

METODY NISZCZENIA DROBNOUSTROJÓW

Drobnoustroje występujące w środowisku człowieka różnią się wrażliwością na działanie czynników fizycznych i chemicznych. W zależności od stopnia oporności termicznej wyróżniono trzy grupy drobnoustrojów:

- 1^o oporności: Do grupy tej należą bakterie nie zarodnikujące, drożdże i większość wirusów; giną w temp. 100^{oC} w czasie 2-5 min, w temp. 121^{oC} (autoklaw) po 1 min, w temp. 160^{oC} w czasie 1-2 min.
- 2^o oporności: Grupa ta obejmuje drobnoustroje zarodnikujące: laseczki wąglika, zgorzeli gazowej; giną w temp. 100^{oC} w czasie 5-10 min, w temp 121^{oC} w czasie 3 min, w temp. 160^{oC} po 4-6 min.
- 3^o oporności: Oporność taka charakteryzuje np. laseczki tężca, jadu kiełbasianego (z wyjątkiem typu E); giną w temp. 100^{oC} w czasie 1-5 godzin, w temp. 121^{oC} w czasie 5-12 min, w temp. 160^{oC} w czasie 6-30 min.

Dekontaminacja jest procesem prowadzącym do usunięcia lub zniszczenia drobnoustrojów. Do metod dekontaminacji należą: sanityzacja, dezynfekcja i sterylizacja.

Właściwy dobór metod dekontaminacji jest zależny od ryzyka przeniesienia zakażenia. Zgodne z zaleceniami CDC (Center for Disease Control) w środowisku szpitalnym uwzględnione są trzy kategorie przedmiotów: wysokiego (critical), średniego (semicritical) i niskiego (noncritical) ryzyka:

- Przedmioty wysokiego ryzyka przeniesienia zakażenia kontaktują się z jałowymi tkankami. Są to narzędzia chirurgiczne, wszczepy, igły, cewniki naczyniowe i moczowe. Przedmioty należące do tej kategorii bezwzględnie muszą być jałowe (jednorazowe lub sterylizowane).
- Przedmioty średniego ryzyka przeniesienia zakażenia kontaktują się z błonami śluzowymi lub uszkodzoną skórą. Są to endoskopy, zestawy do intubacji. W zależności od możliwości technicznych przed użyciem należy poddać je sterylizacji lub dezynfekcji wysokiego stopnia.
- Przedmioty niskiego ryzyka przeniesienia zakażenia kontaktują się jedynie z nieuszkodzoną skórą (baseny, mankiety do mierzenia ciśnienia, bielizna pościelowa, wyposażenie sal). Wymagają mycia i okresowej dezynfekcji ze względu na ryzyko wtórnej transmisji przez ręce personelu i sprzęt medyczny.

Definicje

- Sanityzacja: usuwanie widocznych zabrudzeń i zanieczyszczeń a wraz z nimi także większości drobnoustrojów (mycie, odkurzanie, malowanie).
- Dezynfekcja: proces, w wyniku którego ulegają zniszczeniu formy wegetatywne drobnoustrojów (pozostają spory bakteryjne i tzw. „powolne wirusy”).
- Dezynfekcja wysokiego stopnia oprócz form wegetatywnych niszczy także prątki gruźlicy, enterowirusy i niektóre formy przetrwalnikowe.
- Antyseptyka: dezynfekcja skóry, błon śluzowych, uszkodzonych tkanek z zastosowaniem preparatów nie działających szkodliwie na tkanki ludzkie.
- Sterylizacja: proces prowadzący do zniszczenia wszystkich żywych form drobnoustrojów.
- Aseptyka: sposób postępowania, którego celem jest zapobieganie zakażeniom tkanek i skażeniom jałowych powierzchni.

DEZYNFEKCJA

Dezynfekcja to proces zależny od wielu czynników. Skuteczność dezynfekcji jest wprost proporcjonalna do czasu działania i stężenia preparatu dezynfekującego, wzrasta także wraz ze wzrostem temperatury i wilgotności. Podwyższone pH obniża aktywność fenoli, podchlorynów i związków jodu, a zwiększa aktywność IV-rzędowych zasad amoniowych. Obecność substancji organicznych może ograniczać działanie przeciwdrobnoustrojowe preparatów dezynfekujących, np. w wyniku tworzenia z nimi nieaktywnych związków. Dezynfekcję można przeprowadzić przy użyciu metod termicznych, termiczno-chemicznych lub chemicznych.

- Dezynfekcja termiczna przebiega z wykorzystaniem wody o temp. 93^{oC} lub pary wodnej o temp 105-110^{oC} i nadciśnieniu 0,5 atm. Stosowana do odkażania bielizny, naczyń i wyposażenia sanitarnego. Zaletą tej metody jest możliwość monitorowania procesu i brak toksyczności. Szczególnym przypadkiem jest pasteryzacja, polegająca na jednorazowym krótkotrwałym podgrzaniu cieczy do temperatury <100^{oC} (60-80^{oC}) i natychmiastowym oziębieniu do temp. pokojowej. Proces ten ma zastosowanie zwłaszcza w przemyśle spożywczym.
- Dezynfekcja termiczno-chemiczna jest połączeniem działania środków chemicznych oraz ciepła (60^{oC}). Środki chemiczne stosowane są w tej metodzie w znacznie niższych stężeniach. Metoda ta służy do dezynfekcji sprzętu wrażliwego na wysoką temperaturę.

