

»Mladi za napredek Maribora 2021«

38. srečanje

Primerjava različnih vrst alkoholnih razkužil glede na vsebnost alkohola in antibakterijsko učinkovitost

Raziskovalno področje:

zdravstvo

Raziskovalna naloga

Avtor: EMA AGRAFENA MATALN SMEHOV, UNA MURKO

Mentor: ANITA MUSTAČ, TAMARA ŠIŠKO

Šola: II. GIMNAZIJA MARIBOR

Število točk: 165/170

Maribor, marec 2021

KAZALO VSEBINE

POVZETEK.....	5
ZAHVALA.....	6
1 UVOD.....	7
1.1 Namen naloge	8
1.2 Raziskovalna vprašanja.....	8
1.3 Hipoteze	8
1.4 Metode dela	10
2 PREGLED LITERATURE	11
2.1 Vrste razkužil za roke.....	11
2.2 Alkoholna razkužila za roke	11
2.2.1 Lastnosti alkoholov	12
2.2.2 Etanol.....	13
2.2.3 Propan-2-ol.....	13
2.2.4. Metanol	14
2.2.5. Propan-1-ol.....	14
2.3 Razkužila za roke brez alkohola	14
2.4 Antibakterijska učinkovitost alkoholnih razkužil za roke	15
2.5 Vpliv razkužil na zdravje ljudi	16
2.5.1 Etanol.....	16
2.5.2 Izopropilni alkohol	17
2.5.3 Metanol in 1-propanol	18
2.6 Sterilizacija	18
3 PRAKTIČNI DEL.....	20
3.1 Materiali za mikrobiološki del	20
3.1.1 Zaščitna oprema	20
3.1.2 Vzorci alkoholnih razkužil.....	20
3.1.3 Kemikalije.....	21
3.1.4 Laboratorijski pribor.....	22

3.1.5 Laboratorijske aparature.....	22
3.2 Difuzijski antibiogram.....	23
3.2.1 Opis mikroorganizma uporabljenega v raziskavi.....	23
3.2.2 Priprava gojišč.....	23
3.2.3 Priprava difuzijskih antibiogramov	25
3.3 Določanje vsebnosti alkohola v razkužilih	26
3.3.1 Oksidacija kalijevega dikromata.....	27
3.3.2 Redoks titracija	30
4 REZULTATI	32
4.1 Antibakterijska učinkovitost alkoholnih razkužil	32
4.2 Določanje vsebnosti alkohola v razkužilih	36
5 RAZPRAVA	40
6 ZAKLJUČEK	43
7 DRUŽBENA ODGOVORNOST	44
8 VIRI IN LITERATURA.....	45
PRILOGE	49

Seznam tabel

Tabela 1: Opis vzorcev alkoholnih razkužil	20
Tabela 2: Povprečni premer inhibicijskih con za posamezno vrsto razkužil in kontrol	32
Tabela 3: Povprečna poraba železovega amonijevega sulfata in množinska koncentracija kromovih ionov	36
Tabela 4: Izračunane vrednosti odstotkov alkohola za posamezno razkužilo	37
Tabela 5: Izmerjene vrednosti premera inhibicijskih con razkužil in kontrol	49

Seznam slik

Slika 1: Vrste alkoholov (Go inštrukcije, 22. 1. 2021)	12
Slika 2: Šolski avtoklav (lasten vir)	19
Slika 3: Uporabljena alkoholna razkužila (lasten vir)	21
Slika 4: Prelivanje agarja na pripravljene petrijevke (lasten vir)	24
Slika 5: Strjevanje agarja na sterilni površini ob gorilniku (lasten vir)	25
Slika 6: Priprava difuzijskih antibiogramov (lasten vir).....	26
Slika 7: Razredčena razkužila, raztopina kalijevega dikromata (rdeče) in železov amonijev sulfat (zeleno) (lasten vir).....	29
Slika 8: Dodajanje kalijevega dikromata v vzorec (lasten vir).....	29
Slika 9: Vzorci v hladni vodni kopeli (levo) in segrevanje vzorcev (desno) (lasten vir)	30
Slika 10: Redoks titracija (lasten vir)	31
Slika 11: Ne razvite inhibicijske cone razkužila Fa (lasten vir)	33
Slika 12: Inhibicijske cone razkužila Dr. House (lasten vir)	34
Slika 13: Inhibicijske cone domačega razkužila (lasten vir).....	34
Slika 14: Inhibicijske cone razkužila SOS Afrodita (lasten vir).....	35
Slika 15: Inhibicijske cone razkužila Skinman Soft Protect (lasten vir).....	35

Seznam grafov

Graf 1: Povprečni premer inhibicijskih con za posamezno vrsto razkužila in kontrole	33
Graf 2: Povprečna poraba železovega amonijevega sulfata	36
Graf 3: Primerjava premera inhibicijskih con glede na izmerjeno koncentracijo alkoholov	38
Graf 4: Primerjava premera inhibicijskih con glede na označeno koncentracijo alkoholov	38

POVZETEK

Širjenje okužb in bolezni preko stika s površino je pogost način prenašanja le teh. Za omejevanje samega širjenja v današnjem času množično uporabljamo dezinfekcijska sredstva za roke. V raziskovalni nalogi smo primerjali učinkovitost razkužil za roke glede na koncentracijo alkohola. Koncentracija alkohola v vzorcih je segala med 56-89 g alkohola na 100 g proizvoda, sklepali pa smo, da bo najučinkovitejše sredstvo z najvišjo vsebnostjo. Ugotovili smo, da so razkužila s koncentracijo pod 60% neučinkovita glede na *Bacillus cereus* ter najbolj učinkovita ta z največjo koncentracijo. Prav tako smo raziskali skladnost navedene koncentracije alkohola na embalažah dezinfekcijskih sredstev s postopkom oksidacije kalijevega dikromata in redoks titracije ter ugotovili, da se rezultati ne skladajo povsem z navedbami proizvajalcev. Predlagamo, da za najhitrejšo zaustavitev širjenja okužb osebe kupujejo dezinfekcijska sredstva, ki imajo koncentracijo alkohola višjo od 60%.

ZAHVALA

Predvsem bi se radi zahvalili mentoricama za potrebno pomoč in usmerjanje v celotnem poteku raziskovalne naloge ter za morebitne popravke in izboljšave raziskovalne naloge. Zahvaljujeva se laborantki, ki nama je pomagala pripraviti potrebne kemikalije za praktično delo. Prav tako se zahvaljujeva šoli, saj nama je priskrbelo kemikalije, laboratorijsko opremo in prostor za delo.

1 UVOD

Vzdrževanje higiene rok je ključnega pomena za zmanjšanje kolonizacije in pojavnosti nalezljivih bolezni. Upoštevanje priporočil o higieni rok naj bi imelo pomembno vlogo pri zmanjševanju tveganja za prebavne bolezni in okužbe dihal. Stroga higiena rok je še pomembnejša za zdravstvene delavce, saj lahko nečiste roke prispevajo k prenosu mikroorganizmov od bolnika do pacienta, kar lahko vodi do večje obolevnosti in umrljivosti. Razkuževanje rok z alkoholnim sredstvom je zelo učinkovito pri hitrem uničenju različnih patogenov, njihova prednost je tudi, da za učinkovitost ni potrebno izpiranje z vodo. Po podatkih Svetovne zdravstvene organizacije (WHO) imajo alkoholi odlično učinkovitost proti gram pozitivnim bakterijam, gram negativnim bakterijam, virusom z ovojnico, virusom brez ovojnice, mikobakterijam in celo glivam. Kljub poudarjanju pomena higiene rok pa nedavne študije kažejo na slabo higieno rok v zdravstvenih okoljih. Po navedbah Centra za nadzor in preprečevanje bolezni (CDC) higiena rok vključuje čiščenje rok z milom in vodo, antiseptično umivanje rok, razkuževanje rok z alkoholnimi razkužili ali kirurškimi antiseptiki za roke. Pomembno pa je izpostaviti to, da je učinkovitost alkoholnih razkužil za roke odvisna od vrste alkohola, uporabljene količine razkužila, uporabljene tehnike in doslednosti uporabe. Obstajajo tudi primeri, ko ti izdelki niso učinkoviti, na primer, kadar so roke močno umazane ali pri preprečevanju širjenja nekaterih okužb, ki so odporna na alkohol. Dezinfekcijska sredstva na osnovi alkohola večinoma vsebujejo etanol, propan-2-ol, 1-propanol ali mešanico večih alkoholov. Protimikrobno delovanje alkoholov pripisujejo sposobnosti denaturacije in koagulacije beljakovin. Mikrobi tako izgubijo zaščitne obloge in postanejo nefunkcionalni. Center za nadzor in preprečevanje bolezni priporoča razkužila, ki vsebujejo od 60 do 95% alkohola, najbolj učinkovita pa so tista z 80% etanola ali 75% izopropilnega alkohola. Višje koncentracije od priporočenih vrednosti niso več tako učinkovite pri ubijanju mikrobov, saj beljakovin ni mogoče denaturirati brez prisotnosti vode. Alkoholna razkužila pogosto vsebujejo tudi vlažilce, kot je glicerol, ki pomaga preprečiti suhost kože, in aloe vera, ki pomaga nadomestiti del vode, ki se med uporabo odstrani (Gold in sod., 2020).

1.1 Namen naloge

Namen raziskovalne naloge je razumeti in pojasniti delovanje alkoholnih razkužil za roke na bakterije in ugotoviti korelacije med vsebnostjo alkohola v razkužilih in antibakterijsko učinkovitostjo. Prav tako smo hoteli ugotoviti, ali so industrijsko izdelana razkužila bolj učinkovita od domačih razkužil.

1.2 Raziskovalna vprašanja

1. Ali obstaja povezava med koncentracijo alkohola v razkužilih in antibakterijsko učinkovitostjo?
2. Ali izmerjena koncentracija alkohola sovpada s podatkom na embalaži?
3. Ali imajo industrijsko izdelana razkužila za roke večjo antibakterijsko učinkovitost kot domače izdelano razkužilo?

1.3 Hipoteze

1. ***Razkužila različnih znamk in sestave bodo različno antibakterijsko učinkovita.***

Etanol naj bi bil najučinkovitejši alkohol proti virusom, medtem ko propanol velja za boljši baktericidni alkohol. Kombinacija alkoholov ima tudi dober antibakterijski učinek. Koncentracija alkohola v dezinfekcijskih sredstvih za razkuževanje rok prav tako spreminja njegovo učinkovitost. Raziskava na to temo je pokazala, da je bilo razkuževanje rok z 85% vsebnostjo etanola bistveno boljše pri zmanjševanju bakterijske populacije v primerjavi z razkužili, ki vsebujejo od 60% do 62% etanola (Gold in sod., 2020). Ker smo tudi mi v raziskavi uporabili razkužila z širokim razponom koncentracije alkohola, bi morala biti antibakterijska učinkovitost različna.

2. Razkužilo, ki vsebuje 89% etanola, bo imelo najvišjo antibakterijsko učinkovitost.

Antibakterijska učinkovitost dezinfekcijskih sredstev z višjo koncentracijo alkohola (85%) je v primerjavi z manjšimi koncentracijami (70%) precej izrazitejša. Suspenzija bakterije »Kochov bacil« je bila pri 95% etanola ubita v 15 s; pri 70% v 30 s in pri 50% etanola v 60 s (Moorer, 2005). V nalogi smo uporabili koncentracije med 56,2 g in 89 g alkohola/100 g proizvoda, zaradi česar smo sklepali, da bo največja koncentracija alkohola imela največjo antibakterijsko učinkovitost.

3. Razkužilo, ki ima manj kot 60% alkohola, ne bo pokazalo antibakterijske učinkovitosti.

Številne študije so pokazale, da so razkužila s koncentracijo alkohola med 60–95% učinkovitejša pri ubijanju mikrobov kot tista z nižjo koncentracijo alkohola ali razkužila za roke brez alkohola. Le ta morda ne bodo delovala enako dobro pri številnih vrstah mikrobov in zgolj zmanjšala rast mikrobov, namesto da bi jih ubila (CDC, 2020).

