

Utjecaj osjetljivosti *Francisella philomiraghia* na različite dezinficijense

Rašić, Jure

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:893236>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-28**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Jure Rašić

UTJECAJ OSJETLJIVOSTI *FRANCISELLA PHILOMIRAGHIA* NA
RAZLIČITE DEZINFICIJENSE

Diplomski rad

Rijeka, 2021.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Jure Rašić

UTJECAJ OSJETLJIVOSTI *FRANCISELLA PHILOMIRAGHIA* NA
RAZLIČITE DEZINFICIJENSE

Diplomski rad

Rijeka, 2021.

Mentorica: prof. dr. sc. Marina Šantić

Diplomski rad je izrađen na Zavodu za mikrobiologiju i parazitologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci.

Diplomski rad obranjen je dana _____ u/ na _____

_____, pred povjerenstvom u sastavu:

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____

Rad sadrži 46 stranica, 8 slika, 8 tablica, 17 literaturnih navoda.

ZAHVALA

Ovaj rad posvećujem svojoj Obitelji, prijateljima i Josipi. S posebnim naglaskom na Obitelji i životnim vrijednostima kojima su me podučili, poštivanju, ljubaznosti, marljivosti i povjerenju prema drugima, pa i onda kada nam ne bude uzvraćeno. Hvala Mama, hvala Tata, na radosti i ponosu kojima ste pratili moje lijepe i loše trenutke kako kroz ovih 5 godina studiranja, tako i kroz 23 godine života, još veće Hvala za utjehu i podizanje kada bi naletjeli teški dani.

Posebnu zahvalnost dugujem svojoj Josipi, koja je uvijek bila uz mene, moj oslonac, moja podrška, vjera u bolje sutra, a posebno kada stvari nisu išle u željenom pravcu i bez koje bi moje studiranje bilo zaista puno teže. Pomoću nje je bilo puno lakše doći do željenog cilja.

Mojim najdražim i najbližim prijateljima, svim onim dragim ljudima koji su me na ovom petogodišnjem putu bodrili, veselili se i bili tu uz mene, veliko Hvala!

Među najdražim ljudima je i moja mentorica, Prof. dr. sc. Marina Šantić. Draga mentorice imao sam tu čast poznavati Vas i surađivati s Vama. Jer ste od prve godine moga studiranja vjerovali da ću doći u Rijeku i da ću završiti studij bez problema. Veliko Hvala na pomoći prilikom nastavka studiranja u Rijeci, upoznavanju s fakultetom i pomoći s bilo čim što sam od Vas zatražio. Hvala Vam od srca na svojoj podršci, razumijevanju, zauzimanju i vjeri koju ste u mene imali. Hvala!

Veliko hvala i komentorici, Mag. pharm. inv. Maši Knežević pri izradi diplomskog rada. Hvala na pomoći, strpljenju, razumijevanju i podršci.

Velike zahvale idu profesorima i djelatnicima Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci na prenesom znanju i shvaćanju gradiva na pojednostavljen način.

Vaš Jure.

„When you take risks, you learn that there will be times when you succeed and there will be times when you fail, and both are equally important“

-Ellen DeGeneres

SAŽETAK

Francisella tularensis je fakultativni unutarstanični gram-negativni kokobacil i uzročnik je zoonoze, bolesti pod nazivom tularemija. Dosad je poznato pet vrsta, a među najpoznatijim vrstama roda *Francisella* su: *F. tularensis*, *F. novicida*, *F. philomiraghia*, *F. hispaniensis* i *F. noatunesis*. Bakterija je izolirana iz više od 250 divljih vrsta. U današnje vrijeme, pored nabrojanih rodova, karakterizirane su nove vrste *Francisella* iz različitih vodenih okruženja. *Francisella* ima sposobnost preživjeti u različitim tipovima stanica poput epitelnih stanica, neutrofila, makrofaga i ameba. Visoka virulentnost bakteriji daje sposobnost da izbjegne detekciju i imunološki odgovor te se brzo razmnoži unutar stanica domaćina. *Acanthamoeba castellanii* rezervoar je bakterije u okolišu. Bakterija je istraživanjem postala javnozdravstveni problem otkako je klasificirana kao smrtonosno biološko oružje koje se može prenijeti aerosolom. Zbog toga, vrlo je važno utvrditi baktericidnu, odnosno bakteriostatsku učinkovitost dezinfekcijskih sredstava kada se koriste za inaktivaciju ovog uzročnika bolesti. U istraživanje je korištena *F. philomiraghia* te učinkovitost triju dezinficijensa (5 %-ni, 2 %-ni i 1 %-ni Asepsol; 1%-ni, 0,5 %-ni i 0,2 %-ni Bigvasan; 1%-ni, 0,5 %-ni i 0,2 %-ni Descocid) u tri različite koncentracije i kemijske komponente na navedenu bakteriju. Rezultati su pokazali da Asepsol (5 %, 2 % i 1%), odnosno njegove djelatne tvari djeluju baktericidno u svim koncentracijama i vremenskim intervalima (10 sekundi, 1 minuta, 5, 10 i 15 minuta) na *F. philomiraghia*. Učinkovitost Descocida i njegovih djelatnih tvari kao i Bigvasana i njegovih djelatnih tvari ovisila je o koncentraciji i vremenu izloženosti *F. philomiraghia*. Descocid i njegove djelatne tvari djelovale su bakteriostatski puno efikasnije pri koncentracijama 0,5 % i 0,2 % od Bigvasana u koncentracijama 1 %, 0,5 % i 0,2 %. Zaključuje se kako među ispitanim dezinficijensima Asepsol ima najveću učinkovitost, čije su aktivne supstance kvarterne amonijeve soli, čak i kod četiri puta niže koncentracije od proizvođačeve preporuke pokazale najbolju baktericidnu aktivnost protiv *F. philomiraghia*, dok se Descocid pokazao učinkovitijim od Bigvasana čak i pri nižim koncentracijama.

Ključne riječi: *F. philomiraghia*, *Acanthamoeba*, dezinficijensi, kvarterne amonijeve soli.

SUMMARY

Francisella tularensis is a facultative intracellular Gram- negative cocobacillus and the causative agent of zoonotic disease- called tularemia. So far, five species have been recognised, and among the most common species of the genus *Francisella* are: *F. tularensis*, *F. novicida*, *F. philomiraghia*, *F. hispaniensis* and *F. noatunesis*. The bacterium has been isolated from more than 250 wild species. Nowadays, in addition to the listed genera, new species of *Francisella* are characterized from different aquatic environments. *Francisella* has the ability to survive in various cell types such as epithelial cells, neutrophils, macrophages and amoeba cells. The high virulence of the bacteria gives it the ability to avoid detection and immune response and it multiplies rapidly within the host cells. *Acanthamoeba castellanii* is a reservoir of bacteria in the environment. The bacterium has become a public health problem and it was classified as a biological agent that can be transmitted by aerosol. Therefore, it is very important to determine the bactericidal or bacteriostatic effectiveness of disinfectants when used to inactivate this pathogen. *F. philomiraghia* and the effectiveness of three disinfectants (5%, 2% and 1% Asepsol; 1%, 0.5% and 0.2% Bigvasan; 1%, 0.5% and 0.2% Descocid) were studied in three different concentrations and chemical components to said bacterium. The results showed that Asepsol (5%, 2% and 1%) and its active substances have a bactericidal effect at all concentrations and time intervals (10 seconds, 1 minute, 5, 10 and 15 minutes) on *F. philomiraghia*. The efficacy of Descocid and its active substances as well as Bigvasan and its active substances depended on the concentration and exposure time of *F. philomiraghia*. Descocid and its active substances were bacteriostatically much more effective at concentrations of 0.5% and 0.2% than Bigvasan at concentrations of 1%, 0.5% and 0.2%. It is concluded that among the tested disinfectants Asepsol has the highest efficacy, whose active substances are quaternary ammonium salts, even at four times lower concentrations than the manufacturer's recommendation showed the best bactericidal activity against *F. philomiraghia*, while Descocid proved more effective than Bigvasan even at lower concentrations.

Key words: *F. philomiraghia*, *Acanthamoeba*, disinfectants, quaternary ammonium salts

Sadržaj

1. UVOD.....	1
1.1. Francisella spp.....	1
1.1.1. Vrste <i>Francisella</i>	2
1.1.2. Taksonomija <i>Francisella</i>	4
1.1.3. Epidemiologija i geografska rasprostranjenost.....	5
1.1.4. Klinička manifestacija tularemije.....	8
1.1.5 Liječenje i prevencija tularemije.....	10
2. Dezinfekcija.....	11
2.1. Uvjeti za provođenje kemijskih mjera dezinfekcije.....	12
2.2. Odgovorna osoba za rad s kemikalijama	13
2.3. Tehnike primjene dezinficijensa.....	14
2.4. Tehnike prije provođenja dezinfekcije	15
2.5. Provedbe dezinfekcija kao općih i posebnih mjera	16
2.5.1. Opća mjera dezinfekcije.....	16
2.5.2. Posebna mjera dezinfekcije.....	18
2.6. Inspeksijski i stručni nadzor nad provedbom DDD mjera	21
3. Dezinfekcijska sredstva.....	22
3.1. Asepsol	24
3.2. Bigvasan	25
3.3. Descocid	26
4. Cilj istraživanja	27
5. Materijali i postupci	28

5.1.1. Bakterije	28
5.1.2. Dezinficijensi.....	30
5.1. Postupci	31
5.2. Statistička obrada podataka	32
6. Rezultati.....	33
6.1. Ispitivanje osjetljivosti <i>F. philomiraghia</i> na djelatne tvari dezinficijensa 1 (D1).....	34
6.2. Ispitivanje osjetljivosti <i>F. philomiraghie</i> na djelatne tvari dezinficijensa 3 (D3).....	35
6.3. Ispitivanje osjetljivosti <i>F. philomiraghie</i> na djelatne tvari dezinficijensa 2 (D2).....	36
6.4. Usporedba učinkovitosti svih vrsta dezinficijensa	37
6.5. Statistička obrada svih vrsta dezinficijensa	38
7. Rasprava	42
8. Zaključak	43
9. Bibliografija	44
10. Životopis.....	46

1. UVOD

1.1. *Francisella* spp.

Znanstvenici McCoy i Chapin su davne 1911. godine u okrugu Tulare u Kaliforniji-Sjedinjene Američke države, izolirali malu gram-negativnu bakteriju iz uginulih vjeverica s bolešću koja je nalikovala kugi (1). Prema samom području pronalaska, bakterija je dobila ime *Bacterium tularense* (2). Doktor Edward Francis posvetio je svoju istraživačku karijeru samom izučavanju navedene bakterije, odnosno novootkrivenog organizma. Samim tim, došao je do spoznaje bakterije, ne samo kao uzročnika bolesti u životinja, već i kao potencijalno smrtonosnu bolest za čovjeka, koja od tada nosi naziv tularemija (3). U čast velikim doprinosima, ona biva preimenovana u *F. tularensis*, prema Dr. Edward Francis-u.

