

ECOCUTE EKOLOŠKO DEZINFEKCIONO SREDSTVO

Ljiljana Nikolić-Bujanović, Negica Popović, Miloš Simičić, Milan Čekerevac, Petar Rakin

IHIS Holding, Institut za hemijske izvore struje, Beograd, Batajnički put 23

Kratak sadržaj: U cilju postizanja što boljih efekata u oblasti sprečavanja razvoja patogenih bakterija došlo se do ekološkog dezinficijensa na bazi srebra i vodonik peroksida. U radu je predstavljen način dobijanja ovog sredstva kao i efekti delovanja na veliki broj patogenih bakterija. Ovo sredstvo je ekološki vodeni rastvor i izuzetno je efikasno u suzbijanju mnogih mikrobioloških kultura kao što su *Salmonella choleraesuis*, *Protens mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus*, *Enterococ. faecali*, *Candida albicans* i mnogih drugih. Izvanredna mikrobiološka aktivnost sredstva je potvrđena na Vojnomedicinskoj akademiji u Beogradu u Laboratoriji za ispitivanje dezinficijensa. Ovo sredstvo je izuzetno efikasno, a kao potpuno degradabilno (razlaže se na vodu i kiseonik) i ne sadrži hlor, aldehide i fenol, potpuno je prihvatljivo za primenu u medicini, prehrambenoj industriji, industriji voda i sredstava koja su u direktnoj vezi sa ljudima. Pored toga, njihovo dejstvo je višestruko jače i trajnije pa čak i na povišenim temperaturama, od sredstava prisutnih na našem tržištu. Sredstvo je višestruko efikasnije i od vodonik peroksida, a osim na pomenute bakterije i gljivice, deluje i na viruse i sporozoe. Osim pokazanog izuzetnog sinergetskog delovanja ovog kombinovanog dezinficijensa pokazana je i njegova netoksičnost za ljudsku populaciju.

Cljučne reči: dezinficijens, vodonik peroksid, srebro, elektroliza, virusi, bakterije

Uvod

Dezinfekcija je proces nepotpunog uništavanja patogenih mikroorganizama. To je ciljano smanjenje broja nepoželjnih aktivnih mikroorganizama, sve do broja kada oni više ne mogu da nanesu štetu (infekciju, truljenje, itd). Postoji mehanička, fizička i hemijska dezinfekcija.

Danas se sve više proizvode hemijska dezinfekciona sredstva, kako ona na bazi već poznatih hemijskih jedinjenja, tako i ona na bazi novosintetizovanih supstanci, sa širokim spektrom delovanja na bakterije, viruse, parazite i gljivice.

U Institutu za hemijske izvore struje, razvijana su sredstva za dezinfekciju čija je namena sprečavanje razvoja patogenih bakterija najčešće prisutnih u

prehrambenoj industriji, industriji alkoholnih i bezalkoholnih pića, zdravstvenim ustanovama, školama i dr. U ovom radu predstavili smo efekat delovanja ekološkog dezinfekcionog sredstva ECOCUTE i prikazali način dobijanja i verifikaciju njegovog delovanja. Metoda dobijanja, koja će u sledećem radu biti detaljnije opisana, se sastoji iz dva sukcesivna elektrohemijska postupka, elektrolize slabog rastvora soli i anodnog rastvaranja srebra, posle čega se dobijeni proizvod umešava sa rastvorom vodonik-peroksida (HP).

Ovako dobijen potpuno ekološki vodeni rastvor je izuzetno efikasan u suzbijanju mnogih mikrobioloških kultura kao što su *Salmonella choleraesuis*, *Protens mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus*, *Enterococ. faecali*, *Candida albicans*, kako je to pokazalo ispitivanje na antimikrobnu aktivnost u Laboratoriji za ispitivanje dezinficijensa Vojnomedicinske akademije u Beogradu. Uzorak pod radnim nazivom ECOCUTE SP izabran je za proizvodnju u našem Institutu pod nazivom ECOCUTE. Od Nacionalnog centra za kontrolu trovanja pri VMA, ECOCUTE je dobio verifikaciju o netoksičnosti.

Adresa za korespondenciju:

Ljiljana Nikolić-Bujanović
IHIS Holding
Batajnički put 23, Beograd
Tel. 011 2195 700
Fax 011 194 991
e-mail: ihis@eunet.yu

IHIS je napravio patentnu prijavu za pomenuto sredstvo pod nazivom »Elektrohemijski postupak proizvodnje ekološkog dezinfekcionog sredstva«, P-309/03 od 21. 4. 2003. godine.