4. Domače razkužilo bo imelo najmanjšo antibakterijsko učinkovitost glede na ostala testirana razkužila, ki vsebujejo več kot 60% alkohola.

Ostala razkužila so industrijsko izdelana se prodajajo na tržišču, zato so bila preverjena s strani strokovnjakov in so opravila test učinkovitosti, medtem ko domače razkužilo ni opravilo testa in nima certifikata, da dejansko učinkuje pri ubijanju bakterij in virusov.

»V skladu z Uredbo (EU) št. 528/2012 delimo razkužila v več skupin. Vrsta proizvodov 1 (PT1) so razkužila za človekovo osebno higieno, kamor spada predvsem razkuževanje rok. Za izdajo dovoljenj za dostopnost biocidnih proizvodov na trgu in njihovo uporabo je pristojen Urad RS za kemikalije, ki zaradi preprečevanja COVID-19 zastruje zahteve v zvezi z učinkovitostjo razkužil za roke.« (Urad Republike Slovenije za kemikalije, 23. 3. 2021)

»Osnovna zahteva za razkuževalni/dezinfekcijski učinek razkužil za roke je dokaz biocidnega učinka proti bakterijam in kvasovkam. Delovanje razkužila proti virusom ni obvezno in je lahko le dodatni učinek razkužila. Vsak učinek razkužila mora biti dokazan s testi učinkovitosti za predvideno uporabo.« (Urad Republike Slovenije za kemikalije, 23. 3. 2021)

5. Koncentracija alkohola označena na izdelku bo sovpadala z rezultati izmerjene količine alkohola.

Industrijsko izdelana razkužila, ki vsebujejo več kot 60% etanola, morajo po navedbah Urada Republike Slovenije za kemikalije biti ustrezno označene zaradi česar sklepamo, da bodo izmerjene koncentracije alkohola v skladu z navedbami na embalaži.

»Kadar vsebnost etanola v teh proizvodih presega 60%, je prevladujoča funkcija etanola dezinfekcija, kar pa jih uvršča med biocidne proizvode in jih je treba kot take registrirati pri Uradu za kemikalije.« (Urad Republike Slovenije za kemikalije, 23. 3. 2021)*

1.4 Metodologija dela

V raziskovalni nalogi bomo najprej preko študija ustrezne literature predstavili spoznanja v zvezi z antibakterijsko učinkovitostjo alkoholnih razkužil in predstavili aktivne snovi, ki se lahko znajdejo v le teh. Sledila bo izvedba praktičnega dela, kjer bomo najprej določili antibakterijsko učinkovitost z difuzijskim antibiogramom na agarju. Zatam bomo določili vsebnost alkohola v razkužilih z oksidacijo kalijevega dikromata in redoks titracijo z indikatorjem 1,10-fenantrolin.

2 PREGLED LITERATURE

Razkužilo za roke je sredstvo, ki ga nanašamo na roke z namenom odstranjevanja pogostih patogenov. Razkužila za roke so običajno v obliki pene, gela ali tekočine. Čeprav je učinkovitost sredstva za razkuževanje rok različna, se po navadi uporablja kot preprosto sredstvo za nadzor okužb v najrazličnejših okoljih, od bolnišnic do osebne uporabe (Rogers, 2015).

2.1 Vrste razkužil za roke

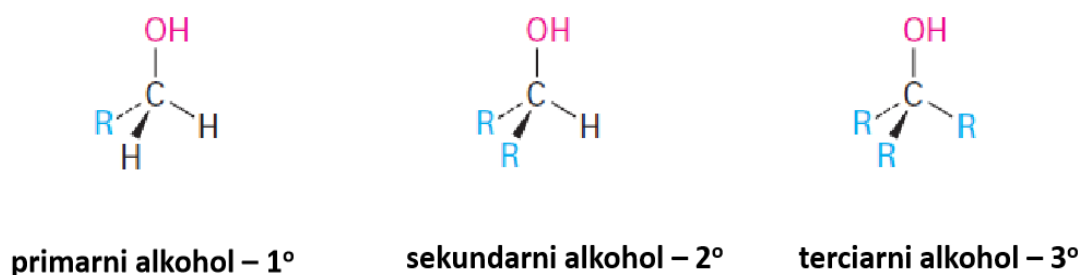
Razkužila za roke lahko po osnovnih sestavinah razvrstimo v dve vrsti; alkoholna razkužila in razkužila brez alkohola. Razkužila, ki imajo za osnovo alkohol, običajno vsebujejo med 60 in 95 odstotkov alkohola. Pri teh koncentracijah alkohol takoj denaturira beljakovine in učinkovito nevtralizira nekatere vrste mikroorganizmov. Razkužila brez alkohola na splošno temeljijo na sestavinah, kot je benzalkonijev klorid (BAC), ali na protimikrobnih sredstvih, kot je triklosan (Rogers, 2015).

2.2 Alkoholna razkužila za roke

Alkoholna razkužila za roke vsebujejo etanol, propan-2-ol ali propan-1-ol (lahko tudi več različnih alkoholov), ki so pomešana z vodo in različnimi mehčali. Alkohol uničuje bakterije in viruse, ki povzročajo bolezni, vendar ne vseh, kot na primer norovirusa. Višja kot je koncentracija alkohola, učinkovitejše naj bi bilo sredstvo za razkuževanje rok. Razkužila za roke običajno ne potečejo, vendar alkohol lahko izhlapi. Na splošno veljajo alkoholna razkužila varna za uporabo na koži, vendar lahko prevelika uporaba povzroči draženje kože (Rubin, 2020). Običajno imajo razkužila za roke še druge sestavine, kot na primer dišave, barvila, konzervanse in druge "neaktivne" sestavine. Nekatera vsebujejo še vlažilne kreme, kot so glicerol, vitamin E in aloe vera (Berkeley Wellness, 2014).

2.2.1 Lastnosti alkoholov

Alkoholi spadajo med organske kisikove spojine. So spojine, ki imajo –OH (hidroksilno) skupino. Skupina je lahko vezana na primarni, sekundarni ali terciarni C-atom, po tem ločimo alkohole na primarne, sekundarne in terciarne, glede na to, koliko ogljikovih skupin je vezanih na C-atom, ki nosi hidroksilno skupino (Graunar in sod., 2019).



SLIKA 1: VRSTE ALKOHOLOV (GO INŠTRUKCIJE, 22. 1. 2021)

Molekule alkoholov so sestavljene iz polarne skupine –OH, ki je hidrofilna (snovi so rade v stiku z vodo) in nepolarne verige C-atomov, ki je hidrofobna (snovi niso rade v stiku z vodo). V alkoholih z malo C-atomov prevladujejo polarne lastnosti, zaradi tega se metanol, etanol in propanol popolnoma mešajo z vodo. V butanolu, ki ima štiri C-atome, sta oba vpliva izenačena, zato je zmerno topen v vodi. Alkoholi s petimi ali več C-atomov pa so zaradi prevladujočih nepolarnih lastnosti v vodi praktično netopni (Vrtačnik in sod., 2014). Vrelišča alkoholov so precej višja od alkanov z enakim številom C-atomov, ker se molekule alkohola med seboj lahko povezujejo z vodikovimi vezmi (Jamšek in sod., 2014).

Reakcij z alkoholom je veliko, iz alkoholov lahko pripravimo številne organske spojine (alkene, aldehide, estre, karboksilne spojine). Omenili bomo le oksidacijo alkoholov, saj smo jo tudi sami izvedli. Oksidacija poteka v prisotnosti oksidantov. Najpogosteje uporabljamo kot oksidant kisloto raztopino kalijevega dikromata (VI) ali kisloto raztopino kalijevega manganata (VII). Pri reakcijah se spremeni barva raztopine. Dikromatni ioni, ki so oranžni, se reducirajo do kromovih ionov, ki imajo zeleno barvo.

Permanganatni ioni (vijoličasti) pa se reducirajo do manganovih ionov (brezbarvni). Produkt oksidacije ni za vse alkohole enak, saj je odvisen od števila vodikovih ionov, ki so vezani na ogljikovem atomu. Pri primarnih alkoholih poteka reakcija v dveh stopnjah, saj sta vezana dva vodikova atoma na C-atomu s hidroksilno skupino. Alkoholi se tako najprej oksidirajo do aldehydov in nato do karboksilnih kislin (Graunar in sod., 2019).

2.2.2 Etanol

Etilni alkohol oz. etanol je pomembna industrijska kemikalija; uporablja se kot topilo pri sintezi drugih organskih kemikalij in kot dodatek avtomobilskemu bencinu (tvori mešanico, znano kot bencin). Etanol je tudi opojna sestavina številnih alkoholnih pijač, kot so pivo, vino in žgane pijače, prav tako je sestavina izdelkov za osebno nego, barv in razkužil za roke (Encyclopaedia Britannica, 1998).

Obstajata dva glavna postopka za proizvodnjo etanola; fermentacija ogljikovih hidratov (metoda za alkoholne pijače) in hidracija etilena. Fermentacija vključuje pretvorbo ogljikovih hidratov v etanol z gojenjem kvasnih celic. Glavne surovine, fermentirane za proizvodnjo industrijskega alkohola, so pesa, sladkorni trs ter žitne rastline, kot je koruza. Hidracijo etilena pa dosežemo s prehajanjem mešanice etilena in velikega presežka pare pri visoki temperaturi in tlaku preko kislega katalizatorja (Encyclopaedia Britannica, 1998).

2.2.3 Propan-2-ol

Propan-2-ol (izopropanol, izopropilni alkohol) je brezbarvna vnetljiva tekočina, ki ima formulo $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ in spada med sekundarne alkohole. Hidroksilna skupina propan-2-ola je vezana na ogljik, ki je na sredini molekule (Madhusa, 2018).

Uporablja se na veliko področjih. Sinteza številnih pomembnih organskih spojin se začne z izopropilnim alkoholom kot surovino. Med temi spojinami so aceton, glicerol in izopropil acetat, ki se sam pogosto uporablja kot topilo za organske snovi. Propan-2-ol se uporablja tudi v izdelkih za gospodinjstvo in osebno nego, kot so parfumi, sredstva za izpiranje barv za lase, laki za nohte, šamponi in losjoni za britje; pri čistilnih izdelkih, kot so razkužila za roke in losjoni za roke in telo; v antifrizih in kot

sredstvo za odstranjevanje ledu; kot hladilno sredstvo pri proizvodnji piva in kot konzervans za biološke vzorce (Encyclopedia, 23. 1. 2021).

2.2.4. Metanol

Metanol, metilni oz. lesni alkohol je najenostavnejša organska spojina, ki je sestavljena iz metilne in oksidativne skupine (Encyclopaedia Britannica, 1998).

Pogosto se nahaja v obliki brezbarvne tekočine z rahlo sladkim vonjem, ki je podoben etilnemu alkoholu (PubChem, 2004). Je osnova v očetni kislini in formaldehidu, prav tako pa se vedno bolj uporablja pri etilenu in propilenu. Njegova prisotnost v substancah kot so te, se uporabljajo v vsakih aspektih vsakdanjega življenja. Uporablja se kot kemično sredstvo v farmacevtski in tekstilni industriji (Mitsubishi gas chemical, 29. 1. 2021), parfumih, prav tako pa predstavlja eno osnovnih sestavin v sredstvih proti zmrzovanju, raketnih in avtomobilskih gorivih ter ostalih produktih za vzdrževanje doma (Encyclopaedia Britannica, 1998). Odločile sva se ga vključiti v raziskovalno nalogo, saj so razkužila, ki kot sestavino navajajo metanol, po navedbah agencije FDA zaradi svojih zdravju škodljivih lastnosti nevarna za uporabo (FDA, 2020).