F. tularensis mala je, gram-negativna, kapsulirana i nepokretna bakterija koja za svoj rast treba aerobne uvjete (4).

Fakultativni unutarstanični patogen izoliran je iz više od 250 životinjskih vrsta i široko je rasprostranjen u okolišu. Prenosi se putem vektora i kontaktom sa zaraženim životinjama-zbog čega je bolest i zoonoza. Također, može se prenijeti i kontaminiranim aerosolom, hranom i vodom. Sposobna je preživjeti velike raspone uvjeta okoliša u kojemu se nađe te razmnožavati velikom brzinom u stanicama domaćina, primjerice u humanim makrofagima, epitelnim stanicama i neutrofilima (4).

Rod *Francisella* pripadnik je obitelji *Francisellaceae*. Unutar genoma, novija saznanja potvrđuju kako je identificirano i u rod *Francisella* klasificirano pet bakterijskih vrsta (4).

1.1.1. Vrste *Francisella*

Najpoznatije vrste roda *Francisella* su: *F. tularensis*, *F. novicida*, *F. philomiraghia*, *F. hispaniensis* i *F. noatunesis*. U današnje vrijeme, pored nabrojanih rodova, karakterizirane su nove vrste *Francisellae* iz različitih vodenih okruženja.

Dvije podvrste *F. tularensis*: *tularensis* (tip A) i *holarctica* (tip B) uzrokuju tularemiju kod ljudi i životinja. Najvirulentnija od svih podvrsta je *F. tularensis*, gram-negativan intracelularni patogen i prisutna je samo u Sjevernoj Americi. Najvirulentnija podvrsta je tip A i oko 70 % slučajeva tularemije uzrokuje u Sjevernoj Americi. Da bi izazvala bolest tularemiju, potrebno je svega 10 bakterija 10 CFU (engl. *colony-forming units*, CFU) kada se unosi inhalacijskim putem, zbog toga se smatra veoma infektivnom bakterijom. Razvija samim tim i najteži oblik ove bolesti s lako mogućim smrtnim ishodom (5).

Zbog mogućnosti prijenosa putem aerosola, rad s *F. tularensis* mora se obavljati u laboratorijskom uvjetima na razini 3 biološke sigurnosti (engl. biosafety level 3). Što podrazumijeva bolji nadzor i brzo reagiranje, kao ključni elementi u kontroli širenja opasnih infekcija. Primjerice, takav laboratorij za biološku sigurnost razine 3 u kojem se radi dijagnostika opasnih uzročnika nalazi se u Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ u Zagrebu .

F. novicida koristi se kao model u proučavanju bolesti tularemije jer uzrokuje slične simptome u miševa kao i *F. tularensis*. Uz to, rad s *F. novicida* je jednostavniji zbog toga što se koriste laboratorijski uvjeti sigurnosti na razini 2, što ga održava u biološkoj sigurnosti. I samim tim je prikladniji modelni organizam u daljnjem izučavanju uzročnika tularemije. Stanište bakterije je okoliš. Osobito se povezuje s vodenim ekosustavima, slanom i boćatom vodom, ledom i tlom (5).

F. tularensis podvrsta *holarctica* i *F. novicida* mogu stvarati biofilme koji pomažu održavanju bakterija u okolišu, lakše formiranje kolonija, dostupnost hrane (6). Biofilmovi zbog zajednice mikroorganizama koji su ireverzibilno povezani s površinom predstavljaju velike izazove za mikrobiologe i kliničare, posebno zbog svog visokog stupnja rezistentnosti

prema antibioticima što ih čini izuzetno zahtjevnim za tretiranje. Specifičnost za *F. novicida* je to što u *in vitro* uvjetima može stvarati biofilm pomoću kojeg može dulje vrijeme preživjeti okolišne uvjete u blatu i vodenom mediju (5).

Jedna od specifičnosti za *F. tularensis* i podvrstu *holarcticu* i *F. novicida* je ta što mogu ući i razmnožavati se unutar nekih organizama, odnosno praživotinja kao što su amebe. Prema tome, amebe služe kao rezervoar u okolišu gdje se bakterije razvijaju i doprinose boljoj virulenciji kako bi zarazile domaćina i oslabile njegov obrambeni mehanizam (7).

Ekstremna infektivnost i virulencija *F. tularensis* je u velikoj mjeri zbog sposobnosti izbjegavanja imunološkog otkrivanja i suzbijanja od strane urođenog imuniteta domaćina. Međutim, čimbenici i mehanizmi *Francisella* koji su odgovorni za izazivanje imunoloških supresija u domaćinu u kojeg invadira, nisu u potpunosti razjašnjeni .

1.1.2. Taksonomija *Francisella*

Francizele su mali, aerobni, brzorastući gram-negativni kokobacili u rasponu veličine od 0,2 μm x 0,2 μm do 0,2 μm x 0,7 μm . Pleomorfizam se povećava s vremenom nakon aktivnog rasta na hranjivoj podlozi (8).

Poseban značaj *Francisella* je u staničnim stjenkama, gdje više od 50 % gradivnih komponenti čine lipidi. Zbog ranije povezanosti s uzročnikom kuge, *Yersinia pestis*, kada je tek prvi puta bakterija izolirana iz uginulih vjeverica od bolesti sličnih kugi, tada su novootkrivenu bakteriju klasificirali u rod *Pasteurella*, zajedno s *Yersinia pestis*. Obje bakterije su uzročnici zoonotske infekcije uz kliničku sliku vrućice i limfadenopatije kod ljudi. Čovjek je slučajni domaćin *F. tularensis* (4).

1.1.3. Epidemiologija i geografska rasprostranjenost

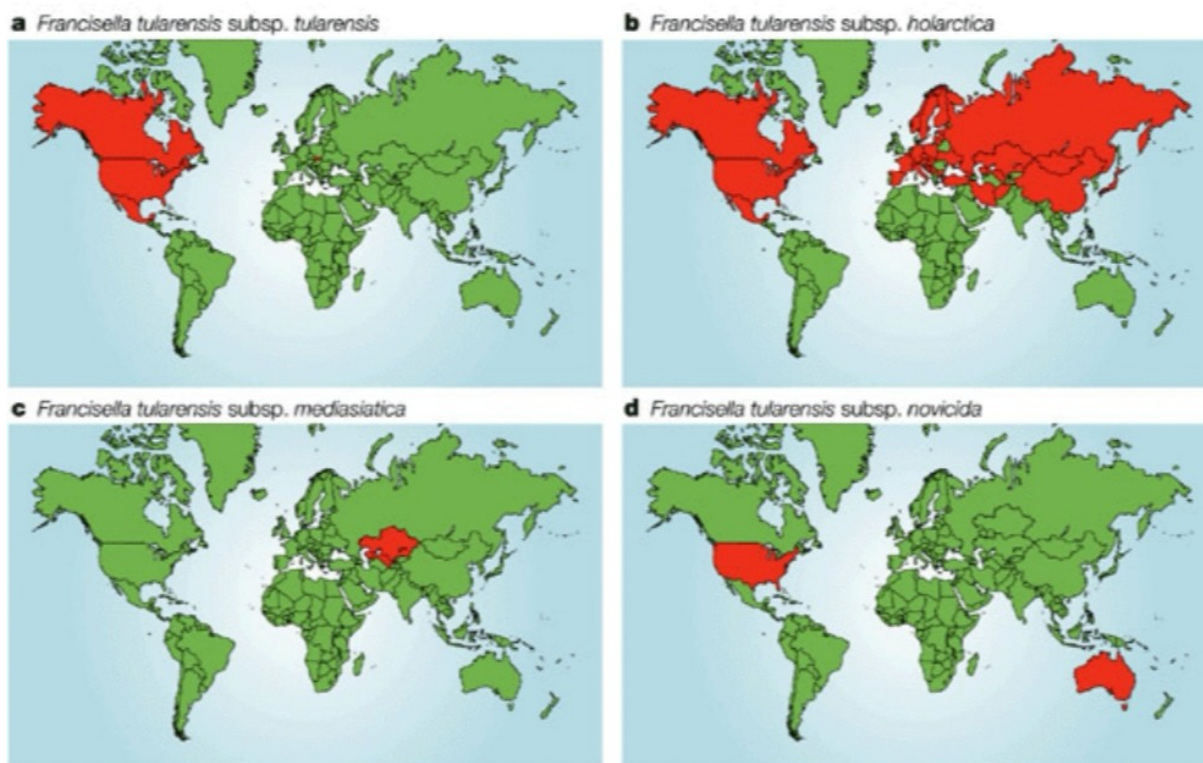
Bakterije iz roda *Francisella* pronađene su najvećim dijelom na području Sjeverne Zemljine polutke, neke vrste su čak izolirane i potvrđene na Južnoj polutci, kao što su slučajevi *F. novicida* u Australiji (4).

F. tularensis subsp. *tularensis* (tip A) obitava najčešće u Sjevernoj Americi gdje su izolirani i potvrđeni brojni slučajevi razvoja bolesti. Može se reći da je za ovo područje tip A endemski rasprostranjen, dok su rijetki slučajevi zabilježeni u Europi. Podvrsta *tularensis* (tip A) najčešće se povezuje s tularemijom nastalom preko kontakta sa zaraženim sisavcima, zečevima ili putem krpeljnih vektora. Prije upotrebe antibiotika u liječenju, smrtnost je bila od 5 % do 30 %, što je predstavljalo ozbiljan zdravstveni problem.

F. tularensis subsp. *holarctica* (tip B) izolirana je duž čitavog područja Sjeverne Polutke, od Japana, država Sjeverne Amerike i Europe, Skandinavije sve do Turske. Što se tiče broja oboljelih od tipa B, veći broj je zabilježen u Švedskoj, gdje se sam uzročnik prenosio vektorski, putem komarca. U Turskoj se tip B, odnosno *holarctica* izolirana i povezuje se s ingestijom kontaminirane vode za piće, naročito u seoskim krajevima (4).

F. tularensis subsp. *mediasiatica* nije još dovoljno istražena, te zbog toga nema puno podataka. Ono što je dokazano je da ima nisku virulenciju prema zečevima i čovjeku. Prema dostupnim podacima izolirana je samo u Središnjoj Aziji.

F. novicida koja je uzrokovala tularemiju i koja se ranije svrstavala kao podvrsta *F. tularensis*, prvi je puta zabilježena u američkoj saveznoj državi- Utah 1950. godine. Uz vrste *F. philomiraghia* i *F. hispaniensis*, povezuje se s vodenim ekosustavom.



Slika 1. Geografska rasprostranjenost podvrsta: *F. tularensis* (*tularensis* i *holarctica*) i *F. novicida* (Izvor: (9)).

