



اثر ترکیب پراکسید هیدروژن و نقره بر گندزدایی سطح استیل آلوده به چند باکتری بیماریزا

نویسندگان: دکتر محمد حسن احرامپوش* مجتبی داودی** عبدالرحیم آبسالان***

دکتر حسین فلاح زاده****

*دانشیار گروه بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی یزد
** نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی یزد

تلفن: ۰۹۱۵۱۲۵۴۸۲۲ Email: Davoudimj@gmail.com

*** دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی یزد

****دانشیار گروه آمار زیستی دانشگاه علوم پزشکی یزد

چکیده

سابقه و اهداف: سطوح آلوده همواره بعنوان یکی از راه های انتقال بیماری در مراکز بهداشتی-درمانی مطرح بوده اند. لذا استریل کردن مناسب سطوح، بویژه در بیمارستانها می تواند راهی مؤثر در کنترل عفونتهای بیمارستانی باشد. در این مطالعه اثر ضد باکتریایی ترکیب پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و نقره (Ag^+) بر باکتری های اشرشیا کلی، پروتئوس میرابیلیس و کلبسیلا پنومونیه بر سطح استیل نشان داده شده است.

روش بررسی: این مطالعه از نوع تجربی می باشد. ابتدا سطح یک میز فلزی به ۳۰ قسمت، هر باکتری ۱۰ قسمت، و در ابعاد ۲۰×۲۰ علامت گذاری گردید. در طی سه مرحله متفاوت، ابتدا این سطوح با الکل و آتش استریل، سپس توسط سوسپانسیون غلیظی از باکتری ها آلوده و در نهایت با محلولی حاوی ۳۰ ppm H_2O_2 و ۳۰ ppb Ag^+ تماس داده شدند. بعد از هر مرحله، کشت باکتریایی روی محیط ائوزین متیلن بلو انجام گردید. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در $37^\circ C$ کشتهها رشد یا عدم رشد باکتریها قرائت و نتایج بدست آمده با آزمون McNemar تجزیه و تحلیل گردید.

یافته ها: آنالیز نتایج نشان داد تفاوت معنی داری بین وضعیت رشد باکتری ها قبل و بعد از اعمال ترکیب H_2O_2 و Ag^+ وجود دارد ($P=0/008$, $P=0/014$ و $P=0/002$ به ترتیب برای اشرشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه و پروتئوس میرابیلیس).

بحث: تحقیقات قبلی عمدتاً متمرکز بر گندزدایی بخار H_2O_2 بوده است. در اینجا ما نشان دادیم ترکیب مایع H_2O_2 همراه با Ag^+ به خوبی باعث ممانعت از رشد باکتری های بیماریزا بر روی سطح می شود. لذا تاثیر این ترکیب بر گندزدایی سطح اشیا در مراکز بهداشتی-درمانی قابل بررسی می باشد.

واژه های کلیدی

رشد باکتریایی، پراکسید هیدروژن، یون نقره، گندزدایی سطوح

طلوع بهداشت

فصلنامه پژوهشی

دانشکده بهداشت یزد

سال هشتم

شماره: اول و دوم

بهار و تابستان ۱۳۸۸

شماره مسلسل: ۲۶

تاریخ وصول: ۸۸/۱۰/۱۳

تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۱/۵



مقدمه

امروزه گندزدایی سطح اشیاء با عوامل ضد میکروبی بخصوص در مراکز بهداشتی-درمانی اهمیت ویژه ای یافته است (۱،۲). از گندزدهایی که امروزه به طور رایج برای گندزدایی محیط های بیمارستانی استفاده می شود می توان به گلو تار آلدئید، فرمالدئید، اکسید اتیلن و ترکیبات کلر اشاره کرد (۳-۵).

اما مشکلاتی مثل سمیت این مواد برای انسان باعث شده تا مطالعات مختلفی در تلاش برای یافتن جایگزین مناسب برای آن ها انجام شود (۵، ۶). از جمله گزینه های جایگزین، می توان به ترکیب پراکسید هیدروژن و نقره اشاره کرد که در نزدیک به دو دهه اخیر مطالعات زیادی بر روی جوانب مختلف آن انجام شده است (۷-۱۰). نکته حائز اهمیت این است که سمیت این ترکیب به قدری پایین می باشد که امروزه در برخی کشورهای اروپایی برای گندزدایی آب آشامیدنی استفاده می شود (۸).

