

# ELEKTROKEMIJSKA DEZINFEKCIJA BOLNIČKE OTPADNE VODE

**Andelina Bubalo, mag. ing. oecoling.**  
DOK-ING Energo d.o.o.,  
Slavonska avenija 22/G,  
Zagreb, Hrvatska  
andelina.bubalo@dok-ing.hr

**Morana Drušković, mag. appl. chem.**  
DOK-ING Energo d.o.o.,  
Slavonska avenija 22/G,  
Zagreb, Hrvatska

**prof. dr. sc. Jasna Hrenović**  
Sveučilište u Zagrebu,  
Prirodoslovno-matematički fakultet,  
Biološki odsjek,  
Rooseveltova trg 6,  
Zagreb, Hrvatska  
jasna.hrenovic@biol.pmf.hr

Karbapenem rezistentne bakterije (CRB) su vodeći uzročnici emergentnih bolničkih infekcija diljem svijeta. CRB su nađene u bolničkim otpadnim vodama kojima se šire putem skupne kanalizacije u okoliš. Prisutnost CRB u okolišu predstavlja javnozdravstveni rizik. U ovom radu ispitana je učinkovitost elektrokemijske dezinfekcije vode za uklanjanje emergentnih CRB. Istosmjerna električna struja (DC, eng. direct current) niske jakosti pokazala je baktericidni učinak prema čistoj kulturi CRB *Acinetobacter baumannii* u fiziološkoj otopini. Primjenom DC niske jakosti, nakon reakcijskog vremena od 300 s uklonjeno je 25 % CRB iz sirove bolničke vode, pri čemu se značajno smanjila koncentracija amonijeva iona ( $\text{NH}_4^+$ ), pH vrijednost vode ostala neutralna, a temperatura vode nije prešla 36°C. Dezinfekcija bolničkih voda elektrokemijskim procesima čini se obećavajućom alternativom nedovoljno učinkovitoj kemijskoj dezinfekciji vode u svrhu sprječavanja širenja CRB u okoliš.

**Ključne riječi:** bakterije, patogeni, antibiotska rezistencija, elektrokemijska dezinfekcija, istosmjerna struja

## 1. UVOD

U današnje vrijeme pozornost znanstvenika i javnosti izaziva činjenica nalaza bakterija rezistentnih na antibiotike u okolišu. Rezistencija bakterija na antibiotike oduvijek je postojala te u ovom slučaju govorimo o urođenoj rezistenciji bakterija na antibiotike. Problematične infekcije uzrokovane su bakterijama koje su naknadno stekle rezistenciju na antibiotike, te govorimo o stečenoj rezistenciji.

Američko društvo za infektivne bolesti (Infectious Diseases Society of America) je 2009. godine objedinilo visoko problematične bakterije pod akronimom "ESKAPE": *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. (Gilmore Boucher i dr., 2009.). ESKAPE patogeni su razvili mehanizme za izbjegavanje biocidnog djelovanja dostupnih antibiotika te uzrokuju emergentne humane infekcije diljem svijeta. Od ESKAPE patogena, karbapenem rezistentni izolati *A.*

*baumannii* su 2017. pozicionirani na vrh prioritete liste Svjetske zdravstvene organizacije (WHO, 2017.) za koje je hitno potreban razvoj novih antibiotika. Rezistencija bakterija na karbapenemsku skupinu antibiotika privukla je posebnu pažnju, jer se karbapenemi koriste kao zadnja opcija u tretmanu infekcija izazvanih višestruko rezistentnim bakterijama. Razvojem rezistencije na karbapeneme gubi se mogućnost antibiotskog tretmana, pa u takvim slučajevima često govorimo o infekciji sveopće rezistentnim bakterijama ili tzv. superbakterijama. Rezistencija na karbapeneme u kliničkih izolata *A. baumannii* u Hrvatskoj 2018. iznosila je 90% (Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, 2018.), što predstavlja rekordni postotak unutar Europske unije. Stoga je u današnje vrijeme *A. baumannii* vodeći uzročnik bolničkih epidemija u Hrvatskoj, ali i diljem svijeta (Goić-Barišić, 2018.), a u tropskim regijama i sporadičnih vanbolničkih infekcija (Dexter i dr., 2015.).

Velik dio znanstvenih publikacija vezan je za istraživanja mehanizama antibiotske rezistencije kliničkih izolata *A. baumannii*. Do unazad zadnjih 10 godina vjerovalo se da je *A. baumannii* bolnička bakterija koja se ne nalazi u okolišu. Prvi okolišni izolat *A. baumannii* rezistentan na karbapeneme i srodan kliničkim izolatima izdvojen je 2010. iz vode rijeke Seine nizvodno Pariza (Girlich i dr., 2010.). Pet karbapenem rezistentnih izolata *A. baumannii* izdvojeno je 2013. iz vode Dunava kod Beograda i Bukurešta (Kittinger i dr., 2018.). Četiri karbapenem rezistentna *A. baumannii* izdvojena su 2015. iz vode Save nizvodno Zagreba (Šeruga Musić i dr., 2017.). Jedan karbapenem rezistentan *A. baumannii* izdvojen je 2017. iz vode rijeke Krapine nizvodno opće bolnice Zabok (Hrenović i dr., 2019.).

