

Katarzyna W. Pancer¹, Agnieszka E. Laudy³, Ewa Mikulak², Aleksandra Gliniewicz²,
Monika Staniszevska², Hanna Stypulkowska-Misiurewicz¹

BIOBÓJCZA SKUTECZNOŚĆ WYBRANYCH PREPARATÓW DEZYNFEKCYJNYCH WOBEC GRAM-UJEMNYCH PAŁECZEK WYIZOLOWANYCH ZE ŚRODOWISKA SZPITALNEGO

¹Zakład Bakteriologii Państwowego Zakładu Higieny,
Kierownik: Marek Jagielski

²Zakład Zwalczenia Skażeń Biologicznych Państwowego Zakładu Higieny,
Kierownik: Aleksandra Gliniewicz

³Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej Akademii Medycznej w Warszawie,
Kierownik: Bohdan J. Starościak

Oznaczono wrażliwość wyizolowanych ze środowiska szpitalnego Gram-ujemnych pałeczek na środki dezynfekcyjne (glukoprotaminę, mononadsiarazan potasu i dichloroizocyjanuran sodu) poprzez określenie MIC oraz biobójczą skuteczność preparatów zawierających te substancje wobec wybranych szczepów przy użyciu metody nośnikowej. Zbadano także skuteczność tych preparatów wobec Gram-ujemnych pałeczek wykazujących zdolność do wzrostu w postaci biofilmu.

Słowa kluczowe: Gram-ujemne pałeczki, biofilm, aktywność i skuteczność glukoprotaminy, mononadsiarazanu potasu, dichloroizocyjanuranu sodu,

Key words: Gram-negative bacilli, biofilm, activity and effectivity of glucoprotamin, sodium dichloroisocyanurate, potassium persulfate

WSTĘP

Skuteczność działania środków dezynfekcyjnych zależy od wielu czynników, między innymi od: właściwości preparatów, warunków środowiska, stopnia zanieczyszczenia dezynfekowanych powierzchni lub przedmiotów oraz właściwości samych mikroorganizmów. Wykazywana zdolność drobnoustrojów przylegania do powierzchni różnych materiałów oraz zdolność wzrostu na niej w postaci biofilmu jest jednym z elementów powodujących

nieskuteczność dezynfekcji, mimo wykazywanej *in vitro* aktywności użytych związków (1,2). Takie drobnoustroje mogą przetrwać w środowisku i, co ma szczególne znaczenie w zakładach opieki medycznej, stać się przyczyną zakażeń szpitalnych. Przyjmuje się, że ok. 50% zakażeń szpitalnych wywołanych jest przez Gram-ujemne pałeczki (3,4). Szerzeniu się zakażeń wywołanych przez te drobnoustroje sprzyja zdolność adaptacji do warunków środowiskowych, niewielkie wymagania pokarmowe, zdolność do namnażania się poza organizmem człowieka oraz naturalna oporność na działanie leków i środków dezynfekcyjnych lub zdolność do uodpornienia się na ich działanie (5). Źródłem zakażenia w szpitalu może być personel, pacjenci, woda w systemach wodociągowych, nawilżających lub klimatyzacyjnych, powietrze, oraz bytujące w szpitalu owady. W badaniach własnych przeprowadzonych w latach 2000-2002 stwierdzono, że w 79,2 % szpitali polskich występują karaczany prusaki (*Blatella germanica L.*) (6). Owady te mogą przyczyniać się do rozprzestrzeniania patogennych drobnoustrojów w środowisku szpitalnym, przenosząc je biernie na powierzchni swojego ciała. Na zewnętrznych powłokach ciał karaczanów prusaków stwierdzono m.in. obecność takich gatunków pałeczek Gram-ujemnych, jak: *Serratia marcescens*, *S. liquefaciens*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa* i inne (7). Ważnym elementem ograniczania zakażeń szpitalnych wywoływanych przez wielolekooporne szczepy bakteryjne jest systematycznie przeprowadzana w szpitalach chemiczna dezynfekcja przy użyciu różnych środków dezynfekcyjnych (8).

