Iranian Journal of Biological Sciences.2023; 17(4):23-33

Original Article

Iranian Journal of Biological Sciences

https://zisti.iauvaramin.ac.ir

Comparison and evaluation of the effect of disinfectants Microten, Savlon (Strymid-C) and benzalkonium chloride on *Escherichia coli*

Faezeh Matin 1, Seyyedeh Masumeh Mirnurollahi 2,, Roudabeh Behzadi Andouhjerdi 3*

1. Msc Graduated, Department of Genetics, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Department of Genetics, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Assistant Professor, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

place of research: Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Article Info

Article History:
Recived 01.31.2023
Revised 03.04.2023
Accept 06.11.2023
Online 06.11..2023

KeyWords:
Escherichia coli
Disinfectant
Savlon
Benzalkonium
Microten

***Corresponding author:**
E-mail address
faezehmatin@yahoo.com
*mmirnorollahi@yahoo.com
rahabehzadi@yahoo.com

Abstract

Introduction: Due to the importance of disinfection and prevention of diseases caused by Escherichia coli, sometimes the companies producing these disinfectants have exaggerated and it causes the employees of health centers and hospitals to use these products as sterilizers to sterilize surfaces and places without conducting tests. If these products do not have the recommended efficiency and effectiveness mentioned in the instructions of the manufacturer, it will cause irreparable losses

Aim: This study was carried out in 1400 with the aim of evaluating the effect of three disinfectants microten, benzalkonium chloride, and savlon with recommended dilutions on Escherichia coli isolates from general hospital wards.

Materials and methods: : In this study, 50 samples were collected from the general departments of the hospital, and *E. coli* were analyzed using biochemical and molecular methods. *E. coli* (G4S45) was used as a control. Bacteria were cultured using the pour plate method using the pharma dilution method according to the American USP standard. Finally, the effect of the mentioned disinfectants on *E. coli* was investigated.

Results: 19 samples were positive for the presence of E. coli and three disinfectants in 5, 10 and15minutes after incubation and performing the pour plate method caused a 100% lack of growth.

Conclusion: The results showed that the efficiency of the three tested disinfectants was 100% effective according to the manufacturer's instructions.

Cite this article: Matin F., Mirnurollahi S.M*, Behzadi Andouhjerdi R,Comparison and evaluation of the effect of disinfectants Microten, Savlon (Strymid-C) and benzalkonium chloride on *Escherichia coli* .Iranian Journal of Biological Sciences. 2023; 17(4): 23-33

10.30495/zisti.2023.1979088.1154 DOR 20.1001.1.17354226.1402.17.4.2.2
Publisher: Islamic Azad University of Varamin – Pishva branch Print ISSN: 1735-4226 Online ISSN: 1727-459X
This is an open access article under the: https://creativecommons.org/license/by-nc/4.0/

مقاله تحقیقی
دانش زیستی ایران
https://zisti.iauvaramin.ac.ir

مقایسه و بررسی تاثیر سه ماده ضدعفونی کننده میکروتن، ساولن (ستریمید-سی)، بنزالکونیوم کلراید برجدایه‌های *اشرشیا کلای*

فائزه متین ۱، سیده معصومه میرنوراللهی ۲،*، رودابه بهزادی اندوهجردی ۳

۱. فارغ التحصیل مقطع ارشد، گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. استادیار، گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳. استادیار، گروه ژنتیک، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

محل انجام تحقیق :دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله
ارسال ۱۴۰۱/۱۱/۱۱
بازنگری ۱۴۰۱/۱۲/۱۳
پذیرش ۱۴۰۲/۰۳/ ۲۱
نمایه ۱۴۰۲/۰۳/۲۱

کلمات کلیدی
اشرشیاکلی
ضد عفونی کننده
ساولن، میکروتن
بنزالکونیوم کلراید

* نویسنده مسؤل

faezehmatin@yahoo.com
*mmirnorollahi@yahoo.com
rahabehzadi@yahoo.com

چکیده

مقدمه: با توجه به اهمیت ضدعفونی کردن و پیشگیری از بیماری‌های ناشی از *اشرشیا کلای*، گاهی شرکت‌های تولیدکننده این ضدعفونی کننده‌ها در معرفی محصولات خود اغراق نموده و باعث می‌شود کارکنان مراکز بهداشتی و بیمارستان‌ها بدون انجام آزمایشات، این محصولات را به عنوان ضدعفونی‌کننده برای ضدعفونی کردن سطوح و اماکن به‌کار ببرند، اگر این محصولات کارایی و اثربخشی توصیه شده‌ای که در دستورالعمل شرکت سازنده به آن اشاره کرده، را نداشته باشند، ضررهای جبران‌ناپذیری خواهد داشت.

هدف: این مطالعه در سال ۱۴۰۰ با هدف ارزیابی تاثیر سه ماده ضدعفونی‌کننده میکروتن، بنزوالکونیوم کلراید، ساولن با رقت‌های توصیه شده بر روی جدایه‌های *اشرشیاکلی* از بخش‌های عمومی بیمارستان انجام شده است.

مواد و روش ها: در این مطالعه از نوع پژوهشی، تعداد ۵۰ نمونه از بخش‌های مختلف بیمارستان جمع‌آوری شده و باکتری *اشرشیاکلی* با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و روش مولکولی مورد بررسی قرار گرفت. از باکتری *E.coli* (G4540) به عنوان کنترل استفاده گردید. با استفاده از روش رقت‌سازی فارما مطابق با استاندارد واحد دارویی امریکا کشت باکتری‌ها به روش پورپلیت صورت گرفت و در آخر تاثیر مواد ضدعفونی کننده نام برده شده روی باکتری *اشرشیاکلی* بررسی شد.

