



Desinfektion: Sygehus versus fødevarerindustri

Et tværvidenskabeligt projekt om risikofaktorer og resistensproblematik ved brugen af biocider er for nyligt afsluttet. Den nye viden om udviklingen af resistens som følge af biocidpåvirkning gør det oplagt med en sammenlignende analyse af brugen af biocider til desinfektion på hospitaler og i fødevarerindustrien. Med udgangspunkt i projektets resultater sammenligner vi her desinfektion på hospitaler med mejeriindustrien som eksempel på fødevareraktivitet.

Af Ann Detmer¹, Michael Fink¹, Hanne Ingmer², Claus Jørgensen¹, Jette Kjeldgaard², Torben Wilde Schou¹ og Christina Skovgaard Vegge²

¹ DHI

² IVS, Københavns Universitet

Behovet for desinfektion, altså fjernelse af sygdomsfremkaldende mikroorganismer fra en overflade, er stort på både sygehuse og i fødevarerindustrien. Begge sektorer har behov for at kunne kontrollere især de sygdomsfremkaldende mikroorganismer. Fødevarerborne infektioner overført til mennesker via maden koster samfundet mange penge hvert år. WHO har estimeret, at globalt bliver 1 ud af 10 mennesker syge hvert år, og 420.000 dør som følge af en fødevarerborne infektion [1]. I Europa alene dør 5.000 mennesker hvert år af fødevarerborne sygdomme, typisk forårsaget af Norovirus, Campylobacter og Salmonella.

Infektion med Listeria kan have alvorlige følger for de, der bliver syge, og det estimeres, at 400 dør i Europa hvert år af Listeriainfektioner. Listeria smitter oftest fra konsum af rå grøntsager, "ready-to-eat"-mad, charcuteri, røget eller gravad fisk og bløde oste. Kontrol af forekomst af Listeria er derfor meget vigtig i fødevarerindustrien.

Infektioner erhvervet på hospitaler forårsager også samfundet store udgifter, og indtil for nyligt er disse kun blevet overvåget punktvis i Danmark.

Siden 2015 er overvågningen systematiseret, og den lagres automatisk i en database (HAIBA), der giver mulighed for kontinuerlig overvågning af en række sygdomme. Hospitals-erhvervede infektioner forårsager over 3.000 dødsfald om året og anslås at koste det danske sundhedsvæsen omkring 1,2 milliarder kroner [2]. Mange af de alvorlige hospitalserhvervede infektioner skyldes multiresistente bakterier. Det Europæiske center for sygdomsforebyggelse og kontrol (ECDC) har estimeret, at ca. 25.000 mennesker dør hvert år i Europa på grund af multiresistente bakterier [3].

DHI og Institut for Veterinær Sygdomsbiologi på Københavns Universitet har for nyligt afsluttet et forskningsprojekt finansieret af Miljøstyrelsen (MST-667-00187), som havde til formål at undersøge resistensproblematik i forbindelse med brugen af biocider. Kortlægning af brugen af desinfektionsmidler på et sygehus var en case i vores projekt, og da vi tidligere har erfaring fra fødevarerindustrien, syntes vi, det var interessant at se nærmere på forskelle og ligheder i brugen af biocider, relateret til risikoen for opbygning af antimikrobiel resistens i begge brugermiljøer.

Den centrale enhed for infektionshygiejne (CEI) på Statens Serum Institut (SSI) har ansvaret for udarbejdelsen af de Nationale Infektionshygiejniske Retningslinjer (NIR) i Danmark og dermed for retningslinjerne for brugen af desinfektionsmidler på hospitalerne. CEI har udarbejdet et konsensusnotat, der beskriver brugen af desinfektionsmidler ved rengøring på hospitaler, men der kan alligevel sættes spørgsmålstejn ved effekten af rengøringen mange steder. I løbet af foråret 2014 bragte TV Syd en række reportager, hvor journalister i forbindelse med uanmeldte besøg på sygehuse i Region Syddanmark tog bakterieprøver og fandt, at mere end hver anden seng overskred de vejledende grænseværdier for god rengøringsstandard.