- Dezynfekcja chemiczna to dezynfekcja przy użyciu roztworów preparatów chemicznych o różnych właściwościach. Substancja aktywne to związki na bazie chloru, związki nadtlenowe, IV-rzędowe związki amoniowe, alkohole, aldehydy i pochodne fenolu. Wybór odpowiedniego preparatu jest zależny od znanego lub spodziewanego skażenia, rodzaju dezynfekowanego materiału i toksyczności środka.

Związki chemiczne wykorzystywane w dezynfekcji

- I. Związki powierzchniowo czynne niszczą błonę lipidową zaburzając uporządkowanie białek i lipidów tworzących błonę.
 1. Związki kationowe. IV-rzędowe związki amoniowe naładowane dodatnio łączą się z ujemnie naładowanymi grupami fosforanowymi fosfolipidów zwiększając przepuszczalność błony komórkowej. Do związków tej grupy należą np. chlorek alkilodimetylobenzylamoniowy (Sterinol) i chlorek cetylopirydynowy (Halset).
 2. Związki anionowe. Mydła, kwasy tłuszczowe dysocjują w roztworze a ich ujemnie naładowana, rozpuszczalna forma łączy się z lipidami błony komórkowej, powodując jej przerwanie. Ich aktywność jest skierowana przeciwko G(+) bakteriom. Do związków anionowych należy np. siarczan sodowy oleoilu (Duponol).
 3. Związki niejonowe. Są to rozpuszczalniki organiczne przerywające błonę lipidową. Do grupy tej należą związki fenolowe, heksachlorofen, alkohole. Związki fenolowe (Lizol) charakteryzuje słaba aktywność przeciwwirusowa, toksyczność, drażniący zapach i wrażliwość na obecność substancji organicznych w środowisku. Hekschlorofen jest słabo rozpuszczalny (używany w postaci pudrów i zasypek), szczególnie aktywny wobec gronkowców, toksyczny wobec komórek układu nerwowego. Alkohole (metanol, etanol, izopropanol) są stosowane głównie w antyseptyce.
- II. Związki denaturujące białko
 1. Kwasy i zasady ze względu na skrajne wartości pH zaburzają III-rzędową strukturę białek. Środki te stosowane są głównie do konserwacji żywności, np. kwas benzoesowy, salicylowy, mlekowy.
 2. Metale ciężkie (rtęć, srebro, arsen) wiążą się z grupami sulfhydrylowymi białek. Reakcja ta jest podstawa inaktywacji enzymów, w których grupy sulfhydrylowe stanowią centra aktywne. Preparaty zawierające metale ciężkie ze względu na swoją toksyczność są stosowane miejscowo (np. azotan srebra).
 3. Związki utleniające oddziałują na białka i kwasy nukleinowe. Nadtlenek wodoru jest stosowany w antyseptyce (3% - woda utleniona). Preparaty zawierające aktywny chlor (chloramina, podchloryn sodu, podchloryn wapnia) są szczególnie aktywne wobec wirusów, aktywność tę zmniejsza obecność substancji organicznych. W środowisku kwaśnym gwałtownie uwalniany jest chlor w stężeniu szkodliwym dla zdrowia. Związki chloru są nietrwałe, ulegają inaktywacji pod wpływem światła, ciepła i wilgoci. Preparaty nadtlenowe (kwas nadoctowy, nadboran sodu, nadsiarczan potasu) mają podobny zakres działania do preparatów chlorowych i ze względów ekologicznych zastępują je w wielu krajach.
 4. Związki alkilujące denaturują białko i kwasy nukleinowe zmieniając stopień utlenienia ich grup czynnościowych. Do związków tych należą aldehydy (aldehyd glutarowy, aldehyd mrówkowy), charakteryzujące się szerokim spektrum działania obejmującym bakterie (w tym prątki gruźlicy), wirusy, grzyby oraz formy przetrwalnikowe drobnoustrojów. Aldehydy z wyboru są środkami stosowanymi do dekontaminacji sprzętu medycznego. Roztwory zasadowe aldehydu glutarowego cechuje wysoka efektywność, niska temp. działania (20-25°C) i krótka trwałość. Roztwory kwaśne są trwalsze, działają w wyższej temp. (50-60°C). Aldehyd mrówkowy będzie omówiony w części dotyczącej sterylizacji. Ze względu na właściwości toksyczne aldehydy nie powinny być stosowane do dezynfekcji dużych powierzchni, ich użycie należy ograniczyć także na oddziałach dziecięcych.

Roztwory środków dezynfekcyjnych należy używać zgodnie z ich przeznaczeniem, uwzględniając wymagane w danych okolicznościach spektrum działania (bakteriobójcze, prątkobójcze, grzybobójcze, wirusobójcze, sporobójcze), w ściśle określonym czasie i odpowiednim stężeniu. Do dezynfekcji powierzchni stosuje się roztwory preparatów działających skutecznie w czasie 15 minut. Roztwory preparatów działające w dłuższym czasie są stosowane do dezynfekcji sprzętów i przedmiotów, które można zanurzyć lub wypełnić płynem dezynfekującym.

Preparaty dezynfekujące objęte są ustawą z dn. 10 października 1991 r. Dz. U. Nr 105, poz. 452 i zgodnie z decyzją MZIOS podlegają opiniowaniu przez PZH, który okresowo publikuje listę pozytywnie zaopiniowanych preparatów przeznaczonych do stosowania w zakładach opieki zdrowotnej.