2.2.5. Propan-1-ol

Propan-1-ol nastane kot stranski produkt sinteze metanola iz ogljikovega monoksida in vodika (Wade, 1998). Pogosto se uporablja pri kozmetičnih produktih, v farmaciji, barvah, sredstvih proti zmrzovanju, čistilnemu alkoholu, acetonu ter v ostalih kemikalijah in produktih (PubChem, 2004). Po navedbah FDA naj bi izpostavljenost dezinfekcijskim sredstvom, ki vsebujejo 1-Propanol, povzročala draženje kože in bila škodljiva za zdravje v primeru daljše izpostavljenosti (The Food and Drug Administration, 2020).

2.3 Razkužila za roke brez alkohola

Večina razkužil za roke brez alkohola je zgrajena na vodni osnovi in vsebuje benzalkonijev klorid, ki je aktivna sestavina v razkužilu. Za razliko od alkoholnih razkužil, ki ponavadi vsebujejo od 60 do 95 % alkohola, razkužila brez alkohola pogosto vsebujejo manj kot 0,1% koncentracije benzalkonija. Kljub temu še vedno

zagotavljajo enako raven zaščite. Preostanek raztopine je v večini voda in balzami za kožo, kot sta vitamin E in ekstrakt zelenega čaja. Razkužilo je nevnetljivo in nizke koncentracije benzalkonija ga naredijo razmeroma nestrupenega. Prav tako predstavlja majhno požarno nevarnost in ne škodi površinam. Za razliko od alkoholnih razkužil izdelki na osnovi benzalkonija še naprej zagotavljajo zaščito tudi po tem, ko se raztopina posuši (Zogics, 2020).

2.4 Antibakterijska učinkovitost alkoholnih razkužil za roke

Najbolj možna razlaga protimikrobnega delovanja alkohola je denaturacija beljakovin. Ta mehanizem podpira ugotovitev, da je absolutni etilni alkohol, dehidracijsko sredstvo, manj baktericiden kot mešanice alkohola in vode, ker se beljakovine hitreje denaturirajo v prisotnosti vode. Tudi denaturacija beljakovin je skladna z opažanji, da alkohol uniči dehidrogenaze *E. coli* in da etilni alkohol poveča fazo zaostanka *Enterobacter aerogenes* in da bi lahko učinek zaostale faze obrnili z dodajanjem nekaterih aminokislin. Verjeli so, da je bakteriostatično delovanje posledica zaviranja tvorbe presnovkov, ki so bistveni za hitro delitev celic (CDC, 2008).

Baktericidno delovanje različnih koncentracij etilnega alkohola so proučevali pri različnih mikroorganizmih v obdobjih izpostavljenosti od 10 sekund do 1 ure. *Pseudomonas aeruginosa* je bila uničena v 10 sekundah z vsemi koncentracijami etanola od 30% do 100%, *Serratia marcescens*, *E. coli* in *Salmonella typhosa* pa v 10 sekundah pri vseh koncentracij etanola od 40% do 100%. Gram pozitivni organizmi zlati stafilokok (*Staphylococcus aureus*) in beta-hemolitični streptokok skupine A (*Streptococcus pyogenes*) so bili nekoliko bolj odporni, saj so bili uničeni v 10 sekundah pri koncentraciji etilnega alkohola med 60% in 95%. Izopropilni alkohol je bil nekoliko bolj baktericiden kot etilni alkohol za *E. coli* in zlati stafilokok (CDC, 2008).

Raziskava CDC-ja je dokazala, da je 70% etanol najučinkovitejše baktericidno sredstvo. Razlaga podpira trditev, da je antibakterijski mehanizem z denaturacijo proteinov in absolutnega etilnega alkohola (sredstva za dehidracijo) manj baktericiden kot mešanica alkohola in vode, ker so bakterije hitreje denaturirane ob prisotnosti vode. Študija je pokazala, da ima 70% koncentracija etanola le 10% učinkovitost v 10-sekundnem času izpostavljenosti in 70% metanola 30%

učinkovitost v 10-sekundnem intervalu (CDC, 2008).

Pri raziskavi »*Effectiveness of ethanol and methanol alcohols on different isolates of staphylococcus species*« so izvajali eksperimente na vrstah *S. aureus* in *S. epidermidi* stafilokokov, ki predstavljajo ene izmed najbolj pogostih vzrokov za bolezni. Rezultati učinkovitosti etanola na vrstah stafilokokov so pokazali, da je večja učinkovitost višjih koncentracij (absolutna, 90% in 80%) in učinkovitost z nižjimi koncentracijami manjša (70%, 60% in 50%), zlasti s krajšim časom izpostavljenosti. Rezultati učinkovitosti metanola na vrste stafilokoka (*staphylococcus*) so pokazali večje baktericidne učinke absolutne in 90-odstotne koncentracije, medtem ko so nižje koncentracije (80%, 70%, 60% in 50%) pokazale višjo stopnjo odpornosti stafilokokova s krajšimi časi izpostavljenosti. Ugotovljene so bile najboljše koncentracije baktericidnosti za etanol in metanol sta višji absolut in 90% s 100% oziroma 90% učinkovitosti. Rezultati so pokazali, da je etanol veliko boljše razkužilo kot metanol v vseh koncentracijah (Elzain in sod., 2019).

2.5 Vpliv razkužil na zdravje ljudi

Pod to točko bomo obravnavali do sedaj raziskan vpliv sestavin dezinfekcijskih sredstev na zdravje ljudi, ki smo jih predhodno opisali. Etanol, izopropilni alkohol ter metanol in 1-propanol lahko pridejo v človeški sistem preko respiratornih poti, intravenozno, oralno ali skozi kožo. Ker v nalogi obravnavama razkužilna sredstva, ki so namenjena nanosu na roke in ne kakšnemu drugemu vnašanju v telo, se bomo osredotočili na vpliv navedenih sestavin na kožo.

2.5.1 Etanol

Izdelki za higieno rok poškodujejo kožo, ker povzročajo denaturacijo beljakovin roženine (*stratum corneum*), spremembe medceličnih lipidov (bodisi izčrpavanje ali reorganizacija lipidnih delov), zmanjšano kohezijo roženic in manjšo sposobnost vezave vode na roženino (*stratum corneum*). Med njimi je glavna skrb izčrpanost lipidne pregrade, ki je lahko posledica stika z lipidno emulgirajočimi detergenti in alkoholi, ki topijo lipide. Pogosto umivanje rok vodi v postopno izčrpavanje površinskih lipidov in posledično globlje delovanje detergentov v površinske kožne plasti. V sušnih sezonah in pri osebah s suho kožo pride do hitrejšega izčrpavanja

lipidov. Poškodba kože spremeni tudi kožno floro, kar lahko povzroči pogostejšo kolonizacijo s stafilokoki in gram negativnimi bacili (WHO, 2009).

Posameznik je lahko izpostavljen vplivu etanola preko vsakdanjih gospodinjskih produktov. V znanstveni literaturi ni enotnega mnenja o varnosti razkužil za roke na osnovi etanola. Prav tako je veliko raziskav narejenih na področju oralnega vnosa etanola v človeško telo in manj na samo kožo. Alkoholi so v uporabi kot razkužilo za roke opisani kot nestrupeni in ocenjeno je, da nimajo nobenega alergenega potenciala. Ugotovljeno je bilo tudi, da drgnjenje rok z alkoholom manj škodljivo vpliva na kožo kot druga fizikalna dražila, ki povečujejo reaktivnost kože (Lachenmeier, 2008). Pokazalo se je, da ponavljajoča se uporaba različnih razkužil za roke na alkoholni osnovi bistveno ne spreminja transepidermalne izgube vode, vsebnosti dermalne vode ali sebuma v koži (Kramer in sod., 2002). Sredstvo, ki vsebuje etanol in naj bi potencialno povzročalo draženje kože, je bilo preizkušeno z enkratnimi in ponavljajočimi se preizkusi obližev in umivanja. Ni prišlo do pomembne spremembe kožne pregrade ali eritema, medtem ko se je hidracija kože znatno zmanjšala. Preskusi pranja so pokazali, da uporaba alkohola povzroča bistveno manj draženja kože kot umivanje z detergentom. Tudi na prej razdraženi koži etanol ni povečal draženja. Drgnjenje rok na alkoholni osnovi povzroča manj draženja kože kot umivanje rok in je zato z dermatološkega vidika najprimernejše za higieno rok (Lachenmeier, 2008). Problem same raziskave je bil, da smo ljudje, na sploh v času pandemije, pogosto izpostavljeni alkoholnim sredstvom, še posebej pa so izpostavljeni zdravstveni delavci. Raziskave so pokazale, da se kožne bolezni, kot so iritativni kontaktni dermatitis, razširjene med 25% in 55% medicinskimi sestrami, 85% pa jih je potrdilo pretekle težave s kožo (WHO, 2009). Iz tega lahko sklepamo, da razkužila, ki vsebujejo etanol, imajo vpliv na zdravje na daljše obdobje in pogosto obdobje nanašanja.

2.5.2 Izopropilni alkohol

Izopropanol in n-propil sta skoraj dvakrat bolj strupena kot etanol. Smrtna doza pri zaužitju je 250 mL. Simptomi in znaki okužbe preko inhalacije, zaužitja ali skozi kožo so lahko vztrajna slabost, bruhanje, hematemeza ipd. Glede na vir in raziskave podane v samem viru je možno, da se navedeni simptomi nanašajo večinoma na zaužitje substance z vsebnostjo izopropila, saj je velika večina navedenih primerov

povezana z zastrupitvijo ob zaužitju. Kljub temu naj bi podaljšani kontakt s kožo povzročil dermatitis, ki je predvsem pogost pri ljudeh z predhodnimi težavami s kožo (PubChem, 2004).

2.5.3 Metanol in 1-propanol

Od začetka pandemije je agencija FDA opazovala mnoge nesreče z zaužitjem ali dermalnim vnosom alkoholnih sredstev pri ljudeh. Pomladi leta 2020 so odkrili mnogo sredstev, ki so bila označena, da vsebujejo etanol, vendar so testirala pozitivno za kontaminacijo z metanolom. Glede na navedbe FDA metanol ni sprejemljiva sestavina v zdravilih zaradi strupenih vplivov na človeško zdravje. Podobno kot etanol in izopropil alkohol lahko daljša izpostavljenost kože metanolu povzroči dermatitis kot tudi transdermalno absorpcijo s sistemsko toksičnostjo. Prav tako se lahko pri nekaterih skupinah pojavi oblika slabosti, bruhanje, bolečina v glavi, zamegljen vid, koma in trajne poškodbe na živčnem sistemu (The Food and Drug Administration, 2021). Pridobljeni podatki o strupenih efekti metanola so močno zasnovani na primerih z namernim ali nenamernim oralnim vnosom produktov, ki vsebujejo metanol. Decembra 2020 je FDA zraven metanola potrdila neprimernost vsebnosti 1-propanola v razkužilnih sredstvih. Simptomi izpostavljenosti so lahko zmedenost, zmanjšana zavestnost ter pulz. Eksperimenti na živalskih primerkih so pokazali, da ima 1-propanol 2 do 4-krat večjo vlogo depresiva centralnega živčnega sistema kot etanol. Posameznikova izpostavljenost kože ali oči se lahko izrazi v obliki draženja ali v redkih primerih kot alergična reakcija (The Food and Drug Administration, 2020).

2.6 Sterilizacija

Sterilizacija je postopek, s katerim uničimo vse žive mikroorganizme, tudi bakterijske in glivne spore. Med mikroorganizme uvrščamo bakterije, viruse, enocelične organizme (alge), enocelične glive (kvasovke) in enocelične živali (praživali). Uspešnost sterilizacije je odvisna od začetnega števila mikroorganizmov, vrste mikroorganizmov in njihove odpornosti, časa izpostavljanja sterilizaciji, čistosti materiala pred sterilizacijo, embalaže, v kateri se sterilizira material (aluminijasta folija, plastična folija itd.), tipa sterilizacije in načina hranjenja materiala po opravljeni sterilizaciji (Godič in Zore, 2010).