Literaturni pregled

Oksidaciona sredstva, koja su uglavnom do sada korišćena kao dezinficijensi, imaju veliki afinitet prema organskim materijama koje oksidišu. U toku tog procesa ona talože belančevine, kako na površini (adstrigentno delovanje) tako i u dubini tkiva (kaustično delovanje). Ovoj grupi pripada i vodonik-peroksid (HP). Najnovija istraživanja (1) su pokazala mehanizam delovanja HP na rezistentne bakterije. Uzrok povećane osetljivosti ovih bakterija na oksidativni stres, izazvan dejstvom HP, je redukovan nivo enzima katalaze. Naime, tokom rasta, HP se akumulira u bakterijskim ćelijama kao normalna posledica korišćenja kiseonika za proces respiracije (disanja). Ukoliko se HP ne razloži u ćelijama dejstvom enzima katalaze, on ispoljava štetno dejstvo tako što oksiduje proteine i lipide i izaziva hemijske modifikacije DNK, koji za posledicu imaju ćelijsku smrt.

Dezinfekciona svojstva srebra poznata su od davnina. Istorija je puna primera korišćenja srebra za čišćenje i zaštitu od zagađenja (2). Srebro je posebno efikasno u prevenciji i sprečavanju razmnožavanja bakterija. Srebro precipitira, pa se upotrebljava kao antiseptik, adstrigent i kaustik. Ima jak oligodinamički efekat. Prema istraživanju (3) srebro nije toksično za ljudski organizam osim ekstremnih slučajeva predoziranja kada se javlja problem sive boje kože poznat kao Argyria.

Tumačenje mehanizma dezinfekcionog procesa svode se na:

- promene permeabiliteta ćelijske opne mikroorganizma,
- oksidaciju ćelijskih elemenata,
- biohemijske reakcije između dezinficijensa i pojedinih ćelijskih elemenata,
- hidrolizu ćelijskih elemenata i
- promenu koloidalnih svojstava ćelijskih elemenata.

U radovima (4–6) opisana je procena dezinfekcionih mogućnosti i mogućih polja primene kombinovanog sredstva za dezinfekciju na bazi srebra i HP. Posmatrajući baktericidnu aktivnost ovakvog dezinficijensa na jednoj od najrezistentnijih bakterija, *Escherichia coli*, zaključuje se visoka baktericidna aktivnost kombinacije srebra i HP. Kombinovani, srebro i HP, pokazuju sinergetsko delovanje na sposobnost rasta *E. Coli*. Takođe je pokazan visok stepen virusoidnosti ove kombinacije, dok je za pojedinačno dejstvo srebra utvrđeno da nema virusoidnu aktivnost dok HP ima slabu. U nekim slučajevima kombinovani baktericidni efekat je bio 1000 puta veći od sume pojedinačnih delovanja.

Postupak dobijanja Ecocute

U laboratoriji našeg Instituta razvijen je postupak za dobijanje jednog ovakvog dezinficijensa koji kombinuje delovanja HP i jona srebra. Postupak dobijanja sastoji se iz četiri faze:

- Demineralizacija vode do 0,2 $\mu\text{S}/\text{cm}$ provodljivosti
- Protonizacija slabog rastvora soli
- Elektrohemijsko rastvaranje 99,99 % srebra u anolnom rastvoru
- Umešavanje vodonik-peroksida

Demineralizovana voda, čiji se kvalitet kontroliše merenjem provodljivosti uvodi se u reaktor za pravljenje slabog rastvora tartarata. Tako pripremljen elektrolit uliva se u elektrohemijski reaktor za protonizaciju elektrolita. Na elektrode reaktora dovode se odgovarajuća struja i napon i vrši elektroliza do postizanja vrednosti $\text{pH}=3$ u anolnom delu reaktora.

Po završenju elektrolizi katolit se izliva u rezervoar u kome se skladišti do korišćenja za dalju proizvodnju sredstava za odmašćivanje, a anolit se izliva u reaktor za anodno rastvaranje srebra. U ovom reaktoru se vrši elektrohemijsko rastvaranje srebra (99,99%) do željene koncentracije. Elektrolit je u reaktoru zaštićen od dejstva svetlosti. Dobijeni rastvor se izliva u rezervoar za umešavanje komponenti.