Brug af desinfektionsmidler i mejeriindustrien

I mejeriindustrien bruges store mængder vand af drikkevandskvalitet til rengøring, og meget af rengøringen af lukket udstyr sker fuldt automatiseret ved brug af metoden "cleaning in place" (CIP). Åbent udstyr bliver oftest rengjort mere manuelt. Rengøringen sker trinvis og starter med, at organisk materiale fjernes (hovedsageligt manuelt) ved spuling med vand, hvorefter indskumning og kemikalierengøring sker [4]. Herefter spules udstyret med varmt vand, og desinfektion med henblik på bakteriedrab udføres derefter oftest med et oxiderende middel, hvorefter det igen skylles med koldt vand. Rengøringsprocessen overvåges med

egenkontrol af rengørings- og desinfektionsresultat. Både basiske og sure rengøringsmidler bruges dagligt eller efter behov grundet det brugte vands kemiske vandkvalitet. De mest anvendte desinfektionsmidler i fødevarerindustrien er natriumhypochlorit, hydrogenperoxid, pereddikesyre, sprit og diverse kvaternære ammoniumforbindelser [4]. Af disse midler er det hovedsageligt de kvaternære ammoniumforbindelser, som kan give problemer med resistensudvikling [5]. Det vigtigste for at opnå gode desinfektionsresultater er at sørge for at forhindre dannelse af biofilm, da denne beskytter bakterierne mod desinfektionsmidlets effekter. Den daglige rengøring med alternation af basiske og sure rengøringsmidler og efterfølgende desinfektion med især oxiderende desinfektionsmidler er en meget effektiv måde at kontrollere dannelsen af biofilm.

Laboratorieforsøg med biofilm af enterokokker på stålplader har vist, at pereddikesyre er det mest effektive desinfektionsmiddel, og at kvaternære ammoniumforbindelser og biguanider er de ringeste [6]. Denne desinfektionsmetode er dog meget ressourcekrævende og for at skåne miljøet og spare på vandforbruget, er der behov for yderligere forskning i, hvordan rengøringsproceduren fortsat kan være effektiv og samtidigt mindske belastningen af miljøet.

Brug af desinfektionsmidler på hospitaler

I vores projekt blev der taget svaberprøver fra både urene og nyligt rengjorte hospitalssenge og andet udstyr på et sjællandsk hospital med henblik på at finde stafylokok-bakterier, som er ansvarlige for mange hospitalserhvervede infektioner. Sengene

 **Svanholm.com**

Test de sidste nye Svanholm.com produkter:



Buglab BE3000 OD probe måler online OD i bakterie- og gær-fermenteringer lineært med DCW. Mange bobler + kraftig omrøring generer ikke!



LUCILLUS
Process Information Management System

Prøv Lucillus PIMS software til biotech.



Lucillus styrer Sartorius, Applikon, Daspip, Infors og Ambr hardware. Funktionaliteten øges og data fra offline analyzere lægges ind automatisk.

Numera sampling-system tager, håndterer og filtrerer prøver fra fermenteringer 24/7-365. Prøver analyseres automatisk med og uden celler.



nanoAnalytics

Ny cellZscope2 og cZs+ måler TEER og cellelags-kapacitans under hypoxia og som drug response monitor.



Svanholm.com - Jeres fermenterings og biomedical ekspert
www.svanholm.com - Tlf. 7026 5811 - mail@svanholm.com

Beregnet reduktion (%) af koncentrationen af *Staphylococcus spp.* på senge og hjælpemidler før rengøring og efter rengøring

	Reduktion (%)
Alle arter	78%
<i>S. epidermidis</i>	91%
<i>S. hominis</i>	78%
Andre arter ¹	*-15%
11-04-2016	93%
25-04-2016 ²	67%
09-05-2016	84%
Alle senge	82%
Alle børnesenge	74%
Alle juniorsenge	86%
Alle voksensenge	86%
Vugger	84%
Alle hjælpemidler ³	*59%
Alle sidegærder	96%
Alle kontrolpaneler ⁴	*57%
Alle fodgærder	87%

¹ Skyldes 4 fund af *S. capitis*, 2 *S. haemolyticus*, 2 *S. warneri* og 1 *S. aureus* på rengjorte objekter, især på kontrolpaneler og kørestole.