Francisella može preživjeti tjednima u inficiranu tkivu životinja, čak mjesecima mogu biti sačuvane u vodi, zemlji, prašini i slami. U zamrznutom mesu zeca, bakterija može preživjeti čak i nekoliko godina.

Sposobnost preživljavanja i razmnožavanja u vodenom ekosustavu i mogućnost rasta u slobodno-živićim amebama *A. castellanii*, dovodi do pretpostavke da su protozoe potencijalni okolišni rezervoar za *F. tularensis* i da amebe zapravo mogu igrati jako važnu ulogu u prirodnom prijenosu patogena u okolišu, posebno u vodenim ekosustavima.

U SAD-u vektori koji su odgovorni za prijenos uzročnika između domaćina sisavaca su: muhe i krpelji. U Europi važnu ulogu imaju *Dermatocentor reticulatus* i *Ixodes ricinus*, uz krpelje i komarce u Skandinavski zemljama.

Čovjek nije prirodan, već slučajan domaćin *Francisella*. Najčešće se zarazi prilikom kontakta s vektorima koji su inficirani ili nose uzročnika, te ga na čovjeka prenese ugrizom ili

ubodom, u kontaktu s kožom inficirane životinje, inhalacijom aerosola ili ingestijom kontaminirane hrane i vode. Prijenos među ljudima, tj. interhumani prijenos nije karakterističan. Postoji zabilježen slučaj kada je slučajno došlo do prijenosa između majke i sina prilikom tretiranja inficirane rane djeteta, dok je majka imala otvoren ranu na palcu (4).

1.1.4. Klinička manifestacija tularemije

Tularemija je zoonoza glodavaca i zečeva, koja se rijetko javlja u Europi, a čovjek se može inficirati direktnim kontaktom, preko vektora (muhe, komarci, krpelji) ili putem čestica prašine. Samo podvrste *F. tularensis* (tip A) i *F. holarctica* (tip B) mogu izazvati ozbiljne posljedice kod imunokompromitiranih ljudi, posebno tip A koji je virulentniji i kao takav odgovoran za većinu teških slučajeva infekcije.

Tularemija je sezonska bolest; češće dolazi do infekcija ljeti, zbog kontakta sa životinjama i insektima. U zimskim mjesecima, većina slučajeva je posljedica kontakta sa zaraženim divljim zečevima pri deranju kože (10).

Početak bolesti je nagla groznica ili treskavica, uz pojavu visoke temperature i ostale opće simptome infekcije (glavobolja, slabost, povraćanje). S obzirom da uzročnik može ući u organizam na više mjesta i načina, tako i bolest u kliničkoj slici može biti jako različita. Inkubacija traje 3 do 10 dana. Oblici bolesti mogu se podijeliti na unutarnje i vanjske.

Vanjski oblici bolesti: ulceroglandularni- najčešći (preko kontakta sa životinjom ili ugriza), glandularni, okuloglandularni (umivanje zagađenom vodom, zagađeni prsti), anginiozni (zahvaća tonzile)(10).

Unutarnji oblici bolesti: plućni (udisanje kontaminiranog zraka), abdominalni (konzumacija zaraženog mesa ili pijenje vode), tifoidni (septički, nastaje bilo kojim putem prijenosa).

Ulceroglandularni oblik je najčešći, a put kojim francizela ulazi u organizam je putem kože. Najprije se javlja bezbolni čvorić (papula) koja brzo nekrotizira. Stvori se ulkus i dolazi do regionalnog povećanja limfnih čvorova.

Glandularni oblik najčešće uključuje upalu limfnih čvorova.

Simptomi okuloglandularnog oblika su: konjuktivitis, natečenost vjeđe, crvena i otečena spojnica, povećani limfni čvorovi ispred uške i vratni limfni čvorovi.

Anginiozni oblik je obostrana ili jednostrana ulceromembranozna angina s povećanjem vratnih limfnih čvorova.

Kod plućnog oblika javlja se atipična pneumonija s povećanjem traheobronhalnih limfnih čvorova. Na plućima dolazi do apscesa, gangrene i pleuritisa. Dok su ostali simptomi vezani uz respiratorni sustav slabo izraženi (kašalj, tahipneja, dispneja).

Kod abdominalnog oblika javljaju se ulceracije na tankom i debelom crijevu te oteklina mezenterijalnih limfnih čvorova. Kod bolesnika se javljaju bolovi u trbuhu, ponekad proljev i povraćanje. Čvorovi se mogu napipati kroz trbušnu stijenku s mogućnošću uzrokovanja peritonitisa.

Kod tifoidnog oblika postoje samo opći znakovi infekcije, bez nateknuća limfnih čvorova. Najznačajniji simptom je dugotrajna vrućica praćena poremećajima svijesti i simptomima intoksikacije.

Osip se javlja često kod svih oblika infekcije, kao simptom upalne reakcije izazvane prodorom bakterije. Ukoliko se ne obuzda lokalna upala, dolazi do sistemske koja se širi po tijelu putem limfe ili krvi. Ozbiljniji oblici tularemije fatalni su u 60 % slučajeva u odsutnosti prave antibiotske terapije(10).

1.1.5 Liječenje i prevencija tularemije

U terapiji se koriste antibiotici. Aminoglikozid- streptomycin, lijek je prvog izbora za sve kliničke oblike tularemije, osim meningitisa. Minimalna doza je 7,5-10 mg/kg tjelesne težine streptomicina, koji se daje intramuskularno svakih 12 sati tijekom 7 do 14 dana. Od ostalih antibiotika djelotvoran je i tetraciklin. Oralno se mogu primijeniti florokinoloni za tip A ili tip B *F. tularensis*, s minimalnim učinkom.

Prevencija za tularemiju je prije svega izbjegavanje kontakta sa zaraženom životinjom, kuhanjem životinjskog mesa, izbjegavanju pijenja izvorskih voda koje mogu biti kontaminirane strvinama životinja. Antibiotiska profilaksa koja uključuje: tetraciklin, doksiciklin i ciprofloksacin jer su se pokazali dobrom zaštitom kod volontera izloženih aerosolu *F. tularensis*. Postoji i cjepivo koje još nije odobreno zbog nestabilnosti i loše reakcije kod imunokompromitiranih ljudi (11).

2. Dezinfekcija

Dezinfekcija je skup različitih mjera koji se provode s ciljem uništavanja, usporavanja rasta i razmnožavanja ili uklanjanja većine mikroorganizama. Dezinfekcija se provodi:

1. Mehaničkim
2. Fizikalnim
3. Kemijskim mjerama

1. Mehaničke mjere dezinfekcije podrazumijevaju mehaničko uklanjanje mikroorganizama s radnih površina, predmeta ili u prostoru kao samostalne metode uklanjanja mikroorganizama, tj. stvaranje preduvjeta za uspješno provođenje drugih postupaka dezinfekcije, koji se provode: struganjem, metenjem, odmašćivanjem i pranjem, filtracijom, ventilacijom i taloženjem.
2. Fizikalne mjere dezinfekcije podrazumijevaju uporabu topline (suha ili vlažna) koja svojim djelovanjem uništava, usporava rast i razmnožavanje ili uklanja veliku većinu mikroorganizama.
3. Kemijske mjere dezinfekcije podrazumijevaju uporabu kemijskih tvari, odnosno dezinficijensa, koje svojim djelovanjem uništavaju, usporavaju rast i razmnožavanje ili uklanjaju većinu mikroorganizama (12).

Tijekom provođenja mjera dezinfekcije dozvoljeno je koristiti tehniku primjene, način primjene dezinficijensa i sredstva za koje je dokazana učinkovitost do razine koja u danim okolnostima, s obzirom na način izloženosti neće predstavljati rizik za zdravlje ljudi i neće uzrokovati onečišćenje radnih površina, predmeta, prostora ili objekata.

2.1. Uvjeti za provođenje kemijskih mjera dezinfekcije

U provođenju kemijske mjere dezinfekcije mogu se rabiti samo kemijska i biološka sredstva za koje je osim toksikološke ocjene sukladno posebnim zakonima i propisima izrađena i ocjena učinkovitosti na temelju kemijskog, fizikalnog i biološkog istraživanja u Republici Hrvatskoj. Dezinficijense se mora koristiti isključivo u koncentraciji i na način propisan i otisnut na deklaraciji proizvoda prema Uputama za uporabu proizvoda, a sukladno Rješenju za promet i uporabu sredstva nadležnog tijela državne uprave. Zabranjeno je upotrebljavati kemijsko i biološko sredstvo kojem je istekao rok valjanosti. Nakon isteka roka navedenog u Rješenju za promet i uporabu sredstva, sredstvo se može nalaziti u prometu najviše 18 mjeseci radi potrošnje postojećih zaliha, ali isključivo ako je sredstvo još u roku valjanosti (12).

2.2. Odgovorna osoba za rad s kemikalijama

Odgovorna osoba za rad s kemikalijama izvoditelja dezinfekcije dužna je izraditi pisane upute za primjenu osobnih i posebnih zaštitnih sredstava s obzirom na tehniku primjene i vrstu pesticida koji se primjenjuju prilikom dezinfekcije.

Voditelj ekipe kontrolira uporabu osobnih i posebnih zaštitnih sredstava izvoditelja dezinfekcije, a izvoditelj dezinfekcije obavezan je koristiti i osobnu i posebnu zaštitnu opremu tijekom provedbe dezinfekcije.

Zaštitna maska s pripadajućim filterom smije se kao specifična zaštitna oprema koristiti samo u slučajevima kada se radi u prostorima u kojima postoje poznati aerosoli, pare ili plinovi u koncentraciji do maksimalno 2 % volumena.

U svakom prostoru u kojem je nepoznat aerosol, para ili plin ili je koncentracija aerosola, pare ili plina iznad 2 % volumena, obavezna je uporaba izolacijskog aparata.

U slučaju otrovanja izvoditelja DDD mjera liječniku se mora predočiti:

- Uputu za uporabu ili druga odgovarajuća dokumentacija s fizikalno-kemijskim, toksikološkim ili drugim podacima o kemikaliji
- Pisana uputa o postupcima koje valja primijeniti kod izlaganja kemikaliji
- Prazno ili puno jedinično pakiranje otrova zbog kojeg je nastupilo otrovanje

Liječnika treba izvijestiti i o podacima o događajima prilikom kojeg je ozlijeđena osoba bila izložena kemikaliji, podacima o periodičnom liječničkom nadzoru osobe koja je bila izložena kemikaliji te o liječniku koji je obavio zdravstveni nadzor (12).