نتایج: از مجموع نمونه‌های بررسی شده ۱۹ نمونه E.coli مثبت بوده و سه ماده ضدعفونی کننده در زمان های ۵،۱۰،۱۵ دقیقه پس از انکوباسیون و انجام روش پورپلیت باعث عدم رشد ۱۰۰ درصد گردیدند.

نتیجه گیری: نتایج کار ما نشان دادند که کارایی سه ماده ضدعفونی‌کننده مورد آزمایش طبق دستورالعمل شرکت سازنده ۱۰۰ درصد موثر بوده است.

شیوه آدرس‌دهی این مقاله : متین ف، میرنوراللهی س.م*، بهزادی اندوهجردی ر. مقایسه و بررسی تاثیر سه ماده ضدعفونی کننده میکروتن، ساولن (ستریمید-سی)، بنزالکونیوم کلراید برجدایه‌های *اشرشیا کلای*.مجله دانش زیستی ایران. ۱۴۰۱ ؛۱۷(۴):۲۳-۳۳

DOR 20.1001.1.17354226.1402.17.4.2.2
10.30495/zisti.2023.1979088.1154

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا شاپا چاپی: ۱۷۳۵-۴۲۲۶ شاپا الکترونیکی: ۲۷۱۷-۴۵۹X نویسندگان: © حق مؤلف

مقدمه:

یکی از دلایل مهم مرگ و میر در جهان، عفونت‌های بیمارستانی هستند که می توانند در اثر مقاومت میکروارگانیسم‌ها در برابر مواد ضدمیکروبی ایجاد گردند (۱). طبق مطالعات مرکز اروپایی پیشگیری و کنترل بیماری ها (ECDC) سالانه حدود ۳۳۰۰۰ نفر در اروپا در اثر عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مقاوم به چند دارو جان خود را از دست می دهند (۲). طبق گزارشی که سال ۲۰۱۹ میلادي در آمریکا انجام شد، تعداد ۷۲۲ هزار مورد عفونت بیمارستانی و حدود ۷۵ هزار مرگ مرتبط با عفونت بیمارستانی را گزارش کرد (۳). یکی از عوامل مهم شیوع عفونت‌هاي بیمارستانی، استفاده نادرست از ضدعفونی‌کننده‌ها می‌باشد. شناخت اصول ضدعفونی کردن و آگاهی از ماهیت و عملکرد ضدعفونی کننده‌ها و عوامل موثر بر کارایی آن‌ها نقش اساسی در موفقیت ضدعفونی کردن یا استریلیزاسیون دارد (٤) و باید اصول و پایه، تکنیک‌های استریل و ضد عفوني کردن به‌خوبی مطالعه و شناخته شود، تا بتوان روش‌هاي بکار گرفته در پزشکي بالیني را بهبود بخشید. ضدعفونی کردن به دو روش فیزیکی و شیمیایی صورت می‌گیرد. در روش‌های فیزیکی از حرارت مرطوب (اتوکلاو، جوشاندن و پاستوریزاسیون) و حرارت خشک (فور، سوزاندن، اتوکردن، نورآفتاب و اشعه ماورای بنفش) استفاده می‌شود. در روش شیمیایی از مواد شیمیایی مختلفی مانند آب ژاول (هیپوکلریت سدیم)، کلر، الکل، کرئولین، بتادین، ساولن، آهک استفاده می شود (۵). با وجود اینکه تکنیك‌های ضدعفونی کردن دائما در حال تحول و پیشرفت می‌باشد؛ ولی همچنان در بسیاري از بیمارستان‌ها و مراکز درمانی در کشور ما برای استریلیزاسیون و ضدعفونی‌کردن، روش‌هاي سنتي بکار می‌رود و هنوز بکارگیری تکنیک‌ها و روش‌های نوین و استفاده از گندزداها براي استریل کردن دستگاه‌ها و وسائل پزشکي از قبیل دستگاه اندوسکوپي، برونکوسکوپي، لوازمات جراحي، اتاق عمل، بخش‌هاي مختلف سوختگي، پانسمان و تزریقات و ICU وCCU ، کف راهروها و سطوح فیزیکي بیمارستان‌ها و ... بخوبي جا نیفتاده است (۸-٦). دیس‌اینفکتان‌ها عبارتند از ماده‌اي که براي کم کردن بار میکروبي از روي سطوح اشیاء و اجسام استفاده مي‌شود و آنتی‌سپتیک‌ها ترکیباتي می‌باشند که براي سطوح جاندار (پوست و مخاط) استفاده می‌شوند و منجر به کاهش میکروارگانیسم‌هاي موجود زمینه‌اي مي‌گردند (۱۲-۱۰،٦). البته در چند سال اخیر، ضدعفوني کننده‌ها و گندزداها کارایی خود را روی میکروارگانیسم‌هاي بیمارستانی بویژه باکتری‌های *اشریشیاکلي*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *کلبسیلا*، *انتروباکتر*، *استافیلوکوك اورئوس* و *استافیلوکوك اپیدرمیدیس* از دست داده‌اند که از دلایل آن می‌توان به ساختار فیزیکي و شیمیایي بسیاري از ضدعفونی کننده‌ها و گندزداها، استفاده نادرست از آنها و فیزیك نامناسب بیمارستان‌ها، اشاره نمود (۱٦-۱۳). همچنین، از دیگر دلایل مهم در عدم کارآیی مواد ضدعفوني‌کننده و گندزداها در بیمارستان‌ها ممکن است عدم بکارگیری تکنیك‌ها مطابق با دستورالعمل کارخانه یا شرکت سازنده مواد ضدعفونی‌کننده و یا عدم تهیه غلظت‌هاي مؤثر استاندارد شده و نیز رقیق نمودن بیش از اندازه ضدعفونی‌کننده‌ها به دلیل صرفه‌جویي یا عدم دقت در تهیه آن‌ها باشد (۱۵،۱۷). استفاده نادرست از مواد ضدعفونی‌کننده منجر می‌شود که باکتری‌ها در معرض غلظت‌های غیرکشنده ضدعفونی‌کننده‌ها قرار گیرند که در نتیجه آن ممکن است منجر به توسعه مقاومت گردد. تاکنون شرکت‌های مختلف زیادی، ترکیبات و مواد ضدعفونی کننده گوناگونی تولید کرده‌اند که هر کدام دارای معایب و مزایایی می باشند. از آنجایی که شرکت‌های سازنده در اغلب موارد در توصیف محصول خود اغراق می‌نمایند، باعث عدم کارایی مواد ضدعفونی و در نتیجه ایجاد خسارت‌های جبران‌ناپذیری می‌گردند، به همین دلیل گاهی اوقات انتخاب یک ضدعفونی کنندهٔ مناسب کار مشکلی است. در نتیجه، قبل از استفاده از این مواد، باید آزمون‌هایی مبنی بر بررسی صحت نکات ذکر شده توسط شرکت‌های سازنده صورت گیرد (۱۸،۱۹). *اشریشیا کلای* یکی از مهم‌ترین باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه بوده و یک باسیل گرم منفی است و عامل عفونت‌های زیادی از قبیل سپسیس، گاستروانتریت، مننژیت، عفونت صفراوی و کیسه صفراوی، عفونت زخم، پنومونی، پریتونیت و خصوصا عفونت اداری و عامل نارسایی کلیه در کودکان و نیزعفونت‌های بیمارستانی در بخش مراقبت‌های ویژه است. این باکتری آلوده‌کنندهٔ لوازم پزشکی و عامل