Iz sirovih bolničkih voda izolirani su klinički relevantni karbapenem rezistentni izolati *A. baumannii*: tri u Brazilu (Ferreira i dr., 2011.), devet u Kini (Zhang i dr., 2013.), 10 u Kliničkom bolničkom centru Split (Kovačić i dr., 2017.), te 10 u Specijalnoj bolnici za plućne bolesti u Zagrebu (Šeruga Musić i dr., 2017.). Klinički relevantni karbapenem rezistentni izolati *A. baumannii* izdvojeni su iz svake faze pročišćavanja komunalnih otpadnih voda grada Zagreba (Hrenović i dr., 2016.; Higgins i dr., 2018.). Sustavnim praćenjem utvrđen je sljedeći put širenja karbapenem rezistentnih *A. baumannii* od pacijenta do okoliša: kolonizirani ili inficirani pacijent → bolnička otpadna voda → skupna kanalizacija → uređaj za pročišćavanje otpadnih voda → prirodni recipijent (Šeruga Musić i dr., 2017.). U prirodnim vodama *A. baumannii* može preživjeti više od 50 dana, pri čemu je preživljavanje bolje u slatkoj u odnosu na slanu vodu (Hrenović i dr., 2016.; Kovačić i dr., 2017.). Stoga prisutnost karbapenem rezistentnih bakterija (CRB) u okolišu predstavlja javnozdravstveni rizik.

Ovi podatci ukazuju na potrebu uklanjanja CRB na izvoru onečišćenja (bolnička voda) prije njihova razrjeđivanja drugim vrstama voda u skupnom kanalizacijskom sustavu. U Kini je nakon dezinfekcije otpadne vode kloriranjem također potvrđeno prisustvo vijabilnih karbapenem rezistentnih *A. baumannii*, kao i gena odgovornih za rezistenciju na karbapeneme (Zhang i dr., 2013.; Luo i dr., 2014.). Podatak ukazuje na potrebu primjene alternativnih metoda dezinfekcije bolničkih voda prije njihova ispuštanja u kanalizacijsku mrežu ili prirodne recipijente.

U posljednjih desetak godina intenziviraju se istraživanja koja se temelje na primjeni elektrokemijskih metoda u pročišćavanju voda koje se koriste za piće te otpadnih voda (Feng i dr., 2004.; Gardić, 2007.). Elektrokemijski postupci privlače veliku pozornost, jer se radi o ekološki prihvatljivim tehnologijama koje se mogu primijeniti za različite vrste otpadnih voda, a znatno su nižih operativnih troškova od ostalih konvencionalnih metoda (Feng i dr., 2004.; Moussa i dr., 2017.).

Postoje različiti načini elektrokemijskog pročišćavanja: elektrodepozicija, elektroflotacija, elektrokemijska oksidacija, elektrokemijska redukcija i elektrokoagulacija (Gardić, 2007.). Napredni oksidacijski procesi i proces

elektrokoagulacije postali su predmet brojnih istraživanja, jer pročišćavaju otpadnu vodu koristeći električnu struju umjesto skupih kemijskih reagensa. Oba procesa su do danas uspješno primijenjena u pročišćavanju otplojenih i koloidnih onečišćivala u različitim industrijskim efluentima, uključujući postrojenja za štavljenje kože, otpadne vode prehrambenih industrija, tekstilnih industrija i u mnogim drugim proizvodnjama čije otpadne vode sadrže teške metale, otopljene tvari, emulgatore, organske tvari i druga onečišćivala (Gardić, 2007.; Naje i Abbas, 2013.; Oreščanin, 2015.; Moussa i dr., 2017.).

Manji broj istraživanja usmjeren je na uništavanje stanica bakterija i kvasca u vodama elektrokemijskim procesima (Gheraout i dr. 2008.; Gheraout i Gheraout, 2010.; Gheraout i Naceur, 2011.; Lopez-Galvez i dr., 2012.), te su predloženi mehanizmi tumačenja učinka dezinfekcije primjenom elektrokemijskih procesa, koji uključuju:

1. oksidativni stres i smrt stanice uzrokovan oksidansima proizvedenim u elektrokemijskim procesima;
2. nepovratna propusnost staničnih membrana djelovanjem električnog polja;
3. elektrokemijska oksidacija vitalnih staničnih dijelova tijekom izlaganja električnoj struji ili induciranim električnim poljima;
4. elektrosorpcija negativno nabijene stanice mikroorganizama na površinu anode praćene reakcijom izravnog prijenosa elektrona.