2.3. Tehnike primjene dezinficijensa

Tehnike primjene dezinficijensa su:

- Posipanje- nanošenje praškaste ili granulirane formulacije dezinficijensa na smjesu suhe (feces) ili tekuće (urin) uz miješanje da se postigne ravnomjerni raspored unutar smjese
- Brisanje- nanošenje tekućeg dezinficijensa ili radne otopine, sterilnom krpom ili vatom jednokratnim potezom na ciljanoj površini
- Prebrisanje- nanošenje tekućeg dezinficijensa ili radne otopine, sterilnom krpom ili vatom na ciljanoj površini višekratnim potezima
- Pranje- dezinfekcijsko pranje ruku, predmeta, površina ili rublja u otopini dezinficijensa
- Potapanje- uranjanje predmeta ili pribora u uvijek svježe pripremljenu otopinu dezinficijensa s potpunim potapanjem (bez virenja iz otopine)
- Prskanje- primjena radnih otopina dezinficijensa tehnikom izbačenog mlaza za obradu ciljanih površina ručnim, leđnim ili motornim prskalicama s kapima veličine 100-200 mikrona
- Raspršivanje (orošavanje)- primjena radnih otopina dezinficijensa tehnikom nošenog mlaza za obradu ciljanih površina i prostora, ručnim ili leđnim raspršivačem kapima veličine 50-100 mikrona
- Zamagljivanje (aerosolizacija)- primjena radnih otopina dezinficijensa tehnikom izbačenog mlaza za obradu prostora kapima veličine do 50 mikrona
- Zadimljavanje- ispunjavanje ciljanih prostora s česticama dezinficijensa koji se tinjanjem ili izgaranjem oslobađa iz posebnih formulacija dezinficijensa.

Dezinficijensi se upotrebljavaju u obliku koncentrata ili razrijeđeni. Radne otopine dezinficijensa pripremaju se otapanjem ili razrjeđivanjem destiliranom vodom. Dezinficijensi na bazi klora (klorni preparati) iznimno se mogu otapati ili razrijediti sanitarno ispravnom vodom (12).

2.4. Tehnike prije provođenja dezinfekcije

Prije samog procesa dezinfekcije primjenom dezinficijensa, mora se:

- Očistiti objekt, strojeve i druge radne površine
- Utvrditi je li opterećenje površina koje se tretiraju organskim tvarima svedeno na minimum
- Utvrditi razinu i vrstu mikrobiološkog onečišćenja i osjetljivosti mikroorganizama
- Utvrditi stupanj učinkovitosti, koncentraciju i razdoblje djelovanja dezinficijensa
- Utvrditi fizičku konfiguraciju objekta koji se tretira (dostupnost dezinficijensa do mikroorganizama)
- Utvrditi radnu temperaturu
- Utvrditi pH medija i površine na koju se primjenjuje dezinficijens
- Utvrditi je li osigurana zaštita okoliša i ne ciljanog prostora (12).

2.5. Provedbe dezinfekcija kao općih i posebnih mjera

2.5.1. Opća mjera dezinfekcije

Način provedbe mjera dezinfekcije kao općih i posebnih mjera zaštite pučanstva od zaraznih bolesti:

1. Obvezatne (preventivne) dezinfekcijske mjere kao opće mjere za sprječavanje i suzbijanje zaraznih bolesti
2. Obvezatne dezinfekcijske mjere kao posebne mjere za sprječavanje i suzbijanje zaraznih bolesti provode se zbog:
 - A) Sprječavanja pojave zaraznih bolesti- preventivna mjera dezinfekcije
 - B) Suzbijanje širenja određenih zaraznih bolesti- protuepidemijska mjera dezinfekcije.

Obvezatna (preventivna) dezinfekcija kao opća mjera podrazumijeva mehaničke, fizikalne ili kemijske mjere koje se poduzimaju radi održavanja osobne higijene te održavanja higijene prostora i mikrobiološke čistoće pribora, predmeta, opreme, površina, prostora i u objektima.

Provodi se uvijek prije prve uporabe površina, prostora ili objekata ili nakon njihovog dužeg nekorištenja, to jest prije ponovne uporabe, a obveznici provođenja dezinfekcije obvezni su povremeno sukladno propisima kontrolirati uspješnost provedenih mjera dezinfekcije putem ovlaštenog mikrobiološkog laboratorija i o tome voditi evidenciju.

Obvezatnu (preventivnu) dezinfekciju kao opću mjeru provode korisnici na površinama, u prostorima ili objektima kao svakodnevni i kontinuirani proces u održavanju higijene osobnog ili poslovnog prostora.

Obvezatna (preventivna) dezinfekcija provodi se sukladno odredbama Pravilnika o načinu provedbe obvezatne dezinfekcije, dezinfekcije i deratizacije ili ugovora sklopljenog s korisnikom obvezatnih DDD mjera (12).

Za provedenu obvezatnu (preventivnu) dezinfekciju izvoditelj dezinfekcije obvezan je korisniku dezinfekcije izdati Potvrdu o provedenoj dezinfekciji kao što je prikazano u tablici broj 1., 2., 3. i 4.

Tablica 1. Osnovni podaci o izvoditelju DDD mjera

Naziv tvrtke/ ustanove koja provodi obvezatne DDD mjere:
Adresa (ulica i mjesto):
Telefon/ faks:
E-mail adresa:
Datum:

Tablica 2. Osnovni podaci o korisniku DDD mjera

Naziv i adresa korisnika obvezatne DDD mjere:
Vrsta mikroorganizma, štetnog člankonošca ili štetnog glodavca:
Infestacija (zaokružiti): jaka srednja slaba

Tablica 3. Korištena i utrošena sredstva za DDD mjere

Utrošeno sredstvo	Djelatna tvar	Koncentracija/ doza sredstva	Utrošena količina sredstva

Tablica 4. Opis rada i mjere opreza za korisnika DDD mjera

Opis rada, način primjene:
Mjere opreza za korisnika:
Potpis izvoditelja DDD mjera:
Potpis korisnika DDD mjera:

2.5.2. Posebna mjera dezinfekcije

Obvezatna dezinfekcija kao posebna mjera podrazumijeva mehaničke, fizikalne ili kemijske mjere koje se provode na površinama, u prostorima ili objektima koji podliježu sanitarnom nadzoru, a poduzimaju se u izvanrednim situacijama:

- Ako nastaju uvjeti ili se poveća rizik prenošenja zaraznih bolesti na temelju epidemioloških indikacija
- Ako su u sanitarnom nadzoru određene nepravilnosti u održavanju površina, prostora ili objekata koje pogoduju razvoju mikroorganizama, tijekom: elementarnih nepogoda, izljeva kanalizacije, masovnih skupova, prolijevanja ili rasapa infektivnog materijala
- Tijekom zbrinjavanja infektivnog otpada

Površine, prostori i objekti u kojima je provedena obvezatna dezinfekcija kao posebna mjera mogu se ponovno upotrebljavati nakon izdane potvrde o mikrobiološkoj čistoći koju izdaje _____ ovlaštena _____ ustanova (12).

U tablici 5. može se vidjeti kako izgleda obrazac provedenih mjera obvezatne dezinfekcije po objektima .

Tablica 5. Pregled provedenih mjera obvezatne dezinfekcije po objektima

Vrsta objekta	Obvezatna (preventivna) DDD kao opća mjera (prema pozivu, vlasniku, ugovor, narudžba)	Obvezatna DDD kao posebna mjera radi sprječavanja pojave zaraznih bolesti (prema Programu mjera)	UKUPNO
JAVNA VODOOPSKRBA			
ZA UKLANJANJE OTPADNIH VODA			

ZA UKLANJANJE OTPADA (deponiji)			
JAVNE POVRŠINE (parkovi, šetališta, ŠRC)			
ZA PROIZVODNJU HRANE			
ZA PRODAJU I SKLADIŠTENJE HRANE			
UGOSTITELJSKI OBJEKTI			
ZDRAVSTVENI OBJEKTI (bolnice)			
DOMOVI UMIROVLJENIKA			
VRTIĆI			
ŠKOLE osnovne			
ŠKOLE srednje			
FAKULTETI			
OSTALE USTANOVE			
OBJEKTI JAVNOG PRIJEVOZA			
STAMBENI OBJEKTI (5 i više katova)			
STAN			
PRIVATNI STAMBENI OBJEKTI (kuće)			

OSTALO			
---------------	--	--	--

2.6. Inspekcijski i stručni nadzor nad provedbom DDD mjera

Inspekcijski nadzor na provedbom DDD mjera provodi nadležna sanitarna inspekcija sukladno svojim ovlastima.

Inspekcijski nadzor nad provedbom obvezatnih DDD mjera kao posebnih mjera za sprječavanje pojave zaraznih bolesti provodi sanitarna inspekcija, a stručni nadzor provodi nadležni zavod za javno zdravstvo županije ili Grada Zagreba.

Inspekcijski nadzor nad provedbom protuepidemijske DDD mjere kao posebne mjere provodi sanitarna inspekcija, a stručni nadzor provodi Hrvatski zavod za javno zdravstvo ili posebno osnovano Povjerenstvo i o tome pisano izvješćuje ministarstvo nadležno za zdravstvo.

Ako obvezatnu DDD mjeru kao posebnu mjeru provode zavodi za javno zdravstvo županije ili Grada Zagreba, Hrvatski zavod za javno zdravstvo koordinira, stručno usmjerava i nadzire rad zavoda za javno zdravstvo županija ili Grada Zagreba (12).

3. Dezinfekcijska sredstva

U dezinfekcijska sredstva ne spadaju sredstva za čišćenje koja nisu proizvedena s namjerom izazivanja biocidnog učinka, uključujući tekućine za pranje, praškove i druge proizvode.

Vrste pripravaka su: 1. Biocidni proizvodi za osobnu higijenu ljudi, 2. Dezinfekcijska sredstva i algacidi koji nisu namijenjeni za izravnu upotrebu na ljudima ili životinjama, 3. Biocidni proizvodi u veterinarskoj higijeni, 4. Dezinfekcijska sredstva na području hrane i hrane za životinje, 5. Dezinfekcija sredstva za pitku vodu (13).

1. Biocidni proizvodi za osobnu higijenu ljudi- upotrebljavaju se za potrebe osobne higijene ljudi, nanošenjem na ili u kontaktu s kožom ili kožom glave, s osnovnom namjerom dezinfekcije kože ili kože glave.
2. Dezinfekcijska sredstva i algacidi koji nisu namijenjeni za izravnu upotrebu na ljudima ili životinjama- upotrebljavaju se za dezinfekciju površina, materijala, pribora i namještaja koji nisu u izravnom kontaktu s hranom ili hranom za životinje. Područje primjene navedenih dezinfekcijskih sredstava su: bazeni, akvariji, vode za kupanje i druge vode, klimatizacijski sustavi, zidovi i podovi u privatnim, javnim i industrijskim prostorima te u drugim prostorima u kojima se odvijaju profesionalne aktivnosti. Proizvodi koji se upotrebljavaju za dezinfekciju zraka, vode koja se ne koristi za konzumaciju ljudi i životinja, kemijskih zahoda, otpadnih voda, bolničkog otpada i tla. Proizvodi koji se upotrebljavaju kao algacidi za bazene, akvarije i druge vode i za sanaciju građevinskog materijala. Proizvodi koji se upotrebljavaju za ugradnju u tekstile, higijenski papir, maske i druge artikle, kako bi proizvedeni artikl imao dezinfekcijska svojstva.
3. Biocidni proizvodi u veterinarskoj higijeni- upotrebljavaju se za potrebe veterinarski higijene, kao što su dezinfekcijska sredstva, dezinfekcijski sapuni, proizvodi za oralnu higijenu ili higijenu tijela ili proizvodi s antimikrobiološkim učinkom. Proizvodi koji se upotrebljavaju za dezinfekciju materijala i površina na kojima životinje žive ili se transportiraju.
4. Dezinfekcijska sredstva na području hrane i hrane za životinje- upotrebljavaju se za dezinfekciju opreme, ambalaže, pribora za konzumaciju, površina ili cjevovoda

povezanih s proizvodnjom, transportom, skladištenjem ili konzumacijom hrane ili hrane za životinje za ljude i životinje. Proizvodi koji se upotrebljavaju za ugradnju u materijale koji bi mogli doći u kontakt s hranom.

