

Pomen bakteriološkega testa za dokaz uspešne sterilizacije

Pogoj za asepsu v bolnišnici je delo s sterilnim materialom. V bakteriološkem smislu je material sterilen, kadar ni na njem niti v njem nobenih živih mikrobov. V vsakdanji praksi se izraz »sterilen« pogosto uporablja napačno za dezinficirane predmete, ki niso bili izpostavljeni pravemu procesu sterilizacije.

Sterilizacija je učinkovita, kadar prekine vse življenjske procese prisotnih mikrobov in tudi najodpornejših bakterijskih spor. S sterilizacijo temeljiteje uničimo vse mikrobe kakor z dezinfekcijo, s katero uničimo le nekatere, predvsem patogene bakterije. Zaradi temeljitega uničenja mikrobov je sterilnost — kot končni učinek sterilizacije — vselej absolutna. Predmet, ki je preстал sterilizacijo, je bodisi sterilen ali nesterilen. Ne more pa biti bolj ali manj sterilen. Uspešnost sterilizacije kot procesa za uničenje vseh mikrobov lahko dokažemo edinole tako, da na steriliziranih predmetih potrdimo popolno odsotnost vseh živih mikrobov, ne glede na to, kakšno metodo sterilizacije uporabimo. Odsotnost mikrobov pa pomeni dejansko odsotnost najodpornejših oblik bakterij.

Mikrobi se namreč zelo razlikujejo po odpornosti na fizikalne in kemične vplive okolja. Najobčutljivejše vegetativne oblike po večini ubije toplota pri 65° C v nekaj minutah. Odpornejše od njih so glivične spore in nekateri virusi. Virusi hepatitisa preživijo 20 ur pri 60° C. Zelo odporne so spore klostridijev — povzročiteljev plinske gangrene, tetanusa in botulizma. Najodpornejše od vseh oblik mikrobov pa so spore nekaterih aerobnih bacilov, kot so npr. *Bacillus subtilis*, *B. stearothermophilus* in *B. anthracis*. Spore *B. subtilis* preživijo v vreli vodi pet ur, v pari pod pritiskom pri temperaturi 120° C pa 10 minut.

Bakterijske spore so kot najodpornejše oblike mikrobov izbrali za indikatorje sterilnosti. Svoje dni so v ta namen uporabljali spore *B. anthracis* in *Cl. tetani*, ker so s sterilizacijo hoteli uničiti prav te spore. Delo s temi sporami pa ni bilo brez nevarnosti okužbe. Zato so preizkušali uspešnost sterilizacije z vzorci posušene zemlje, v kateri so vselej različne vrste bakterijskih spor. Zaradi velikih razlik v odpornosti zemeljskih spor je kmalu nastala potreba po standardizaciji metode. Danes priporočajo za vsako metodo sterilizacije posebno izbrano vrsto bakterijskih spor s preizkušeno odpornostjo.

Odpornost bakterijskih spor je v zvezi z njihovo zgradbo. Elektronski mikroskop pokaže gosto sredico, obdano z vlaknato skorjo in zunanjim večslojnim plaščem. Odpornost proti toploti je v zvezi z nezatno količino nevezane vode, — spore so dehidrirane — in v zvezi s sintezo kalcijevega dipikolinata, ki ga ni

v vegetativnih bakterijskih celicah. Odpornost proti sevanju pa je v zvezi z beljakovino, podobno keratinu. Ta vsebuje veliko disulfidnih vezi, ki se rade vežejo s prostimi radikali.

Spore so mirujoče oblike bakterij z izredno sposobnostjo za preživetje neugodnih okoliščin. Sporulacijo pri bakterijah bi lahko primerjali s prezimovanjem pri višjih organizmih. Ves metabolizem v sporulirani celici je ustavljen. Spora se ne razmnožuje in lahko ostane v stanju mirovanja še potem, ko je prišla v ugodne okoliščine. Kaljenje spor se ne pojavi vedno v predvidenem času in se lahko zelo zakasni.