عفونت متقاطع در بیمارستان‌ها نیز می‌باشد (۲۰،۲۱). هدف از این مطالعه بررسی اثر سه ضدعفونی کنندهٔ میکروتن، ساولن (ستریمید-سی) و بنزالکونیوم کلراید با رقت‌های توصیه شده توسط کارخانه تولید کننده در مهار رشد جدایه‌های باکتری *اشرشیا کلای* جدا شده از بخش‌های مختلف بیمارستان می‌باشد.

مواد و روش ها:

جمع‌آوری نمونه

در این تحقیق، از اردیبهشت ۱٤۰۰، ۵۰ نمونه از بخش‌های مختلف بیمارستان تریتا با استفاده از فرمول کوکران با اطمینان ۹۵٪ و یک سوش استاندارد (G٤S٤٥) *E.coli* از مجموعه میکروبیولوژی انستیتو پاستور ایران جمع‌آوری گردید.

تأیید نمونه های باکتریایي

به منظور تایید هویت ۵۰ جدایه *اشرشیا کلایی* جدا شده از بخش‌های عمومی بیمارستان، کشت استریک روی محیط مکانکی آگار از نمونه‌های باکتریایی تهیه شده انجام و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت احیا شد. کشت خطی یک تا دو کلنی مشابه روی محیط ائوزین متیلن بلو جهت خالص‌سازی و ایزوله کردن باکتری‌های تکثیرشده انجام شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت زمان ۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید تا کلنی‌های تک و خالص رشد نمایند. در طي مراحل تشخیص از روش‌های استاندارد باکتری‌شناسي مربوط به شناسایي افتراقی خانواده انتروباکتریاسه استفاده شد. ابتدا نمونه‌ها از نظر مورفولوژی با رنگ‌آمیزی گرم و سپس از نظر بیوشیمیایی، جهت تأیید تشخیص باکتری رشد کرده، مورد آزمایش قرار گرفتند، بطوری‌که آنها را به محیط‌های اکسیداز، ONPG و کشت روی محیط‌های آزمایشگاهي TSI، سیمون سیترات، متیل رد، SIM و اوره انتقال داده و از هویت آنها اطمینان حاصل گردید(کلیه مواد و محیط‌های کشت از شرکت Merckتهیه گردید). به این ترتیب به منظور بررسی توانایی باکتری در مصرف قندهای گلوکز، لاکتوز، ساکارز و نیز تولید گاز سولفید هیدروژن، واکنش اسیدی و تخمیر قند، از کلنی‌های رشد یافته در محیط TSI کشت داده شد. در مرحلهٔ بعد از کلنی‌ها در محیط SIM کشت تهیه شد تا تولید SH۲، اندول و حرکت (Motility) باکتری تست شود.

تایید مولکولی اشرشیا کلی

کشت باکتري‌ها جهت استخراج ژنوم و سپس استخراج DNA ژنومی با استفاده از فنل- کلروفرم انجام گردید (۲۲).

واکنش PCR جهت تکثیر ژن *lacZ*

به منظور بررسی وجود ژن *lacZ* در نمونه‌های *اشرشیا کلی*، از تکثیر ژن *lacZ* استفاده شد. توالی پرایمرها در جدول ۱ ذکر شده است. برنامه دمایی PCR عبارت بود از دمای واسرشت اولیه ۹۵C به مدت ۵ دقیقه، واسرشت در دمای ۹۵Cبه مدت ٦۰ دقیقه، اتصال در دمای ۵۸C به مدت ٦۰ دقیقه، سنتز در دمای ۷۲C به مدت ۵ دقیقه و سنتز نهایی در دمای ۷۲C به مدت ۱۰ دقیقه. مقادیر مورد استفاده در PCR عبارت بودند از: ۰/۵ میکرولیترDNA الگو، ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X، ۸/. میکرو لیتر پرایمر ها، ۰/۵ میکرولیتر مخلوط dNTP، ۰/۵ میکرولیتر Mgcl۲، ۰/۲۵ میکرولیتر آنزیم Taq و ۱۹/۱۵ میکرولیتر آب مقطر با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر. سپس الکتروفورز در ژل ۱/۵٪ انجام گردید.