Kontrola skuteczności chemicznych środków dezynfekcyjnych jest możliwa pośrednio, na podstawie jakościowych i ilościowych badań mikrobiologicznej czystości powierzchni.

- III. Do metod dezynfekcji można zaliczyć także promieniowanie UV, stosowane do eliminacji drobnoustrojów obecnych w powietrzu i na powierzchniach. Promieniowanie UV nie penetruje w głąb ciał stałych i cieczy.
- IV. Szczególną metodą jest filtracja pozwalająca na eliminację drobnoustrojów z płynów cieplochwiejnych (np. roztwory zawierające antybiotyki, białka). Skuteczność filtracji zależy od wielkości porów, a jakość – od materiału, z jakiego wykonano element filtrujący. Znane są filtry z ziemi krzemkowej, porcelanowe, z azbestu włóknistego, ze spiekanego szkła oraz membranowe. Zatrzymują one bakterie i grzyby, a filtry membranowe – także wirusy. Zasada sączenia oparta jest na podciśnieniu z pojemnika zbierającym przesącz (filtr osadzony na kolbie podłączonej do pompy próżniowej) lub nadciśnieniu wywieranym na roztwór poddany filtracji (strzykawka z nasadką filtrującą).

STERYLIZACJA

Sterylizacji poddawane są narzędzia i sprzęt kontaktujący się z jałowymi tkankami. Oczekiwany efekt (sterylny produkt) osiągany jest w wyniku:

- prawidłowego przygotowania materiałów do sterylizacji,
- prawidłowego doboru metod sterylizacji,
- poprawności procesu sterylizacji,
- odpowiedniego przechowywania materiałów po sterylizacji.

Przygotowanie materiałów do sterylizacji

Użyte narzędzia lub sprzęt medyczny poddawane są dezynfekcji wstępnej, myte pod bieżącą wodą o jakości wody pitnej lub w myjniach automatycznych (ważne jest dokładne oczyszczenie powierzchni z substancji organicznych), suszone, przeglądane, konserwowane i pakowane we włókniny, rękawy papierowo-foliowe i papierowe, torby. Na opakowaniu powinna znaleźć się data sterylizacji lub data ważności oraz rodzaj zawartości w przypadku opakowań nieprzezroczystych.

Zasady wyboru metod sterylizacji

Dobór czynnika sterylizującego jest zależny przede wszystkim od rodzaju sterylizowanego materiału – proces sterylizacji nie może uszkadzać lub zmieniać jego właściwości. W przypadku sprzętu o długich, wąskich kanałach istotna jest dobra penetracja czynnika sterylizującego. Ze względów ekonomicznych ważny jest także szybki czas działania, niezawodność, niska cena i tania eksploatacja sterylizatorów. Czynniki sterylizujący powinny charakteryzować się również brakiem toksyczności dla ludzi i środowiska.

Rodzaje sterylizacji

- sterylizacja wysokotemperaturowa
 - bieżąca para wodna,
 - para wodna w nadciśnieniu,
 - gorące suche powietrze,
 - promieniowanie podczerwone
- sterylizacja niskotemperaturowa
 - tlenek etylenu,
 - formaldehyd,
 - plazma gazu,
 - promieniowanie jonizujące

Do sterylizacji niskotemperaturowej, chemicznej zaliczana jest także sterylizacja kwasem nadoctowym, nadtlenkiem wodoru i ozonem.

I. Sterylizacja wysokotemperaturowa

1. Sterylizacja bieżącą parą wodną (tyndylizacja) przeprowadzana jest w aparatach Kocha lub Arnolda. Wyjaławiany preparat jest poddawany trzykrotnie działaniu pary wodnej przez 20-30 min w odstępach 24-godzinnych. Po każdym ogrzaniu materiał jest ochładzany i pozostawiany w temperaturze pokojowej. Temperatura pary wodnej (~100°C) niszczy formy wegetatywne drobnoustrojów. Formy przetrwalnikowe obecne w sterylizowanym materiale w fazie temperatury pokojowej przechodzą w formy wegetatywne niszczone w kolejnym cyklu podgrzania. Tyndylizacja jest stosowana do wyjaławiania płynów, maści i kremów zawierających substancje wrażliwe na działanie temperatury powyżej 100°C.

2. Sterylizacja parą wodną w nadciśnieniu przebiega z wykorzystaniem nasyconej pary wodnej w nadciśnieniu 1 atm. (temp 121^{oC}, czas 15: min) lub 2 atm. (temp. 132^{oC}, czas: 5 min). Proces ten odbywa się w autoklawach przepływowych, w których powietrze wypierane jest z komory sterylizatora parą wodną, lub próżniowych, gdzie wstępnym etapem procesu jest wytworzenie próżni w komorze. Skuteczność sterylizacji jest zależna od całkowitego usunięcia powietrza z komory sterylizatora i od jakości pary wodnej, np. jakość tę obniżają zanieczyszczenia chemiczne obecne w twardej wodzie. Para wodna ma dobre właściwości penetrujące, w krótkim czasie niszczy drobnoustroje powodując koagulację białek i nie jest toksyczna dla środowiska. Jest stosowana do sterylizacji narzędzi, sprzętu, bielizny, rękawic itp. Przeciwwskazaniem do sterylizacji tą metodą jest wrażliwość materiałów na temperaturę i wilgotność.
3. Sterylizacja suchym gorącym powietrzem przeprowadzana jest w dwóch rodzajach aparatów: aparatach z wymuszonym obiegiem powietrza (temp. 160^{oC}, czas: 60 min lub temp. 180^{oC}, czas: 15 min) i aparatach z naturalnym obiegiem powietrza (temp. 160^{oC}, czas: 120 min lub temp. 180^{oC}, czas: 30 min). Sterylizacja ta ma liczne wady, np. zła penetracja suchego powietrza, wysoka temperatura i długi czas trwania procesu. Wewnątrz komory sterylizacyjnej istnieją różnice temperatur (dopuszczalne do 15^{oC} wg PN), co wiąże się z ryzykiem błędu sterylizacji. Suche gorące powietrze dopuszczalne jest w przypadku sterylizacji przedmiotów szklanych, maści, pudrów i substancji oleistych. Sterylizacja suchym gorącym powietrzem ze względu na wady i ograniczenia oraz ze względów ekonomicznych jest wycofywana w krajach Europy zachodniej; w Polsce proponowane jest wycofanie tej metody do 2003 r.
4. Promieniowanie podczerwone (nie jonizujące, nieprzenikliwe) jest metodą przemysłową stosowaną do sterylizacji sprzętu medycznego (igły, strzykawki). Sterylizowany materiał zamknięty w metalowych pojemnikach jest poddawany promieniowaniu przez 10 min (temp. 190^{oC}).