² Skyldes 4 fund af *S. capitis*, 1 *S. epidermidis*, 1 *S. hominis*, 2 *S. warneri* og 1 *S. aureus* på rengjorte objekter, især på kontrolpaneler.

³ Skyldes fund på 4 kørestole og 1 rollator på rengjorte hjælpemidler.

⁴ Skyldes 4 fund den 29/4 og 1 fund den 11/4.

* Ikke en signifikant reduktion vurderet på baggrund af, at nedre 95% konfidensinterval før rengøring overlapper MPN efter rengøring eller omvendt.

Tabel.

og udstyret er gjort rent og er desinficeret med en blanding af detergent og kvaternær ammoniumforbindelse (benzalkoniumklorid, BZK) enten i en automatisk sengevask eller manuelt. Efterfølgende blev der i laboratoriet udført qac gen¹-analyser på de fundne stafylokok-stammer.

I de 150 prøver, der blev taget både før og efter rengøring, blev der gjort 68 fund af stafylokokker. I fire af prøverne blev der fundet to arter. I alt var 64 prøver positive. Heraf 50 positive prøver ud af 79 prøver udtaget før rengøring, og 14 positive prøver udtaget efter rengøring. Når alle arter tages i betragtning, er koncentrationen bestemt til at være 0,05 MPN²/cm² før rengøring og 0,011 MPN/cm² efter rengøring. *S. epidermidis* og *S. hominis* er de hyppigst forekommende arter, men efter rengøring er koncentrationen af "øvrige arter" højst med en koncentration på 0,007 MPN/cm². Samlet set,

se tabel, observeres der en reduktion fra før rengøring til efter rengøring på 78%.

Koncentrationen af stafylokokker på de rengjorte senge var højst på kontrolpanelerne (0,016 MPN/cm²). Den højeste sandsynlighed (per berøring og per areal) for at komme i kontakt med stafylokokker via de rene senge på afdelingerne er derfor ved betjening af kontrolpaneler. Når sengene er i brug, er det sidegærderne, der forurenes mest. Her er koncentrationen af stafylokokker estimeret til 0,067 MPN/cm².

I denne undersøgelse har vi også analyseret forurening af sengene ved kintalsbestemmelse på en stafylokokselektiv agar. Der blev i gennemsnit fundet 6,4 CFU/cm² (27% positive prøver) på ikke rengjorte flader og 1,9 CFU/cm² (3% positive prøver) på rengjorte flader. Dette er i overensstemmelse med, hvad andre finder.

I en videre analyse af stafylokokker isoleret fra sengene blev der fundet qac-gener i 11 ud af 94 analyserede stafylokokker, heraf var der otte ud af 25 *S. hominis*, en ud af 44 *S. epidermidis*, en ud af tre *S. saprophyticus* og en ud af seks *S. warneri*. Der blev ikke fundet qac-gener i tre *S. aureus*, fem *S. haemolyticus* eller i otte *S. capitis*. Resultaterne viste, at vi ikke kunne dokumentere forskel på andelen af qac positive isolater før og efter rengøring. Guang-Sen, et al. har også vist, at andelen af stammer med qac-gener er højere blandt de andre stafylokokker end i *S. aureus* [7].

Med henblik på at undersøge, hvorledes bakterier reagerer på biocider, blev *S. aureus*-bakterier udsat for forskellige biocider og efterfølgende undersøgt det, om de havde ændret følsomhed overfor antibiotika, eller om de havde ændret produktion af toksiner. Resultaterne viste, at man ikke kunne påvise ændringer i udtryk af bl.a. toksingenet, og at der ligeledes ikke kunne påvises øget antibiotika-resistens i de biocidpåvirkede bakterier. Disse resultater tyder på, at der for *S. aureus* ikke syntes at være udviklet resistens overfor antibiotika i bakterier, som har været udsat for biocider.