بررسي اثر ضدعفوني کننده‌ها بر روی سویه های اشرشیا کلای

این ماده ضدعفونی‌کننده از شرکت لابراتوار شهر دارو تهران-ایران تهیه شد و طبق دستورالعمل درج شده بر روی ساولن با شماره پروانه ٦۷-SH-۰۱۳ رقت ۱ به ۲۰۰ آن موثر خواهد بود که برای این منظور، ۱ میلی‌لیتر ضدعفونی کننده در ۱۹ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل شد. سپس حجم ۱ میلی‌لیتر از استوک به دست آمده در ۹ میلی‌لیتر لاکتوز براث حل گردید. طبق دستورالعمل نوشته شده روی بنزالکونیوم کلراید با شماره پروانه T.D-۱٤۰-۹۳ از سازمان دامپزشکی کشور رقت ۱ به ۲۰۰ این ضدعفونی کننده موثر خواهد بود. برای تهیهٔ استوک ۱ به ۲۰۰ از این ضدعفونی‌کننده، مقدار ۱ میلی‌لیتر از بنزالکونیوم کلراید در ۱۹ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل گردید. سپس مقدار ۱ میلی‌لیتر استوک به‌دست آمده در ۹ میلی‌لیتر محیط لاکتوز براث حل شد. طبق دستورالعمل نوشته شده بر روی میکروتن (یونیدنت سوئیس) شرکت رضا راد – ایران، رقت ۱ به ۲۰۰ این ضدعفونی کننده موثر خواهد بود. برای تهیهٔ استوک ۱ به ۲۰۰ از این ضدعفونی کننده، مقدار ۱ میلی‌لیتر از میکروتن در ۱۹ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل گردید. سپس مقدار ۱ میلی‌لیتر از استوک به دست آمده در ۹ میلی‌لیتر محیط لاکتوز براث حل شد. به منظور بررسی اثر ضدعفونی‌کننده‌ها بر روی سویه‌های باکتری *اشرشیا کلای* جدا شده از بیماران، از کشت خالص هر سوش، کدورتی معادل نیم مک فارلند ($1/5*10^8$ CFU/ml) تهیه گردید (۲۳). سپس برای هر ماده ضد عفونی کننده ۳ لوله اختصاص داده شد. به سه لوله آزمایش استریل، ۹ میلی‌لیتر لاکتوز براث به همراه ۱میلی‌لیتر استوک باکتری و یک میلی‌لیتر استوک ماده ضدعفونی کننده اضافه شد. سپس لوله‌ها به سه گروه تقسیم شدند، گروه اول به مدت ۵ دقیقه، گروه دوم به مدت ۱۰ دقیقه و گروه سوم به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. در مرحله بعدی از هر لوله یک میلی‌لیتر برداشته و به لوله استریل جدید حاوی ۹ میلی‌لیتر محیط لاکتوز براث اضافه کرده و از آن تا شش مرحله، رقت‌سازی انجام شد. در نهایت کشت به روش پورپلیت از لوله‌ها انجام گرفت. در انتها رشد یا عدم رشد کلنی‌های باکتری در پلیت‌های نوترینت آگار مورد بررسی قرار گرفت. لوله کنترل شامل ۹ میلی‌لیتر محیط کشت لاکتوز براث به همراه یک میلی‌لیتر استوک باکتری بود که به روش پورپلیت تهیه گردید و ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. نتایج و اطلاعات بدست آمده در مراحل مختلف، بوسیله نرم‌افزار آماری SPSS ورژن۲۳ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در این پژوهش از آزمون آماری ANOVA way-One، آنالیز Tukey با ضریب اطمینان ۹۵٪ استفاده شده و سطح معناداری نتایج به صورت P<0/05 گزارش شد.

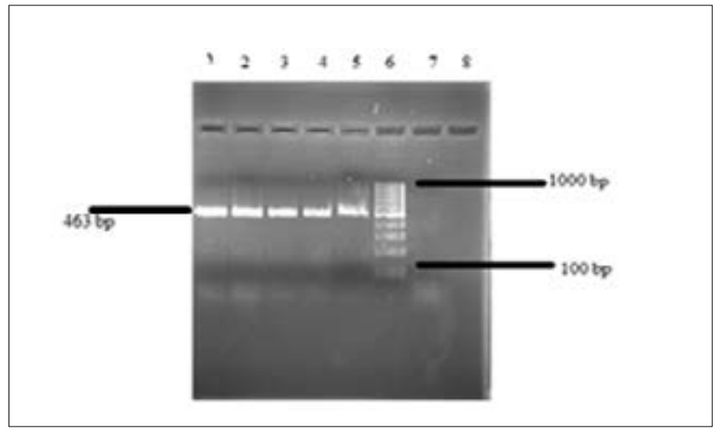
جدول ۱: توالی پرایمرlacZ

پرایمر	توالی پرایمر ٬۳-٬۵
Lac Z F	ATG AAA GCT GGC TAC AGG AAG GCC
Lac Z R	GGT TTA TGC AGC AAC GAG ACG TCA
	R; Reverse primer F; Forward primer

نتایج:

تکثیر ژن

با توجه به طراحی پرایمرهای ژن *lacZ*، انتظار ایجاد باندهای تکثیر bp ٤٦٣وجود داشت و همان طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود. باندهای تکثیر ژن هدف، در اندازه مدنظر ظاهر شده‌اند که نشان دهنده وجود ژن مدنظر در سویه‌های *اشرشیا کلی* می‌باشد (شکل ۱).