II. Sterylizacja niskotemperaturowa

Sterylizacja niskotemperaturowa umożliwia wyjąławianie materiałów wrażliwych na temperaturę i wilgoć.

Metody podstawowe: tlenek etylenu, formaldehyd, plazma, kwas nadoctowy

Rzadziej: nadtlenek wodoru, ozon

Metoda przemysłowa: promieniowanie jonizujące

1. Sterylizacja tlenkiem etylenu

Tlenek etylenu (TE) niszczy drobnoustroje w wyniku alkilacji (zastąpienia atomu wodoru grupą alkilową) białek, DNA i RNA. Parametry sterylizacji są zależne od zastosowanej technologii: stężenie TE 300-1200 mg / l, wilgotność 30-90%, temp. 30-65oC, czas 2-7 h (zwykle 2-4).

TE przenika w głąb tworzywa ulegając adsorpcji, co wiąże się z koniecznością degazacji po zakończeniu procesu sterylizacji. Czas degazacji jest określony przez producenta sprzętu, trwa zwykle 12 h w temp. 50^{oC} (w aeratorze) lub 7 dni w temp. pokojowej. TE działa mutagennie i karcinogennie, jest toksyczny w stężeniu 10-krotnie wyższym niż wyczuwalne.

Sterylizacja tlenkiem etylenu przebiega z wykorzystaniem czystego TE (100%) lub w mieszaninie z hydroksyfreonem (9%) oraz CO₂ (8,5%). Sterylizacja w 100% TE przebiega w podciśnieniu, co ogranicza możliwość uwalniania gazu do środowiska w przypadku nieszczelności systemu. Sterylizacja w mieszaninie TE z innym gazem przebiega w nadciśnieniu i trwa dłużej. W przypadku mieszaniny TE i CO₂ błąd sterylizacji może być spowodowany skłonnością do rozwarstwiania się mieszaniny sterylizującej. Z powodu uszkodzenia warstwy ozonowej od 1995 r. obowiązuje zakaz stosowania mieszaniny TE z freonem. Hydroksyfreon jest 50-krotnie mniej toksyczny od freonu, lecz jego zastosowanie będzie możliwe tylko do 2030 r.

Najnowszą technologią jest sterylizacja w 100% tlenku etylenu, w której kolejne etapy to:

- wytworzenie podciśnienia w komorze,
- ogrzewanie do 37^{oC} lub 55^{oC},
- nawilżanie parą wodną,
- ekspozycja w podciśnieniu na 100% TE (bez gazu nosnikowego),
- opróżnienie komory z tlenku, wypełnienie sterylnym powietrzem,
- degazacja wstępna 0,5-3 h, dalsza 12 h w 50oC lub 7 dni w temp. pokojowej.

Sterylizacja TE jest stosowana do wyjąławiania drobnego sprzętu medycznego wykonanego z materiałów termolabilnych.

2. Sterylizacja formaldehydem

Formaldehyd jest gazem niepalnym i nie wybuchowym, wyczuwalnym w stężeniu 10-krotnie niższym niż

stężenie toksyczne. Sterylizacja przebiega przy współdziałaniu formaldehydu oraz pary wodnej o niskiej temperaturze w zmiennym ciśnieniu (wielokrotne pulsacje pary i formaldehydu) zwykle w następujących warunkach: stężenie formaldehydu 2-5%, wilgotność >70%, temp. 48-75°C, czas 2-4 h.

W nowych technologiach wyeliminowano zależność ciśnienia pary wodnej od temperatury stosując nośnik pary, którym jest sterylne powietrze. Pozwoliło to obniżyć temp. procesu bez konieczności wydłużania cyklu.

Ze względu na słabe właściwości penetrujące formaldehyd nie może być wykorzystywany do sterylizacji przedmiotów o długości powyżej 1,5 m i średnicy mniejszej niż 2 mm.

Niektóre tworzywa sztuczne mogą w trakcie procesu ulec uszkodzeniu, a przedmioty z fomy, celulozy i poliuretanu muszą zostać poddane degazacji.

3. Sterylizacja plazmowa

Plazma jest zjonizowanym gazem wytwarzanym w warunkach próżni pod wpływem pola elektromagnetycznego. Niszczy ona drobnoustroje uszkadzając ich DNA, RNA, enzymy i fosfolipidy. Plazma może być wytwarzana bezpośrednio w komorze lub poza komorą sterylizatora, a do jej uzyskania wykorzystywany jest najczęściej nadtlenek wodoru.