5. Dezinfekcijska sredstva za pitku vodu- upotrebljavaju se za dezinfekciju pitke vode za ljude i životinje (13).

Što se tiče dezinficijensa, *F. tularensis* se može inaktivirati različitim dezinficijensima i kemikalijama koje uključuju: paraformaldehid, formaldehid i glutaraldehid. Također postoje drugi načini inaktivacije navedene bakterije, a to su: fiziološke tehnike poput toplinske obrade i UV zračenja. Jedna studija govori da se *F. tularensis* uništava toplinskom obradom pri 94 °C 3 minute i pri 56 °C 30 minuta, 70 %-im etanolom, metanolom, acetonom i 4 %-om otopinom formaldehida.

O' Connel i suradnici dokazali su da se *F. tularensis* uništava koncentracijama slobodnog dostupnog klora, koji je jedno od najčešće korištenih sredstava za dezinfekciju pitke vode. Koncentracije slobodnog dostupnog klora i natrijev hipoklorit u fosfatnom puferu usmrtili su *F. tularensis* u vodi za piće u koncentraciji od 0,5 mg/l, ovisno o pH i temperaturi vode (14).

Dezinficijensi koji se koriste u ovoj studiji široko su rasprostranjeni u bolnicama i medicinskim ustanovama za sprječavanje i pojavu raznih infekcija, odnosno bolesti. Što se tiče procesa dezinfekcije, proizvođači su preporučili upotrebu sljedećih koncentracija dezinficijensa: Asepsol 5 %, 2 % i 1 %, Bigvasan 1 %, 0,5 % i 0,2 % i Descocid 1 %, 0,5 % i 0,2 %.

3.1. Asepsol

Asepsol (benzalkonijev klorid) ili alkil-dimetil-benzil-amonijev klorid je kationski deterdžent koji se široko primjenjuje u medicini kao vrlo dobar površinski antiseptik u miješanju s vodom za dezinfekciju kože i rana (1 %-2 %), kirurških instrumenata, posuđa i rublja (2 %- 5 %) , kao i za ginekološka i urološka ispitivanja (0,025 %- 0,05 %). U domaćinstvu se koristi kao antiseptik i deterdžent. To je amorfni bijeli prašak, lako topljiv u vodi i alkoholu koji se u prodaji nalazi u obliku 10 %- nih otopina, sprejeva i maramica za dezinfekciju ruku. Antiseptička svojstva Asepsola zasnivaju se na baktericidnim i deterdžentskim svojstvima. Na bakterije djeluje mijenjajući propustljivost staničnih membrana, inhibirajući njihovu respiraciju i enzimske sisteme (15).

Toksičnost kvarternih amonijevih spojeva za sisavce nije potpuno razjašnjena, smatra se da smrtna doza unesena peroralno iznosi 1-3 g. Do trovanja dolazi peroralnim, vaginalnim, rektalnim i parenteralnim unošenjem koncentriranih vodenih otopina. Otrovanje se očituje lokalnim korozivnim promjenama na sluznicama i sistemskim poremećajem u vidu kolapsa organizma, kome i konvulzija (15).



Slika 2. Asepsol dezinficijens.

(Izvor: <http://www.pliva-sept.hr/proizvodi/dezinficijensi-povrsine/Asepsol-eko-1l.html>)

3.2. Bigvasan

Bigvasan se sastoji se od bigvanida, benzalkonijevog klorida i površinski aktivnih tvari. Bigvasan djeluje baktericidno, fungicidno, virucidno i algicidno. Aktivan protiv gram pozitivnih i gram negativnih bakterija (*E. coli*, MRSA, VRE). Aktivan je također protiv virusa sa i bez omotača (Rota virusa, Hepatitis C, HIV-a) (16).

Pogodan je za širok raspon podloga kao što su metal, drvo, staklo i plastika. Može se koristiti u tretmanima rana, za poticanje zarastanja kroničnih rana, u otopinama za ispiranje usne šupljine te u onima za čuvanje i ispiranje kontaktnih leća .

Razrjeđuje se s vodom i dobivaju se otopine različitih koncentracija (16).



Slika 3. Bigvasan dezinficijens.

(Izvor: <https://stomatologija.me/blog/70374/>)

3.3. Descocid

Descocid se sastoji od benzalkonijevog klorida, didecil-dimetil-amonijevog klorida i mravlje kiseline. Koristi se za dezinfekciju širokog spektra i čišćenje površina, opreme i pribora, posebno medicinskih proizvoda te drugih površina i predmeta. Djeluje na gram negativne bakterije, viruse s ovojnicom (HBV, HCV, HIV) i viruse bez ovojnice (norovirus, rotavirus) i gljive, odnosno baktericidno, fungicidno i virucidno (17).

Koncentrat se razrjeđuje s vodom. Aktivan je u niskim količinama (0,25 %) i zbog toga je vrlo ekonomičan. Djeluje u prisutnosti organskih tvari (krvi, proteina) te na prljavim površinama.

Niske je toksičnosti, biorazgradiv i ekološki prihvatljiv (17).



Slika 4. Descocid dezinficijens.

(Izvor: <https://www.antiseptica.com/products/Descocid-N?page=products/Descocid-N>)

4. Cilj istraživanja

Na temelju dobivenih rezultata istraživačkog rada odrediti osjetljivost *F. philomiraghia* na različite vrste dezinficijensa: Asepsol, Bigvasan i Descocid, odnosno njihovih djelatnih tvari.

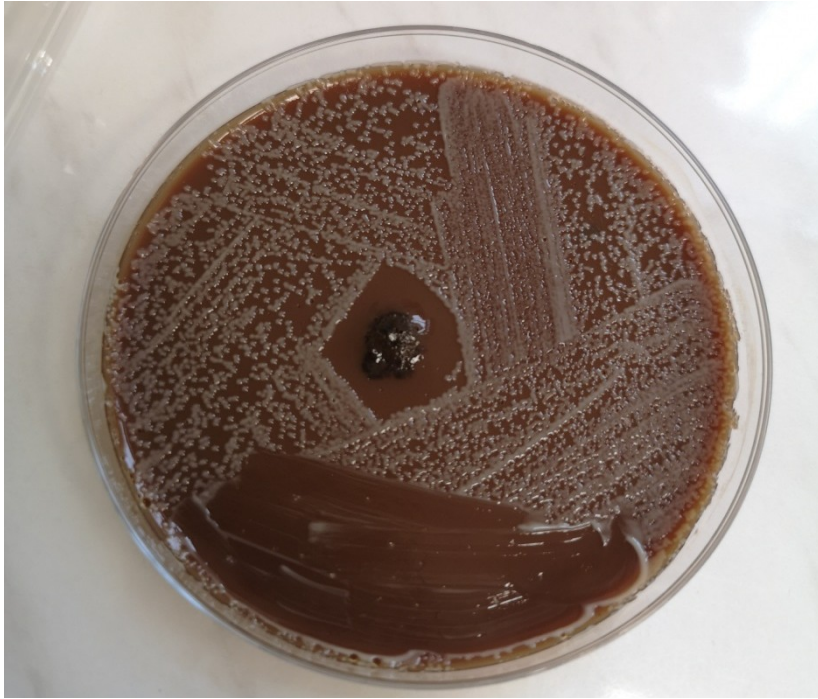
5. Materijali i postupci

Ovaj rad napisan je kao istraživački rad i na temelju dobivenih rezultata odredila se osjetljivost *F. philomiraghia* na već spomenute 3 vrste dezinficijensa: dezinficijens 1 (D1) s djelatnim tvarima: didecildimetilamonij klorid i izopropilni alkohol, dezinficijens 2 (D2) s djelatnim tvarima: benzalkonij klorid, didecildimetilamonij klorid i mravlja kiselina i dezinficijens 3 (D3) s djelatnim tvarima: poliheksametilen bigvanid, u različitim razrijeđenjima.

5.1.1. Bakterije

Bakterije su bile u hladnjaku na - 80 °C, sterilnim štapićem nasađene su na čokoladni agar (GC agar) i uzgajane na 37 °C uz prisustvo 5 % CO₂ tijekom 24 sata.

Na ploči je dobivena uzgojena *F. philomiraghia* (slika 4.) koja je već prije nasađena na čokoladni agar (GC agar), pokupljene su bakterije s podloge i napravljena je bakterijska suspenzija. Spektrofotometrijski se potvrdila koncentracija suspenzije. Tražila se na spektrofotometru optička gustoća 1, što odgovara 10⁹ CFU/ ml, tj. napravili se bakterijska suspenzija u koncentraciji 10⁹ CFU/ ml.



Slika 5. Uzgojena *F. philomiraghia* na GC agaru.

5.1.2. Dezinficijensi

Tri vrste dezinficijensa komercijalne uporabe: Asepsol, Bigvasan i Descocid odnosno njihove djelatne tvari, Asepsol (D1)- didecildimetilamonij klorid i izopropilni alkohol, Descocid (D2)- benzalkonij klorid, didecildimetilamonij klorid i mravlja kiselina, Bigvasan (D3)- poliheksametilen bigvanid razrijeđeni su sa sterilnom vodom iz špine na zahtijevane koncentracije. Odnosno, dezinficijens 1 na 5 %, 2 % i 1 %, dezinficijens 2 na 1 %, 0,5 % i 0,2 % te dezinficijens 3 na 1 %, 0,5 % i 0,2 %. Korištene su navedene koncentracije dezinficijensa koje su proizvođači propisali kao učinkovito za uklanjanje mikroorganizama, dezinficijens 1 (Asepsol) preporučuju u koncentraciji od 5 %, dezinficijens 2 (Descocid) preporučuju 1 % i dezinficijens 3 (Bigvasan) preporučuju 0,2 %.