Obstaja več postopkov sterilizacije, od fizikalnih in fizikalno-kemijskih do mehanskih postopkov (Godič in Zore, 2010). V raziskovalni nalogi smo uporabili vlažno sterilizacijo v avtoklavu, ki spada med fizikalne postopke. Postopek deluje tako, da z vlažno vročino pri višjih temperaturah, kot je vrelišče vode, steriliziraš pribor in določene tekočine. Sterilizira se v avtoklavu, ki deluje kot "ekonom" lonec. Avtoklav ima mehanizem za uravnavanje vodne pare in izčrpavanje zraka iz komore, kamor vložimo predmete. Pri avtoklaviranju tekočin in predmetov moramo biti previdni, da ne odpremo avtoklava, dokler se ne ohladi, sicer lahko pride do nesreče (steklo poči, tekočine brizgnejo iz steklenic) (Dragaš, 1998). Najpogosteje se avtoklavira pri 121°C/ 15 minut ali pri 134°C/ 5 minut ali več pri povišanem tlaku (Godič in Zore, 2010). Poleg avtoklaviranja smo za večjo sterilnost poskrbeli z razkuževanjem vseh površin z 70 % alkoholom, antibiogram pa smo delali v laminariju (brezprašni komori) ob gorilniku.



SLIKA 2: ŠOLSKI AVTOKLAV (LASTEN VIR)

3 PRAKTIČNI DEL

3.1 Materiali za mikrobiološki del

3.1.1 Zaščitna oprema

- Zaščitna halja
- Zaščitna očala

3.1.2 Vzorci alkoholnih razkužil

Vzorci so bili pridobljeni v različnih trgovinah in imajo različne proizvajalce. Vsem razkužilom je skupna aktivna snov etanol, nekateri vzorci imajo poleg etanola še propan-2-ol in terc-butil alkohol.

TABELA 1: OPIS VZORCEV ALKOHOLNIH RAZKUŽIL

Vzorec	Proizvajalec	Ime razkužila	Vsebnost alkohola ¹	Druge sestavine
1	Farmol Hungary K.f.t	Fa dezinfekcijski gel za roke	56,2 g etanola na 100 g proizvoda	Neznano
2	Plastik SI d.o.o	Dr. House gel za razkuževanje rok	40-50% etanola, 15-20% propan-2-ola ² , 73 g alkohola na 100 g proizvoda ³	Glicerin, propan-2-ol, terc-butil alkohol
3	Domači proizvod	Domače razkužilo	Okoli 70% etanola	Aloe vera gel, eterično olje
4	Kozmetika Afrodita d.o.o	SOS higiensko sredstvo za roke	60% alkohola	Glicerin
5	Ecolab d.o.o	Skinman Soft Protect	89,0 g etanola na 100 g proizvoda	Glicerin, vitamin E, pantenol

¹ Vsebnost alkohola, kot ga je napisal proizvajalec na škatlo izdelka oz. na varnostni list.

² Podatek na varnostnem listu, ki ga je napisal proizvajalec

³ Podatek na embalaži razkužila



SLIKA 3: UPORABLJENA ALKOHOLNA RAZKUŽILA (LASTEN VIR)

3.1.3 Kemikalije

- Destilirana voda,
- tehnični agar (Biolife),
- kvasni ekstrakt (Fluka Analytical),
- pepton (Biolife),
- etanol, za razkuževanje pribora (Sigma-Aldrich, 99,9%),
- streptomycin v diskih (30 µg),
- kloramfenikol v diskih (50 µg),
- penicilin v diskih (100 µg).

3.1.4 Laboratorijski pribor

- Čaše (50 mL, 500 mL),
- merilni valj (500 mL),
- kovinske žličke,
- epruveta,
- steklena palčka,
- plastične petrijevke,
- 5 mm diski iz filter papirja,
- kovinska pinceta,
- aluminijasta folija,
- spatula drigalski (Kefo),
- avtomatske pipete (LLG Labware) z nastavkom za 100 µl,
- plastične konice za pipete.

3.1.5 Laboratorijske aparature

- Tehnica (Kern, z natančnostjo 0,01 g),
- kuhalnik (Bomann),
- gorilnik (Campingaz),
- namizni avtoklav (CertoClav),
- mikrobiološka zaščitna komora - laminarij (MC-NC, Iskra PIO),
- inkubator (Binder GmbH).

3.2 Difuzijski antibiogram

Difuzijski antibiogram je način ugotavljanja odpornost bakterij proti antibiotikom ali kakšnim drugim sredstvom, ki ga proučujemo. Antibiotična sredstva naneseemo na agarno ploščo, kjer smo pred namestiti bakterije. Vsako gojišče lahko pripravimo kot tekoče, trdno ali poltrdno glede na količino agarja, ki ga v gojišče dodamo. Agar namreč povzroča strjevanje gojišča. Okoli mesta nanosa se pojavi območje, ki ga imenujemo inhibicijska cone. Tam bakterije niso zrasle. Premer inhibicijske cone izmerimo z ravnilom. Sredstvo, ki ima največjo inhibicijsko cono, je najbolj učinkovito pri uničevanju določene vrste bakterij (Center za prenos tehnologij in inovacij na inštitutu Jožef Stefan, 12. 3. 2021).

3.2.1 Opis mikroorganizma uporabljenega v raziskavi

Bacillus cereus je Gram pozitivna, sporogena in gibliva patogena bakterija, ki pripada rodu *Bacillus*, družini *Bacillaceae*, redu *Bacillales* in razredu *Bacilli*. Spore *B. cereus* so razširjene povsod v naravi, predvsem v prsti ter v različnih ekstremnih življenjskih okoljih, kot so morski mulj, gejzir in živalski iztrebki. *B. cereus* proizvaja dva enterotoksina (strup): emitični, ki povzroča bruhanje ter diarealni, ki povzroča drisko (NIJZ, 2013). Njen življenjski cikel sestavljajo doba delitve, doba rasti in doba sporulacije. Lahko predstavljajo vzrok za pljučnico, obolenje centralnega živčevja, infekcije ran po operacijah in gangreno. V živilski industriji predstavlja kontaminant, ki povzroča okvaro živil in zastrupitev pri ljudeh. Značilnost tvorbe spor, ki imajo veliko toplotno, sušno in radiacijsko odpornost, kar predstavlja tveganje v živilski industriji (Palman, 2006).

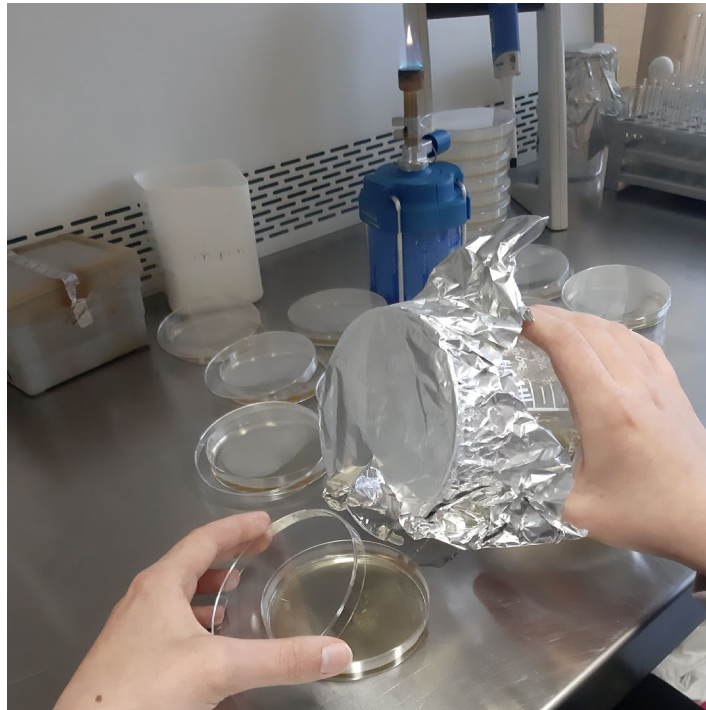
3.2.2 Priprava gojišč

Za preverjanje antibakterijske učinkovitosti dezinfekcijskih sredstev smo uporabili prekonočno kulturo gram pozitivne bakterije *B. cereus*. Te smo pripravili en dan pred nanosom na difuzijski antibiogram.

Za pripravo gojišča 12 testnih vzorcev (270 mL agarja) smo potrebovali 4,05 g agarja, 1,35 g peptona, 0,81 g kvasnega ekstrakta in 270 mL destilirane vode. Raztopino smo pripravili v 500 mL čaši.

Raztopino smo nato na kuhalniku segrevali do vretja ter jo prekrili z aluminijasto folijo. Za 15 minut smo jo postavili v namizni parni avtoklav, kjer smo jo pod pritiskom 1,5 atmosfere segreli na 121°C.

Po sterilizaciji smo ohlajen agar v laminariju (površino smo predhodno razkužili s 70% etanolom ter celoten postopek izvajali ob gorilniku za večjo sterilnost) prelili v petrijevke (približno 20 mL/petrijevko).



SLIKA 4: PRELIVANJE AGARJA NA PRIPRAVLJENE PETRIJEVKE (LASTEN VIR)



SLIKA 5: STRJEVANJE AGARJA NA STERILNI POVRŠINI OB GORILNIKU (LASTEN VIR)

3.2.3 Priprava difuzijskih antibiogramov

Z avtomatsko pipeto smo odpipetirali 100 μL premešane prekonočne kulture *B. cereus* na predhodno pripravljena gojišča. Ob gorilniku smo nato odmerek razmazali s spatulo Drigalski, da smo zagotovili konfluentno rast bakterij in s tem natančnost pri rezultatih. Spatulo in pinceto smo pred vsakim razmazom pomočili v 99,9% etanol in nesli preko gorilnika, da smo zagotovili sterilnost pripomočkov.

S pinceto smo nato pomočili sterilne diske (premer 5 mm) v dezinfekcijska sredstva, katerih odmerke smo nalili v čašo. V vsako petrijevko je šlo 5 diskov, ki so enakomerno oddaljeni drug od drugega. Za vsak vzorec razkužila smo uporabili 2 petrijevki in s tem pridobili 10 primerkov za vsak vzorec. Pri pozitivni kontroli smo nanесли diske, prepojene z antibiotiki (50 μg Kloramfenikol, 30 μg Streptomycin in 100 μg Penicilin).

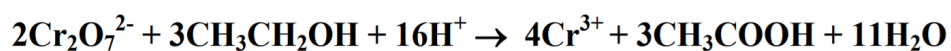
Petrijevke smo nato inkubirali za 24 ur pri 37°C. Po preteklem času smo s kljunastim merilom izmerili premere inhibicijskih con, 3-krat za vsak disk. Po meritvah smo podatke izpisali in izračunali povprečne vrednosti izmerjenih premerov.



SLIKA 2: PRIPRAVA DIFUZIJSKIH ANTIBIOGRAMOV (LASTEN VIR)

3.3 Določanje vsebnosti alkohola v razkužilih

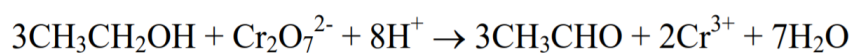
Kalijev dikromat oksidira primarne alkohole do karboksilnih kislin. Vmesni produkt je aldehyd. Reakcija je odvisna od koncentracije vodikovih ionov, zato da pride do popolne oksidacije. V primeru etanola redoks reakcija poteka v dveh postopnih reakcijah (Ferguson, 17. 3. 2021).



etanol

etanojska kislina

Prva reakcija:



etanol

etanal (acetaldehyd)

Druga reakcija:



etanal

etanojska kislina

Reakcijski pogoji, ki so najbolj ugodni za dokončanje reakcije, so med 60-65 °C za najmanj 30 minut. Zmanjšanje kroma iz oksidacijskega [VI] v oksidacijsko [III] stanje lahko opazimo tudi kot spremembo barve iz oranžne v zeleno. Poleg močno kislih pogojev mora biti v reakciji prisoten tudi presežek dikromata, da se omogoči zadostna količina dikromata za titracijo. Običajno je priporočljiva titracija z železovim amonijevim sulfatom z indikatorjem 1,10-fenantrolin (Ferguson, 17. 3. 2021).