Parametry procesu sterylizacji plazmowej: stężenie nadtlenu wodoru 50-55%, temp. 40-60°C, czas 45-75 min. Produkt końcowy sterylizacji to tlen i woda.

Zaletą sterylizacji plazmowej jest możliwość natychmiastowego wykorzystania sterylizowanych przedmiotów, wadą zaś – mała komora sterylizacyjna i brak możliwości sterylizacji bielizny, materiałów z celulozy, proszków, płynów, urządzeń w długimi, wąskimi i ślepo zakończonymi kanałami. Do sterylizowania instrumentów z otwartym długim, wąskim światłem (o długości >31 cm i średnicy <6 mm) konieczne jest zastosowanie przystawek wprowadzających strumień plazmy do światła sterylizowanego przedmiotu. Ten typ sterylizacji wymaga stosowania specjalnych opakowań syntetycznych (polipropylenowe typu CSR, z tworzywa Tyvek / Mylar), tac lub pojemników.

4. Sterylizacja kwasem nadoctowym to sterylizacja mieszaniną kwasu nadoctowego, octowego i nadtlenu wodoru. Działanie bakterioobójcze oparte jest na utlenianiu białek. Roztwory kwasu nadoctowego stosowane są do tzw. dezynfekcji wysokiego stopnia. Sterylizacja parami kwasu octowego odbywa się w sterylizatorach podobnych do plazmowych a proces ten przebiega zwykle w temp. 50-55°C przez 30 min. Wadą tego typu sterylizacji jest niska penetracja, wysoka reaktywność i toksyczność czynnika sterylizującego.

5. Sterylizacja nadtlakiem wodoru oparta jest na utlenianiu (oksydacji) białek. Przebiega w temp. 40-60°C (czas 90 min). Produktem końcowym procesu jest tlen i woda. Wadą tej metod jest słaba penetracja nadtlenu wodoru w głąb sterylizowanych materiałów, uszkodzenie niektórych materiałów (guma, papier, celuloza) oraz konieczność degazacji opakowań z polietylenu i poliestru.

6. Sterylizacja ozonem wytwarzanym z tlenu pod wpływem wyładowań elektrycznych przebiega w czasie 30-120 min. w temp. 25°C i wilgotności 75-95%. Produktem końcowym procesu jest tlen. Ograniczenia zastosowań tej metody związane są z uszkodzeniem niektórych materiałów (lateks, polipropylen), koniecznością przedłużenia sterylizacji materiałów porowatych i degazacji materiałów z poliestru oraz brakiem trwałych opakowań sterylizowanych materiałów (opakowania z papieru i Tyvek'u mogą być użyte tylko w krótkim, 30-60 min. cyklu).

7. Sterylizacja radiacyjna

Źródłem promieniowania jonizującego są akceleratory elektronów (10%) lub izotopy promieniotwórcze (90%), głównie Co-60, rzadziej Cs-137. Promieniowanie jonizujące nieodwracalnie uszkadza błony komórkowe i zakłóca replikację drobnoustrojów w wyniku podwójnego pęknięcia nici DNA. Metodę radiacyjną wykorzystuje się do przemysłowej sterylizacji sprzętu medycznego, materiałów implantacyjnych, materiałów opatrunkowych itp. Zaletą metody jest krótki czas sterylizacji, temperatura zbliżona do pokojowej (w przypadku wszczepów temperatura suchego lodu) oraz brak pozostałości toksycznych w sterylizowanym materiale.

Kontrola procesów sterylizacji

Kontrola procesów sterylizacji obejmuje kontrolę sprzętu, wsadu, pakietu i ekspozycji.

Kontrola sprzętu oparta jest na odczycie wskazań zegarów, termometrów i manometrów mierzących punktowo dany parametr (wskaźniki fizyczne).

Kontrola wsadu (tzw. biologiczna kontrola procesu sterylizacji) prowadzona jest w oparciu o wskaźniki biologiczne. Są to umieszczone na nośniku (krążek lub pasek bibuły) przetrwalniki wyselekcjonowanych szczepów bakterii *B. subtilis* lub *B. stearothermophilus* wysoce opornych na dany czynnik sterylizujący. Należy umieścić nie mniej niż dwa wskaźniki wewnątrz dwóch wybranych pakietów, a te z kolei należy ułożyć w dwóch

różnych miejscach komory sterylizatora. Po ekspozycji (zakończeniu procesu sterylizacji) przetrwalniki przenoszone są do podłoża hodowlanego. Po inkubacji odpowiednio w 37°C (B. subtilis) lub w 56°C (B. stearothermophilus) brak w podłożu hodowlanym jest dowodem skuteczności procesu sterylizacji.

Sporal S – spory B. subtilis zastosowanie – kontrola sterylizacji suchym gorącym powietrzem, tlenkiem etylenu wynik po 7 dniach
Sporal A – spory B. stearothermophilus zastosowanie – kontrola sterylizacji parą wodną w nadciśnieniu wynik po 7 dniach
3M Attest – spory bakteryjne + pożywka zastosowanie – kontrola sterylizacji parą wodną w nadciśnieniu oraz TE wynik po 24-48 h
3M Attest Rapid – wynik po 1-3 h

Kontrola sterylizacji formaldehydem: SSI FORM

Połączenie testu do kontroli sterylizacji parowej (B. stearothermophilus na podkładzie z przędzy bawełnianej; inkubacja: 54-58°C; wynik po 14 dniach) oraz testu do kontroli sterylizacji gazowej (B. subtilis na podkładzie z piasku morskiego; inkubacja: 30-35°C; wynik po 14 dniach).