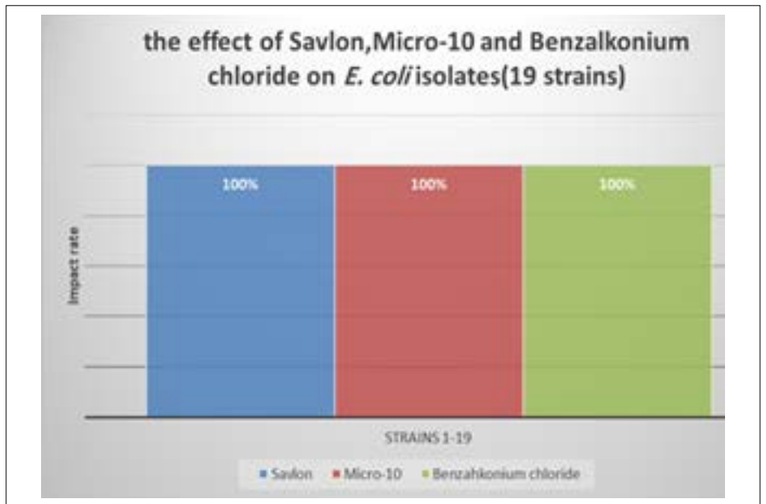


شکل ۱: نتایج تکثیر ژن *lacZ* در سویه‌های *اشرشیا کلی*. ستون ۱ تا ٥: نمونه‌های *اشرشیا کلی*. ستون ٦: مارکر DNA ۱۰۰ bp+ و ستون ۷ و ۸: کنترل منفی.

بررسي تأثير هر يک از ضدعفوني كننده‌هاي مورد آزمايش بر روی جدايه‌هاي *اشرشيا كلای*

نتایج به دست آمده از این تحقیق به منظور مطالعه اثر ضدمیکروبی ستریمید- سی، بنزالکونیوم کلراید و میکروتن در از بین بردن جدایه‌های *اشرشیا کلای* جدا شده از عفونت‌های انسانی بیمارستان‌ها با هدف اینکه آیا غلظت پیشنهادی در دستورالعمل کارخانهٔ تولیدی هر ضدعفونی کننده در از بین بردن سویه‌های *اشرشیا کلای* مراکز بیمارستانی موثر است یا خیر و اینکه آیا الگوی دستورالعمل کارخانهٔ سازنده صحیح است، مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که ضدعفونی کننده‌های ساولن، بنزالکونیوم و میکروتن موجب نابودی کامل باکتری‌ها در زمان‌های ۵،۱۰،۱۵ دقیقه شده و ۱۰۰ ٪ بر روی باکتری *اشرشیا کلای* موثر بوده‌اند و در پلیت‌های کشت باکتری هیچ گونه رشدی مشاهده نگردید، در حالی‌که در نمونه‌های کنترل، رشد باکتری در پلیت‌ها مشهود بود.

نمودار ۱ اثر ضد عفونی کننده ها در سه زمان مورد آزمایش بر روی ۱۹ سویه *اشرشیا کلای* را با استفاده از از تست آماری ANOVA نشان می دهد.



شکل ۲: اثر ساولن، میکروتن و بنزالکونیوم بر روی *اشرشیاکلای*

بحث:

محلول میکروتن و بنزالکونیوم کلراید و ستریمید-سی نمونه‌هایی از نسل جدید ترکیبات ضدعفونی کننده بر پایه آمونیوم هستند که امروزه برای ضدعفونی مراکز درمانی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۲٤). ستریمید-سی یا ساولن (Savlon) دارای خاصیت باکتریوساید و بدون اثرات سمی می‌باشد. ساولن به طور وسیعی به عنوان ماده ضدعفونی‌کننده کار برد دارد و جهت شست و شو و ضدعفونی وسایل و لوازم بیمارستانی، ضدعفونی اتاق عمل و همچنین در پانسمان زخم‌ها و سوختگی‌ها، و... به‌کار می رود (۲۵). بنزالکونیوم کلراید به عنوان یک ماده ضدعفونی‌کننده قوی، کاربردهای زیادی در بخش‌های مختلف از جمله در صنعت، پزشکی و استفاده خانگی دارد (۲۹-۲٦). این ماده ضدعفونی‌کننده، آمونیوم چهارتایی (Quaternary Compounds Ammonium, QAC) و دارای اثر باکتری‌کشی قوی با طیف وسیع می‌باشد (۳۰). محلول میکروتن، یک نمونه مطرح از نسل جدید ترکیبات آمونیوم چهارتایی می‌باشد که توسط استانداردهای معتبری از کشورهای مختلف مورد بررسی و آزمایش قرار گرفته و تأیید شده است (۳۵-۳۱). این ترکیبات عنوان ضدعفونی‌کننده وسائل و تجهیزات پزشکی بطور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند. تحقیقات نشان داده‌اند که این ترکیبات دارای خواص قارچ‌کشی، باکتری‌کشی و ویروس‌کشی می‌باشند، اما قادر به کشتن اسپور باکتری‌ها نیستند (۳۱). El-Bana و همکاران (۲۰۱۹) اثر غلظت‌های غیرکشندهٔ بنزالکونیوم کلراید بر مقاومت آنتی‌بیوتیکی، الگوی رشد و تشکیل بیوفیلم جدایه‌های *سودوموناس آئروجینوزا* را بررسی نمودند و نتایج تحقیقات آن‌ها افزایش تشکیل بیوفیلم و مقاومت به آنتی بیوتیک در ٦۰ درصد از جدایه‌ها را در غلظت‌های بکار رفته نشان داد (۳۷). Vijaya و همکاران (۲۰۱٦) نشان دادند که *سویه‌های آیروژینوزا* با افزایش ۲۲ درصد مقاومت چندداروی و نیز کاهش مقاومت نسبت به ضدعفونی کننده بنزالکونیوم کلراید مواجه می‌باشند (۳۸). Langsrud و همکاران در سال ۲۰۰۳ تأثیر بنزالکونیوم کلراید در مقاومت *اشرشیا کلی* نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها دو سویه *اشرشیا کلی* را در مجاورت با بنزالکونیوم کلراید و کلرامفنیکل کشت دادند و بعد از تماس باکتری‌ها با مهارکننده‌ها، آن‌ها را با شش برابر MIC مواجه