انجام مطالعات مختلف در مورد اثرات ضد باکتریایی یون نقره نشان داده است که این یون با گروه های سولفیدریل (-SH) پروتئین ها و همچنین بازهای DNA واکنش می دهد که این امر منجر به مهار فرایندهای تنفسی و یا باز شدن ماریج DNA سلول می شود (۱۱ و ۱۲).

پراکسید هیدروژن (HP) یک ماده گندزداست که به سرعت عمل می کند و میکروارگانیسم ها را از بین می برد. اما نمی تواند به مدت طولانی خاصیت محافظت کنندگی داشته باشد (۱۳).

اما گونه های اکسیژنه واکنشگر که در اثر تجزیه پراکسید هیدروژن بوجود می آیند باعث آسیب غیرقابل بازگشت به اجزاء سلول نظیر آنزیم ها، اجزای غشای سلولی و DNA می شود (۵). در عین حال نتایج برخی مطالعات نشان داده است که ترکیب پراکسید هیدروژن و نقره (HP/Ag) می تواند مشابه کلرآمین ها عمل کند و به مدت طولانی خاصیت ضد باکتریایی و ضد ویروسی خود را حفظ نماید (۸).

مکانسیم اثر پراکسید هیدروژن و نقره در ترکیب با یکدیگر هنوز به درستی مشخص نشده است. اگرچه Pedahzure و همکاران در سال ۱۹۹۷ تثبیت HP توسط Ag و در نتیجه کاهش تجزیه آن، تداخل HP با خروج Ag از دیواره سلولی و تداخل Ag با اثر سم زدایی سلول علیه HP را به عنوان مکانسیم های احتمالی نام برده اند (۱۴).

ما در مطالعه قبلی خود، اثربخشی ترکیب پراکسید هیدروژن و نقره را در غلظت های به ترتیب ۳۰ ppm و ۳۰ ppb بر باکتری های اشرشیاکلی، پروتئوس میرابیلیس و کلبسیلا پنومونیه در محیط کشت مشاهده نمودیم (۱۵).

در مطالعه حاضر به منظور ارزیابی ترکیب HP/Ag در گندزدایی سطوح، آن را بر باکتری های موجود بر سطح استیل بررسی نمودیم.

روش بررسی

این مطالعه از نوع تجربی می باشد. برای انجام آزمایش میز کاری از جنس استیل در محیط آزمایشگاه انتخاب گردید. به ازای هر باکتری (اشرشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه و پروتئوس میرابیلیس) مورد آزمایش ۱۰ سطح (جمعا ۳۰ سطح) به ابعاد ۲۰×۲۰cm علامتگذاری شد. ابتدا سطوح با دستمال مرطوب تمیز شدند و سپس با الکل و آتش استریل گردیدند. به منظور اطمینان از نحوه استریلیزاسیون، سواب استریل آغشته به سرم فیزیولوژی روی هر سطح کشیده شد و به محیط کشت ائوزین متیلن بلو (EMB) منتقل گردید. سپس سوسپانسیون غلیظی از باکتری ها که قبلاً تهیه شده بود بر روی سطوح مورد نظر بطور کامل آغشته سازی گردید.

پس از ۱۵ دقیقه با سواب استریل نمونه هایی از هر سطح گرفته و مجدداً کشت باکتریایی انجام شد. پس از آن محلولی حاوی پراکسید هیدروژن و نقره (Merck) به غلظت های به ترتیب ۳۰ ppm و