U rezervoaru za umešavanje dodaje se HP i posle homogenizacije, dobijeni ECOCUTE, se uliva u rezervoar za skladištenje. Gotovo dezinfekciono sredstvo čuva se u odgovarajućim sudovima zaštićeno od dejstva svetlosti. S obzirom da srebro deluje kao stabilizator na HP, vreme skladištenja ovakvog sredstva je daleko duže od vremena skladištenja samog HP.

Provera delovanja Ecocute

Da bi se neko dezinfekciono sredstvo prihvatilo kao dezinficijens, neophodno je da ispunjava određene uslove odnosno da odgovara određenim kriterijumima:

- da deluje na vegetativne oblike bakterija, spora, gljivica, virusa,
- da je određeno vreme efikasnosti prema navedenim mikroorganizmima,
- da se poznaje njegova efikasnost u prisustvu organskih materija, pH i temperature.

Dinamika i kvalitet dezinfekcionog procesa, međudnos mikroorganizma i dezinficijensa posmatra se kroz tri osnovne pojave:

1. Stepenu adsorpcije dezinficijensa na zid ćelije,
2. Penetraciju dezinficijensa u ćelijsku protoplazmu mikroorganizma,
3. Reakciju dezinficijensa sa jednom ili više ćelijskih komponentata.

Metoda provere

Sinergetsko dejstvo dezinfekcionog sredstva, pod nazivom ECOCUTE SP, ispitano je u Institutu za epidemiologiju Zavoda za preventivnu medicinu VMA, 07.07.2003. godine. Cilj ispitivanja je bio da se odredi baktericidni, fungicidni, mikrobakteriocidni i sporocidni efekat preparata ECOCUTE SP u odnosu na vreme delovanja i koncentraciju dezinficijensa.

Za određivanje navedenih efekata korišćen je kvantitativni suspenzioni test po DGHM metodu na sledećim organizmima:

1. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
2. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
3. *Salmonella typhimurium*
4. *Candida albicans* ATCC 24433
5. *Aspergillus spp.*
6. *Mycobacterium smaeigmatis* CCM 1693
7. *Spore Bacilus subtilisa* ATCC 19659

Korišćena je koncentracija dezinficijensa 100%.

Vreme kontakta bilo je 2,5 min, 5 min, 10 min, 20 min, 30 min, 1 sat i 2 sata.

Hranljive podloge:

- Glukozni bujon
- Hranljivi agar
- Krvni agar
- Endo agar
- SS agar
- Sabouraux agar
- Lowenstein kosi agar

Rastvor za neutralizaciju dezinficijensa

- Glukozni bujon + 3% Tween 80
0,1% L-histidina
0,5% Na-tiosulfata

Germicidni efekat je izračunavan po formuli $GE = \text{Log}N_c - \text{Log}N_d$ gde je N_c broj mikroorganizama u suspenziji kontrolne serije a N_d broj mikroorganizama u suspenziji posle delovanja dezinficijensa. Dobijeni rezultati prikazani su u tabeli I.

Takođe je vršeno upoređivanje delovanje vodonik peroksida (3%), pod radnim nazivom 3P i rezultati su dati u tabeli II.

Tabela I Germicidni efekat preparata ECOCUTE SP

Test organizma	Gustina suspenzije	Koncentracija dezinficijensa	Temperatura ambijenta, °C	GE 2,5 min	GE 5 min	GE 10 min
<i>Staphylococcus aureus</i>	$1,2 \times 10^7$	100%	21	$\geq 5,37$	$\geq 5,37$	$\geq 5,37$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3×10^7	100%	21	$\geq 6,01$	$\geq 6,01$	$\geq 6,01$
<i>Salmonella typhimurium</i>	2×10^6	100%	21	$\geq 4,84$	$\geq 4,84$	$\geq 4,84$
<i>Aspergillus spp</i>	$3,5 \times 10^6$	100%	21	$\geq 0,43$	$\geq 4,90$	$\geq 4,90$
<i>Candida albicans</i>	$1,5 \times 10^7$	100%	21	$\geq 5,17$	$\geq 5,17$	$\geq 5,17$
				5 min	10 min	20 min
<i>Mycobacterium smaeigmatis</i>	4×10^4	100%	21	$\geq 3,90$	$\geq 3,90$	$\geq 3,90$
				30 min	1 sat	2 sata
<i>Bacilus subtilisa</i>	1×10^6	100%	21	$\geq 5,0$	$\geq 5,0$	$\geq 5,0$