Kontrola pakietu jest kontrolą chemiczną, którą można przeprowadzić przy użyciu wskaźników wieloparametrowych lub integrujących. Wskaźniki wieloparametrowe monitorują zwykle czas i temperaturę sterylizacji. Substancja wskaźnikowa umieszczona na papierowym pasku zmienia barwę pod wpływem prawidłowych parametrów sterylizacji. Wskaźniki integrujące monitorują wszystkie parametry procesu, a substancja wskaźnikowa przesuwa się w określonym polu wskaźnika.

Kontrola ekspozycji jest kontrolą chemiczną prowadzoną dla każdego pakietu przy użyciu samoprzylepnych taśm, pasków, groszków. Zmiana barwy nadruku umożliwia wizualną ocenę, czy dany pakiet był poddany sterylizacji.

Postępowanie w zależności od wyników testów kontrolnych:

- Dodatnia kontrola ekspozycji i pakietu oznacza konieczność ponownej sterylizacji pakietu.
- Dodatnia kontrola biologiczna to konieczność ponownej sterylizacji całego wsadu.
- Dodatnia kontrola sprzętu jest wskaźnikiem do wyłączenia danego aparatu z użytkowania na czas przeglądu i naprawy.

Rejestracja kontroli sterylizacji obowiązuje dla wszystkich procesów sterylizacji i wszystkich sterylizowanych materiałów (księgi, raporty, karty kontrolne). Protokół sterylizacji produktu zawiera: datę sterylizacji, rodzaj załadunku, wyniki kontroli fizycznej, chemicznej i biologicznej.

Kontrola mikrobiologiczna środowiska szpitalnego

Ocena mikrobiologicznej czystości powietrza metodą swobodnej sedymentacji lub metodą zderzeniową

- Metoda swobodnej sedymentacji polega na pozostawieniu (na 30 min.) w pięciu różnych miejscach badanego pomieszczenia otwartych płytek Petriego z podłożem wzbogaconym (np. agar z krwią). Po ekspozycji podłoża są inkubowane 48 h w temp 37°C lub 24 h i 48 h odpowiednio w 20°C i 37°C. Liczbę drobnoustrojów w 1m³ powietrza należy obliczyć wg wzoru Omeliańskiego:

$$X = a \cdot 100 \cdot 100 / p \cdot t \cdot 1/5$$

X – liczba drobnoustrojów w 1m³ powietrza

a – liczba kolonii na płytce (średnia arytmetyczna z 5 płytek)

p – powierzchnia płytki (πr²)

t – czas ekspozycji płytki (zalecany: 30 min.)

1/5 – stała

- Metoda zderzeniowa jest oparta na mechanicznym zasysaniu powietrza, którego strumień kierowany jest na powierzchnię płytki zawierającej wzbogacone podłoże. wskazane jest pobranie próbek na minimum dwie szalki Petriego. W tym przypadku liczbę drobnoustrojów w 1m³ powietrza określa się wg wzoru:

$$X = a \cdot 100 / v \cdot t$$

X – liczba drobnoustrojów w 1m³ powietrza

a – średnia liczba kolonii na płytce

v – objętość pobranego powietrza przez aparat w ciągu 1 min. (w litrach)

t – czas pobierania próbek (w minutach)

W Polsce określono trzy klasy czystości pomieszczeń szpitalnych (norma MZiOS z 1984 r.):

- ➔ Pomieszczenia I klasy czystości – do 70 komórek / m³ powietrza: sale operacyjne wysokoaseptyczne (transplantologia), sale łóżkowe specjalne (pacjenci w immunosupresji), pracownie rozpuszczania cytostatyków, centralna sterylizatornia – część czysta.
- ➔ Pomieszczenia II klasy czystości – do 300 komórek / m³ powietrza: bloki operacyjne, OIOM, oddziały noworodków i wcześniaków, gabinety zabiegowe, gabinety endoskopii.
- ➔ Pomieszczenia III klasy czystości – do 700 komórek / m³ powietrza: sale chorych, centralna sterylizatornia – część brudna.

W komorach laminarnych dopuszczalna liczba żywych drobnoustrojów wynosi poniżej 1 kom. / m³ powietrza.

Ocena czystości bakteriologicznej powierzchni

- Powierzchnie suche
Stan mikrobiologicznej czystości powierzchni suchych oceniany powinien być ilościowo i jakościowo metodą odcisków przy użyciu płytek z meniskiem wypukłym. Agar należy przyłożyć bezpośrednio do badanej powierzchni stosując odpowiedni nacisk (w zależności od typu podłoża 25-500 g/cm²) przez określony czas (10 s). Pobranie ułatwia aplikator. Po pobraniu odcisku płytkę należy zamknąć a z badanej powierzchni usunąć ewentualne pozostałości agaru. Po inkubacji w 30^{oC} przez 72 h należy policzyć wyrosłe kolonie i przeprowadzić ich identyfikację.
Zgodnie z HACCP (Hazardous Analytical Critical Control Points) należy ocenić stopień ryzyka zakażenia związanego z badaną powierzchnią wg Draft European Standard CEN/TC 243/WG2 (1993):
 - niski poziom ryzyka – do 10 kom. / 100 cm²,
 - średni poziom ryzyka – do 100 kom. / 100 cm²,
 - wysoki poziom ryzyka – do 1000 kom. / 100 cm²,
 - bardzo wysoki poziom ryzyka – powyżej 1000 kom. / 100 cm².
- Powierzchnie wilgotne
W celu oceny zanieczyszczenia powierzchni wilgotnej (zlewy, wanny, brodziki) należy pobrać wymaz suchą wymazówką. Jest to badanie jakościowe.
- Powierzchnie trudnodostępne
Czystość powierzchni trudnodostępnych (smoczki, dreny, butelki, wzierniki) należy kontrolować metodą wyplukiwań stosując w tym celu jałową sól fizjologiczną, płyn Ringera lub bulion cukrowy. W pierwszych dwóch przypadkach materiał należy natychmiast posiać na podłoża namnażające.