Celem badań było określenie bójczej skuteczności wobec Gram-ujemnych pałeczek wyizolowanych w środowisku szpitalnym trzech wybranych preparatów dezynfekcyjnych, zawierających w swoim składzie różne substancje aktywne oraz zbadanie skuteczności bójczej tych substancji wobec Gram-ujemnych pałeczek wykazujących zdolność do tworzenia biofilmu.

MATERIAŁ I METODY

Szczepy bakteryjne. Ogółem przebadano 21 szczepów Gram-ujemnych pałeczek wyizolowanych w środowisku szpitalnym, w tym 11 – *Enterobacter cloacae*, 3 – *Pseudomonas aeruginosa*, 2 – *Serratia rubidea*, po jednym: *Klebsiella pneumoniae*, *S. marcescens*, *S. liquefaciens*, *Citrobacter freundii* i *P. putida*. Spośród badanych 21 szczepów, 12 pochodziło z powłok karaczanów prusaków odłowionych w pięciu warszawskich szpitalach, zaś 9 szczepów wyizolowano od pacjentów; 3 szczepy *E. cloacae* wyizolowano od osób, u których nie stwierdzono objawów zakażenia, natomiast pozostałe 6 szczepów (3 – *E. cloacae*, 2 – *P. aeruginosa*, 1 – *K. pneumoniae*) od pacjentów z objawami zakażenia (tab. I). Szczepy bakteryjne dobierane były do badań z uwzględnieniem ich wrażliwości na antybiotyki i chemioterapeutyki oznaczonej metodą dyfuzji krążkowej, zgodnie z zaleceniami National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Interpretację odczytanych stref zahamowania wzrostu przeprowadzano wg tabel NCCLS z 2003 roku.

Badano aktywność i skuteczność 3 preparatów dezynfekcyjnych zawierających: glukoprotaminę, dichloroizocyjanuran sodu i mononadsiarczan potasu. Preparaty te powszechnie stosuje się w placówkach służby zdrowia do dezynfekcji powierzchni.

Oznaczanie wrażliwości bakterii na środki dezynfekcyjne. Aktywność środków dezynfekcyjnych wobec pałeczek określano poprzez oznaczenie MIC

(najmniejszego stężenia hamującego wzrost bakterii) w podłożu Muller-Hintona II, tj. metodą dwukrotnych kolejnych rozcieńczeń związku w podłożu agarowym (dla glukoprotaminy) lub w podłożu płynnym (dla mononadsiarczanu potasu i dichloroizocyjanuranu sodu), według zaleceń NCCLS dotyczących badania wrażliwości bakterii na antybiotyki. Na podłoża agarowe zawierające glukoprotaminę наносono 2 μ l 10-krotnie rozcieńczonej zawiesiny bakterii o gęstości 0,5 w skali McFarlanda. Do podłoża płynnego zawierającego środek dezynfekcyjny dodawano zawiesinę bakterii, tak aby końcowa liczba pałeczek wynosiła 10^4 CFU/ml. Inkubację prowadzono w temp. 35°C przez 18 godz.