GE = germicidni efekat

Tabela II Germicidni efekat preparata 3P (3% H₂O₂)

Test organizma	Gustina suspenzije	Koncentracija dezinficijensa	Temperatura ambijenta, °C	GE 5 min	GE 10 min	GE 30 min
<i>Staphylococcus aureus</i>	$5,2 \times 10^7$	100%	21	$\geq 6,28$	–	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$4,8 \times 10^7$	100%	21	$\geq 5,87$	–	–
<i>Salmonella typhimurium</i>	$1,2 \times 10^8$	100%	21	$\geq 6,56$	–	–
<i>Aspergillus spp</i>	$1,5 \times 10^6$	100%	21	–	$\geq 0,62$	–
<i>Candida albicans</i>	$3,0 \times 10^6$	100%	21	–	$\geq 0,44$	–
<i>Mycobacterium smaeigmatis</i>	$5,1 \times 10^5$	100%	21	$\geq 4,75$	–	–
<i>Bacilus subtilisa</i>	$5,5 \times 10^7$	100%	21	–	–	$\geq 0,72$

GE = germicidni efekat

Rezultati i diskusija

Zaključak o delovanju ECOCUTE-a SP koji je dao Institut za epidemiologiju posle izvršenih testiranja je da preparat ECOCUTE SP u preporučenoj koncentraciji od 100%, pri temperaturi ambijenta od 21 °C, bez prisustva proteinskih opterećenja, ubija sve vegetativne oblike ispitanih *Gram pozitivnih* i *Gram negativnih bakterija*. Takođe ubija i sve *blastospore C. albicans* posle 2,5 minuta; sve spore *Aspergillus sp.* i sve bacile *Mycobacterium smegmatisa* posle 5 minuta i sve spore *B. Subtilisa* posle 30 minuta.

Preparat 3P preporučene koncentracije 100%, u ambijetalnim uslovima 21 °C, bez prisustva proteinskog opterećenja ubija sve vegetativne oblike ispitivanih sojeva *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* kao i sve bacile *Mycobacterium smegmatis* nakon 5 minuta kontakta. U istim uslovima preparat ne deluje na blastospore *Candida albicans* i spore *Aspergillus spp.* nakon 10 minuta, niti na spore *Bacillus subtilisa* nakon 30 minuta kontakta.

Poređenjem dobijenih rezultata primećuje se daleko viši baktericidni efekat ECOCUTE SP u odnosu na dejstvo preparata 3P (3% H₂O₂). Pokazano je da ECOCUTE SP ubija i sve blastospore *Candida albicans* pored brzog i efikasnog delovanja na ostale ispitane sojeve, dok je baktericidni efekat 3P ograničen samo na neke sojeve i to pri dužem kontaktu. Očigledno je da srebro prisutno u ECOCUTE SP višestruko pojačava dezinfekciona svojstva 3P.

S obzirom da literaturni podaci (4) pokazuju izuzetno sinergetsko dejstvo kombinovanog dezinfekcionog sredstva, srebra i vodonik-peroksida, na bakteriju *Escherichia coli* sledeći korak će biti ispitivanje sinergetskog dejstva ECOCUTE-a na ovo bakteriju.

Toksikološka ocena preparata ECOCUTE

Na osnovu zahteva našeg Instituta za hemijske izvore struje, upućenog Nacionalnom centru za kontrolu trovanja, Odeljenje za eksperimentalnu toksikologiju i farmakologiju, VMA, Beograd 09. 09. 2003.

godine sačinjena je toksikološka ocena preparata ECOCUTE.

Ispitivanje akutne oralne i dermalne toksičnosti ECOCUTE-a sprovedeno je na Wistar pacovima i Swiss miševima. Iritacija kože i oka sprovedena je na koži i sluznici kunića.

Zaključci govore da ni u jednoj grupi nije bilo uginjavanja životinja ni znakova trovanja. Takođe testirani preparat nema iritacioni potencijal za kožu ni sluznice oka kunića.

Imajući u vidu sastav i toksikološke ocene preparata, komisija Nacionalnog centra za kontrolu trovanja smatra da se ECOCUTE može koristiti za predviđenu namenu i predlaže da se razvrsta u grupu ocenjenih neotrovnih materija bez potrebe za označavanjem.