Obecność drobnoustrojów patogennych oraz duża liczba drobnoustrojów obecnych na badanych powierzchniach dyskwalifikuje ich czystość mikrobiologiczną i jest sygnałem do sprawdzenia poprawności dezynfekcji, np. sposobu przygotowywania roztworów roboczych, czasu i częstości wykonywania zabiegów dezynfekujących.

Mycie i dezynfekcja rąk

Skóra rąk, zależnie od obszaru i właściwości (pH, wilgotność) jest skolonizowana drobnoustrojami w liczbie 4-400 tys. / cm². Do mechanizmów chroniących skórę przed inwazją szczepów patogennych należą:

- substancje antibakteryjne wytwarzane przez florę naturalną,
- lipidy skóry ograniczające wzrost np. *Streptococcus* spp.,
- suchość skóry ograniczająca kolonizację G(-) pałeczkami i grzybami *Candida*.

Skóra rąk jest skolonizowana florą stałą i florą przejściową.

Flora stała to drobnoustroje namnażające się w skórze:

- G(+) bakterie (*Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp.),
- bakterie beztlenowe (w gruczołach łojowych – *Propionibacterium acnes*),
- G(-) pałeczki (w miejscach wilgotnych – *Acinetobacter* spp.).

Flora przejściowa to drobnoustroje kolonizujące powierzchnię skóry bez namnażania się. Ich rodzaj i liczba jest zależna od zanieczyszczenia środowiska z którym kontaktują się ręce, od ewentualnych uszkodzeń skóry, zwiększonej potliwości rąk.

Mycie rąk – mechanicznie usuwa zabrudzenia eliminując jednocześnie większość drobnoustrojów należących do flory przejściowej.

Dezynfekcja rąk – eliminuje w pełni florę przejściową i redukuje florę stałą.

Użycie rękawic nie zastępuje mycia rąk – ręce muszą być umyte przed i po ich zastosowaniu.

Kategorie mycia rąk

- zwykłe mycie rąk
 - kiedy: przed wszystkimi rutynowymi zabiegami a oddziale, pielęgnacją chorego, przygotowywaniem posiłków, karmieniem
 - dlaczego: eliminuje florę przejściową
 - jak: przy użyciu mydła i bieżącej wody przez co najmniej 10–15 s
- higieniczne mycie rąk
 - kiedy: w obszarach wysokiego ryzyka, przed wykonaniem procedur medycznych, po kontakcie z wydzielinami lub wydaliniami
 - eliminuje florę przejściową i częściowo florę stałą
 - jak: mycie zwykłe oraz dezynfekcja rąk przez 20-30 s przy użyciu 3-5 ml płynu dezynfekującego (zwykle mieszaniny alkoholu); w przypadku braku widocznego zabrudzenia rąk można stosować tylko dezynfekcję
- chirurgiczne mycie rąk
 - kiedy: przed wszystkimi zabiegami chirurgicznymi i inwazyjnymi
 - dlaczego: eliminuje florę przejściową i w znacznym stopniu redukuje florę stałą
 - jak: wydłużony czas mycia do 3-5 min. z powiększeniem obszarów mytej skóry o nadgarstki i przedramiona oraz czyszczenie paznokci (jednorazową szczotką), osuszenie rąk sterylnym ręcznikiem, dwukrotna dezynfekcja zwykle 2 x 5 ml preparatu każdorazowo do całkowitego wysuszenia skóry.

Technika mycia rąk

W każdym przypadku mycia i dezynfekcji rąk polecaną jest technika wg Ayliffe, w której przetarte są pięciokrotnie wszystkie powierzchnie rąk ze szczególnym uwzględnieniem kciuków, przestrzeni międzypalcowych i wałów okołopaznokciowych.

Etapy mycia rąk:

- zwilżenie rąk bieżącą wodą,
- nałożenie przy użyciu dozownika mydła w płynie,
- mycie rąk przez 10-15 s (bez dodatkowego zwilżania skóry rąk),
- spłukanie mydła bieżącą wodą,
- osuszenie rąk jednorazowym ręcznikiem papierowym przez 7-9 s; metoda ta mechanicznie usuwa także drobnoustroje wraz ze złuszczającym się naskórkiem.

Dezynfekcja:

- nałożenie na ręce odpowiedniej ilości środka dezynfekującego,
- dokładne rozprowadzenie i wtarcie środka we wszystkie partie skóry rąk,
- pozostawienie do wyschnięcia.