Kemijski oksidansi se proizvode *in situ* tijekom prolaza električne struje kroz potopljene elektrode u vodenoj suspenziji mikroorganizama u reakcijskoj posudi dizajniranoj kao elektrokemijska ćelija (Jeong i dr., 2009.; Hakizimana i dr., 2016.; Huang i dr., 2016.). Također, sve se više istražuje učinkovitost istosmjerne električne struje (DC, eng. direct current) niske jakosti koja se propušta između elektroda i djeluje letalno na stanice mikroorganizma u nekoliko sekundi kontakta. Elektrokemijski postupci podrazumijevaju primjenu električnog polja na jedan ili više setova elektroda u svrhu uklanjanja anorganskog, organskog i mikrobiološkog onečišćenja prisutnog u vodi. U svrhu postizanja optimalnog odnosa između uklanjanja emergentnih CRB iz sirove bolničke vode te utroška energije i vremena, potrebno je optimizirati minimalno pet operacijskih parametara, a to su: vrsta elektroda, ukupna površina žrtvujućih elektroda, razmak između elektroda, jakost struje i trajanje procesa.

U ovom je radu ispitan utjecaj vremena trajanja procesa na mogućnost uklanjanja emergentnih CRB iz sirove bolničke vode primjenom DC niske jakosti.

## 2. MATERIJAL I METODE

### 2.1. Pokusi s čistom kulturom bakterija

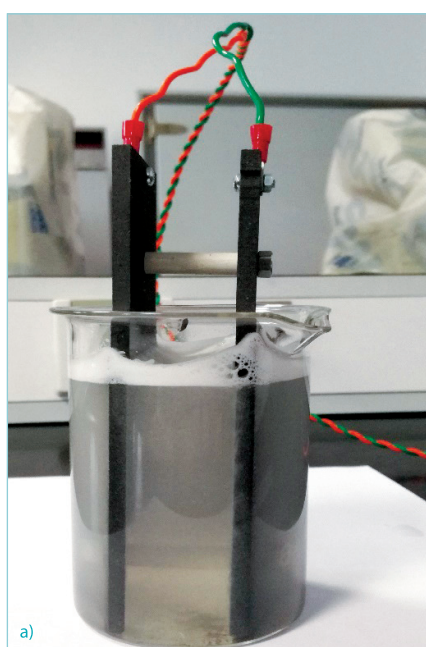
Za pokuse s čistom kulturom bakterija izabran je izolat *A. baumannii* obilježen kao S2/1 (Šeruga-Musić

i dr., 2017.). Ovaj je izolat izdvojen 2015. godine iz otpadne vode Specijalne bolnice za plućne bolest u Zagrebu. Za izolat je potvrđena visoka srodnost s kliničkim izolatima prisutnim u to doba u istoj bolnici. Izolat je pokazao profil proširene otpornosti na antibiotike: karbapeneme, fluorokinolone, aminoglikozide i inhibitore folatnog puta.

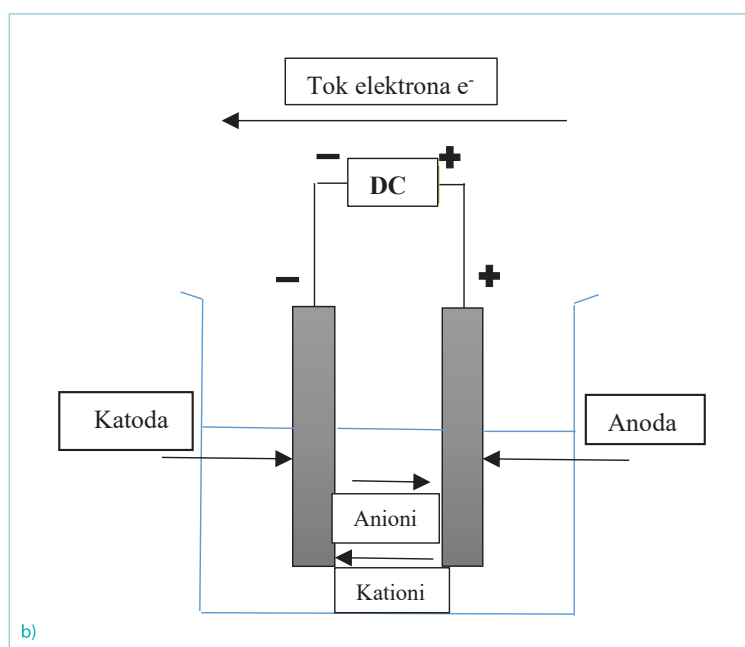
Izolat *A. baumannii* je umnožen na selektivnoj kromogenoj podlozi CHROMagar Acinetobacter oplemenjenoj s karbapenemskim dodatkom CR102 (CHROMagar, Francuska) pri 42°C/24 h. Biomasa bakterija suspendirana je u sterilnoj fiziološkoj otopini kako bi se dobila početna koncentracija oko 10<sup>6</sup> kolonija (CFU) po jednom mL otopine. Bakterijska suspenzija

Tablica 1: Učinkovitost različitih procesnih uvjeta elektro-tretmana u dezinfekciji suspenzije *A. baumannii* u fiziološkoj otopini.  $t_0$  (log CFU/mL) = 6,5±0,3