کردند و متوجه شدند که باکتری‌هایی که به بنزالکونیوم کلراید مقاوم شده‌اند، نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز مقاومت دارند (۳۹). در مطالعه‌ای که توسط Ebrahimi و همکاران در سال ۲۰۱۵ با موضوع تأثیر بنزالکونیوم کلراید بر روی رشد پلانکتونی و بیوفیلمی باکتری‌های پاتوژن حیوانی انجام گرفت، این نتیجه حاصل شد که با افزایش MIC بنزالکونیوم کلراید رشد بیوفیلمی باکتری‌های پاتوژن نیز افزایش می‌یابد (٤٠). در مطالعه دیگری که در انگلستان در خصوص حساسیت باکتری‌های گرم منفی بیمارستانی نسبت به مواد ضدعفونی‌کننده صورت گرفت، مشخص گردید که تمامی گونه‌های باکتری *اشریشیاکلای* حساسیت بالایی به کلرهگزیدین داشته‌اند، حال آن که سایر ارگانیسم‌ها به مراتب حساسیت کمتری به بی‌گوانیدها نشان داده‌اند. همچنین، ترکیبات آمونیوم کواترنر بر روی این باکتری‌ها اثر کمتری نسبت به کلرهگزیدین دارا بوده‌اند (٤١). Ebrahimi و همکارانش در سال ۲۰۱۵ اثرات بنزالکونیوم کلراید بر رشد پلانکتون و تشکیل بیوفیلم توسط جدایه‌های پاتوژن‌های باکتریایی حیوانی (*اشریشیاکلای*، سروتیپ های سالمونلا، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*) مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد مقاومت باکتریایی در برابر ترکیبات آمونیوم کواترنر در حال افزایش است که می‌تواند بیوفیلم باکتریایی را افزایش دهد (٤٢). نتایج این دو بررسی نشان می‌دهد ترکیبات حاوی کلرهگزیدین موثرتر از ترکیبات حاوی آمونیوم کواترنر هستند. در حالی که در مطالعه حاضر میزان اثرگذاری ترکیبات فوق یکسان ارزیابی شد و هر دو موجب مهار تمام جدایه‌های *اشرشیا کلای* شدند. در پژوهشی دیگر Lotfipour و همکارانش (۲۰۰۸) اثر مواد ضدعفونی کننده جرمی سايد پی، سترميد سی، اتانول و پوویدن آیوداین را علیه سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از بیماران بررسی کردند. نتایج نشان داد که سه ضدعفونی‌کننده، اتانول، جرمی سايد پی و پویدون آیودایین در رقت‌های مصرفی موثر واقع نشدند و سویه‌های باکتریایی با درصدهای مختلف مقاومت نشان دادند و تنها ستریمید سی با رقت ۱ به ۳۰ تمام سویه‌ها را به طور کامل حذف کرد (٤٣). نتایج مطالعه حاضر در مورد ساولن با رقت ۱ به ۳۰ با بررسی Lotfipour و همکارانش کاملا مطابقت دارد. Hourai و همکاران (۲۰۰۴) به مطالعه میزان اثر ضدعفونی‌کننده بنزالکونیوم کلراید و کلرهگزیدین بر روی تشکیل بیوفیلم باکتری پرداختند، که نشان داد باکتری *سودوموناس آیروژینوزا* مقاومت بیشتری نسبت به ضدعفونی‌کننده بنزالکونیوم کلراید دارد. نتایج مطالعه Hourai و همکاران با مطالعه حاضر تطابق چندانی نشان نداد، چرا که در مطالعه ما بنزالکونیوم کلراید ۱۰۰ درصد اثر مهاری علیه رشد باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* نشان داد. علت این عدم تطابق ممکن است به دلیل تفاوت روش‌های مورد استفاده در دو مطالعه و نیز تفاوت سوش‌های مورد بررسی باشد (٤٤). Hassan و همکاران (۲۰۱۲) به موضوع بررسی میزان اثر یک سری ضدعفونی‌کننده‌های رایج بیمارستانی علیه *سودوموناس آیروژینوزا* جدا شده از عفونت‌های بیماران پرداختند. سویه‌های مورد مطالعه در مقابل سه ضدعفونی‌کننده اتانول، جرمی سايد پی و پویدون آیوداین با رقت‌های مختلف در آزمون سطحی با درصدهای متفاوت مقاومت نشان دادند و فقط ستریمید سی با رقت مصرفی ۱ به ۳۰ توانست کلیهٔ سویه‌ها را به طور کامل حذف کند (٤٥). علت هماهنگی یافته‌های این پژوهش با نتایج پژوهش حاضر در این است که غلظت ۱ به ۳۰ ساولن استفاده شده مشابه غلظت توصیه شده توسط کارخانه تولیدی در مطالعه حاضر است.

نتیجه گیری:

به منظور کاهش انتشار آلودگي‌هاي ميكروبي در بيمارستان‌ها، انتخاب مناسب ضدعفوني‌كننده‌ها، آموزش روش‌هاي درست و اصولي ضد عفوني‌كردن، رفع فيزيك نامناسب بيمارستاني و .... پيشنهاد مي‌گردد. در اين بررسي تعيين نمودن قويترين ضدعفوني‌كننده دشوار بود، زيرا هر سه ماده ضدعفوني‌كننده ستريميد سي (ساولن)، بنزالكونيوم كلراید و ميكروتن بطور ۱۰۰٪ قدرت مهاري يكساني داشتند و بر روي جدايه‌هاي *اشرشيا كلاي* جدا شده از بيماران موثر بودند. رقت توصيه شده توسط شركت سازنده در از بين بردن سوش‌هاي باكتري *اشرشيا كلي* صحيح و كاملا