3.3.1 Oksidacija kalijevega dikromata

Kemikalije:

- razkužila z etanolom (opisana v poglavju 3.1.2),
- kalijev dikromat ($K_2Cr_2O_7$),
- destilirana voda,
- koncentrirana žveplova kislina (H_2SO_4).

Pribor in laboratorijske aparature:

- steklene merilne bučke (50 mL, 1000 mL),
- steklene merilne pipete (5 mL, 10 mL, 20 mL),
- plastična posoda,
- vodna kopel,
- termometer,
- erlenmajerice (100 mL).

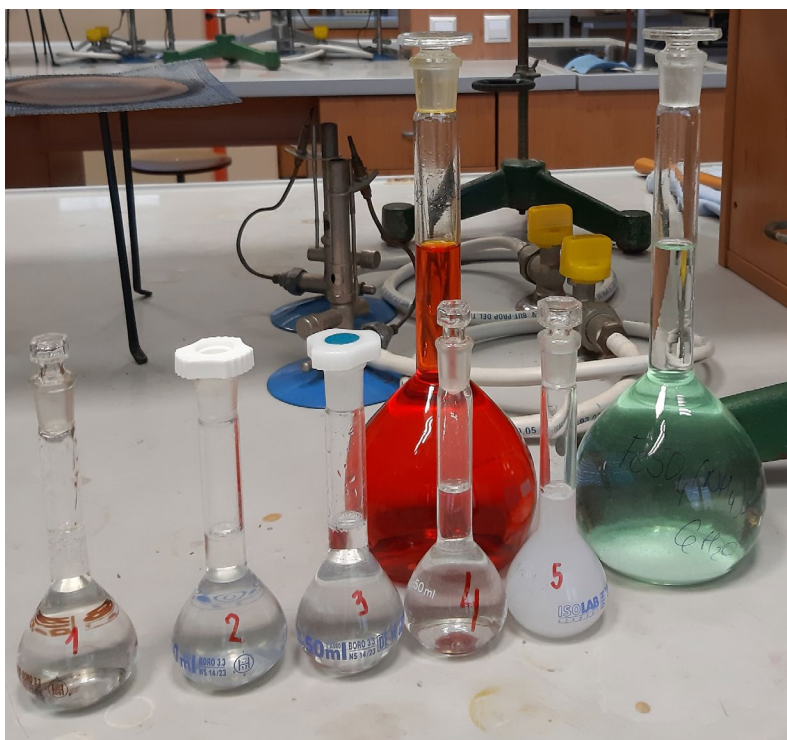
Priprava standardne raztopine kalijevega dikromata:

Raztopili smo 33,768 gramov kalijevega dikromata z približno 500 mL destilirane vode. Počasi in previdno smo med mešanjem dodali 325 mL koncentrirane žveplove kisline. Nekaj časa smo pustili, da se raztopina ohladi do sobne temperature. Volumetrično smo prenesli raztopino v merilno bučko s prostornino 1,0 L in dodali destilirano vodo do oznake (Ferguson, 17. 3. 2021).

Metoda za izvedbo oksidacije kalijevega dikromata:

Za vsako razkužilo smo postopek ponovili trikrat.

V 50 mL merilno bučko smo odpipetirali 10 mL razkužila in razredčili do oznake z destilirano vodo. Nato smo 5 mL razredčenega razkužila odpipetirali v 100 mL erlenmajerico. Vmes smo naredili še slepi vzorec, ki je vseboval 5 mL destilirane vode in 25 mL raztopine dikromata. Erlenmajerice smo postavili v veliko plastično posodo z zdrobljenim ledom in mrzlo vodo. Zatem smo z merilno pipeto počasi dodajali 25 mL raztopine kalijevega dikromata po kapljicah. Mešanica mora ostati hladna, da se prepreči izguba hlapov acetaldehida. Raztopina v erlenmajerici je spremenila barvo v temno zeleno, razen slepega vzorca, ki je dobil oranžno barvo. Nato smo jih postavili v vodno kopel v ponev pri stalni temperaturi pri 60-65 °C. Vzorce smo pustili, da reagirajo vsaj 30 minut. Po 30 minutah smo jih odstranili iz vročine in pustili, da se ohladijo (Ferguson, 17. 3. 2021).



SLIKA 7: RAZREDČENA RAZKUŽILA, RAZTOPINA KALIJEVEGA DIKROMATA (RDEČE) IN ŽELEZOV AMONIJEV SULFAT (ZELENO) (LASTEN VIR)



SLIKA 8: DODAJANJE KALIJEVEGA DIKROMATA V VZOREC (LASTEN VIR)



SLIKA 3: VZORCI V HLADNI VODNI KOPELI (LEVO) IN SEGREVANJE VZORCEV (DESNO) (LASTEN VIR)

3.3.2 Redoks titracija

Kemikalije:

- razkužila z etanolom (opisana v poglavju 3.1.2),
- destilirana voda,
- koncentrirana žveplova kislina (H_2SO_4),
- železov amonijev sulfat ($\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
- indikator 1,10-fenantrolin.

Pribor in laboratorijske aparature:

- steklene merilne bučke (1000 mL),
- erlenmajerice (100 mL),
- bireta (50 mL),
- plastična pipeta,
- steklene čaše.

Priprava železovega amonijevega sulfata:

Raztopili smo 135 g železovega amonijevega sulfata, $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}$, z približno 750 mL destilirane vode. Previdno in počasi smo dodali 25 mL koncentrirane žveplove kisline. Pustili smo, da se ohladi, nato smo volumetrično prenesli raztopino v merilno bučko s prostornino 1,0 L in dodali destilirano vodo do oznake (Ferguson, 17. 3. 2021).

Priprava indikatorja 1, 10-fenantrolin z železovim sulfatom:

Raztopili smo 0,348 g železovega sulfata, $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, z približno 25 mL destilirane vode. Temu smo dodali 0,743 g 1,10-fenantrolina. Raztopino smo prenesli v 50 mL čašo in razredčili z destilirano vodo do oznake (Ferguson, 17. 3. 2021).

Metoda za izvedbo redoks titracije:

50 mL bireto smo do oznake napolnili z raztopino železovega amonijevega sulfata. Vzorce z razkužili smo titrali tako dolgo, dokler raztopina ni postala smaragдно zelena. Nato smo dodali pet kapljic raztopine indikatorja 1,10-fenantrolina. Nadaljevali smo s titracijo, dokler se barva ni spremenila iz smaragдно zelene v rjavo. V našem primeru se je to zgodilo zelo hitro. Zatem smo odčitali porabo (Ferguson, 17. 3. 2021).



SLIKA 4: REDOKS TITRACIJA (LASTEN VIR)

4 REZULTATI

4.1 Antibakterijska učinkovitost alkoholnih razkužil

Naredili smo 10 antibiogramov s petimi ponovitvami v eni petrijevki. Vsakemu uspelemu vzorcu smo trikrat izmerili premer nastale inhibicijske cone. Za kontrolo smo naredili dva antibiograma, vsak je imel tri diske treh različnih antibiotikov. Kontrolni smo prav tako izmerili inhibicijske cone po istem postopku. Nato smo za vsako razkužilo in kontrolo izračunali povprečni premer inhibicijske cone. Podatki za vsako izmerjeno inhibicijsko cono so priloženi v prilogi pod tabelo 5. Standardno deviacijo smo izračunali v Excelu.

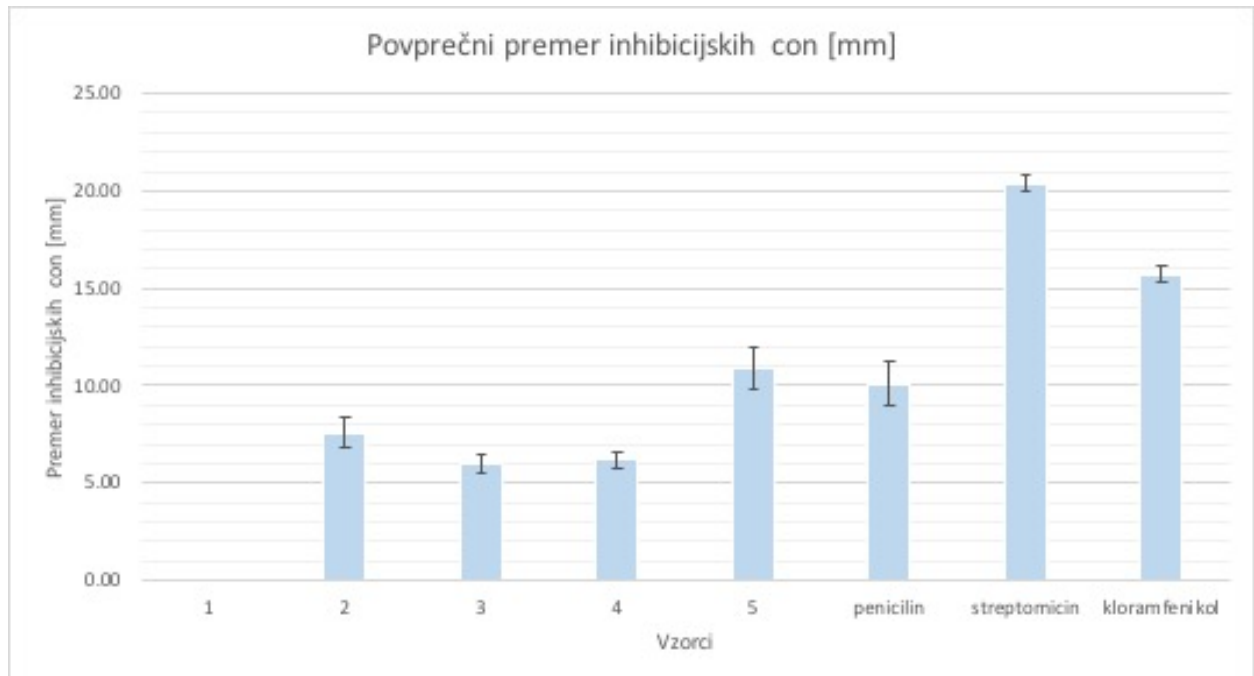
TABELA 2: POVPREČNI PREMER INHIBICIJSKIH CON ZA POSAMEZNO VRSTO RAZKUŽIL IN KONTROL

Vzorec	Povprečni premer inhibicijskih con [mm]	Standardni odklon
1	0,00	0,00
2	7,37	0,79
3	6,04	0,47
4	6,25	0,37
5	11,01	1,08
Penicilin	10,08	1,12
Streptomycin	20,44	0,44
Kloramfenikol	15,71	0,42

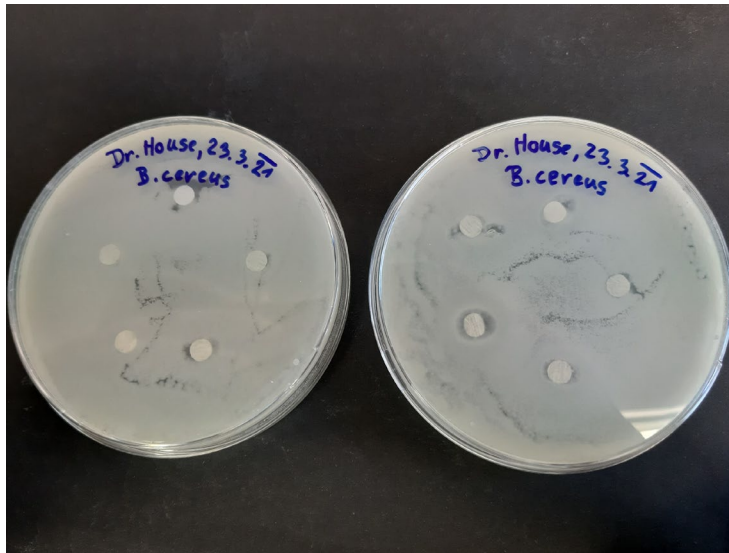
Iz tabele 2 je razvidno, da ima razkužilo za roke Skinman Soft Protect (vzorec 5) najboljšo antibakterijsko učinkovitost na bakterije *Bacillus cereus*. Sledi mu razkužilo Dr. House (vzorec 2), ki ima že precej manjšo povprečno inhibicijsko cono. Najmanjšo povprečno inhibicijsko cono sta imela razkužili SOS (vzorec 4) in domače

razkužilo (vzorec 3). Razkužilo Fa (vzorec 1) ni imelo inhibicijske cone, kar pomeni, da ni antibakterijsko učinkovito na *Bacillus cereus*.