Kadar pripravljamo spore, da preizkusimo uspešnost sterilizacije, gojimo bakterijsko kulturo najprej nekaj dni pri temperaturi, ki najbolj ustreza bakterijski vrsti. Kulturo nato speremo z agarja in pripravimo suspenzijo, ki vsebuje milijon spor v ml fiziološke raztopine. S to suspenzijo prelijemo droben pesek, papirnate ali aluminijaste trakove in vrvice ter jih posušimo na zraku. Tako fiksirane spore v papirnatem ovitku polagamo na različna mesta med material v sterilizatorju. Po končanem postopku sterilizacije pošljemo te zavitke s sporami v bakteriološki laboratorij. Tu s sterilnimi škarjami prerežemo ovitek in vsebino stresemo v tioglikolatni bujon.

Ker je vidno znamenje življenja bakterij razmnoževanje, imamo spore za uničene, kadar iz njih ne kalijo vegetativne oblike, ki so sposobne za razmnoževanje. Če sterilizacija ni bila uspešna in so spore ostale žive, se pokažejo znamenja življenja navadno **že po 24 urah** inkubacije ob primerni temperaturi. Za *B. stearothermophilus* je to 55° C, za *B. subtilis* pa 37° C. Če so pa spore s sterilizacijo uničene, moramo počakati sedem dni, da to lahko zanesljivo potrdimo s sterilno kulturo.

K preizkusu spada še enak nesteriliziran zavitek spor v enakem gojišču, inkubiran pri enaki temperaturi in za negativno kontrolo vzorec čistega gojišča brez spor.

Ko ugotovimo uničenje aerobnih bakterijskih spor, hkrati utotovimo tudi uspešnost sterilizacije in potrdimo sterilnost predmetov, steriliziranih v tem procesu. Vsak bakteriološki preizkus pa velja samo za ta edini proces sterilizacije. Ker vsak čas lahko nastanejo napake in nepravilnosti, je treba vsak proces kontrolirati posebej.

Slaba stran bakteriološkega preizkusa je v tem, da je treba na izvid iz bakteriološkega laboratorija čakati sedem dni, preden so spore uničene. Vemo pa, da lahko, kadar spore niso uničene, izvemo to največkrat že v 24 urah. Za hitrejšo informacijo o uspešnosti sterilizacije so na voljo komercialne spore (Kilit ampule in Attest), ki zanesljivo vzklijejo v 24 urah inkubacije, če so preživele sterilizacijski postopek. Za hitro orientacijo so v rabi kemični indikatorji, ki se pri določenih temperaturah talijo ali pa spremenijo barvo (Brownove cevke, Chiftain indikatorji, 3M trakovi). Kemični indikatorji pokažejo, da je bila dosežena določena temperatura, ne pokažejo pa uspešnosti sterilizacije tako kot biološki preizkus s sporami.

Prva stopnja v procesu sterilizacije je **temeljito mehanično očiščenje predmetov**, namenjenih sterilizaciji. V prisušeni organskih ostankih je namreč odpornost vseh vrst mikrobov proti zunanjim vplivom še večja. Način sterilizacije pa izberemo glede na kvaliteto materiala, glede na uporabo steriliziranih predmetov in pa na možnosti, ki so na voljo. V bolnišnicah še vedno največ uporabljamo sterilizacijo z vročino.

Toploto, ki je potrebna, da v celicah potekajo življenjski procesi, lahko spreminjamo tako, da z njo življenjske procese ustavimo. Pri nizkih temperaturah celice mirujejo in lahko ostanejo dolgo časa žive. Visoke temperature povzročajo v živih celicah spremembe, ki niso združljive z življenjem. Toploto lahko uravnavamo in uničimo samo vegetativne oblike bakterij (dezinfekcija) ali pa jo stopnjujemo tako, da uničimo tudi najodpornejše spore (sterilizacija).

Sterilizacija z vročino ima v medicini prednost pred kemičnimi postopki sterilizacije in dezinfekcije, ker ne zapušča toksičnih ostankov, ki bi utegnili škodovati tkivom. Poleg tega je mogoče proces sterilizacije z vročino zanesljivo kontrolirati.

Letalni učinek toplote je v denaturiranju beljakovinskih makromolekul v celicah mikrobov. Vročina prekinja vezi v strukturi nukleinskih kislin in raztaplja lipide v lipoproteinskih celičnih membran. Vlažna vročina ubija mikrobove s koagulacijo beljakovin, pri suhi vročini pa nastopi smrt celic zaradi oksidacijskih procesov.