Broj tretmana	Tip elektrode	Jačina struje (A); vrijeme kontakta (sekunde)	Broj <i>A. baumannii</i> (CFU/10 mL)
1	Aluminij	2,3 A ; 120 s	0
2	Inoks	2,0 A ; 22 s	0
3	Inoks	2,0 A ; 30 s	0
4	Inoks	2,0 A ; 45 s	0
5	Inoks	2,2 A ; 10 s	0
6	Inoks	2,2 A ; 15 s	0
7	Inoks	2,2 A ; 25 s	0
8	Inoks	2,3 A ; 5 s	0
9	Inoks	3,4 A ; 120 s	0
10	Nikal	2,2 A ; 30 s	0
11	Nikal	2,9 A ; 60 s	0
12	Nikal	3,7 A ; 120 s	0
13	Nemetalna elektroda	3,3 A ; 30 s	0
14	Nemetalna elektroda	3,2 A ; 60 s	0
15	Nemetalna elektroda	4,4 A ; 120 s	0
16	Nemetalna elektroda	2,0 A ; 300 s	0



a)



b)

Slika 1: Elektrokemijski uređaj a) slika i b) shematski prikaz

razdjeljivana je u sterilne staklene čaše po 50 mL te podvrgavana djelovanju 16 različitih procesnih uvjeta elektro-tretmana (tablica 1).

Uređaj za elektrokemijsku dezinfekciju otpadne vode (slika 1) sastojao se od staklene posude u kojoj se odvija elektrokemijski proces, elektrode (anoda i katoda) spojene na izvor istosmjerne električne struje, transformatora i ispravljača. Transformator je služio za pretvorbu električnog napona gradske mreže od 220 V u željeni napon. Ispitan je utjecaj istosmjerne električne struje niske jakosti od prosječno 2,6 A i 60 V, te je ispitana učinkovitost tri vrste setova metalnih elektroda i to od aluminijske, nehrđajućeg čelika – inoksa, nikla te nemetalnih elektroda od grafita. U elektrokemijskom reaktoru razmak između elektroda bio je 4 cm, površina elektrode: 15 cm<sup>2</sup> (obje 30 cm<sup>2</sup>), debljina elektrode 2 mm, površina uronjene elektrode 10 cm<sup>2</sup> (obje 20 cm<sup>2</sup>).

Nakon elektrokemijskog tretmana u svakom je uzorku određen broj vijabilnih *A. baumannii*. Po 10 mL uzorka je u tehničkom duplikatu profiltrirano kroz sterilni membranski filter koji je potom položen na CHROMagar Acinetobacter. Nakon inkubacije na 42°C/24 h provjeren je broj poraslih bakterijskih kolonija. Za potrebe izračuna apsolutni broj bakterijskih kolonija (CFU) je logaritmiran.

## 2.2. Pokusi sa sirovom bolničkom vodom

Uzorak sirove bolničke otpadne vode prikupljen je u veljači 2019. u 8 h iz šahta jedne zagrebačke kliničke bolnice. Svježi uzorak je u roku od jedan sat podvrgnut pokusima i analizama. Uzorak bolničke otpadne vode razdijeljen je u staklene čaše po 200 mL te podvrgavan djelovanju 4 različita procesna uvjeta elektro-tretmana (tablica 2). Za elektrokemijski tretman izabrane su nemetalne (grafitne) elektrode radi eliminacije mogućnosti otapanja metala i istosmjerna struja niske jakosti od 1,1 A i 60 V. U elektrokemijskom reaktoru razmak između elektroda bio je 4 cm, površina elektrode: 15 cm<sup>2</sup> (obje 30 cm<sup>2</sup>), debljina elektrode 5 mm, površina uronjene elektrode 10 cm<sup>2</sup> (obje 20 cm<sup>2</sup>). Struja je puštana 5, 30, 120 i 300 s, a njen utjecaj na djelotvornost obrade je ispitivan zasebno u svakom od tih vremenskih intervala.

Prije i nakon elektrokemijskog tretmana uzorci su analizirani bakteriološki i fizikalno-kemijski. Za potrebe bakteriološke analize uzorci su razrijeđivani sterilnom fiziološkom otopinom. U uzorcima je određeni broj ukupnih heterotrofnih bakterija te CRB. Broj kolonija ukupnih heterotrofnih bakterija određen je na neselektivnom hranjivom agaru (Nutrient agar, Biolife) nakon inkubacije na 22°C/72 h. Prijašnjim istraživanjima potvrđeno je da kultivacija na 42°C rezultira selektivnom izolacijom klinički relevantnih CRB sa stečenom rezistencijom na karbapeneme kao što je *A. baumannii*, dok kultivacija na 37°C omogućava porast bakterija

s urođenom rezistencijom na karbapeneme (Hrenović i dr., 2016.; 2017.; 2019.). Stoga je broj kolonija CRB određen na CHROMagar Acinetobacter oplemenjenom s CR102 nakon inkubacije na 42°C/24 h. Broj poraslih bakterijskih kolonija je logaritmiran i izražen kao log CFU u 1 mL vode. Učinkovitost uklanjanja bakterija izražena je kao postotak redukcije bakterija izračunat pomoću izraza:

$$\text{Učinkovitost (\%)} = \frac{(\log \text{CFU/mL } (t_0) - \log \text{CFU/mL } (t))}{\log \text{CFU/mL } (t_0)} \times 100$$

Prevalencija CRB unutar populacije ukupnih heterotrofnih bakterija izračunata je kao postotni udio apsolutnih brojeva bakterija pomoću izraza:

$$\text{Prevalencija (\%)} = \left( \frac{\text{CFU}_{\text{CRB}}}{\text{CFU}_{\text{heterotrofi}}} \right) \times 100$$

Vrijednosti pH vode i temperatura određeni su pH-metrom (WTW). Koncentracija amonijeva iona (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) određena je na DR/2500 Hach spektrofotometru.