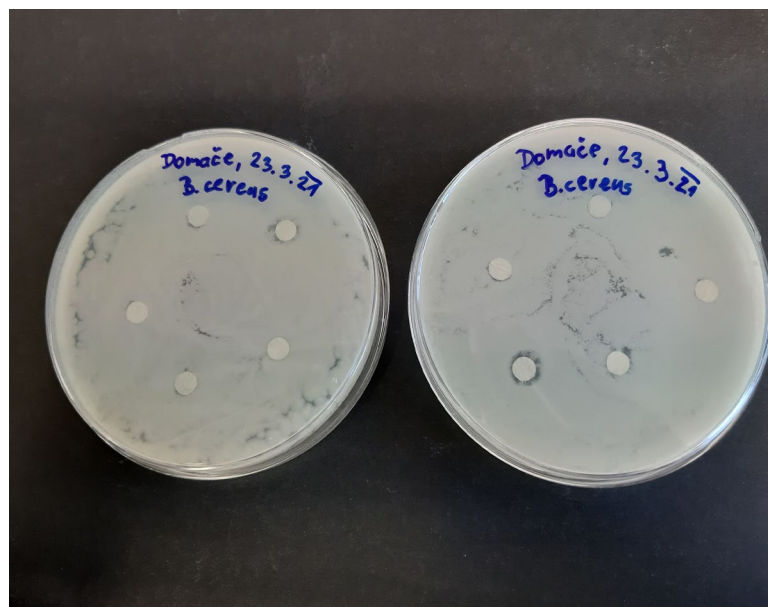
GRAF 1: POVPREČNI PREMER INHIBICIJSKIH CON ZA POSAMEZNO VRSTO RAZKUŽILA IN KONTROLE



SLIKA 5: NE RAZVITE INHIBICIJSKE CONE RAZKUŽILA FA (LASTEN VIR)



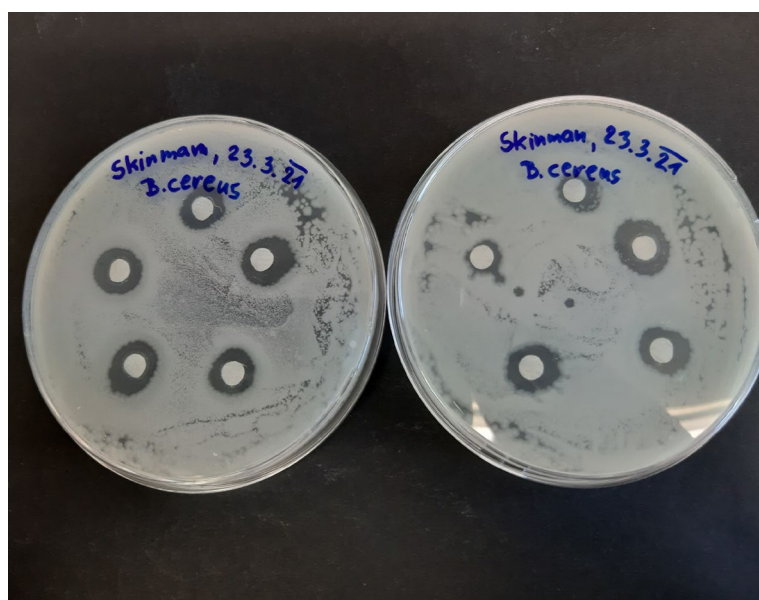
SLIKA 6: INHIBICIJSKE CONE RAZKUŽILA DR. HOUSE (LASTEN VIR)



SLIKA 7: INHIBICIJSKE CONE DOMAČEGA RAZKUŽILA (LASTEN VIR)



SLIKA 8: INHIBICIJSKE CONE RAZKUŽILA SOS AFRODITA (LASTEN VIR)



SLIKA 9: INHIBICIJSKE CONE RAZKUŽILA SKINMAN SOFT PROTECT (LASTEN VIR)

4.2 Določanje vsebnosti alkohola v razkužilih

TABELA 3: POVPREČNA PORABA ŽELEZOVEGA AMONIJEVEGA SULFATA IN MNOŽINSKA KONCENTRACIJA KROMOVIH IONOV

Vzorec	Poraba železovega amonijevega sulfata [mL]	Množinska koncentracija kromovih ionov [mol/L]
1	7,7	0,177
2	6,8	0,156
3	6,3	0,145
4	7,7	0,177
5	5,6	0,119
Slepi vzorec	15,1	/

GRAF 2: POVPREČNA PORABA ŽELEZOVEGA AMONIJEVEGA SULFATA

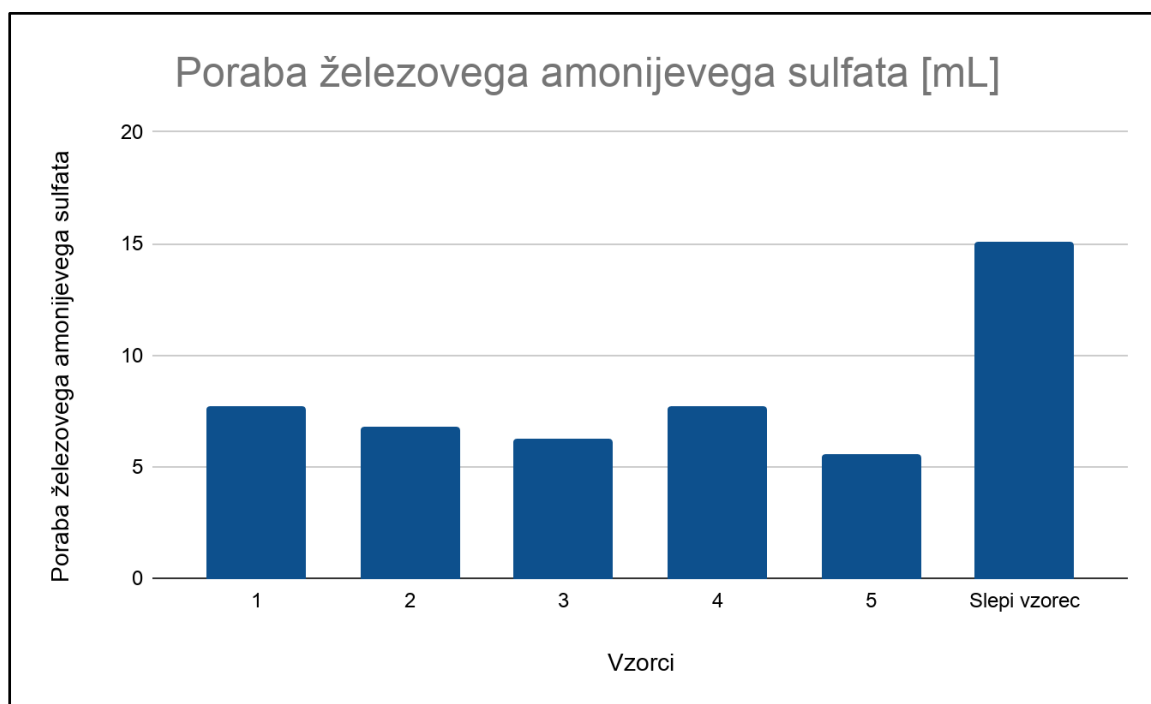
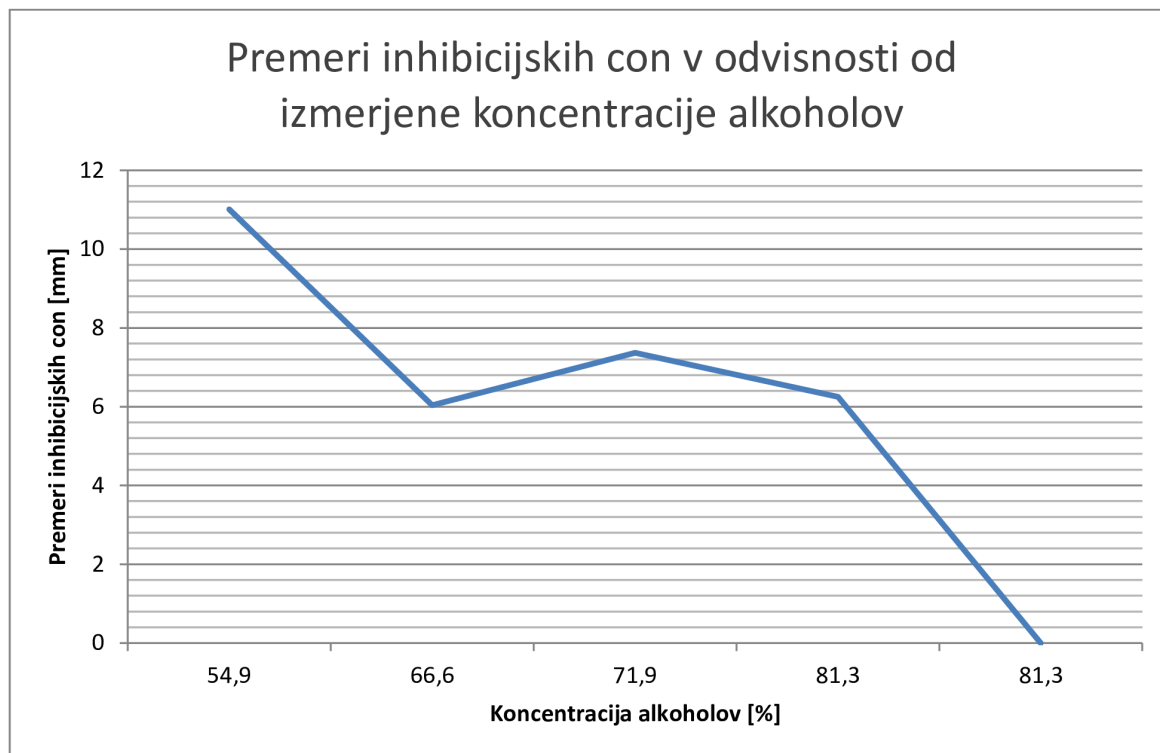