Priprema dezinficijensa:

- Priprema 5 % dezinficijensa 1 (D1), 5 ml Asepsola pomiješano u 95 ml sterilne vode iz špine
- Priprema 2 % dezinficijensa 1 (D1), 2 ml Asepsola pomiješano u 98 ml sterilne vode iz špine
- Priprema 1 % dezinficijensa 1 (D1), 1 ml Asepsola pomiješano u 99 ml sterilne vode iz špine
- Priprema 1 % dezinficijensa 2 (D2), 1 ml Descocida pomiješano u 99 ml sterilne vode iz špine
- Priprema 0,5 % dezinficijensa 2 (D2), 0,5 ml Descocida pomiješano u 99,5 ml sterilne vode iz špine
- Priprema 0,2 % dezinficijensa 2 (D2), 0,2 ml Descocida pomiješano u 99,8 ml sterilne vode iz špine.
- Priprema 1 % dezinficijensa 3 (D3), 1 ml Bigvasana pomiješano u 99 ml sterilne vode iz špine
- Priprema 0,5 % dezinficijensa 3 (D3), 0,5 ml Bigvasana pomiješano u 99,5 ml sterilne vode iz špine
- Priprema 0,2 % dezinficijensa 3 (D3), 0,2 ml Bigvasana pomiješano u 99,8 ml sterilne vode iz špine

5.1. Postupci

0,5 ml bakterijske suspenzije (10^9 CFU/ ml) i pomiješano je s 0,5 ml dezinficijensa svih nabrojanih (dezinficijens 1, 2 i 3.), koji su bili svaki u svojoj bočici. Inkubirani su tijekom 15 minuta. Nakon tretiranja bakterijske suspenzije s dezinficijensima odredili su se vremenski intervali, tj. čekalo se da prođe 10 sekundi, 1 minuta, 5 minuta, 10 minuta i 15 minuta. U svakom tom vremenskom razdoblju uzimalo se po 200 μ l i pravila su se deseterostruka razrjeđenja svake suspenzije s dezinficijensom koji su se razrijedili i nasadili na podloge tj. čokoladni agar (GC agar). Deseterostruka razrjeđenja su se pripremala tako da se u prvu jažicu stavilo nerazrijeđenih 200 μ l suspenzije, u svaku sljedeću 20 μ l u kojoj se nalazi 180 μ l sterilne vode, tako su se dobivala razrjeđenja, prvo razrjeđenje 10, drugo 100, treće 1000, četvrto 10 000 puta... Inkubirani su na 37 ° C sa 5 % CO₂ 24 sata da se očitaju narasle kolonije.

5.2. Statistička obrada podataka

Statistička obrada rezultata izrađena je u programu TIBCO Statistica. Izvodi se najprije deskriptivna statistika (engl. Descriptive statistics), gdje se izvlače srednje vrijednosti (mean), najmanje (engl. minimum) i najveće (eng. maximum) vrijednosti, tj. učinkovitosti djelatnih tvari navedenih dezinficijensa (D1, D2 i D3).

Potom se izvodi neovisni t- test po varijablama (engl. t-test by variables) u kojem se izračunava statistička značajnost (p vrijednost) na 95 %-nom intervalu pouzdanosti.

U izračunu koriste se 3 mjerenja učinkovitosti svih navedenih dezinficijensa (D1, D2 i D3) u određenom vremensku intervalu (0,2 minute, 1, 5, 10 i 15 minuta), prosječan broj poraslih bakterija (mean) i standardna devijacija rezultata očitavanja porasta bakterija za svaki dezinficijens i koncentraciju nakon punog vremenskog intervala (15 minuta).

Uspoređuje se učinkovitost djelatnih tvari dezinficijensa Descocid i djelatnih tvari dezinficijensa Bigvasan u ukupnom vremenskom intervalu da se vidi koji je od njih učinkovitiji u suzbijanju *F. philomiraghia*.

$P < 0,05$ je prihvaćena kao statistički značajna razlika u istraživanju.

6. Rezultati

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da je najučinkovitiji dezinficijens, odnosno djelatna tvar dezinficijens 1 (D1), tj. didecildimetilamonij klorid i izopropilni alkohol koji je najbolji u svim navedenim koncentracijama: 5 %, 2 % i 1 %, jer u svim koncentracijama i vremenskim intervalima ubija navedenu *F. philomiraghia*. Drugi najučinkovitiji dezinficijens, odnosno djelatna tvar je dezinficijens 2 (D2), tj. benzalkonij klorid, didecildimetilamonij klorid i mravlja kiselina koji ubija u koncentracijama 1 % i 0,5 % nakon 10 sekundi navedenu *F. philomiraghia*, dok u koncentraciji 0,2 % ne ubija *F. philomiraghia* ni nakon punog vremenskog intervala, odnosno nakon 15 minuta. Treći najučinkovitiji, tj. najneučinkovitiji dezinficijens od nabrojana tri, odnosno djelatna tvar je dezinficijens 3 (D3), tj. poliheksametilen bigvanid koji samo u koncentraciji 1 % i to nakon 15 minuta ubija *F. philomiraghia*, dok u svim ostalim koncentracijama 0,5 % i 0,2 % i vremenskim intervalima ne ubija navedenu bakteriju.

6.1. Ispitivanje osjetljivosti *F. philomiraghia* na djelatne tvari dezinficijensa 1 (D1)

Rezultati istraživanja pokazali su da je najučinkovitiji dezinficijens 1 (D1), odnosno njegove djelatne tvari didecildimetilamonij klorid i izopropilni alkohol.

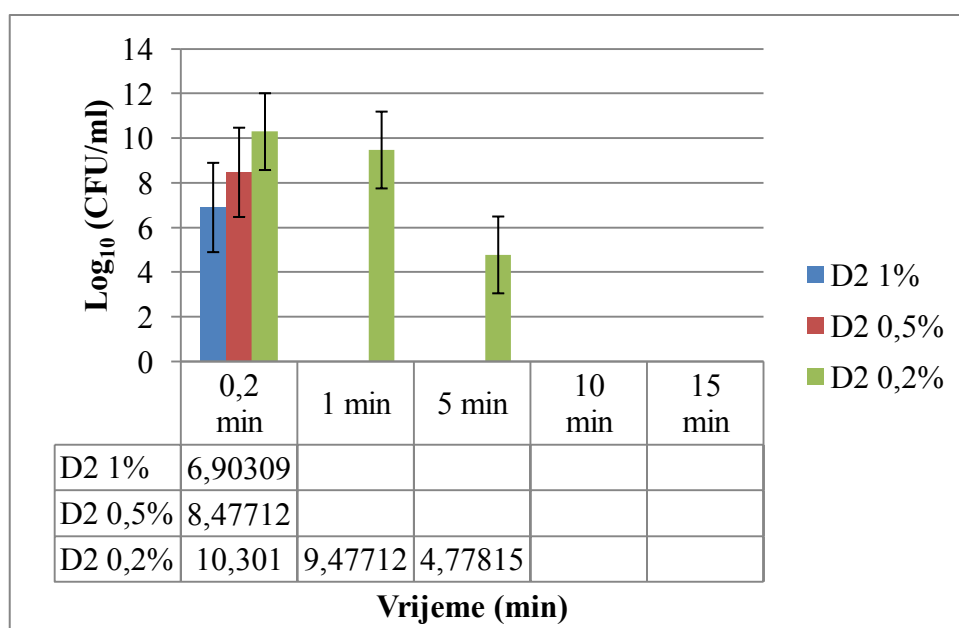
Tablica 6. Učinkovitost djelatnih tvari dezinficijensa 1 (D1) na *F. philomiraghia*

	0,2 min	1 min	5 min	10 min	15 min
D1 (5 %)	0	0	0	0	0
D1 (2 %)	0	0	0	0	0
D2 (1 %)	0	0	0	0	0

Kao što se može vidjeti iz tablice 6., navedene djelatne tvari didecildimetilamonij klorid i izopropilni alkohol učinkovite su u suzbijanju bakterije *F. philomiraghia* u svim koncentracijama: 5 %, 2 % i 1 % i vremenskim intervalima: 10 sekundi (0,2 minuta), 1 minuta, 5 minuta, 10 minuta i 15 minuta. Zbog toga, nije potrebno praviti grafički prikaz učinkovitosti djelovanja dezinficijensa 1 jer se sve vidi iz priložene tablice 6. Na temelju dobivenih rezultata može se smatrati da su djelatne tvari dezinficijensa 1 najučinkovitije dezinfekcijsko sredstvo od istraživanih u suzbijanju *F. philomiraghia*.

6.2. Ispitivanje osjetljivosti *F. philomiraghia* na djelatne tvari dezinficijensa 2 (D2)

Rezultati istraživanja pokazali su da je drugi najučinkovitiji dezinficijens 2 (D2), odnosno njegove djelatne tvari benzalkonij klorid, didecildimetilamonij klorid i mravlja kiselina.



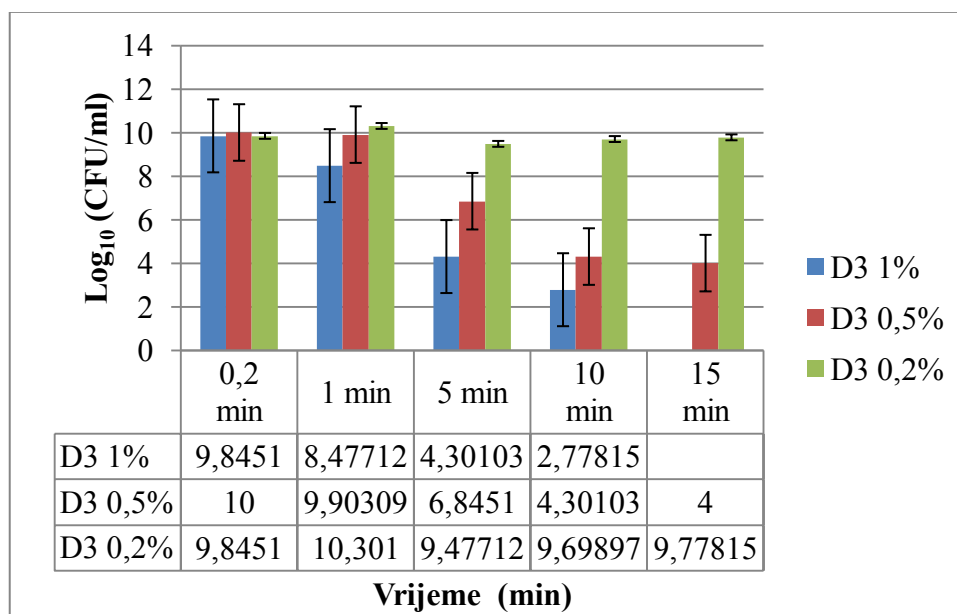
Slika 6. Učinkovitost djelatnih tvari dezinficijensa 2 (D2) na *F. philomiraghia*.

Navedeni pokusi izvedeni su u triplikatu i tzv. „error bar“ predstavlja standardnu devijaciju.