## 3. REZULTATI I RASPRAVA

Danas se sve veća pozornost pridaje istraživanjima novih metoda koje bi mogle poslužiti za smanjenje broja mikroorganizama u vodama, a jedna od takvih je dezinfekcija vode upotrebom DC niske jakosti. Važno je napomenuti mnoge prednosti elektrokemijske dezinfekcije (Feng i dr., 2004.): jednostavna i jeftina upotreba, jednostavna proizvodnja sustava za elektrokemijsku dezinfekciju, elektroliza stanica bakterija te onemogućeno razvijanje otpornosti mikroorganizama na djelovanje struje. Mehanizam dezinfekcijskog učinka električne struje temelji se na oštećenju bakterijske stanične stijenke i citoplazmatske membrane, što dovodi do istjecanja sadržaja stanice (Pulido, 2005.; Lopez-Galvez i dr., 2012.). Među nekoliko teoretskih modela najviše su prihvaćeni tzv. dielektrični lom i elektroporacija, mehanizmi koji se očituju promjenama u strukturi i propusnosti membrane nakon izlaganja bakterijskih stanica vanjskom električnom polju (Pulido, 2005.). Na taj se način u stanicu mogu unijeti različite molekule za koje je inače stanična membrana nepropusna, ali može doći i do istjecanja unutarstaničnog sadržaja bakterijske stanice, što posljedično dovodi do smrti bakterije. Kod oba mehanizma promjene na membrani mogu biti reverzibilne ili ireverzibilne, ovisno o jakosti električnog polja, vremenu kontakta, veličini stanice, površinskom naboju stanice, itd.

Metoda izlaganja bakterija istosmjernoj struji ima potencijalne prednosti pred konvencionalnim metodama smanjenja broja mikroorganizama u vodi zbog svoje visoke učinkovitosti, baktericidnog učinka u samo nekoliko sekundi i jednostavnoj primjeni. Metoda je primjenjiva na različitim uzorcima, pa bi se mogla upotrijebiti kao zamjena ili dopuna rutinskim kemijskim metodama dezinfekcije (Pulido, 2005.; Štifanić i dr., 2010.).

**Tablica 2:** Utjecaj vremena na učinkovitost dezinfekcije sirove bolničke vode primjenom nemetalne elektrode.  $t_0$  (log CFU/mL heterotrofi) =  $7,2 \pm 0,2$ ;  $t_0$  (log CFU/mL CRB) =  $4,4 \pm 0,1$

Broj tretmana	Jačina struje (A); vrijeme kontakta (sekunde)	Utrošena energija (Wh)	Učinkovitost uklanjanja heterotrofa (%)	Učinkovitost uklanjanja CRB (%)
1	1,1 A; 5 s	0,1	9±1	2±1
2	1,1 A; 30 s	0,55	11±2	5±2
3	1,1 A; 120 s	2,2	12±1	17±3
4	1,1 A; 300 s	5,5	17±1	25±1

U elektrokemijskom procesu na elektrodama nastaje niz oksidansa u prisustvu kisika, uključujući vodikov peroksid i ozon, kao i slobodni klor i klorov dioksid, kada su u otopini prisutni kloridni ioni ( $\text{Cl}^-$ ) (Liu i dr., 1997.; Venczel i dr., 1997.; Drees i dr., 2003.). Ovi oksidansi odgovorni su za većinu, ali ne i za sve letalne učinke primjene DC (Liu i dr., 1997.). Neke reference prikazuju da antimikrobna sredstva i električna struja djeluju interaktivno na deaktivaciju mikroorganizama (Drees i dr., 2003.; Mascia i dr., 2012.; Nanayakkara i dr., 2012.; Cui i dr., 2013.).

Iz **tablice 1** vidljivo je da je svih 16 različitih procesnih uvjeta elektro-tretmana rezultiralo potpunim uklanjanjem *A. baumannii* iz fiziološke otopine. Tretmanima su uklonjene sve vijabilne stanice *A. baumannii*, što rezultira učinkovitošću uklanjanja od  $\geq 99,9\%$ . Na osnovu uspješnog uklanjanja CRB *A. baumannii* u čistoj kulturi, ispitana je učinkovitost uklanjanja CRB iz realne vode.