Preparaty stosowane do dezynfekcji rąk

W wyborze preparatów należy wziąć pod uwagę:

- skuteczność – możliwie szerokie spektrum aktywności,
- jakość – nie alergizujące, o możliwie miłym zapachu, ni wysuszające skóry.
- Alkohole – stosowane w 70% roztworach (wyższe stężenia koagulują białko tworząc otoczkę wokół komórek bakteryjnych, co ogranicza przenikanie preparatu do wnętrza komórki). Charakteryzują się szybką aktywnością bakteriobójczą, ale nie wykazują przedłużonego działania, nie redukują w wystarczającym stopniu flory naturalnej, stąd w chirurgicznym myciu rąk powinny być stosowane w połączeniu z np. chlorheksydyną. Alkohole nie niszczą przetrwalników i niektórych wirusów (np. enterowirusów), a obecność substancji organicznych ogranicza ich skuteczność. W antyseptyce stosowane są: etanol, izopropanol (lepszy rozpuszczalnik tłuszczów, silniejsza aktywność bakteriobójcza), propanol w mieszaninie z etanolem lub butanodiolem.
- Glukonian chlorheksydyny – stosowany zwykle w 2% roztworach. Na skórze tworzy cienką warstwę, co umożliwia przedłużone działanie preparatu. W antyseptyce stosowana jest chlorheksydyna w połączeniu z alkoholem (izopropanol, etanol), z detergentami lub z IV-rzędowymi związkami amoniowymi.
- IV-rzędowe związki amoniowe – łatwo inaktywowane w obecności związków organicznych, liczne szczepy odporne wśród G(-) bakterii. W antyseptyce stosowany jest chlorek benzalkoniowy.
- Preparaty chloru – inaktywowane w obecności substancji organicznych i światła. W antyseptyce stosowana jest Chloramina T – nie polecana ze względu na drażniące działanie na skórę i błony śluzowe.

Badanie mikrobiologicznej czystości rąk

W celu określenia mikrobiologicznej czystości rąk należy wykonać badanie jakościowe i ilościowe. Proponowane są dwie metody:

- Metoda odcisków przy użyciu płytek z meniskiem wypukłym – powierzchnię podłoża agarowego należy przyłożyć do możliwie dużej wewnętrznej powierzchni dłoni (stosując odpowiedni nacisk przez określony czas ~ 10 s), zamknąć płytkę i przesać o pracowni mikrobiologicznej, gdzie po inkubacji w 30^{oC} przez 72 h wyrosłe kolonie są liczone i identyfikowane.
- Metoda wymazów przy użyciu jałowych szablonów – po nałożeniu szablonu z otworami o średnicy 1 cm na każdy opuszek prawej ręki należy jałową pęsetą oraz zwilżonym (w płynie Ringera lub soli fizjologicznej) skrawkiem gazy przetrzeć ruchem okrężnym opuszki (około 10 razy), umieścić gazik z pobranym materiałem w 10 ml płynu w którym był zwilżony i przesać do pracowni mikrobiologicznej.

Mycie rąk – część praktyczna

Sprawdzanie techniki mycia rąk

Mycie rąk przy użyciu mieszaniny barwiącej (pudru w płynie)

- Do wykonania ćwiczenia potrzebne są: fartuch foliowy, strzykawka (10-20 ml), ręczniki jednorazowe, puder płynny, opaska na oczy.
- Przygotowanie pudru płynnego: Zinci oxydati (20,0); Talci veneti (20,0); Glycerini (10,0); Aqua destilata ad 100,0.
- Wykonanie ćwiczenia: wybrana osoba lub ochotnik zakłada fartuch foliowy, przepaskę na oczy myje ręce pudrem płynnym (3-5 ml) nałożonym strzykawką przez prowadzącego. Ponieważ preparat szybko wysycha, można na życzenie osoby wykonującej ćwiczenie zwiększyć jego dawkę. Uzyskany rezultat zwykle obrazuje obszary niedokładnie umyte (kciuk, zakończenia palców, przestrzenie międzypalcowe). Preparat należy zmyć wodą.

Sprawdzenie skuteczności higienicznego mycia rąk

- Do wykonania ćwiczenia potrzebne są: płytka z podłożem agarowym zwykłym, mydło w płynie, preparat(y) do dezynfekcji rąk, jałowa woda destylowana, jałowe gaziki i jałowa pęseta.
Przygotowanie płytki: należy podzielić umownie płytkę na trzy sektory: sektor kontroli rąk przed umyciem, po umyciu oraz po dezynfekcji.
- Wykonanie ćwiczenia: wybrana osoba przykładła opuszki trzech środkowych palców do powierzchni podłoża w sektorze kontroli rąk przed umyciem wolno licząc do dziesięciu. Następnie myje ręce mydłem w płynie pod bieżącą ciepłą wodą przez 30 s, osusza je jałowym gazikiem i wykonuje odcisk ww. metodą w sektorze kontroli rak po umyciu. Dezynfekuje ręce nakładając 3 ml wybranego preparatu do dezynfekcji, spłukuje ręce jałową wodą destylowaną*, osusza jałowym gazikiem i wykonuje odcisk ww. metodą w sektorze kontroli rąk po dezynfekcji. Mycie i dezynfekcję rąk należy wykonać zgodnie z obowiązującym standardem.

* Konieczność użycia jałowej wody destylowanej do spłukania rąk po dezynfekcji wynika wyłącznie z faktu, iż zwykle podłoża agarowe nie ma w swoim składzie inhibitorów związków chemicznych. Przeniesienie w trakcie wykonywania odcisku preparatu dezynfekującego do podłoża mogłoby dać fałszywie ujemny wynik badania.