مؤثر بوده است و کارکنان سایر بیمارستان‌ها می‌توانند با خیال راحت از رقت توصیه شده سه ضدعفونی‌کننده مورد نظر ت ضدعفونی کردن استفاده نمایند. با توجه به این که باکتری‌ها توانایی بسیاری در انتقال و کسب ژن‌های مقاومت دارند، شناخت موارد زیر در استفاده مناسب و درست از ضدعفونی‌کننده‌ها برای پیشگیری و شکستن سد مقاومت باکتری لازم می‌باشد: رقیق نمودن بیش اندازه ضدعفونی‌کننده‌ها به علت صرفه‌جویی یا عدم دقت در تهیه غلظت آن، از عوامل مهم در عدم کارایی مواد ضدعفونی‌کننده در مراکز پزشکی و بیمارستان‌ها است. برای تهیه رقت مناسب بیوسایدها، اطلاعات لازم باید از روی دستورالعمل‌های شرکت سازنده دریافت گردد و پس از انجام آزمایشات صحت اطلاعات مندرجه تأیید گردد. بدست آوردن MIC ضدعفونی‌کننده های بکار برده شده برای تعیین دقیق‌تر اثرات ضدعفونی‌کننده‌ها بسیار موثر می‌باشد. در استفاده از ضدعفونی‌کننده‌ها، تعیین غلظت و زمان موثر لازم و ضروری است.

تقدیر و تشکر:

از تمامی پرسنل آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد واحد تهران مرکزی و آزمایشگاه بیمارستان تریتا که در انجام این مطالعه یاری رساندند تشکر و قدردانی می گردد.

تعارض منافع:

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

1. Montagna MT, Triggiano F, Barbuti G, Bartolomeo N, De Giglio O, Diella G, Lopuzzo M, Rutigliano S, Serio G, Caggiano G. Study on the In Vitro Activity of Five Disinfectants against Nosocomial Bacteria. Int J Environment Res PublicHealth.2019; 29; 16 (11). **DOI: 10.3390/ijerph16111895**

2. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. 2019; 56-66

3. Centers for Disease Control and Prevention. National and state healthcare-associated infections progress report. 2016; https://www.cdc.gov/hai/data/portal/progress-report.html

4. Zazouli MA, Homayoun nasab Langroodi M, Ahanjan M, Yazdani Cherati J, Islamifar M. Efficiency of some disinfectants (Cidex, Deconex, and Creolin) against E. Coli. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2015; 137-46.

5. Dr. Karametahl Laimandel. Disinfectants and disinfectants and their use in environmental health, Aine Book. 1375.

6. Imandel K. A. Disinfectants and disinfectants and their use in environmental health. Aine Kitab Publications, Tehran, 1374; 2-86

7. Betchen M, HM. Giovinco M Curry, J Luu, H Fraimow, V J. Carabetta, R Nahra. Evaluating the Effectiveness of Hospital Antiseptics on Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii: Understanding the Relationship between Microbicide and Antibiotic Resistance.2022; 11(5), 614

8. Asl Soleimani H, Afhemi S. Prevention and control of hospital infections. Publications of Taimurzadeh Cultural Institute, Tehran Tabib Publication, 1379; 9-107

9. Amin Mam, Mazloum, founder R, Afrooz Sh. Investigation of the current situation and infection control strategies in Isfahan hospitals. Proceedings of the Third National Conference on Environmental Health, Volum1, 1.

10. Weinstein RA. Infection control in the hospital. In: Harrison's Principles of Internal Mcdicine. (eds: Fauci AS et al), 14th Edition. New York, McGraw Hill Companny, 1998; 849-852

11. Collee JG, Duguide JP, Fraser AG. Practical medical microbiology.1989; 64-90

12. Young EC, Senford TA. Chaos to comprehension: Cleaning, sterlization, and disinfection. Urol Nurs 2003; 329-333

13. Khwaja Karamuddin M, Jahanshahi A. Determining

the types and frequency of hospital infection bacteria, 7th Congress of Infectious and Tropical Diseases of Iran, Babol University, Babolsar.1377; 142.

14. Hashemian F, Yousefi Mashoof R, Mani Ka Shani Kh. Investigating the frequency of bacterial contamination in operating rooms and some factors related to it. Scientific Journal of A-P Hamadan University.1380; 39-42

15. Glen MayHall C. Hospital epidomiology and infection control. 1st Edition. Willam & Wilkins, Baltimor.1996; 139 – 158

16. Schaffner W. Pervention and control of hospital – acquired infection. In: Cecil, text Book of Medicine. (eds: Bennet JC, Plum F) 20th Edition. philadelphia, W.B. Saunders Company.1996; 1548 – 1553

17. Barker JW, Schumacher I, Roman DP. Antiseptics and disinfectants. In: Burger A. Medician Chemistry.1979; 123-127

18. Rokoei F, Rezaei S, Karbasian M, Sadaee N, Rastegar Lari A. Comparison of the antibacterial activity of Handsept and Decosept . Iran J Med Microbiol. 2008; 51-57

19. Subedi D, Vijay AK, Willcox M. Study of Disinfectant Resistance Genes in Ocular Isolates of Pseudomonas aeruginosa. Antibiotics. 2018; 88. **DOI: 10.3390/antibiotics7040088**

20. Alizadeh TP, Navabi B, Shariat M. Neonatal urinary tract infection: clinical response to empirical therapy versus in vitro susceptibility at Bahrami Children's Hospital-Neonatal Ward.2011; 348-52.

21. Heidari-soureshjani E, Heidari M, Doosti A, Epidemiology of urinary tract infection and antibiotic resistance pattern of E.coli in patients referred to Imam Ali hospital in Farokhshahr, Chaharmahal va Bakhtiari, Iran. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences. 2013; 9-15.