Sirova bolnička voda sadržavala je veliku koncentraciju heterotrofnih i CRB bakterija (**tablica 2**). Prevalencija klinički značajnih CRB unutar populacije ukupnih heterotrofnih bakterija iznosila je 0,14%, što je mnogo više od 0,0006% zabilježeno u skupnoj kanalizaciji grada Zagreba (Hrenović i dr., 2017.). Ova je razlika vjerojatno posljedica razrjeđivanja bolničkih voda s otpadnim vodama domaćinstava, industrije, oborinskih i površinskih voda u gradskoj kanalizaciji. Elektrokemijski postupak nemetalnim (grafitnim) elektrodama rezultirao je smanjenjem koncentracije bakterija, a učinkovitost je rasla s povećanjem vremena kontakta (**tablica 2**). Učinkovitost dezinfekcije s vremenom kontakta malo se razlikovala između ukupne populacije heterotrofnih bakterija i CRB. Ovi

**Tablica 3:** Vrijednosti fizikalno-kemijskih parametara u sirovoj bolničkoj vodi (0) i nakon elektrokemijskog tretmana nemetalnom elektrodom pri četiri različita vremena kontakta

Broj tretmana	pH	T (°C)	$\text{NH}_4^+$ (mg/L)
0	7,57	18	14,18
1	7,62	21	10,68
2	7,66	22	6,21
3	7,10	26	3,86
4	7,65	36	2,68

rezultati ukazuju na neselektivno djelovanje elektro-tretmana na bakterije prisutne u bolničkoj vodi. Nakon 300 sekundi kontakta učinkovitost uklanjanja emergentnih CRB iznosila je zadovoljavajućih 25 % (**tablica 2**).

Dezinfekcija bolničke vode različitim procesnim uvjetima elektro-tretmana rezultirala je značajnim smanjenjem koncentracije amonijeva iona, a učinkovitost je rasla s povećanjem vremena kontakta (**tablica 3**). pH vrijednost vode nakon tretmana ostala je neutralna i razlikovala se za najviše 0,8 jedinica pH u odnosu na sirovu vodu. Temperatura vode nakon elektrokemijskih tretmana je rasla u odnosu na sirovu vodu te je dosegla najviše  $36^\circ\text{C}$  nakon 300 sekundi kontakta (**tablica 3**).

Dezinfekcija otpadne vode kloriranjem prethodno se pokazala neučinkovitom u uklanjanju vijabilnih karbapenem rezistentnih *A. baumannii* (Zhang i dr., 2013.) kao i gena odgovornih za rezistenciju na karbapeneme (Luo i dr., 2014.). Među alternativnim metodama dezinfekcije, elektrokemijski tretman bolničkih voda prije ispuštanja u kanalizacijsku mrežu ili prirodne recipijente čini se obećavajuća tehnologija u svrhu sprječavanja širenja CRB u okoliš. *A. baumannii* vrlo dobro stvara otporne biofilmove na svim čvrstim podlogama (Goić-Barišić, 2018.). Uklanjanjem *A. baumannii* na izvoru zagađenja izbjeglo bi se stvaranje bakterijskih biofilмова u kanalizacijskoj mreži i okolišu.

#### 4. ZAKLJUČAK

Elektrokemijska dezinfekcija primjenom DC niske jakosti učinkovita je u suspenziji *A. baumannii* u fiziološkoj otopini kao i u sirovoj bolničkoj vodi. Elektrokemijski tretman bolničke vode rezultira padom koncentracije amonijeva iona ( $\text{NH}_4^+$ ), pri čemu ne utječe značajno na pH, a temperatura vode ne prelazi  $36^\circ\text{C}$ . Elektrokemijska obrada bolničkih voda prije ispuštanja u kanalizacijsku mrežu ili prirodne recipijente je obećavajuća tehnologija u svrhu sprječavanja širenja CRB u okoliš.

#### 5. ZAHVALA

Ovo istraživanje provedeno je u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost „Prirodno stanište klinički značajnih *Acinetobacter baumannii*“ (br. IP-2014-09-5656). ■