Da toplota doseže letalni učinek na mikrobove, mora ob določeni višini delovati ustrezen čas pri določeni vlažnosti. Bakterijsko celico lahko primerjamo z jajčnim beljakom, ki ima

80 % vlage in	koagulira pri 56° C,
pri 25 % vlage	koagulira pri 74—80° C,
pri 18 % vlage	koagulira pri 80—90° C,
pri 6 % vlage	koagulira pri 145° C,

v suhem jajčnem beljaku pa se življenjski procesi ustavijo pri 170 ° C.

Vlažnost je torej eden izmed odločilnih dejavnikov za uspešno uničevanje bakterij. Vloga ima količina vode v notranjosti bakterijskih celic, ki so zaradi tega občutljivejše od spor, kakor tudi vlaga v komori.

Tudi s PH je mogoče vplivati na uničevanje bakterij. Z dodajanjem natrijevega karbonata vodi za prekuhanje ne preprečujemo samo oksidacije kovin, ampak dosežemo z večjo alkalnostjo tudi boljši baktericidni učinek.

Prekuhanje v vreli vodi ne velja za metodo sterilizacije. Vrela voda uniči vegetativne oblike bakterij, ne uniči pa njihovih spor. Končni učinek prekuhanja se ne ujema s pojmom sterilnosti, ki je potrebna za aseptično delo. Poleg bakterijskih spor preživijo v vreli vodi tudi virusi hepatitisa. Toplota, uravnana na 100° C, deluje le kot dezinfekcijsko sredstvo.

Industrija nam dandanes nudi že zelo izpopolnjene avtoklave. V njih steriliziramo s paro pod pritiskom pol ure pri 121° C celo vrsto snovi, ki ne prenesejo suhe vročine pri 160° C eno uro, kolikor je potrebno za sterilizacijo. Čeprav ima postopek s suho vročino nekatere prednosti pri sterilizaciji kovinskih in steklenih instrumentov, ima pa to pomanjkljivost, da temperatura v komori ni enakomerna, ker se vroč zrak dviga v gornji del. Če položijo zavitke s spori na različna mesta v suhem sterilizatorju, se lahko zgodi, da niso na vseh mestih enako uničene.

Za biološki preizkus sterilizacije z vročino so izbrali spore **Bacillus stearothermophilus**. Ker je termofil, ga moramo gojiti na gojiščih pri 50—65° C v aerobnih okoliščinah. Njegove spore so izredno odporne, para jih ubije pri 121° C v 15 minutah.

Ob vsakem sterilizacijskem aparatu je treba voditi knjigo, iz katere so po dnevih razvidne vse okoliščine njegovega delovanja, seznam steriliziranih predmetov in njihova uporaba ter podatki o vseh kontrolah vsakega procesa sterilizacije.

Tudi z **infra rdečimi žarki** je mogoče doseči toplotno sterilizacijo v komori, iz katere je izčrpan zrak. V komoro je vdelan električno ogrevan element, ki oddaja toploto 180—200° C. Oksidacijo kovin preprečuje dovajanje filtriranega dušika med hlajenjem po končani sterilizaciji. To metodo uporabljajo ponekod v kirurgiji za hitro sterilizacijo instrumentov. Vsak proces je treba kontrolirati bakteriološko in kemično.

Predmete iz snovi, ki ne prenesejo visokih temperatur, je treba sterilizirati na drug način. Obveze, šivalni material, katetre, brizgalke, igle, proteze in druge predmete za enkratno rabo v industriji že uspešno sterilizirajo z gama žarki. S tehniko, ki je v rabi, ni nevarnosti, da bi predmeti postali radioaktivni. Pri vsakem materialu je treba najprej preizkusiti, če žarki ne okvarijo kvalitete snovi. Gama žarki, ki jih oddajajo radioaktivni izotopi Cobalt 60 in Cezij 137, so zelo prodorni. Njihov letalni ionizirajoči učinek je usmerjen v razgradnjo molekul DNA. Pri ionizaciji molekule se vežejo med seboj in z neioniziranimi molekulami. S prekinitvijo ogrodja molekul DNA nastanejo okvare, ki niso združljive z nadaljnjim razmnoževanjem bakterijskih celic.

Uspešnost sterilizacije z gama žarki se kontrolira s sporami *B. subtilis* ali *B. pumilus*, embalaranimi na enak način, kot so med sterilizacijo drugi predmeti.