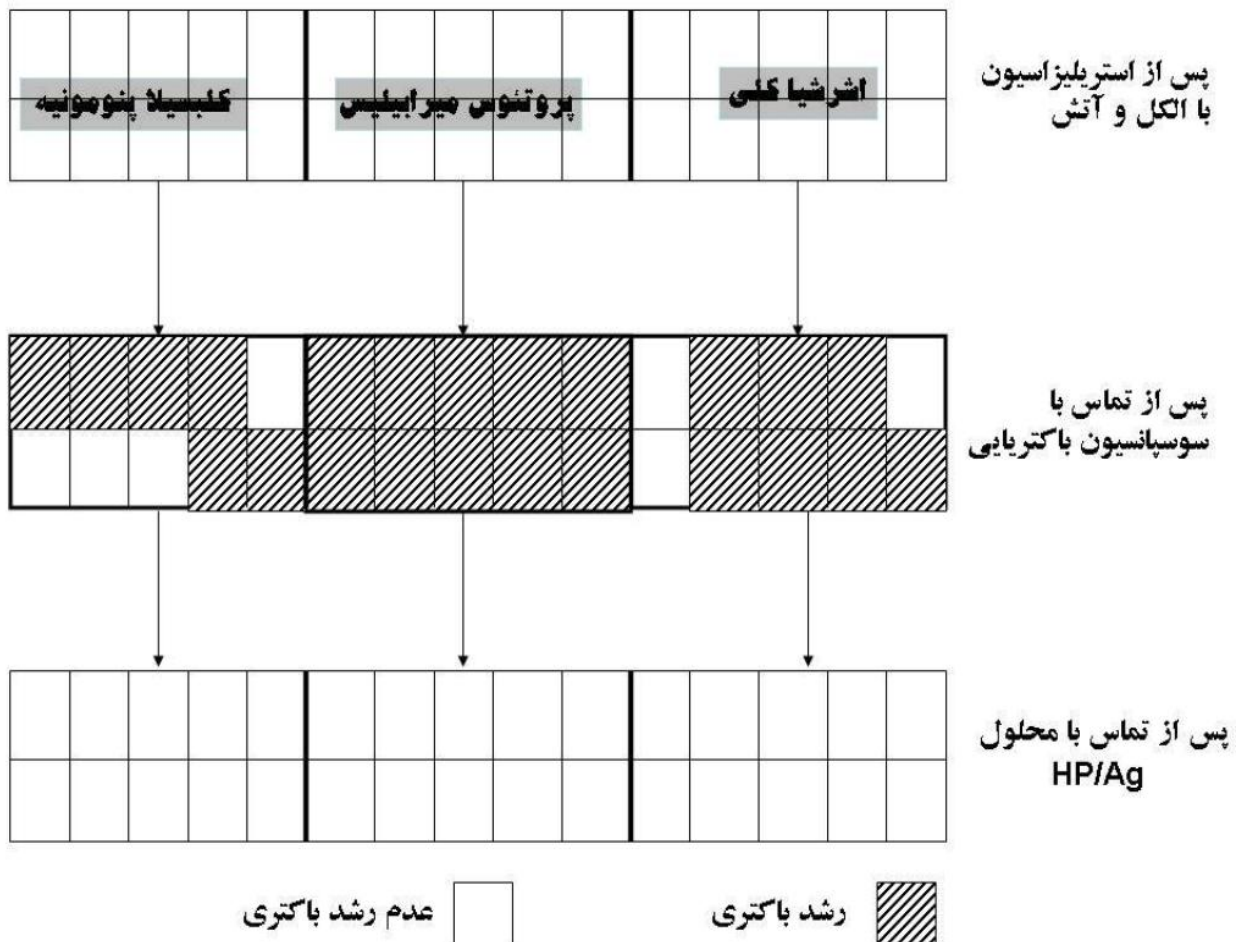


اشرشیاکلی در ۷ مورد، کلبسیلا پنومونیه در ۶ مورد و پروتئوس میرابیلیس در تمامی موارد مثبت بود. در مرحله آخر پس از استعمال محلول پراکسید هیدروژن و نقره (HP/Ag) بر روی سطوح، کلیه کشت ها منفی مشاهده شد (شکل شماره ۱).
آنالیز نتایج کشت قبل و بعد از اعمال HP/Ag با حدود اطمینان ۹۵ درصد نشان داد که ترکیب پراکسید هیدروژن و نقره قادر است به طور چشمگیری باکتری های اشرشیاکلی ($P=0/008$)، پروتئوس میرابیلیس ($P=0/002$) و کلبسیلا پنومونیه ($P=0/002$) را روی سطح استیل از بین ببرد.

۳۰ppb بر روی سطوح اعمال و پس از ۱۵ دقیقه با سواب استریل مجدداً کشت انجام شد. کلیه کشت ها روی محیط ائوزین متیلن بلو (EMB) آگار (Gibco) انجام، نتایج کشت پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای 37°C از حیث رشد یا عدم رشد بررسی و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۴ و با آزمون McNemar آنالیز گردید.