TABELA 4: IZRAČUNANE VREDNOSTI Odstotkov alkohola za posamezno razkužilo

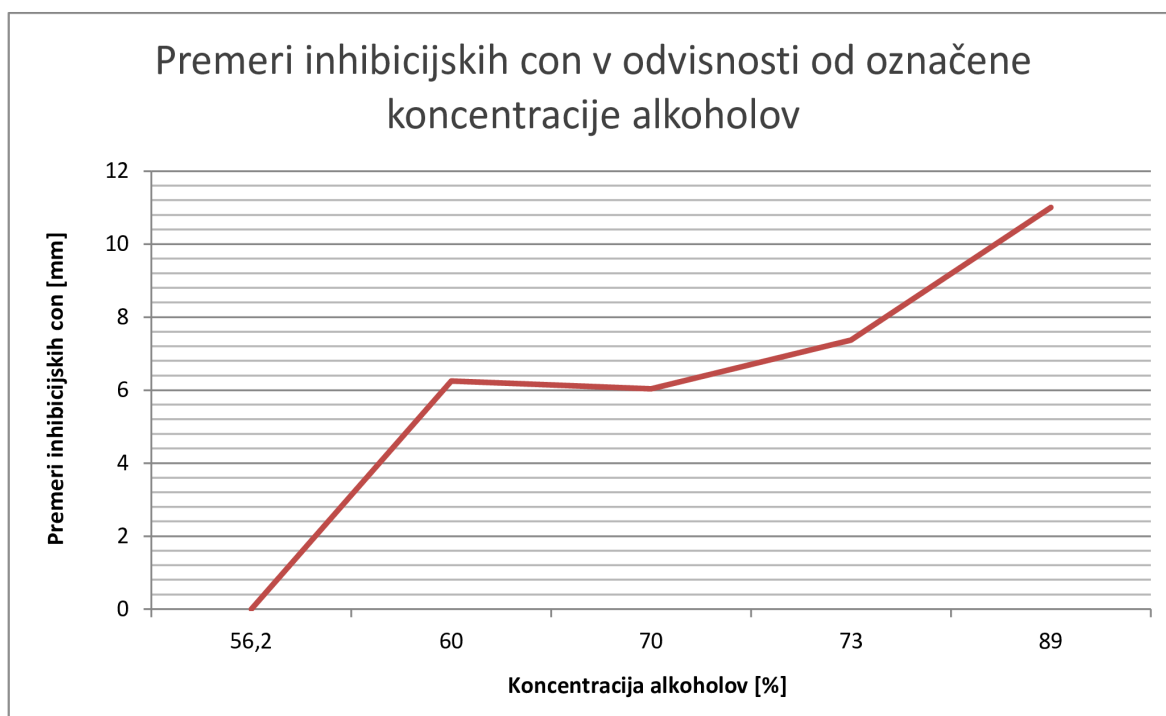
Vzorec	Vsebnost alkohola v % za posamezno razkužilo
1	81,3
2	71,9
3	66,6
4	81,3
5	54,9

Iz tabele 4 je razvidno, da imata Fa dezinfekcijski gel za roke in SOS higiensko sredstvo za roke največjo izmerjeno vrednost alkohola in sicer 81,3% alkohola. Proizvajalec je za razkužilo Fa zapisal, da ima 56,2 g etanola/100 g proizvoda, za SOS razkužilo pa, da ima okoli 60% alkohola. Gelu za razkuževanje Dr. House smo izmerili 71,9% alkohola. Proizvajalec je na varnostnem listu zapisal, da ima Dr. House 40-50% etanola in 15-20% propan-2-ola. Domačemu razkužilu smo izmerili 66,6% alkohola, kar se sklada z dejansko vrednostjo, saj smo naredili razkužilo z okoli 70% etanola. Najmanjšo vrednost alkohola smo izmerili razkužilu Skinman Soft Protect, ki ima 54,9% alkohola. Na embalaži od razkužila je pisalo, da ima 89 g etanola/100 g proizvoda.

GRAF 3: PRIMERJAVA PREMERA INHIBICIJSKIH CON GLEDE NA IZMERJENO KONCENTRACIJO ALKOHOLOV



GRAF 3: PRIMERJAVA PREMERA INHIBICIJSKIH CON GLEDE NA OZNAČENO KONCENTRACIJO ALKOHOLOV



Iz grafov 3 in 4 je razvidno, da se pri premeru inhibicijske cone 11,01 mm, 6,25 mm in 0 mm koncentracije alkoholov močno razlikujejo. Pri premeru 11,01 mm je izmerjena koncentracija 54,9%, označena koncentracija pa 89%. Pri premeru 6,25 mm je izmerjena koncentracija 81,3%, označena koncentracija pa 60%. Pri premeru 0 mm je izmerjena koncentracija 81,3%, označena koncentracija pa 56,2%. Pri premerih 6,04 mm in 7,37 mm se koncentracija alkoholov razlikuje le za nekaj odstotkov. Pri premeru 6,04 mm je izmerjena koncentracija 66,6%, označena koncentracija pa 70%. Pri premeru 7,37 mm pa je izmerjena koncentracija 71,9%, označena koncentracija pa 73%.

5 RAZPRAVA

V raziskovalni nalogi smo primerjali antibakterijsko učinkovitost petih razkužil za roke, ki imajo kot aktivno snov alkohol (etanol in propan-2-ol) in njihovo koncentracijo. Štiri izmed razkužil je industrijsko izdelanih, le eno je doma narejeno. Vsako izmed razkužil je imelo različno koncentracijo alkohola, od 56,2 g do 89 g alkohola/100 g proizvoda. Zaradi velikih odstopanj med izmerjenim alkoholom v laboratoriju in tistim, ki ga je napisal proizvajalec na škatlo oz. varnostni list, smo se odločili, da bomo z antibakterijsko učinkovitostjo primerjali le koncentracijo, ki jo je napisal proizvajalec.

Za določanje antibakterijske učinkovitosti smo uporabili metodo difuzije na trdem gojišču z difuzijskimi antibiogrami. Na agar smo postavili diske iz filter papirja, ki so bili predhodno namočeni v razkužilo. Po enodnevnem inkubiranju so v petrijevkah nastale inhibicijske cone okoli diskov, kjer se bakterije niso namnožile. Večji kot je bil premer inhibicijske cone, večja je bila učinkovitost.

Kot smo predvidevali v hipotezi 1, se je izkazalo, da je učinkovitost vseh alkoholnih razkužil različna, saj imajo različno koncentracijo alkohola in sestavo. Pri višjih koncentracijah industrijsko izdelanih razkužil za roke so bile inhibicijske cone večje, kar pomeni, da je preiskovana snov izkazovala višjo učinkovitost (Graf 1). Pri nižjih koncentracijah industrijskih razkužil so bile inhibicijske cone precej manjše, kar dokazuje, kako pomembna je koncentracija alkohola. Poleg koncentracije alkohola so imela razkužila tudi različno sestavo, nekatera so poleg etanola vsebovala še propan-2-ol (razkužilo Dr. House ima 15-20% propan-2-ola) in različna mehčala ter vlažilce (glicerin, aloe vera, vitamin E, pantenol, eterično olje). Sestave nismo primerjali, saj nismo testirali nobenega razkužila, ki bi vseboval le izopropanol. Zaradi tega nismo povsem prepričani, ali je imela vsebnost izopropanola kakšen vpliv na učinkovitost.

Nina A. Gold in sod. (2020) so v članku predstavili raziskavo, kjer je bilo razkuževanje rok z 85% vsebnostjo etanola bistveno boljše v primerjavi z razkužili, ki vsebujejo od 60% do 62% etanola. Moorer (2005) je v svoji raziskavi prišel do podobnih zaključkov. Tako lahko potrdimo hipotezo 2, saj smo tudi mi dobili podobne rezultate. Razkužilo Skinman Soft Protect z 89 g etanola/100 g proizvoda je imelo

daleč največjo antibakterijsko učinkovitost, premer inhibicijske cone je bil 11,01 mm (Slika 15).

Številne študije, ki jih navedel CDC (Centers for Disease Control and Prevention), so pokazale, da razkužila z manj kot 60% alkohola ne bodo delovala enako dobro pri številnih vrstah mikrobov in zgolj zmanjšala rast mikrobov (CDC, 2020). Naši rezultati so pokazali, da ima razkužilo SOS, ki ima 60% alkohola, zelo majhno inhibicijsko cono, premer je bil 6,25 mm (Slika 14), kar se sklada z drugimi raziskavami. Razkužilo Fa, ki je imelo 56,2 g etanola/100 g proizvoda (Graf 4), ni pokazalo antibakterijske učinkovitosti, saj se okoli nobenega diska ni pojavila inhibicijska cona (Slika 11). To smo predvidevali tudi v hipotezi 3.

Prav tako lahko s pomočjo pridobljenih rezultatov potrdimo predvidevanja v hipotezi 4. Domače razkužilo z okoli 70% vsebnostjo etanola je kazalo najmanjšo antibakterijsko učinkovitost glede na ostala industrijsko izdelana razkužila z več kot 60% vrednostjo alkohola (Graf 4). Povprečje inhibicijskih con domačega razkužila (6,04 mm) (Slika 13) je bilo primerljivo manjše kot inhibicijske cone ostalih dezinfekcijskih sredstev, ki so imela več kot 60% koncentracijo alkohola (7,37 mm; 6,25 mm in 11,01 mm). Sklepamo lahko, da na antibakterijsko učinkovitost razkužil ne vpliva le etanol, temveč tudi druge industrijsko pridobljene sestavine z znanstveno dokazano učinkovitostjo. Ker pa smo se v sami raziskovalni nalogi posvetili dokazovanju učinkovitosti razkužil glede na koncentracijo alkohola ne moremo biti prepričani, kateri dejavniki vplivajo na manjšo efektivnost domačega razkužila.

V raziskovalni nalogi smo za določanje koncentracije alkohola v razkužilih uporabili postopek oksidacije kalijevega dikromata in redoks titracije. Glede na navedbe Urada RS za kemikalije smo sklepali, da bodo izmerjene vsebnosti alkohola sovpadale z označbami na izdelku. Vendar hipoteze 5 ne moremo potrditi. S pomočjo povprečne porabe železovega amonijevega sulfata (mL) pri posamičnem vzorcu smo izračunali koncentracijo alkohola v 5 različnih razkužilih. Glede na rezultate eksperimenta sta imela največjo izmerjeno vsebnost (oba 81,3% alkohola) razkužila z označeno vrednostjo 56,2g etanola/100g produkta in 60% alkohola (Tabela 4). Ravno nasprotno smo dobili pri razkužilu z označeno največjo koncentracijo (89 g etanola/100 g produkta), katerega vrednost smo izmerili 54,9%.

Odstopanja pripisujemo dejstvu, da je bil zastavljen postopek določanja koncentracije alkohola namenjen vinu. Možni dejavniki, ki so vplivali na rezultate, je lahko sama sestava razkužil (npr. aloe vera, glicerin, eterično olje). Prav tako je bilo med samim postopkom titracije težko določiti mejo spremembe barve, kar je imelo posledice na variacijo rezultatov. Razlike med izmerjenimi in označenimi količinami lahko pripišemo dejstvu, da je bil postopek nekompatibilen z razkužili.

S podrobnejšo raziskavo bi lahko preverili učinkovitost razkužil na večih vrstah bakterij ali virusov na površinah. Z jemanjem brisov rok različnih oseb pred in po nanosu razkužil bi lahko dobili primerljivejše rezultate z vsakdanjim življenjem, kar pa je bilo zaradi karantene in omejitev gibanja precej oteženo. Prav tako bi lahko za determinacijo vsebnosti alkohola preizkusili kakšen drug postopek oz. tega predelali tako, da bi sovpadal s kemično sestavo dezinfekcijskih sredstev. Izboljšave podajamo kot iztočnico za nadaljnje raziskave o razkužilih za roke, katerih rezultate bi lahko aplicirali v moderno proizvodnjo ali v preverjanje uporabe razkužil v razkužilnikih ter tako zagotovili zanesljivost vsebin za uporabnike in posledično vplivali na zmanjšanje prenosa okužb.

6 ZAKLJUČEK

Namen našega raziskovalnega dela je bil v večini dosežen, saj smo ugotovili, kako se antibakterijska učinkovitost razkužil spreminja s koncentracijo alkohola, kljub temu da dejanske vsebnosti alkohola niso bile natančno izmerjene zaradi drugačne namembnosti kemijske metode.

Z eksperimenti smo uspeli vsem razkužilom določiti inhibicijsko cono, ki nam pove, katero razkužilo je bolj in katero manj učinkovito na določeno bakterijo. Poskus smo opravili na bakteriji *Bacillus cereus*, ki se je izkazala za precej odporno na alkoholna razkužila, saj inhibicijske cone niso bile velike, razen pri kontroli (antibiotikih).