22. Oliveira CF, Paim TG, Reiter KC, et al. Evaluation of four different DNA extraction methods in coagulase-negative staphylococci clinical isolates. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2014; 29-33

23. Safari M, Ahmady-Asbchin S, Soltani N. In Vitro Assessment of Antimicrobial Activity from Aqueous and Methanolic Extracts of Some Species of Cyanobacteria. Biol J of Microorg 2015; 111-30.

24. West AM, Teska PJ, Lineback CB, Oliver HF. Strain, disinfectant, concentration, and contact time quantitatively impact disinfectant efficacy. Virox. 2018; 1-2.

25 .Olasehinde GI, Akinyanju JA, Ajayi AA. Comparative Antimicrobial Activity of Commercial Disinfectants with Naphtolics. Res JMicrobiol. 2008; 262-268. **DOI:10.3923/jm.2008.262.268**

26. Alzubeidi YS, Udompijitkul P, Talukdar PK, Sarker MR. Inactivation of Clostridium perfringens spores adhered onto stainless steel surface by agents used in a clean-inplace procedure. Int J Food Microbiol. 2018; 26-33. **DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.016**

27. Webb HE, Brichta-Harhay DM, Brashears MM, Nightingale KK, Arthur TM, Bosilevac JM, Kalchayanand N, Schmidt JW, Wang R, Granier SA, Brown TR. Salmonella in peripheral lymph nodes of healthy cattle at slaughter.Frontiers Microbiol.2017;1-10. **DOI:10.3389/fmicb.2017.02214**

28. Uppal S, Bazzi A, Reynolds RK, Harris J, Pearlman MD, Campbell DA, and Morgan DM. Chlorhexidine-alcohol compared with povidone-iodine for preoperative topical antisepsis for abdominal hysterectomy. Obstet Gynecol. 2017; 319-27. **DOI:10.1097/AOG.0000000000002130**

29. Koehler DA, Strevett KA, Papelis C, Kibbey TC. The impact of antibacterial handsoap constituents on the dynamics of triclosan dissolution from dry sand. Chemosphere. 2017; 251-6.

30. Furi L, Ciusa ML, Knight D, Di Lorenzo V, Tocci N, Cirasola D, Aragones L, Coelho JR, Freitas AT, Marchi E, Moce L. Evaluation of reduced susceptibility to quaternary ammonium compounds and bisbiguanides in clinical isolates and laboratory-generated mutants of Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemo.20133488-97. **DOI:10.1128/AAC.00498-13**

31. Saboori A, Fallah F, Dastgerdi M. A comparison on two disinfectants: Micro10+ and Deconex 53 plus on dental instruments. J Islamic Dent Assoc Iran 2006; 49-55.

32. Xaplanteri MA, Andreou A, Dinos GP, Kalpaxis DL. Effect of polyamines on the inhibition of peptidyltransferase by antibiotics: Revisiting the mechanism of chloramphenicol action. Nucleic Acids Res 2003; 5074-83.

33. Hyo Y, Yamada S, Ishimatsu M, Fukutsuji K, Harada T. Antimicrobial effects of Burow's solution on Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa. Med Mol Morphol 2012; 66-71.

34. Elsaka SE. Antibacterial activity and adhesive properties of a chitosan-containing dental adhesive. Quintessence Int 2012; 603-13.

35. Farhad AR, Barekatain B, Allameh M, Narimani T. Evaluation of the antibacterial effect of calcium hydroxide in combination with three different vehicles: An in vitro study. Dent Res J. 2012; 167-72.

36. West AM, Teska PJ, Lineback CB, Oliver HF. Strain, disinfectant, concentration and contact time quantitatively impact disinfectant activity. Antimicrob Resist Infect Control. 2018; 1-8.

37. El-Banna T, El-Aziz AA, Sonbol F, El-Ekhnawy E. Adaptation of Pseudomonas aeruginosa clinical isolates to benzalkonium chloride retards its growth and enhances biofilm production. Molecular biology reports. 2019; 3437-43. **DOI:10.1007/s11033-019-04806-7**

38. Vijaya k, Aboody MS, Alfanaisan MK. Sandle T. In vitro susceptibility of multidrug resistant pseudomonas aeruginosa clinical isolates to common biocides. International Journal of Pharmaceutical Sci Res. 2016; 110-16.

39. Langsrud et al. investigated the effect of benzalkonium chloride on the resistance of Escherichia coli to other antibiotics.2003; 8-10.

40. Ebrahimi A, Hemati M, Shabanpour Z, et al Effects of Benzalkonium chloride on planktooic growth and biofilm formation by animal bacterial pathogens. Jundishapur J.Microbiol. 2015; 1-5.

41. Imanifooladi A, Soltanpour M, Kachuei R, Mirnejad R, Rahimi M. The Comparison of Antibacterial Effects of Common Antiseptics against Three Nosocomial Resistant Strains. Medical Laboratory Journal. 2008; 19-25.

42. Ebrahimi A, Hemati M, Shabanpour Z, Dehkordi SH, Bahadoran S, Lotfalian S, Khubani S. Effects of benzalkonium chloride on planktonic growth and biofilm formation by animal bacterial pathogens. Jundishapur journal of microbiology. 2015; 1-5. **DOI: 10.5812/jjm.16058.**

43. Lotfipour F, Final M. R., Milani M, Omrani A, and Hassan M. Investigating the effect of several common hospital disinfectant products on Pseudomonas aeruginosa strains isolated from patients. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences. 2008; 67-72.

44. Hourai et al. studied the effect of benzalkonium chloride and chlorhexidine disinfectants on bacterial biofilm formation, which showed that Pseudomonas aeruginosa was more resistant to benzalkonium chloride disinfectants.2004;89-120.

45. Hassan M, Kjos M, Nes IF, Diep DB, Lotfipour F. Natural antimicrobial peptides from bacteria: characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance. J Appl Microbiol. 2012; 723-36.