Diskussion

De sidste to år har der kun været få tilbagekaldte mejeri-produkter produceret i Danmark. Tilbagekaldelser forårsaget af Listeria-bakterier [8], hvorfor vi konkluderer, at den benyttede vask og desinfektion inden for mejeriindustrien fungerer tilfredsstillende set ud fra en fødevarerhygiejnisk synsvinkel. Hvis man kigger på muligheden for resistensudvikling blandt bakterier inden for den danske mejeriindustri, så bedømmer vi den som ringe med den ovenfor beskrevne rengøringsprocedure.

Hvis man bruger mere QACs i stedet for de oxiderende midler, bliver konklusionen måske en anden, da det er påvist, at Listeria-bakterier kan skaffe sig mekanismer til at modvirke effekten af QACs, hvis selektionstryk fra subletale doser af QACs er til stede [9]. Der er dog en lavere udvikling af resistens blandt Listeria-stammer end blandt eksempelvis *E. coli*-stammer og resistensudviklingen mod QACs ser ud til at være afhængig af, hvilken serotype stammerne tilhører [5].

Inden for sygehussektoren, som bruger mange QACs, vurderes det, at muligheden for resistensudvikling er større end inden for mejeriindustrien, hvor der er mindre brug af QACs som desinfektionsmiddel. Vi fandt også stafylokokker på sengene efter afsluttet desinfektion. Ikke mange og ingen *S. aureus*, men en række andre stafylokokker. Det var også blandt disse andre stafylokokker, at vi fandt de fleste qac-resistensgener. Disse stafylokokker med resistensgener bliver ved med at cirkulere rundt på sygehuset, og de bliver jævnlige udsat for BZK. Det er muligt, at det her kan selekteres for resistens. Vi kunne dog ikke dokumentere forskel på andelen

af qac positive-isolater før og efter rengøring og desinfektion, men vi har kun målt over et meget kort tidsrum. Det er muligt, at det havde været muligt at påvise i en længerevarende undersøgelse.

Det er kendt fra undersøgelser hos kontaktlinsebrugere, at andelen med qac positive stafylokok-isolater fra konjunktiva øges, når der bruges desinfektionsvæske med quaternære ammoniumforbindelser, idet koncentrationen, af hensyn til øjnenes beskyttelse, ikke er høj nok til at slå de resistensgen-bærende stammer ihjel [7]. MIC³- og MBC⁴-værdien hos de qac gen-bærende stammer var også forøget. I løbet af en seks måneders periode øgede prævalensen af qac-gener lineært i både *S. aureus* og i de andre stafylokokker [7].

Hvad der sker i afløbet, når koncentrationen af BZK er ledt ud til subletale koncentrationer, har vi ikke haft mulighed for at studere i dette projekt, men det er sandsynligt, at forekomsten af BZK i afløbet sammen med forskellige mikroorganismer kan fremme udvikling af resistens. Da QACs generelt ikke er let bionedbrydelige, vil de ende i naturen efter brug.

Et andet område, hvor der bruges meget QACs og hovedsageligt i subletale doser, er inden for kosmetikområdet. Udover brugen som konserveringsmiddel i kosmetiske produkter, bruges QACs som hårkonditioner, der giver fylde og som anti-statisk middel. Det er muligt, at brugen af QACs i kosmetiske produkter medvirker til at øge resistensen blandt hudbakterier som eksempelvis stafylokokker [10]. Dette er dog ikke specifikt undersøgt. Vi kunne i dette projekt ikke påvise, at biocideksponering øger virulensgen-ekspressionen i *S. aureus* [11]. Det er dog oplagt at lave en uddybende undersøgelse om, hvordan kosmetisk brug af QACs kan have indflydelse på en mulig resistensproblematik.

Konklusion

I vores forsøg med BZK udviste både *S. aureus* og *L. monocytogenes* potentiale for adaptation, idet MIC-værdien ændrede sig, men det var ikke muligt at påvise bedre overlevelse af de eksponerede stammer ved tilstedeværelse af BZK i sammenligning med ikke-eksponerede. Dette tyder på, at der kan ske ændringer i bakterierne, som kan lede til øget tolerance overfor BZK, også selvom stammerne som udgangspunkt ikke indeholder mobile resistensgener.