Zaključak

Teoretski, idealni dezinficijens bi trebalo da ima sledeća svojstva: baktericidnost i virucidnost, brzo inicijalno dejstvo, degradibilnost, netoksične rezidue, selektivnu toksičnost, otpornost na spoljne činioce, da ne oštećuje podlogu, da je bez neugodnog mirisa, ekološki prihvatljiv, jeftin, da se proizvodi u zemlji. Dezinfekciono sredstvo ECOCUTE, je sasvim blizu svim ovim zahtevima pa se može primeniti u mnogim oblastima. Pre svega u medicini: na ruke, površine (podovi, zidovi), predmete i uređaje u medicinskim, stomatološkim i veterinarskim ustanovama, gde su moguće razne infekcije izazvane mikroorganizmima. Zbog kombinovanog dejstva srebra i vodonik-peroksida ovaj preparat se ponaša kao dezinficijens, ali i kao antiseptik. Osim ove primene može se koristiti za dezinfekciju klimatizacionih i ventilacionih uređaja, transportnih vozila (putnička i vozila za prevoz hrane i namirnica). Takođe izuzetno bi bio koristan u dezinfekciji oprema i mašina u prehrambenoj industriji.

Zaprljane površine treba prvo očistiti, a zatim aplikovati dezinficijens u nerazređenom obliku, pomoću raspršivača, i ostaviti da deluje. Ispiranje čistom vodom nije obavezno.

ECOCUTE ECOLOGICAL DISINFECTANT

Ljiljana Nikolić-Bujanović, Negica Popović, Miloš Simičić, Milan Čekerevac, Petar Rakin

IHS Holding, Chemical Power Sources Institute, Belgrade, Batajnički put 23

Summary: Searching for an effective disinfectanting agent, in our Institute we developed an ecology-friendly solution on the basis of silver and hydrogen peroxide. This agent is an ecology-friendly water solution, which is extremely effective in destroying many microbiological cultures such as *Salmonella choleraesuis*, *Protens mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus Cereus*, *Staphylococcus*, *Enterococ. faecali*, *Candida albicans* and many others. Extraordinary microbiological effects of our agent have been tested and proven

effective at the Military Medical Academy in Belgrade, Laboratory for Testing of Disinfectants. This agent is exceptionally effective and it is completely biodegradable breaking down into water and oxygen. Since it does not contain chlorine, aldehydes nor phenol it is quite acceptable to be applied in the food industry, industry of water and industry of all other agents that are directly related to people. Besides, the effects are far stronger and longer lasting, even at elevated temperatures, than those of other agents available on our market. Our disinfecting agent is even more times effective than H_2O_2 . Apart from the above mentioned bacteria and fungi it also destroys viruses and protozoa. Except from it being an extremely effective disinfectant as described above, the composition of the agent described in this work is completely non-toxic to humans, animals and plants.

Key words: disinfectant, hydrogen peroxide, silver, electrolysis, viruses, bacteria

Literatura

1. European Commission (EC), Directorate-General (DG) XXIV, Consumer Policy and Consumer Health Protection. Opinion of the Scientific Steering Committee on antimicrobial resistance (Report of the European Commission, DG XXIV, Consumer Policy and Consumer Health Protection) (1999); Brussels: European Commission.
2. Russell AD, Hugo WB. Antimicrobial Activity and Action of Silver. Progress in Medicinal Chemistry 1994; Volume 31.
3. [USEPA] United States Environmental Protection Agency, R.E.D. Facts: Silver. Office of Prevention, Pesticides And Toxic Substances, U.S.Environmental Protection Agency, Washington D.C., H-7508W, (1992).
4. Pedahzur R, Katzenelson D, Barnea N, Lev O, Shuval HI, Fattal B, Ulitzur S. The efficacy of long-lasting residual drinking water disinfectants based on hydrogen peroxide and silver. Water Science and Technology 2000; 42 (1-2): 293-8.
5. 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 1997; 35: 11-12, pp 87-93.
6. Pedahzur R, Lev O, Fattal B, Shuval H. The Interaction of Silver Ions and Hydrogen Peroxide in the Inactivation of Escherichia-Coli: A Preliminary Evaluation of a New Long Acting Residual Drinking Water Disinfectant. Wat Sci Tech, 1995; 31: 5-6, pp 123-9.

Rad primljen: 15. 07. 2006

Prihvaćen za štampu: 05. 09. 2006