## LITERATURA

- Akademija medicinskih znanosti Hrvatske (2018.): Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj u 2018. g. Zagreb.
- Cui, X.; Quicksall, A.N.; Blake, A.B.; Talley, J.W. (2013.): Electrochemical disinfection of *Escherichia coli* in the presence and absence of primary sludge particulates. *Water Research*, 47, 4383–4390.
- Dexter, C.; Murray, G.L.; Paulsen, I.T.; Peleg, A.Y. (2015.): Community-acquired *Acinetobacter baumannii*: clinical characteristics, epidemiology and pathogenesis. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 13, 567–573.
- Drees, K.P.; Abbaszadegan, M.; Maier, R.M. (2003.): Comparative electrochemical inactivation of bacteria and bacteriophage. *Water Research*, 37, 2291–2300.
- Feng, C.; Suzuki, K.; Zhao, S.; Sugiura, N.; Shimada, S.; Maekawa, T. (2004.): Water disinfection by electrochemical treatment. *Bioresource Technology*, 94, 21–25.
- Ferreira, A.E.; Marchetti, D.P.; De Oliveira, L.M.; Gusatti, C.S.; Fuentefria, D.B.; Corcao, G. (2011.): Presence of OXA-23-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in wastewater from hospitals in southern Brazil. *Microbial Drug Resistance*, 17, 221–227.
- Gardić, V. (2007.): Primena elektrohemijskih metoda za pročišćavanje otpadnih voda. Deo I. Elektrodepozicija i elektrokoagulacija. *Zaštita materijala*, 48 UDC:628.31.087.4/.5=861
- Ghernaout, D.; Badis, A.; Kellil, A.; Ghernaout, B. (2008.): Application of electrocoagulation in *Escherichia coli* culture and two surface waters. *Desalination*, 219, 118–125.
- Ghernaout, D.; Ghernaout, B. (2010.): From chemical disinfection to electrodisinfection: The obligatory itinerary? *Desalination and Water Treatment*, 16, 156–175.
- Ghernaout, D.; Naceur, M.W. (2011.): Ferrate(VI): In situ generation and water treatment - A review". *Desalination and Water Treatment*, 30, 319–332.
- Gilmore Boucher, H.W.; Talbot, G.H.; Bradley, J.S.; Edwards, J.E.; Gilbert, D.; Rice, L.B.; Scheld, M.; Spellberg, B.; Bartlett, J. (2009.): Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 48, 1–12.
- Girlich, D.; Poirel, L.; Nordmann, P. (2010.): First isolation of the blaOXA-23 carbapenemase gene from an environmental *Acinetobacter baumannii* isolate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54, 578–579.
- Goić-Barišić, I. (2018.): Epidemiologija i rezistencija kliničkih izolata *Acinetobacter baumannii* u Hrvatskoj tijekom desetogodišnjeg razdoblja – što se promijenilo? *Medicina fluminensis*, 54, 268–273.
- Hakizimana, J.N.; Gourich, B.; Vial, Ch.; Drogui, P.; Oumani, A.; Naja, J.; Hilali L. (2016.): Assessment of hardness, microorganism and organic matter removal from seawater by electrocoagulation as a pretreatment of desalination by reverse osmosis. *Desalination*, 393, 90–101.
- Higgins, P.G.; Hrenović, J.; Seifert, H.; Dekić S. (2018.): Characterization of *Acinetobacter baumannii* from water and sludge line of secondary wastewater treatment plant. *Water Research*, 140, 261–267.
- Hrenović, J.; Goić-Barišić, I.; Kazazić, S.; Kovačić, A.; Ganjto, M.; Tonkić, M. (2016.): Carbapenem-resistant isolates of *Acinetobacter baumannii* in a municipal wastewater treatment plant, Croatia, 2014. *Eurosurveillance*, 21, 21–30.
- Hrenović, J.; Ivanković, T.; Iveković, D.; Repec, S.; Stipaničev, D.; Ganjto, M. (2017.): The fate of carbapenem-resistant bacteria in a wastewater treatment plant. *Water Research*, 126, 232–239.
- Hrenović, J.; Durn, G.; Kazazić, S.; Dekić, S.; Šeruga Musić, M. (2019.): Untreated wastewater as a source of carbapenem-resistant bacteria to the riverine ecosystem. *Water SA*, 45, 55–62.
- Huang, X.; Qu, Y.; Cid, C.A.; Finke, C.; Hoffmann M.R.; Lim, K.; Jiang, S.C. (2016.): Electrochemical disinfection of toilet wastewater using wastewater electrolysis cell. *Water Research*, 92, 164–172.
- Jeong, J.; Kim, C.; Yoon, J. (2009.): The effect of electrode material on the generation of oxidants and microbial inactivation in the electrochemical disinfection processes. *Water Research*, 43, 895–901.
- Kittinger, C.; Kirschner, A.; Lipp, M.; Baumert, R.; Mascher, F.; Farnleitner, A.H.; Zarfel, G.E. (2018.): Antibiotic resistance of *Acinetobacter* spp. isolates from the River Danube: susceptibility stays high. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15, 1–8.
- Kovačić, A.; Šeruga Musić, M.; Dekić, S.; Tonkić, M.; Novak, A.; Rubić, Ž.; Hrenović, J.; Goić-Barišić, I. (2017.): Transmission and survival of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outside hospital setting. *International Microbiology*, 20, 165–169.
- Liu, W.K.; Brown, M.R.; Elliott, T.S. (1997.): Mechanisms of the bactericidal activity of low amperage electric current (DC). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 39, 687–695.
- Lopez-Galvez, F.; Posada-Izquierdo, G.D.; Selma, M.V.; Perez-Rodriguez, F.; Gobet, J.; Gil, M.I.; Allende, A. (2012.): Electrochemical disinfection: An efficient treatment to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 in process wash water containing organic matter. *Food Microbiology*, 30, 146–156.
- Luo, Y.; Yang, F.; Mathieu, J.; Mao, D.; Wang, Q.; Alvarez, P.J.J. (2014.): Proliferation of multidrug-resistant New Delhi metallo-lactamase genes in municipal wastewater treatment plants in northern China. *Environmental Science and Technology Letters*, 1, 2630e.