Ugotovili smo, da je imelo najboljšo antibakterijsko učinkovitost razkužilo Skinman Soft Protect, ki je imelo največ alkohola, medtem ko razkužilo Fa ni bilo učinkovito, saj je vsebovalo manj kot 60% alkohola. Razkužila, ki so vsebovala med 60 in 75% alkohola, so imela podobno učinkovitost. Domače razkužilo z okoli 70% alkohola je imelo zelo podobno učinkovitost kot razkužilo SOS z 60% alkohola. Iz tega lahko sklepamo, da njegovo delovanje ni tako zelo učinkovito, zato priporočamo, da če je le to možno, da se uporabljajo industrijska razkužila, ki imajo med 80 in 90% alkohola.

V današnjem času epidemije bolezni Covid-19 je zelo pomembno, da se prepreči širjenje okužb in bolezni, zato je izjemnega pomena, da se nadaljujejo raziskave na to tematiko in da se še naprej opozarja, ozavešča in izpostavi, katera razkužila so bolj učinkovita proti boju z bakterijami in virusi in katera ne.

7 DRUŽBENA ODGOVORNOST

Pri raziskovanju smo se držali osnovnih načel družbene odgovornosti. Pri eksperimentalnem delu naloge smo se držali vseh varnostnih smernic, da smo preprečili potencialne poškodbe. Prav tako smo delo opravljali pod sterilnimi pogoji, da smo ohranili sterilnost okolja in preprečili naknadno kontaminacijo vzorcev. Poskrbeli smo za minimalno količino odpadkov, ki škodujejo okolju. Z nalogo smo želeli potrditi in prispevati k že raziskani tematiki.

Širjenje bakterij preko površin je eden najhitrejših in najnevarnejših. Prav z namenom najučinkovitejše preprečitve širjenja bakterij smo testirali razkužila z različnimi koncentracijami. Uporaba dezinfekcijskih sredstev naj bi se med letom 2021 in 2028 zaradi visokega porasta okužb in COVID-19 drastično zvišala (predvidena velikost trga antiseptikov in dezinfekcijskih sredstev naj bi v letu 2021 znašala 28.0 milijarde USD, ki bi naj do leta 2028 narasla do 105.4 milijarde USD) (GVR, 2021). To pomeni, da je možnost porasta nezanesljivih in neučinkovitih produktov na trgu mnogo večja, kar lahko prepreči učinkovito zaježitev širjenja okužb.

Z raziskovalno nalogo želimo spodbuditi zavestno nakupovanje dezinfekcijskih sredstev z namenom, da lahko kot družba hitreje in učinkovitejše zaustavimo širjenje bakterij in virusov. Prav tako želimo izpostaviti pomembnost pravilnega in doslednega nanosa razkužil za roke vsakič, ko smo izpostavljeni kontaminiranim površinam v javnih prostorih.

8 VIRI IN LITERATURA

Berkeley Wellness (2014). 6 Things About Hand Sanitizers (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.berkeleywellness.com/self-care/over-counter-products/article/6-things-know-about-hand-sanitizers> (povzeto 22. 1. 2021).

Centers for Disease Control and Prevention (2008). Chemical Disinfectants: Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/disinfection/disinfection-methods/chemical.html> (povzeto 29. 1. 2021).

Centers for Disease Control and Prevention. Show Me the Science – When & How to Use Hand Sanitizer in Community Settings (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.cdc.gov/handwashing/show-me-the-science-hand-sanitizer.html> (povzeto 25. 3. 2021).

Center za prenos tehnologij in inovacij na inštitutu Jožef Stefan. Kemija v medicini: Mikroorganizmi v/na vsakodnevni predmetih in difuzijski antibiogram (elektronski vir). Dostopno na: http://tehnologije.ijs.si/wp-content/uploads/2020/06/STEM4YouthKemijavMedicini_SI_final_mentorji.pdf (povzeto 12. 3. 2021).

Dragaš A. Z. (1998). Mikrobiologija z epidemiologijo. Ljubljana: DZS, str. 148-150

Elzain A., Elsanousi S., Ibrahim M. (2019). Effectiveness of ethanol and methanol alcohols on different isolates of *staphylococcus* species. Journal of Bacteriology & Mycology, let. 7, str. 71-73

Encyclopedia. Isopropyl Alcohol (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.encyclopedia.com/science-and-technology/chemistry/organic-chemistry/isopropanol> (povzeto 23. 1. 2021).

Encyclopaedia Britannica (1998). Ethanol: chemical compound (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.britannica.com/science/ethanol> (povzeto 23. 1. 2021).

Encyclopaedia Britannica (1998). Methanol: chemical compound (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.britannica.com/science/methanol> (povzeto 29. 1. 2021).

Ferguson J. Estimation of Alcohol Content in Wine by Dichromate Oxidation followed by Redox Titration. Sirromet Wines (elektronski vir). Dostopno na: <http://seniorchem.com/4.%20Alcohol-Content-by-Dichromate-Oxidation-and-Redox-Titration.pdf> (povzeto 17. 3. 2021).

Godič Torkar K., Zore A. (2010). Mikrobiologija s parazitologijo. Učbenik za vaje. Ljubljana: Zdravstvena fakulteta, Univerza v Ljubljani, str. 19, 27-28

Gold N. A., Mirza T. M., Avva U. (2020). National Center for Biotechnology Information. Alcohol Sanitizer (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513254/> (povzeto 24. 3. 2021).

Grand View Research (2021). Antiseptics And Disinfectants Market Size, Share & Trends Analysis Report By Type, By Product, By End Use (Hospitals, Clinics), By Sales Channel (FMCG, B2B), By Region, And Segment Forecasts, 2021 - 2028 (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/antiseptics-and-disinfectants-market> (povzeto 25. 3. 2021).

Graunar M., Podlipnik M., Cvirn Pavlin T. (2019). Kemija za gimnazije 3. Učbenik za organsko kemijo. Ljubljana: DZS, str. 132 in 136

Jamšek S., Sajovic I., Godec A., Vrtačnik M., Wissiak Grm K., Boh B., Glažar S. (2014). I- učbenik za kemijo v 9. razredu osnovne šole. Ljubljana: Zavod RS za Šolstvo, str. 88

Kramer A., Bernig T., Kampf G. (2002). US National Library of Medicine, National Institutes of Health. Clinical double-blind trial on the dermal tolerance and user acceptability of six alcohol-based hand disinfectants for hygienic hand disinfection. (elektronski vir). Dostopno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12090798/> (povzeto 29. 1. 2021).

Lachenmeier D. (2008). US National Library of Medicine, National Institutes of Health. Safety evaluation of topical applications of ethanol on the skin and inside the oral cavity. (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2596158/> (povzeto 29. 1. 2021).

Madhusa (2018). Difference Between Propan-1-ol and Propan-2-ol (elektronski vir). Dostopno na: <https://pediaa.com/difference-between-propan-1-ol-and-propan-2-ol/> (povzeto 23. 1. 2021).

Mitsubishi gas chemical. The Many Uses of Methanol: From Clothing to Fuel (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.mgc.co.jp/eng/rd/technology/methanol.html> (povzeto 29. 1. 2021).

Moorer WR. (2005). Antiviral activity of alcohol for surface disinfection. International Journal of Dental Hygiene, let. 1, str. 129-186

Nacionalni inštitut za javno zdravje (2013). *Bacillus cereus* (*Bacillus cereus*, *B. cereus*) v živilih (elektronski vir). Dostopno na: https://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/bcereus_04082015.pdf (povzeto 18. 3. 2021).

Palman A. (2006). Toksigenost sevov bakterije vrste *Bacillus cereus* iz živil. Diplomsko delo (elektronski vir). Dostopno na: http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/dn_palman_anja.pdf (povzeto 18. 3. 2021).

PubChem (2004). National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database for Isopropanol (elektronski vir). Dostopno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/hsdb/116> (povzeto 29. 1. 2021).

PubChem (2004). National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database for Methanol (elektronski vir). Dostopno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methanol> (povzeto 29. 1. 2021).

PubChem (2004). National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database for Propanol (elektronski vir). Dostopno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Propanol> (povzeto 29. 1. 2021).

Rogers K. (2015). Encyclopaedia Britannica. Hand sanitizer: cleansing agent (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.britannica.com/topic/hand-sanitizer> (povzeto 23. 1. 2021).

Rubin, A. (2020). Facts About Hand Sanitizer (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.flushinghospital.org/newsletter/facts-about-hand-sanitizer/> (povzeto 22. 1. 2021).

The Food and Drug Administration (2020). FDA updates on hand sanitizers consumers should not use (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-updates-hand-sanitizers-consumers-should-not-use> (povzeto 29. 1. 2021).

The Food and Drug Administration (2021). Policy for Testing of Alcohol (Ethanol) and Isopropyl Alcohol for Methanol, Including During the Public Health Emergency (COVID-19) (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.fda.gov/media/145262/download> (povzeto 29. 1. 2021).

Urad Republike Slovenije za kemikalije (2020). Učinkovitost biocidnih proizvodov za razkuževanje rok (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.gov.si/novice/2020-09-28-ucinkovitost-biocidnih-proizvodov-za-razkuzevanje-rok/> (citirano 23. 3. 2021).

Vrtačnik M., Zmazek B., Boh B. (2014). I-učbenik za kemijo v 3. letniku gimnazije. Ljubljana: Zavod RS za Šolstvo, str. 103

Wade G. L. (1998). Encyclopaedia Britannica. Propyl alcohol: chemical compound (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.britannica.com/science/propyl-alcohol> (povzeto 23. 3. 2021).

World Health Organization (2009). National Center for Biotechnology Information. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care: First Global Patient Safety Challenge Clean Care Is Safer Care. Skin reactions related to hand hygiene (elektronski vir). Dostopno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144008/> (povzeto 29. 1. 2021).

Zogics (2020). Comparing Alcohol-Based Vs. Alcohol-Free Hand Sanitizers (elektronski vir). Dostopno na: <https://blog.zogics.com/alcohol-based-vs-alcohol-free-hand-sanitizers/> (povzeto 24. 1. 2021).

PRILOGE

TABELA 5: IZMERJENE VREDNOSTI PREMERA INHIBICIJSKIH CON RAZKUŽIL IN KONTROL

Znamka razkužil					Vrsta kontrole		
Fa	Dr. House	Domače razkužilo	SOS	Skinman Soft	Penicilin	Streptomycin	Kloramfenikol
PREMERI INHIBICIJSKIH CON (mm)							
	6,40	6,11	6,27	12,70	10,38	20,07	15,85
	9,22	6,32	5,65	12,09	8,53	20,75	15,15
	6,82	5,62	6,42	13,54	12,14	19,64	15,95
	7,03	6,87	5,83	9,52	10,42	20,53	15,18
	6,50	6,12	5,61	8,81	9,44	20,81	15,78
	5,50	6,30	5,77	9,51	9,58	20,81	16,34
	9,08	5,25	5,89	11,70			
	8,19	5,19	5,78	10,53			
	6,02	5,60	5,82	11,69			
	10,14	6,54	7,67	9,01			
	6,46	7,05	6,27	10,60			
	6,48	6,24	5,77	9,50			
	9,54	5,75	6,72	9,12			
	8,35	5,54	6,49	11,13			
	9,59	5,69	6,70	11,51			
	7,77			11,49			
	6,80			11,24			
	6,46			10,52			
	9,12			9,99			
	6,40			12,64			
	7,18			11,17			
				10,94			
				10,79			
				10,51			
				12,82			
				12,52			
				12,19			

Povprečje premerov prve ponovitve (mm)							
0,00	6,91	5,93	5,89	10,77	10,35	20,15	15,65
Povprečje premerov druge ponovitve (mm)							
0,00	7,84	6,14	6,61	11,24	9,81	20,72	15,77
Povprečje premerov vseh inhibicijskih con (mm)							
0,00	7,37	6,04	6,25	11,01	10,08	20,44	15,71