Na slici 6. vidi se grafički prikaz učinkovitosti djelatnih tvari. Navedene djelatne tvari benzalkonij klorid, didecildimetilamonij klorid i mravlja kiselina učinkovite su u koncentracijama 1 % i 0,5 % nakon 10 sekundi, dok su u koncentraciji 0,2 % učinkovite tek nakon 5 minuta u suzbijanju bakterije *F. philomiraghiae*. Na temelju dobivenih rezultata, djelatne tvari dezinficijensa 2 smatraju se drugim najučinkovitijim dezinfekcijskim sredstvom od istraživanih u suzbijanju *F. philomiraghia*.

6.3. Ispitivanje osjetljivosti *F. philomiraghia* na djelatne tvari dezinficijensa 3 (D3)

Rezultati istraživanja pokazali su da je treći najučinkovitiji, odnosno najneučinkovitiji od istraživanih dezinficijensa 3 (D3), tj. njegove djelatne tvari poliheksametilen bigvanidi.



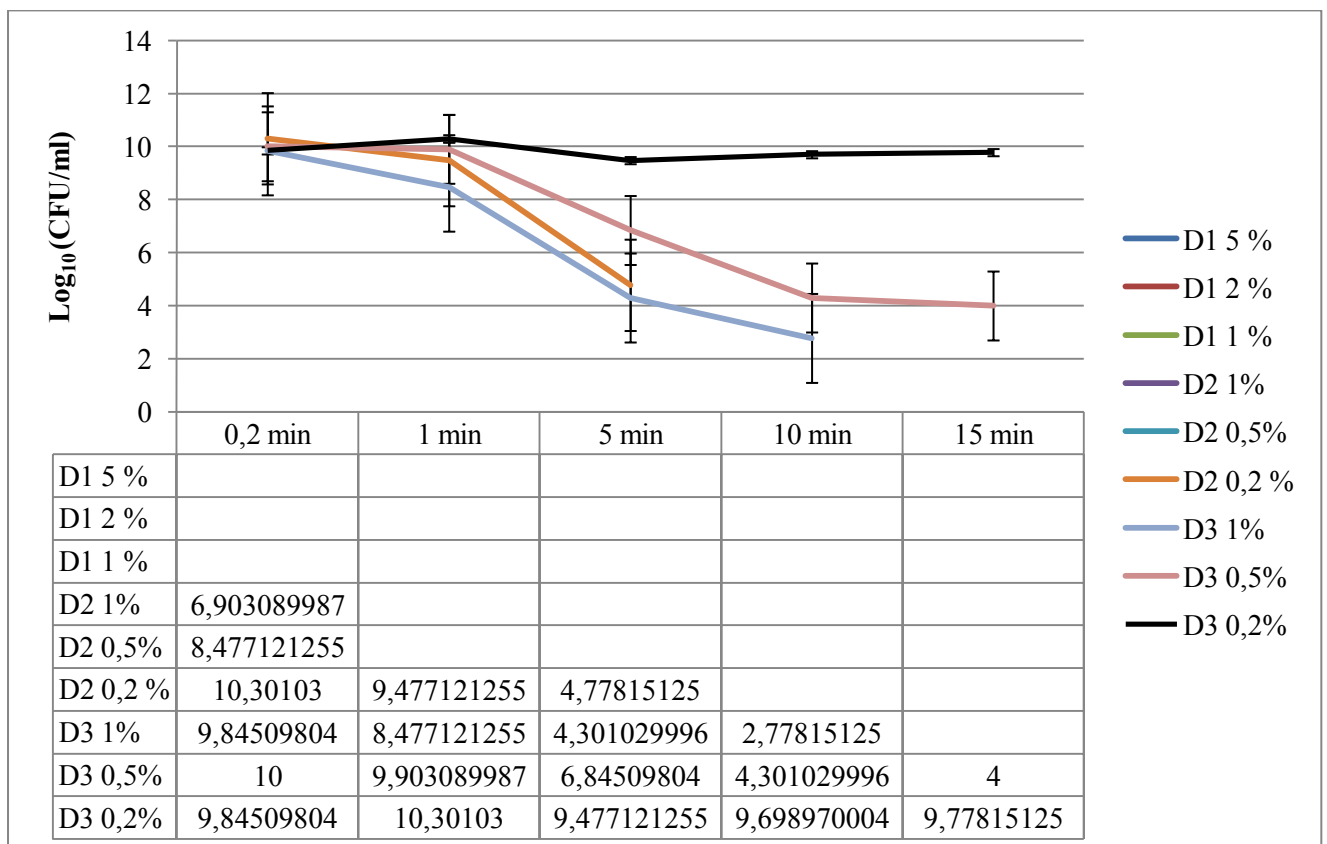
Slika 7. Učinkovitost djelatnih tvari dezinficijensa 3 (D3) na *F. philomiraghia*.

Navedeni pokusi izvedeni su u triplikatu i tzv. „error bar“ predstavlja standardnu devijaciju.

Na slici slici 7. vidi se grafički prikaz učinkovitosti djelatnih tvari. Navedene djelatne tvari poliheksametilen bigvanidi učinkovite su samo u koncentraciji 1 % i to samo nakon 10 minuta, dok su djelatne tvari u koncentracijama od 0,5 % i 0,2 % neučinkovite, odnosno nisu preporučljive za suzbijanje *F. philomiraghia*. Na temelju dobivenih rezultata, djelatne tvari dezinficijensa 3 smatraju se najneučinkovitijim sredstvom od istraživanih za suzbijanje navedene bakterije *F. philomiraghia*.

6.4. Usporedba učinkovitosti svih vrsta dezinficijensa

Na temelju dobivenih rezultata odredila se učinkovitost svih vrsta dezinficijensa, tj. njihovih djelatnih tvari: D1, D2 i D3 na grafičkom prikazu, navedeni pokusi rađeni su u triplikatu i tzv. „error bar“ predstavlja standardnu devijaciju kao što se vidi na slici 8. U podatkovnoj tablici prikazane su logaritmirane vrijednosti dobivenih bakterijskih kolonija. Razlog zbog kojeg nema podataka za djelatne tvari D1 u svim koncentracijama je 100 %-na učinkovitost u suzbijanju *F. philomiraghia*. Isto vrijedi i za D2 za koncentracije 1 % i 0,5 % nakon 0,2 minute. Dok se može vidjeti da je D3 u 0,2 %-noj koncentraciji učinkovit tek nakon 10 minuta. D3 je samo učinkovit samo u 1 %-noj koncentraciji i to nakon 10 minuta. Dok u koncentracijama 0,5 % i 0,2 % nije učinkovit čak ni nakon 15 minuta. Na temelju dobivenih vrijednosti, može se zaključiti da je najučinkovitiji D1, potom D2, zatim kao najneučinkovitiji se smatra D3.



Slika 8. Učinkovitost svih vrsta dezinficijensa.

6.5. Statistička obrada svih vrsta dezinficijensa

U navedenoj tablici 7. može se vidjeti navedeni broj mjerenja, srednje vrijednosti, minimalne i maksimalne vrijednosti dezinficijensa. Tri puta su određivane koncentracije i tri puta se provjeravala učinkovitost djelatnih tvari navedenih dezinficijensa (D1, D2 i D3).

U tablici prikazane vrijednosti: D1, D12, D13, D2, D22, D23, D3, D32 i D33 objašnjene su na način da je D1 predstavljalo prvo mjerenje, D12 drugo mjerenje i D13 treće mjerenje, ista stvar vrijedi i za dezinficijense D2 i D3. Odnosno, D2 predstavljalo je prvo mjerenje, D22 drugo mjerenje, D23 treće mjerenje, D3 prvo mjerenje, D32 drugo mjerenje i D33 treće mjerenje.

Tablica 7. Deskriptivna statistika

	Valid N	Mean	Minimum	Maximum
D1 5%	0			
D1 2%	0			
D1 1%	0			
D2 1%	1	6,903090	6,903090	6,90309
D2 0,5 %	1	8,477121	8,477121	8,47712
D2 0,2 %	3	8,185434	4,778151	10,30103
D3 1%	4	6,350350	2,778151	9,84510
D3 0,5%	5	7,009844	4,000000	10,00000
D3 0,2%	5	9,820074	9,477121	10,30103
D12 5%	0			
D12 2%	0			
D12 1%	0			
D22 1%	1	6,845098	6,845098	6,84510
D22 0,5 %	1	8,301030	8,301030	8,30103
D22 0,2%	3	8,026394	4,477121	10,00000
D32 1%	4	6,897766	2,698970	9,30103
D32 0,5%	5	6,866891	3,954243	9,90309
D32 0,2%	5	9,600000	9,301030	10,00000
D13 5%	0			
D13 2%	0			
D13 1%	0			
D23 1%	1	6,954243	6,954243	6,95424
D23 0,5%	1	8,602060	8,602060	8,60206
D23 0,2%	3	8,052788	4,903090	9,95424

D33 1%	4	6,456842	2,845098	9,90309
D33 0,5%	5	7,187303	4,301030	10,30103
D33 0,2%	5	9,975704	9,602060	10,69897

Razlog zbog kojeg djelatne tvari dezinficijensa D1 nemaju vrijednosti u tablici 10. su zbog toga jer je dezinficijens D1 učinkovit u svim koncentracijama (5 %, 2 % i 1 %) i vremenskim intervalima (0,2 minute, 1, 5, 10 i 15 minuta) i zbog toga ubijaju 100 % navedenu bakteriju *F. philomiraghia*.

Također na temelju podataka u tablici 7. može se vidjeti da su učinkovitije djelatne tvari dezinficijensa D2 u odnosu na D3 zbog toga što imaju manji broj mjerenja, odnosno učinkovitost djelatnih tvari dezinficijensa D2 zajamčena je nakon prvog vremenskog intervala, tj. 0,2 minuta u koncentracijama 1 % i 0,5 %, te u koncentraciji od 0.1 % nakon trećeg vremenskog intervala, tj. 5 minuta.

Na temelju podataka u tablici 8. može se vidjeti statistička značajnost između djelatnih tvari dezinficijensa D2 i D3, $p < 0.05$. U koncentraciji D2 1 % i D3 0,2 % vidi se statistički značajna razlika između ispitivanih djelatnih tvari, što dokazuje da su djelatne tvari dezinficijensa D2 u 1 %-noj koncentraciji učinkovitije od djelatnih tvari dezinficijensa D3 u 0,2 %-noj koncentraciji, $p < 0,000919$.

Također, može se vidjeti da su djelatne tvari dezinficijensa D2 u 0,5 %-noj koncentraciji učinkovitije od djelatnih tvari dezinficijensa D3 u 0,2 %-noj koncentraciji, $p < 0.015438$.

Na temelju obrađenih statističkih podataka, može se reći da su djelatne tvari dezinficijensa D2 učinkovitije od djelatnih tvari dezinficijensa D3. Samim tim, dolazi se do zaključka kako je učinkovitiji dezinficijens D2 od dezinficijensa D3, dok dezinficijens D1 ostaje najučinkovitiji u suzbijanju *F. philomiraghia*.