- Mascia, M.; Vacca, A.; Palmas, S. (2012.): Fixed bed reactors with three dimensional electrodes for electrochemical treatment of waters for disinfection. *Chemical Engineering Journal*, 211-212, 479-487.
- Moussa, D.T.; El-Naas, M.H.; Nasser, M.; Al-Marri, M.J. (2017.): A comprehensive review of electrocoagulation for water treatment: Potentials and challenges. *Journal of Environmental Management*, 186, 24-41.
- Nađ, K. (2015.): Razvoj sustava za pripremu pitke vode primjenom elektrokemijskih metoda i naprednih oksidacijskih procesa. Doktorska disertacija, Tehnički fakultet, Rijeka.
- Naje, A.S.; Abbas, S.A. (2013.): Electrocoagulation technology in wastewater treatment: a review of methods and applications. *Civil and Environmental Research*, 3, 29-43.
- Nanayakkara, K.G.N.; Alam, A.K.M.K.; Zheng, Y-M.; Chen, J.P. (2012.): A low-energy intensive electrochemical system for the eradication of *Escherichia coli* from ballast water: Process development, disinfection chemistry, and kinetics modeling. *Marine Pollution Bulletin*, 64, 1238-1245.
- Oreščanin, V. (2015.): Treatment of wastewater generated in the printed circuit board production with red mud and ozone. *Hrvatske vode*, 23, 191-200.
- Pulido, M.E. (2005.): Evaluation of an electro-disinfection technology as an alternative to chlorination of municipal wastewater effluents. PhD Thesis, 309, University of New Orleans.
- Šeruga Musić, M.; Hrenović, J.; Goić-Barišić, I.; Hunjak, B.; Škorić, D.; Ivanković, T. (2017.): Emission of extensively-drug resistant *Acinetobacter baumannii* from hospital settings to the natural environment. *Journal of Hospital Infection*, 96, 323-327.
- Štifanić, A.; Marchesi, V.V.; Tomljenović, M.; Rukavina T. (2010.): Utjecaj istosmjerne električne struje niske jakosti na bakterije u morskoj vodi. *Naše more*, 57, 130-137.
- Venczel, L.V.; Arrowood, M.; Hurd, M.; Sobsey, M.D. (1997.): Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Clostridium perfringens* spores by a mixed-oxidant disinfectant and by free chlorine. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 1598-1601.
- WHO (World Health Organization) (2017.): Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics.
- Zhang, C.; Qiu, S.; Wang, Y.; Qi, L.; Hao, R.; Liu, X.; Shi, Y.; Hu, X.; An, D.; Li, Z.; Li, P.; Wang, L.; Cui, J.; Wang, P.; Huang, L.; Klerna, J.D.; Song, H. (2013.): Higher isolation of NDM-1 producing *Acinetobacter baumannii* from the sewage of the hospitals in Beijing. *PLoS ONE*, 8, e64857.

### Electrochemical disinfection of hospital wastewater

**Abstract.** Carbapenem-resistant bacteria (CRB) are the leading cause of emergent hospital-acquired infections worldwide. The CRB have been found in hospital wastewater, where they spread through the common sewer into the environment. The presence of CRB in the environment poses a public health risk. The paper explores the efficiency of electrochemical wastewater disinfection to remove emergent CRB. Low voltage direct current (DC) showed a bactericidal effect on the pure culture of CRB *Acinetobacter baumannii* in saline. After the reaction time of 300 s of implemented low voltage DC, 25 % of CRB was removed from raw hospital wastewater. There was a significant reduction in the concentration of ammonium ion ( $\text{NH}_4^+$ ), the pH value of water remained neutral and the water temperature did not exceed 36°C. The disinfection of hospital wastewater with electrochemical processes appears to be a promising alternative to insufficiently efficient chemical disinfection of water in the prevention of the CRM spread into the environment.

**Key words:** bacteria, pathogens, antibiotic resistance, electrochemical disinfection, direct current

### Elektrochemische Desinfektion des Abwassers aus Krankenhäusern

**Zusammenfassung.** Carbapenem-resistente Bakterien (CRB) sind die häufigsten Erreger von Krankenhausinfektionen in der ganzen Welt. CRB werden im Abwasser aus Krankenhäusern gefunden, und sie gelangen durch die Kanalisation in die Umwelt. Die in der Umwelt vorkommenden Carbapenem-resistenten Bakterien stellen Risiko für die öffentliche Gesundheit dar. In diesem Beitrag wird die Wirksamkeit der elektrochemischen Wasserdesinfektion in der Entfernung von CRB mit emergentem Verhalten aus dem Abwasser untersucht. Es hat sich gezeigt, dass der Niederspannungs-Gleichstrom abtötende Wirkung auf die Reinkultur von CRB *Acinetobacter baumannii* in der Kochsalzlösung hat. Durch die Anwendung vom Niederspannungs-Gleichstrom wurde nach einer Reaktionszeit von 300 Sekunden 25% von CRB aus dem rohen Krankenhauswasser entfernt, wobei die Konzentration von Ammoniumionen ( $\text{NH}_4^+$ ) wesentlich erniedrigt wurde, der pH-Wert vom Wasser neutral blieb und die Wassertemperatur nicht über 36 stieg. In der Bemühung, die Ausbreitung von CRB in der Umwelt zu verhindern, scheint die elektrochemische Desinfektion vom Krankenhausabwasser eine vielversprechende Alternative zur ungenügend wirksamen chemischen Wasserdesinfektion zu sein.

**Schlüsselwörter:** Bakterien, Pathogene, Antibiotikaresistenz, elektrochemische Desinfektion, Gleichstrom