Określanie biobójczej skuteczności preparatu metodą nośnikową. Skuteczność preparatów dezynfekcyjnych w stężeniach użytkowych stosowanych do dezynfekcji powierzchni oznaczono dla wybranych 9 szczepów bakteryjnych. Doświadczenie wykonano zmodyfikowaną metodą nośnikową opracowaną w Pracowni Dezynfekcji Państwowego Zakładu Higieny (9). Metoda ta jest przeznaczona do oceny bakteriobójczego i grzybobójczego działania chemicznych środków dezynfekcyjnych. Do badań użyto roztworów preparatów dezynfekcyjnych w stężeniach użytkowych tj.: a) 2% roztwór preparatu zawierający 26% glukoprotaminy; b) 0,18 % roztwór preparatu zawierający 99% dichloroizocyjanuranu sodu (1000 ppm aktywnego chloru); c) 2% roztwór preparatu zawierający 21,5% mononadsiarczanu potasu. Jako szczep wzorcowy zastosowano *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749. Do badań używano zawiesin bakteryjnych o przepuszczalności ustalonej na T=54% (kolorymetr spektralny, długość fali $\lambda=560$ nm), co odpowiada liczbie $7,2 \times 10^8$ CFU/ml dla bakterii Gram-ujemnych. Przygotowaną zawiesinę testowanych szczepów bakteryjnych наносono na powierzchnię metalowych nośników (każdy szczep na 30 nośników) i suszono. Tak przygotowane nośniki z osadzonymi na nich bakteriami inkubowano w roztworze preparatu o stężeniu użytkowym przez 15 minut (glukoprotamina i dichloroizocyjanuran sodu), lub 10 minut (mononadsiarczan potasu). Następnie po inaktywowaniu substancji czynnej (15 minut) nośniki umieszczano w próbkach z 10 ml podłoża namnażającego (TSB) i inkubowano 48 godz. w temperaturze 37°C. Po tym czasie przeglądano próbki i sprawdzano, czy wystąpił wzrost bakterii w podłożu. Przyjęto, że roztwór w badanym stężeniu działa biobójczo w stosunku do użytych szczepów, jeśli nie obserwuje się wzrostu drobnoustrojów w żadnej z 30 probówek, lub w co najmniej 29 probówkach z podłożem wzrostowym, a kontrola jest dodatnia.

Oznaczanie skuteczności bójczej preparatów wobec pałeczek wykazujących zdolność do tworzenia biofilmu. Skuteczność trzech preparatów dezynfekcyjnych w stężeniach zalecanych przez producentów oznaczono dla 21 szczepów inkubowanych przez 5 dni na drenie. Badane szczepy bakteryjne inkubowano przez noc w temperaturze 37°C w bulionie odżywczym, następnie każdy zaszczepiano do 55 ml podłoża Mueller-Hinton Broth z zawieszonymi fragmentami drenów z polichloru winylu o długość 1 cm (dideco, XH implant tested class VI 1/4" x 1/16"), tak aby gęstość końcowa hodowli wynosiła 10^4 CFU/ml. Następnie prowadzono inkubację w temperaturze pokojowej, z wytrząsaniem 150 rpm przez 5 dni. Po przepłukaniu w jałowym fizjologicznym roztworze soli, dreny przenoszono do przygotowanych użytkowych roztworów środków dezynfekcyjnych i inkubowano przez 15 minut z wytrząsaniem. Po ponownym przepłukaniu, dreny przenoszono do podłoża TSB oraz równolegle do jałowego fizjologicznego roztworu soli. Podłoże TSB wraz z drenem inkubowano przez 72 godz. w temperaturze 37°C. Odczyt wizualny stopnia zmętnienia podłoża prowadzono po 24, 48

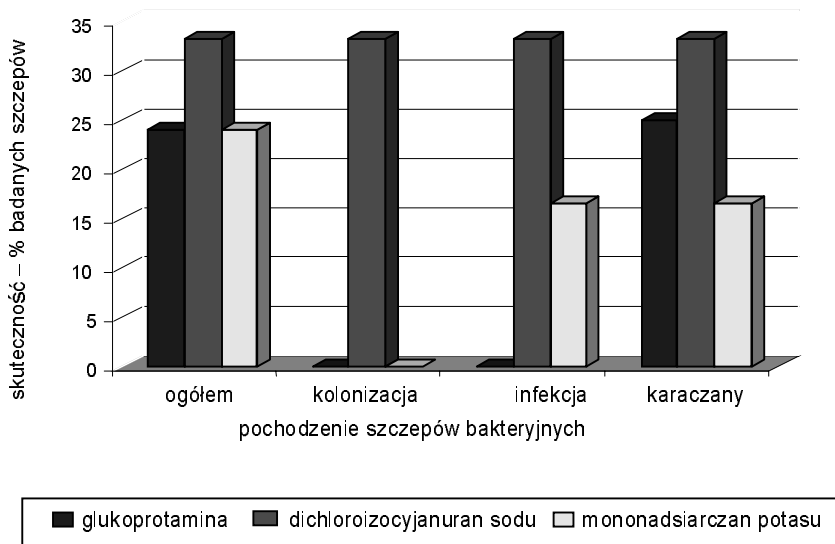
i 72 godz., a wybrane próbki wysiewano na podłoże agarowe. Dreny zanurzone w fizjologicznym roztworze soli poddawano sonikacji (5 minut, amplituda 8000), a uzyskaną zawiesinę wysiewano na podłoże agarowe i inkubowano do 48 godz. w temperaturze 37°C.