Rentgenski žarki so sicer zelo prodorni, vendar je njih izkoristek le neznaten. Preizkušali so jih in ugotovili, da za sterilizacijo v medicini ne pridejo v poštev.

Ultra vijolični žarki nimajo sterilizacijskega učinka, uporabljajo se samo kot sredstvo za dezinfekcijo zraka in površin. Uničujejo bakterije, viruse in glive samo na predmetih, na katere padajo neposredno. Tarča delovanja UV žarkov v mikrobnih celici so aminokislina v molekulah nukleinskih kislin. Učinek žarkov z oddaljenostjo slabi.

Hladna sterilizacija s plini (fumigacija) je dobila svoje mesto, ko so ugotovili, da so bakterijske spore za kemično delovanje plinov občutljivejše kot za toploto. Medtem ko so spore proti toploti 1000-krat do 10.000-krat odpornejše kot vegetativne oblike, so proti nekaterim plinom komaj 15-krat odpornejše. Hkrati je plinska sterilizacija izpolnila vrzel, ki jo pušča sterilizacija s toploto. S plini je mogoče sterilizirati snovi, ki ne prenesejo visoke vročine.

Za sterilizacijo so izbrali pline, ki delujejo baktericidno, fungicidno, virocidno in sporicidno pri običajnih temperaturah, vrh tega pa ne reagirajo kemično s steriliziranim materialom ter se hitro odstranjujejo in ne zapuščajo neprijetnega vonja ali okusa. Za sterilizacijo v medicini je največ v rabi **etilenoksid**, ki deluje pri stalni kontroli koncentracije plina, temperature in relativne vlažnosti (60 ‰). Baktericidni učinek temelji na kemični reakciji plina s funkcionalnimi skupinami nukleinskih kislin in proteinov. Vsak proces sterilizacije je treba kontrolirati s sporami *B. subtilis*. Za sprotno hitro kontrolo je v rabi tudi dodatna kemična metoda z vrečicami Royce.

Beta-propiolakton je 4000-krat učinkovitejši od etilenoksida. Za baktericidni učinek so potrebne manjše količine plina. Ne deluje pa pri vlažnosti pod 75 ‰. Uporabljajo ga ponekod za sterilizacijo leč in oftalmoskopov v očesni kirurgiji, za sterilizacijo kosti, hrustanca, arterij, vakcin in tudi za sterilizacijo zgradb.

Uporabljati se sme samo očiščen plin, ki vsebuje 99 % aktivne oblike laktona sicer deluje zelo toksično. Zaradi karcinogenega učinka ga ne priporočajo.

Formaldehid, kot sredstvo za dezinfekcijo prostorov in opreme, je v rabi le za posebne primere. Deluje počasi in samo na površini predmetov. Nima vrednosti kot sredstvo za sterilizacijo. Ima neprijeten vonj in lahko sproži senzibilizacijo pri preobčutljivih osebah.

Zaključek

Pri večini sterilizatorjev kontrolne naprave že same registrirajo pravilno ali nepravilno delovanje aparata. Preizkus na preživetje bakterijskih spor ima smisel v tem, da potrdi uspešnost ali neuspešnost sterilizacije. Preživele spore v 24 urah opozorijo na napako v postopku.

Obvezna je redna kontrola vsakega procesa sterilizacije z bakteriološkim testom, ki potrdi sterilnost steriliziranih predmetov. Dodatno se uporabljajo za hitro orientacijo kemični testi, ki pa niso enakovredni bakteriološkemu preizkusu.

VOTEL KAMEN — VRAŽA ALI ZDRAVILO?

Valvasor piše v »Slavi vojvodine Kranjske«, da je v bližini turjaškega gradu »votekamen«, ki takoj ozdravi v hrbtu bolečine tistemu, ki se splazi skozi to votlino. V sodobni medicini izvajamo manualno manipulacijo hrbtenice pri ishiasu in podobnih bolečinah v hrbtu. Ta terapevtska metoda je zelo podobna gibanju hrbtenice pri plazenju skozi votlino. Zato je upravičeno vprašanje, ali je šlo pri opisanem postopku za vražo ali pa je imel tudi svojo terapevtsko vrednost.

Dr. Slobodan Grobelnik
Zdrav. vest. 1975, št. 7—8