نتایج

خلاصه ای از نتایج آزمایش در شکل ۱ مشاهده می شود. همانطور که در این شکل ملاحظه می شود پس از استفاده از الکل و آتش کلیه سطوح از نظر وجود باکتری های مورد آزمایش استریل گردیدند. پس از تماس سوسپانسیون های باکتریایی با سطوح، رشد



شکل شماره ۱: نتایج حاصل از کشت باکتریایی در مراحل مختلف آزمایش



این حال برای ارزیابی نهایی این ترکیب باید مطالعات مشابهی در محیط‌هایی نظیر بیمارستان و بر روی سطوحی انجام شود که بطور طبیعی به میکروارگانیسم‌های موجود در محیط آلوده هستند و این کاری است که ما در مطالعه بعدی خود در پی انجام آن می‌باشیم.

References

1-Orlando P, Cristina ML, Dallera M, Ottria G, Vitale A, Badolati G. Surface disinfection: evaluation of the efficacy of a nebulization system spraying hydrogen peroxide. *J prev med hyg* 2008 Sep; 49(3):116-9.

2-Howie R, Alfa Mj and Coombs K. Survival of enveloped and non-enveloped viruses on surfaces compared with other micro-organisms and impact of suboptimal disinfectant exposure. *J hosp infect* 2008 aug; 69(4):368-76.

3-Hall L, Otter AJ, Chewins J, Wengenack NL. Use of hydrogen peroxide vapor for deactivation of mycobacterium tuberculosis in a biological safety cabinet and a room. *Journal of clinical microbiology* 2007 mar; 45 (3): 810-15.

4- Klapest A, Vesley D. Vapor-phase hydrogen peroxide as a surface decontaminant and sterilant. *Applied and environmental microbiology* 1990 Feb; 56 (2): 503-6.

5-Grare M, Dailloux M, Simon I, Dimajo P, Laurain C. Efficacy of dry mist of hydrogen peroxide (dmhp)

بحث

یکی از تلاش‌های محققین در زمینه عوامل ضد میکروبی همواره یافتن ماده‌ای بوده که تا حد امکان به خصوصیات گندزدایی ایده‌آل نزدیک باشد. از آنجا که ترکیب پراکسید هیدروژن و نقره از سمیت بسیار کمی برای انسان برخوردار است، لذا در صورت اثبات به عنوان عامل ضد میکروبی قوی می‌تواند کاربرد فراوانی در گندزدایی محیط‌هایی نظیر بیمارستان‌ها داشته باشد که پتانسیل انتقال عفونت در آن‌ها بسیار بالاست. ما در ادامه تحقیقات قبلی خود روی ترکیب پراکسید هیدروژن و نقره، در این مطالعه به دنبال ارزیابی قدرت گندزدایی آن بر روی سطح اشیاء بودیم.

پراکسید هیدروژن در فاز بخار (HPV) از جمله موادی بوده که اثر ضد باکتریایی آن روی میکروارگانیسم‌های موجود در سطح اشیاء بررسی شده است.

Leslie و همکاران تاثیر HPV بر مایکوباکتریوم توبرکلوزیس را بسیار خوب گزارش نموده‌اند. در عین حال این محققین بر مطالعه اثر آن روی سایر گونه‌های مایکوباکتریوم تاکید نموده‌اند (۳).

Grare و همکاران اثر بخار خشک پراکسید هیدروژن را بر باکتری سل مورد مطالعه قرار داده‌اند و به نتایج رضایت بخشی دست یافتند (۵). در دو مطالعه دیگر اثر ضد باکتریایی HPV بر اسپورهای باسیلوس و اسپور کلسترییدیوم دیفیسیل به خوبی به اثبات رسیده است (۴۶).

اما یکی از معایب استفاده از پراکسید هیدروژن در گندزدایی خاصیت خوردگی بالا و ماندگاری کم آن می‌باشد که هر دوی این مشکلات با افزودن یون نقره به محلول پراکسید هیدروژن برطرف می‌شود ضمن این که ترکیب این دو خاصیت هم‌افزایی نیز می‌یابد (۷-۹).

نتایج مطالعه حاضر نیز به خوبی تاثیر ترکیب پراکسید هیدروژن و نقره را در گندزدایی سطح آلوده به سه باکتری بیماریزا از خانواده انتروباکتریاسیه نشان داد. با



against mycobacterium tuberculosis and use of dmhp for routine decontamination of biosafety level 3 laboratories. *Journal of clinical microbiology* 2008 Sept; 46 (9): 2955–58.