WYNIKI

Uzyskane w badaniach wyniki zebrano w tabeli I. Badane szczepy wykazały największą wrażliwość na glukoprotaminę (MIC od 15,6 do 500,0 mg/L, mediana – 62,5 mg/L). Natomiast wartości MIC pałeczek dla mononadsiarczuanu potasu wynosiły od 250,0 do 1000,0 mg/L, mediana – 500,0 mg/L, a dla dichloroizocyjanuranu sodu od 1000,0 do 2000,0 mg/L, mediana – 2000,0 mg/L.

W badaniach metodą nośnikową stwierdzono 100% skuteczność bójczonego działania preparatów zawierających mononadsiarczuan potasu i dichloroizocyjanuran sodu wobec 9 wybranych szczepów bakteryjnych. Preparat zawierający glukoprotaminę był nieskuteczny wobec 2 z 9 szczepów (18%): *E.cloacae* (czynnika kolonizującego pacjenta) i *S.marcescens* (wyzolowanego z powłok karaczana prusaka).

Stwierdzono, że skuteczność preparatów dezynfekcyjnych była wielokrotnie niższa wobec bakterii wykazujących zdolność przylegania do powierzchni drenu i wzrostu w postaci biofilmu. Z badanych szczepów inkubowanych przez 5 dni na drenie, 86% było opornych na użytkowe stężenie glukoprotaminy (5200 mg/L) oraz mononadsiarczuanu potasu (4300 mg/L), 66,6% – na roztwór zawierający 1795,2 mg/L dichloroizocyjanuran sodu.



Ryc. 1. Skuteczność środków dezynfekcyjnych w stężeniach użytkowych wobec pałeczek Gram-ujemnych wykazujących zdolność do wzrostu w postaci biofilmu

Fig. 1. Effectiveness of disinfectant agent working solutions upon biofilm forming Gram-negative bacilli

Tabela 1. Skuteczność wybranych preparatów dezynfekcyjnych i wrażliwość na te środki Gram-ujemnych pałeczek wyizolowanych w środowisku szpitalnym

Table 1. Effectiveness of selected disinfectant agents on Gram-negative bacilli isolated from hospital environment and susceptibility of these bacteria to chosen disinfectants.

Pochodzenie szczepów	Identyfikacja	Oporność na antybiotyki	Glukoprotamina			Dichloroizocyanuran sodu			Mononadsiarzan potasu		
			MIC (mg/L)	Skuteczność 5200 mg/L wobec bakterii inkub. *		MIC (mg/L)	Skuteczność 1795,2 mg/L wobec bakterii inkub.		MIC (mg/L)	Skuteczność 4300 mg/L wobec bakterii inkub.	
				z nośnikami metalowym przez 1,5 minut	z drenem przez 5 dni		z nośnikami metalowym przez 1,5 minut	z drenem przez 5 dni		z nośnikami metalowym przez 10 minut	z drenem przez 5 dni
Kolonizacja pacjentów	<i>E. cloacae</i>		62,5	R	R	2000	S	R	1000	S	R
	<i>E. cloacae</i>	MDR, ESBL	62,5	S	R	2000	S	S	1000	S	R
	<i>E. cloacae</i>		62,5	nt	R	2000	nt	R	500	nt	R
	<i>E. cloacae</i>	MDR	62,5	S	R	2000	S	R	500	S	R
	<i>E. cloacae</i>	St	62,5	nt	R	2000	nt	R	500	nt	R
	<i>E. cloacae</i>		31,3	nt	R	1000	nt	R	500	nt	R
Powodzące infekcje	<i>K. pneumoniae</i>	MDR, ESBL	62,5	nt	R	nt	nt	R	500	nt	R
	<i>P. aeruginosa</i>	MDR	62,5	nt	R	1000	nt	S	500	nt	S
	<i>P. aeruginosa</i>	MDR	62,5	nt	R	1000	nt	S	500	nt	R
	<i>S. marcescens</i>	St	500,0	R	R	1000	S	R	250	S	R
	<i>S. rubidea</i>	St, W, AMP	62,5	nt	R	1000	nt	R	1000	nt	R
	<i>S. rubidea</i>	W	62,5	nt	R	2000	nt	R	1000	nt	R
Występujące na powłokach karaczanów-prusaków	<i>S. liquefaciens</i>	ESBL	31,3	nt	R	1000	nt	R	500	nt	R
	<i>E. cloacae</i>	St, W	62,5	nt	R	2000	nt	R	1000	nt	R
	<i>E. cloacae</i>	AMP	125,0	nt	R	2000	nt	R	1000	nt	R
	<i>E. cloacae</i>		125,0	S	S	2000	S	S	250	S	R
	<i>E. cloacae</i>		31,3	S	S	2000	S	S	1000	S	R
	<i>E. cloacae</i>		62,5	S	R	2000	S	R	1000	S	R
	<i>C. freundii</i>		62,5	nt	R	2000	nt	R	250	nt	S
	<i>P. putida</i>	SXT, W	31,3	S	S	1000	S	S	250	S	S
	<i>P. aeruginosa</i>	SXT, W	15,6	S	R	1000	S	S	250	S	R

