Mickymaray, S.; Premanathan, M.; Alsagaby, S.A. Distribution of biocide resistant genes and biocides susceptibility in multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii—A first report from the Kingdom of Saudi Arabia. *J. Infect. Public Health* 2018, 11, 812–816.
- Maertens, H.; de Reu, K.; Meyer, E.; van Coillie, E.; Dewulf, J. Limited association between disinfectant use and either antibiotic or disinfectant susceptibility of Escherichia coli in both poultry and pig husbandry. *BMC Vet. Res.* 2019, 15, 310.
- Ramzi, A.; Oumokhtar, B.; Zoubi, Y.E.; Moutassem, T.F.; Benboubker, M.; Lalami, A.e. Evaluation of Antibacterial Activity of Three Quaternary Ammonium Disinfectants on Different Germs Isolated from the Hospital Environment. *Biomed. Res. Int.* 2020, 2020, 6509740. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2022, 19, 14690 13 of 13
- World Health Organization. Combating Waterborne Disease at the Household Level. 2007. Available online: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43621/9789241595223\\_eng.pdf](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43621/9789241595223_eng.pdf) (accessed on 17 March 2022).
- McBain, A.; Rickard, A.H.; Gilbert, P. Possible Implications of Biocide Accumulation in the Environment on the Prevalence of Bacterial Antibiotic Resistance; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2002; Volume 29, pp. 326–330.
- O'Neill, J. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations/the Review on Antimicrobial Resistance Chaired by Jim O'Neill|Wellcome Collection, United Kingdom. 2016. Available online: <https://wellcomecollection.org/works/thwvsuba> (accessed on 4 February 2021).
- Hardy, K.; Sunnucks, K.; Gil, H.; Shabir, S.; Trampari, E.; Hawkey, P.; Webber, M. Increased usage of antiseptics is associated with reduced susceptibility in clinical isolates of Staphylococcus aureus. *mBio* 2018, 9, e00894-18.