6-Barbut F, Menuet D, Verachten M, Girou E. Comparison of the efficacy of a hydrogen peroxide dry-mist disinfection system and sodium hypochlorite solution for eradication of clostridium difficile spores. *Infect control hosp epidemiol* 2009; 30:507–14.

7-Shuval H, Fatal B, Nassar A, Lev O, Pedahzur R. The study of the synergism between oligodynamic silver and hydrogen peroxide as a long-acting water disinfectant. *Water supply*. 1995; 13(2): 241-51.

8-Pedahzur R, Ovadia L, Badri F, Hillel IS. The interaction of silver ions and hydrogen peroxide in the inactivation of e.coli: a preliminary evaluation of a new long acting residual drinking water disinfectant. *Wat. Sci. Tech.* 1995; 31(5-6): 123-9.

9-Pedahzur R, Katzenelson D, Barnea N, Lev O, Shuval H, Fattal B, Ulitzur S. The efficacy of long-lasting residual drinking water disinfectants based on hydrogen peroxide and silver. *Wat. Sci. Tech.* 2000; 42(1–2): 293–8.

10-Liberti L, Lopez A, Notarnicola M, Barnea N, Pedahzur R, Fattal B. Comparison of advanced disinfecting methods for municipal wastewater reuse in agriculture. *Water science and technology* 2000; 42(1-2): 215-20.

11-Bragg P D, Rainnie D J. The effect of silver ions on the respiratory chain of escherichia coli. *Nrc research press* 1974;883-9.

12-Batarseh KI. Anomaly and correlation of killing in the therapeutic properties of silver (i) chelation with glutamic and tartaric acids. *Br soc antimicrob chemo* 2004;546-8.

13-Lück E, Jager M. Antimicrobial food additives: characteristics, uses, effects. 2nd ed.1997; Springer-verlag, germany.

14-Pedahzur R, Shuval H, Ulitzur S. Silver and hydrogen peroxide as potential drinking water disinfectants, their bactericidal effects and possible modes of action. *Wat. sci. tech.J* 1997; 5(11-12):93

15-Absalan A, Dvoudi M, Talebi P. H₂O₂ and silver ion composition inhibits the growth of catalase positive bacteria. Abstracts of 10th iranian congress of biochemistry & 3rd international congress of biochemistry and molecular biology. Tehran-iran, 16-19 November– 2009.



The Effect of Hydrogen Peroxide and Silver Ions (H₂O₂+Ag⁺) on Disinfecting a Steel Surface Infected by Some Pathogenic Bacteria

Ehrampoush MH *(Ph.D) – Davoudi M **(M.S.c) – Absalan A*** (M.Sc)
Falahzadeh H* (Ph.D)

* Associate Professor, Yazd University of Medical Sciences

**Corresponding Author: Master of Sciences, Yazd University of Medical Sciences

Email: Davoudimj@gmail.com

***Master of Sciences, Yazd University of Medical Sciences

Abstract

Background: Infected surfaces are a means of transporting infection, especially in health-care centers. Thus an appropriate sterilization method can help controlling hospital infection. In this study the antibacterial effect of Hydrogen peroxide and silver ions composition (H₂O₂ + Ag⁺) on growth inhibition of Escherichia Coli as well as Proteus Mirabilis and Klebsiella Pneumonia on a steel surface were tested.

Method: Initially we sterilized each 10-part bacterium, overall 30 steel surfaces using alcohol and fire. Then we contaminated the surfaces with a heavy suspension of aforementioned bacteria and contacted the H₂O₂+Ag⁺ solution (concentrations were 30 ppm ad 30 ppb respectively). After each step, bacterial cultures were performed on Eosin Methylen Blue (EMB) agar. Cultures were interpreted using Mc Nemar analysis method in 37^o C after 24 h.

Results: Statistical analysis showed a significant difference before and after performing H₂O₂+ Ag⁺ solution (P= 0.008 for E.coli, P=0.014 for Klebsiella, P=0.002 for Proteus).

Conclusion: Previous studies focused mostly on Hydrogen peroxide vapor disinfection, but here we indicated its effect as a surface disinfectant in the form of solution and composition with silver, a heavy metal with antibacterial property. Our future objective is to evaluate the effect of such disinfectant in hospital and health-care centers that is underway.

Keywords: Bacterial growth, Hydrogen peroxide, Silver ion, Surface disinfectant