inkub. * – inkubowanych, R – bakterie oporne na robove stężenia środka dezynfekcyjnego; S – bakterie wrażliwe na robove stężenia środka dezynfekcyjnego; nt – nie badano, St – bakterie oporne na streptomycynę (10µg); W – bakterie oporne na trimetoprim (5µg); SXT – bakterie oporne na kotrimoksazol (2,5µg); AMP – bakterie oporne na ampicylinę (10µg).

Spośród szczepów bakterii inkubowanych na drenie, opornych na działanie 3 środków dezynfekcyjnych było 13 (62%), na dwa preparaty – 3 szczepy (14%), na jeden związek – 4 szczepy (19%), a szczep *P.putida* był wrażliwy na 3 środki dezynfekcyjne (5%). W naszych badaniach wykazano najwyższą skuteczność preparatu zawierającego dichloroizocyjanuran sodu wobec bakterii wykazujących zdolność wzrostu w postaci biofilmu, zaś najniższą – mononadsiarczanu potasu. Stwierdzono, że badane preparaty dezynfekcyjne zawierające glukoprotaminę i mononadsiarczan potasu są mniej skuteczne od dichloroizocyjanuranu sodu wobec pałeczek Gram-ujemnych izolowanych od pacjentów (ryc. 1).

DYSKUSJA

W ostatnich latach obserwuje się stały wzrost liczby zakażeń wywoływanych przez Gram-ujemne pałeczki. Stały się one jednym z głównych, pod względem częstości występowania, czynników wywołujących zakażenia szpitalne. Liczne niepowodzenia terapeutyczne w leczeniu zakażeń wywołanych przez Gram-ujemne pałeczki mogą być powodowane opornością szczepów na różne grupy antybiotyków, chemioterapeutyków, a także na środki dezynfekcyjne. Podobnie jak w przypadku antybiotyków, istnieje prawdopodobnie ścisła zależność pomiędzy zużyciem środków dezynfekcyjnych w szpitalach, a wrażliwością na nie bakterii.

Wykazaliśmy, że spośród trzech badanych w pracy preparatów dezynfekcyjnych największą aktywność wobec pałeczek wykazała glukoprotamina. Oznaczone wartości MIC wszystkich testowanych bakterii (oprócz 1 szczepu *S.marcescens*) dla glukoprotaminy były od 16 do 64 razy niższe od wartości MIC dla dichloroizocyjanuranu sodu i 4-32-krotnie niższe od wartości MIC dla mononadsiarczanu potasu. Nie zaobserwowano różnic we wrażliwości na poszczególne środki dezynfekcyjne bakterii izolowanych od pacjentów i występujących na powłokach karaczanów-prusaków.