E-mail:

Ann Detmer: ad@dhigroup.com

Referencer

1. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015. World Health Organization. ISBN 978 92 4 156516 5.
2. <http://www.ifr.org/service-robots/case-studies/blue-ocean-robotics-denmark-ifr-robot-supplie-786/> - Accessed September 2016.
3. ECDC/EMA JOINT TECHNICAL REPORT The bacterial challenge: time to react EMEA doc. ref. EMEA/576176/2009 ISBN 978-92-9193-193-4 © European Centre for Disease Prevention and Control, 2009.
4. Danmarks Tekniske Universitet (2012) Sektorudviklingsrapport Rengøring på slagterier og mejerier i Danmark. Udvikling af fremtidens effektive, ressourcebesparende teknologier. <http://www.dtu.dk/samarbejde/ais-artikler/2012/05/rengoeringsteknologier-og-processer-paa-danske-mejerier-og-slagterier?id=0c27e606-08ba-495e-a746-62560e842db5>.
5. Soumet C, Méheust D, Pissavin C, Le Grandois P, Frémaux B, Feurer C, Le Roux A, Denis M, Maris P. (2016). Reduced susceptibilities to biocides and resistance to antibiotics in food associated bacteria following exposure to quaternary ammonium compounds. J Appl Microbiol. 2016 Aug 2. doi: 10.1111/jam.13247.
6. da Silva Fernandes M, Kabuki DY, Kuaye AY. (2015). Biofilms of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolated from the processing of ricotta and the control of these pathogens through cleaning and sanitization procedures. Int J Food Microbiol. 200 p. 97-103.

7. Guang-sen, S., Boost, M. & Cho, P. (2016). Prevalence of antiseptic resistance genes increases in staphylococcal isolates from orthokeratology lens wearers over initial six-month period of use. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 35: 955. doi:10.1007/s10096-016-2622-z.
8. Søg efter pga Listeria tilbagetrukne fødevarer <https://www.foedevarestyrelsen.dk/Foedevarer/Foedevareberedskab/Sider/S%C3%B8g-i-tilbagetrukne-f%C3%B8devarer.aspx#k=listeria#s=11>.
9. Martínez-Suárez JV, Ortiz S and López-Alonso V (2016) Potential Impact of the Resistance to Quaternary Ammonium Disinfectants on the Persistence of *Listeria monocytogenes* in Food Processing Environments. Front. Microbiol. 7:638. doi: 10.3389/fmicb.2016.00638.
10. VKM. (2009) Quaternary ammonium compounds in cosmetic products Risk assessment of antimicrobial and antibiotic resistance development in microorganisms. Opinion of the Panel on Biological Hazards of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety ISBN: 978-82-8082-339-7.
11. Biocider - Risikofaktorer og resistens Rapport i serien "Bekæmpelsesmiddelforskning fra Miljøstyrelsen" MST-667-00187. Forfattere: Kjeldgaard, J.², Vegge, C.S.², Schou, T.W.¹, Fink, M.¹, Jørgensen, C.¹, Detmer, A.¹, Ingmer, H.². Institutioner: ¹ DHI og ² IVS, Københavns Universitet.

Fodnoter

1. Qac-gener koder for resistens til en række kationiske stoffer, blandt andet de kvarternære ammoniumforbindelser, og de findes i forskellige varianter. De virker via effluxpumper i cellevæggen, som transporterer fremmede stoffer ud.
2. MPN-metoden efter Most Probable Number eller det mest sandsynlige antals metode, hvor det bliver dyrket i en række rør og efter antal positive rør slås det sandsynlige antal bakterier op i en tabel.
3. MIC, Minimum inhibitory concentration.
4. MBC, Minimum bactericidal concentration.

Busch Vakuum teknologi til den kemiske industri

Busch tilbyder et bredt produktsortiment, så du kan finde den bedste vakuum løsning til din kemiske eller farmaceutiske anvendelse.

Stol på en pålidelig vakuum partner.
Stol på Busch.



Busch Vakuumtechnik A/S
+45 87 88 07 77 | info@busch.dk
www.busch.dk