Tablica 8. Statistička značajnost

	Srednja vrijednost - Grupa 1	Srednja vrijednost - Grupa 2	t- vrijednost	p vrijednost	Važeći broj mjere nja N - Grupa 1	Važeći broj mjerenja N - Grupa 2	Std.Dev. -Grupa 1	Std.Dev. - Grupa 2
D2 1% vs. D3 1%	6,903090	6,350350	0,14751	0,892083	1	4	0,000000	3,351454
D2 1% vs. D3 0,5%	6,903090	7,009844	-0,03356	0,974839	1	5	0,000000	2,904130
D2 1% vs. D3 0,2%	6,903090	9,820074	-8,80322	0,000919	1	5	0,000000	0,302484
D2 0,5 % vs. D3 1%	8,477121	6,350350	0,56759	0,610014	1	4	0,000000	3,351454
D2 0,5 % vs. D3 0,5%	8,477121	7,009844	0,46122	0,668607	1	5	0,000000	2,904130
D2 0,5 % vs. D3 0,2%	8,477121	9,820074	-4,05292	0,015438	1	5	0,000000	0,302484
D2 0,2 % vs. D3 1%	8,185434	6,350350	0,74901	0,487570	3	4	2,979411	3,351454

D2 0,2 % vs. D3 0,5%	8,185434	7,009844	0,54951	0,602495	3	5	2,979411	2,904130
D2 0,2 % vs. D3 0,2%	8,185434	9,820074	-1,28802	0,245180	3	5	2,979411	0,302484

7. Rasprava

Sposobnost, odnosno otpornost *F. philomiraghia* na različite vrste djelatnih tvari dezinficijensa D1, D2 i D3 prikazana je u ovom radu. Na temelju dobivenih rezultata, odredila se osjetljivost navedene bakterije na 3 vrste dezinficijensa u 3 različite koncentracije svakog.

Djelovanje dezinficijensima ispitivano je u laboratorijskim uvjetima, te se najučinkovitijim pokazao Asepsol (D1). U svim koncentracijama koje su pripremljene (5 %, 2 % i 1 %), imao je potpuno baktericidan učinak na *F. philomiraghia*, za sve vremenske intervale izlaganja tijekom istraživanja (10 sekundi, 1 minuta, 5, 10 i 15 minuta).

Glavne djelatne tvari Asepsola su: didecildimetilamonij klorid i izopropilni alkohol, tj. kvarterne amonijeve soli.

Rezultati nastali djelovanjem Descocida (D2), koji u svom sastavu također ima kvarterne amonijeve soli, tj. benzalkonij klorid, didecildimetilamonij klorid i mravlja kiselina, pri koncentracijama 0,5 % i 0,2 % djelovao je bakteriostatski puno efikasnije od Bigvasana (D3) u koncentracijama 1 %, 0,5 % i 0,2 %, gdje se je broj početnih bakterija (10^9 CFU/ml) reducirao na 10^2 CFU/ml nakon 10 minuta za 1 %-ni, tj. na 10^4 CFU/ml za 0,5 %-ni nakon 15 minuta i 10^9 CFU/ml, odnosno nepromijenjen za 0,2 %-ni Bigvasan.

Rast bakterija na GC agaru kod svih je koncentracija bio očit u navedenim vremenskim intervalima (10 sekundi, 1 minuta, 5, 10 i 15 minuta), te se moglo uočiti bakteriostatsko djelovanje koje bi se smanjivalo nakon 15 minuta izlaganja, ali s ne značajnim smanjenjem broja kolonija.

8. Zaključak

Francisella zbog svojih mehanizama i činitelja virulencije koji nisu dovoljno istraženi, postaje i zapravo je to čini zanimljivom za proučavanje. Naravno i opasnim patogenom koji može biti korišten kao biološko oružje za prijenos aerosolom, za koje trenutno ne bi imali učinkovit lijek. Zbog svega navedenog, francizele se smatraju aktualnim javnozdravstvenim pitanjem.

Rezultati su pokazali da je Asepsol (D1) odnosno njegove djelatne tvari, učinkovit za suzbijanje *F. philomiraghia*. Čak i u koncentraciji 4 puta manjoj od preporučene (5 %), učinak je bio isti, dok su dezinficijens Descocid (D2) i Bigvasan (D3) djelovali bakteriostatski na rast *F. philomiraghia*, s jačinom učinka ovisno o koncentraciji i vremenom izloženosti, gdje je Descocid (D2) mnogo učinkovitiji u odnosu na Bigvasan (D3).

9. Bibliografija

1. **McCoy GW & Chapin CW.** *Further observations plague-like disease of rodents with a preliminary note on the causative agent, Bacterium tularensis*, *The Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 1.1.1912. [Citirano 23.5.2021.]; 1912; 10:61-72. Dostupno na: <https://doi.org/10.1093/infdis/10.1.61>
2. **Chapin CW.** Review of our knowledge of bacterium Tularensis. *The American Journal of Public Health* [Internet]. 6. 1921. [Citirano 24.5.2021.]; 1921;11(6):529-532. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1353839/>
3. **Francis E.** *Microscopic Changes of Tularaemia in the Tick Dermacentor andersoni and the Bedbug Cimex lectularius*, *Public Health Reports* [Internet].1927. [Citirano 24.5.2021.]; 1927;42:2736-2772. Dostupno na: <https://doi.org/10.2307/4578567>
4. **Ellis J, Oyston CFP, Green M, Titball R.** Tularemia. *Clinical Microbiology review* [Internet]. 2002. [Citirano 24.5.2021.]; 2002;15 (4): 631-646. Dostupno na: <https://doi.org/10.1128/CMR.15.4.631-646.2002>
5. **Pechous, RD, McCarthy TR, Zahrt CT.** Working toward the Future: Insights into Francisella tularensis Pathogenesis and Vaccine Development. *Microbiology and Molecular Biology reviews* [Internet]. 2009.[Citirano 25.5. 2021.]; 2009;73 (4): 684-711. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19946137/>
6. **Knežević M, Marečić V, Ožanić M, Špoljarić N, Kelava I, Ćurlin M, Kwaik YA, Mihelčić M, Šantić M.** Increased Sensitivity of Amoeba-Grown Francisella Species to Disinfectants. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute* [Internet]. 2020. [Citirano 25.5.2021.]; 2020;8:1260. Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091260>
7. **Abd H, Johansson T, Golovliov I, Sandstrom G, Forsman M.** Survival and growth of Francisella tularensis in Acanthamoeba castellanii. *Applied and Environmental Microbiology* [Internet].2003. [Citirano: 25.5.2021.]; 2003;69 (1):600-606. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12514047/>

8. **McLendon M. K, Apicella M. A, Allen H. L-A.** Francisella Tularensis: Taxonomy, Genetics, and Immunopathogenesis of a Potential Agent of Biowarfare. *Annual review of microbiology* [Internet]. 2006. [Citirano: 25.5.2021.];2006;60:167-185. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16704343/>
9. **Oyston P. C. F, Sjostedt A, Tiball R. W.** Tularemia: bioterrorism defence renews interest in Francisella tularensis. *Nature reviews microbiology*. [Internet] 2004. [Citirano 25.5.2021.]; 2004;2 (12):967-78. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15550942/>
10. **I, Kosalec.** Mikrobiologija patogena. Zagreb : Zavod za mikrobiologiju farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu [Internet]. 2017. [Citirano 25.5.2021.]; 2017:9-11. Dostupno na: <https://www.bib.irb.hr/871606>
11. **Puljiz I i ostali.** Tularemija-prikaz bolesnika. *Hrčak* [Internet]. 2016. [Citirano 25.5.2021.]; 2016:3-4. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/182360>
12. **Pravilnik o načinu provedbe obvezatne dezinfekcije, dezinsekcije i deratizacije.** Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi. [Internet] 2. Travanj 2007. [Citirano: 25.5.2021.] Dostupno na: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2007_04_35_1117.html.
13. **Vrste biocidnih proizvoda.** Ministarstvo zdravstva [Internet] [Citirano: 25.5.2021.] Dostupno na: <https://zdravlje.gov.hr/djelokrug-1297/javnozdravstvena-zastita/kemikalije-i-biocidni-pripravci-1357/biocidni-pripravci-1786/vrste-biocidnih-prozvod-a-1876/1876>.
14. **O'Connel H. A, Rose L. J, Shams M, Arduino M. J, Rice E. W.** Chlorine disinfection of Francisella tularensis. *Letters in Applied Microbiology* [Internet]. 2011. [Citirano 25.5.2021.]; 2011; :84-86. Dostupno na: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02971.x>
15. **Blonder J, Randelović S, Joksović D, Kušić R.** Otrovanje asepsolom. *Hrčak* [Internet] 1983. [Citirano 25.5.2021.]; 1983;34 (2):153-156. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/158073>
16. **Stomatologija.me.** [Internet] 21.7.2020. [Citirano: 25.. Svibanj 2021.] Dostupno na: <https://stomatologija.me/blog/70374/>.
17. **Antiseptica.hr.** [Internet]. [Citirano: 25.5.2021.] Dostupno na: http://www.antiseptica.hr/descocid_n.html.

10. Životopis

Ovaj diplomski rad napisao je Jure Rašić, rođen 24. 08. 1997. godine u Makarskoj. Započeo je svoje školovanje u razdoblju od 2004.- 2012. godine u osnovnoj školi Stjepana Ivičevića u Makarskoj, zatim se školovao kao gimnazijalac u razdoblju od 2012.- 2016. godine u srednjoj školi Fra Andrije Kačića Miošića u Makarskoj, nakon toga u razdoblju od 2016.-2019. godine pohađa fakultet Zdravstvenih studija Sveučilišta u Mostaru, smjer sanitarni inženjer, zatim u razdoblju od 2019.- 2021. godine pohađa Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, smjer sanitarni inženjer. Poznaje i priča dva strana jezika: engleski i njemački. Zaposlen kao sezonac i aktivno se bavi volontiranjem u gradskom društvu Crvenog križa Makarska, gdje ima više od 600 volonterskih sati. Sudjelovao i izlagao osnovnoškolcima dvije edukativne teme vezane za struku: Bio kugle i Mikrobiologija s parazitologijom. Pohađao i aktivno sudjelovao kao izlagač i organizacijski odbor na dva studentska kongresa Zaštite zdravlja: Sanitas (2020. i 2021. godine) Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci kao i tri puta aktivno sudjelovao na kongresu SanMo Fakulteta zdravstvenih studija Sveučilišta u Mostaru (2019., 2020. i 2021. godine). Sudjelovao pasivno na dva kongresa u Sarajevu: *Legionella*, detekcija, nadzor, prevencija i analiza rizika (2018. godine) i Food safety (2018. godine).