Błędy w technice odkażania, zły wybór preparatów oraz ich stężeń powoduje wzrost oporności na środki dezynfekujące bakterii występujących w środowisku szpitalnym (5). Szczep *S.marcescens* wyizolowany z powierzchni karaczana-prusaka wykazywał bardzo małą wrażliwość na glukoprotaminę – wartość MIC wynosiła 500 mg/L i była 8-krotnie wyższa od wartości MIC dla dwóch szczepów *S.rubidea* oraz 16-krotnie wyższa dla *S.liquefaciens*. Można przypuszczać, że szczep *S.marcescens* należał do flory szpitalnej. Prawdopodobnie w wyniku stosowania w tej placówce przez długi okres preparatu dezynfekcyjnego zawierającego glukoprotaminę, szczep ten nabył oporności.

Uzyskane wyniki wskazują na istnienie korelacji między wrażliwością bakterii na mononadsiarczan potasu i dichloroizocyjanuran sodu a skutecznością preparatów, zawierających te środki w stężeniach użytkowych, oznaczoną metodą nośnikową.

Jednakże w przypadku glukoprotaminy stwierdzono brak jej skuteczności w stężeniu 5200 mg/L w stosunku do dwóch szczepów pałeczek Gram-ujemnych, dla których oznaczone wartości MIC tego środka wynosiły odpowiednio – MIC 62,5 mg/L dla *E.cloaceae* (izolowany od pacjenta); MIC 500 mg/L dla *S.marcescens* (izolowany z powłoki karaczanów). Prawdopodobnie szczepy te, w odróżnieniu od pozostałych, posiadają zmienioną strukturę osłon komórkowych, o niższej przepuszczalności dla glukoprotaminy, co powoduje, że czas inkubacji nośnika w roztworze środka dezynfekcyjnego jest zbyt krótki, aby spowodować wobec nich efekt bójczy. Natomiast w przypadku określania wrażliwości

bakterii na biocydy, drobnoustroje są inkubowane w obecności tych substancji przez 18 godz., co pozwala na проникnięcie glukoprotaminy do wnętrza komórki.

Ponadto wykazaliśmy, że wzrost w postaci biofilmu ogranicza skuteczność środków dezynfekcyjnych, mimo że bakterie, w formie planktonicznej, są wrażliwe na te związki. Użytkowe stężenie glukoprotaminy (5200 mg/L) okazało się nieskuteczne wobec szczepów tworzących biofilm, dla których oznaczona wartość MIC była wielokrotnie niższa: od 10,4 (*S. marcescens*) do 333 (*P. aeruginosa*) razy. Obecnie prowadzonych jest wiele prac nad strukturą i mechanizmem powstawania biofilmu. Brak skuteczności preparatów dezynfekcyjnych wobec bakterii tworzących biofilm może być spowodowany przez wiele czynników np.: niższe stężenie substancji aktywnej w biofilmie, lub zmienioną aktywność metaboliczną, a szczególnie enzymatyczną, niektórych bakterii w biofilmie (1,2). Prawdopodobnie, struktura biofilmu lub jego aktywność biochemiczna okazały się większą barierą wobec mononadsiarczanu potasu niż wobec obu pozostałych preparatów. Stwierdzono bowiem, że preparat zawierający mononadsiarczan potasu jest najmniej skuteczny spośród badanych związków wobec bakterii wykazujących zdolność do tworzenia biofilmu, mimo że określone wartości MIC dla mononadsiarczanu potasu były w zakresie 250-1000 mg/L, a skuteczność preparatu oznaczona metodą nośnikową wynosiła 100%.

WNIOSKI

1. Wzrost bakterii w postaci biofilmu znacznie obniża skuteczność preparatów dezynfekcyjnych, dlatego należy opracować skuteczne metody zapobiegania tworzeniu biofilmu przez mikroorganizmy.
2. Karaczany prusaki bytujące w szpitalach powinny być uznane nie tylko za uciążliwe szkodniki, ale także za przenosicieli/źródło patogennych bakterii opornych na środki dezynfekcyjne i/lub antybiotyki.

KW Pancer, AE Laudy, E Mikulak, A Gliniewicz, M Staniszevska, H Stypulkowska-Misiurewicz

BIOACTIVE EFFECTIVENESS OF SELECTED DISINFECTIVE AGENTS ON GRAM-NEGATIVE BACILLI ISOLATED FROM HOSPITAL ENVIRONMENT

SUMMARY

In our study the susceptibility (MIC) of chosen 21 strains of Gram-negative bacilli isolated in hospitals to disinfectant agents (glucoprotamin, sodium dichloroisocyanurate, potassium persulfate), the effectiveness of these disinfectants against selected bacteria and their effectiveness to biofilm forming bacteria was determined. It was found that glucoprotamin showed the highest activity to Gram-negative bacteria. Obtained MIC values for glucoprotamin (except 1 strain of *S. marcescens*) were 16-64 times lower than MICs for sodium dichloroisocyanurate and 4-32 times lower than MICs for potassium persulfate. The effectiveness of disinfectants containing potassium persulfate or sodium dichloroisocyanurate was 100% tested by carrier method. Glucoprotamin was ineffective against 2 out of 9 strains (18%): *E. cloacae* and *S. marcescens*. It was found that disinfectants were more effective against Gram-negative bacteria in carrier methods than for biofilm forming bacteria. 86% of bacteria growing 5 days on a catheter were resistant to working solution of disin-

fectant containing glucoprotamin (5200 mg/L) or potassium persulfate (4300 mg/L); 66,6% of tested bacteria were resistant to working solution of sodium dichloroisocyanurate (1795,2 mg/L). In our study the highest effectiveness to biofilm forming bacteria showed disinfectant with sodium dichloroisocyanurate, the lowest – with glucoprotamin.

PIŚMIENNICTWO

1. Parkar SG, Flint SH, Brooks JD. Physiology of biofilms of thermophilic bacilli-potential consequences for cleaning. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2003;30:553-60.
2. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial Biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999;284:1318-22.
3. Heczko P, Bulanda M, Jeljaszewicz J, i in. Nadzór nad zakażeniami szpitalnymi w Polsce – stan aktualny i możliwości rozwoju. *Przeegl Epidemiol* 2000;54:247-57.
4. Hsueh P-R, Chen M-L, Sun C-C, i in. Antimicrobial Drug Resistance in Pathogens Causing Nosocomial Infections at a University Hospital in Taiwan, 1981-1999. *Emerg Infect Dis* 2002;8:63-68.
5. Bielicka A, Janowska J, Jaszczuk E, i in. Dezynfekcja szpitalna – teoria i praktyka. Wyd 1. Warszawa: Wydawnictwa Lekarskie PZWL;1979:70
6. Gliniewicz A, Sawicka B, Czajka E. Ocena zagrożenia i możliwości zwalczania owadów – szkodników sanitarnych w szpitalach w Polsce. *Przeegl Epidemiol* 2003;57:329-34.
7. Czajka E, Pancer K, Kochman M i in. Charakterystyka bakterii wyizolowanych z powierzchni ciała karaczanów prusaków występujących w środowisku szpitalnym. *Przeegl Epidemiol* 2003;57: 655-62.
8. Czajka E, Gliniewicz A, Ziolkowska K, i in. Działanie środków dezynfekcyjnych na wybrane szczepy bakteryjne wyizolowane z karaczanów prusaków odłowionych ze środowiska szpitalnego. W: Materiały z V Międzynarodowego Sympozjum „Stawonogi pasożytnicze, alergogenne i jadowite – znaczenie medyczne i sanitarne”; 2003, maj 12-15, Kazimierz Dolny:27.
9. Krzywicka H, Janowska J, Tadeusiak B, i in. Metoda określania stężeń użytkowych preparatów dezynfekcyjnych. Metoda nośnikowa. Warszawa: Wydawnictwa Metodyczne PZH, 1993.

Otrzymano: 23.08.2004

Adres autorów:

Katarzyna Pancer
Państwowy Zakład Higieny,
ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa
tel: (22) 54 21 267; e-mail: kpancer@pzh.gov.pl