

Lékařská mikrobiologie pro ZDRL

Týden 12:

Mikroby a vnější vlivy

Dekontaminační metody

Ondřej Zahradníček

zahradnicek@fnusa.cz

Co nás dnes čeká

- Budeme si povídat o vztahu **mikrobů a vnějšího prostředí**, ve vztahu k jejich přežití a množení
- Následně probereme **dekontaminační metody** zahrnující **desinfekci, sterilizace** a několik příbuzných metod

Pohádka

- Byl jednou jeden král, a ten měl tři syny. Protože měl na noze **škaredý hnisavý vřed** a zároveň potřeboval rozhodnout, kdo bude následníkem trůnu, prohlásil, že panovat bude ten **princ, který ho toho škaredého vředu definitivně zbaví.**

Co udělali první dva princové

- První dal vysterilizovat skalpel. Sterilizoval **dost dlouho**, ale **příliš nízkou teplotou**. Skalpel nebyl dost sterilní, a když princ tatínkovi vřed vyřízl, za několik dní zase zhnisal.
- Druhý dal také vysterilizovat skalpel. Sterilizoval **dost vysokou teplotou**, ale **příliš krátkou dobu** – a vedlo se mu stejně jako bratrovi.

Co udělal třetí princ

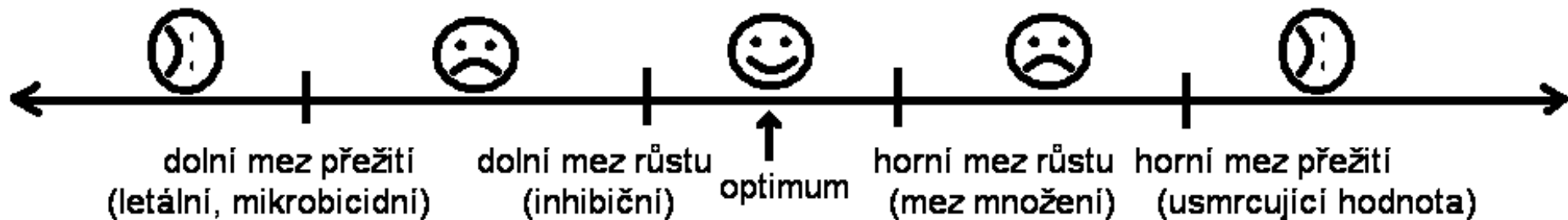
- Dal skalpel vysterilizovat na **teplotu, která byla dost vysoká, po dobu, která byla při dané teplotě vhodně dlouhá.** Tak se mu podařilo učinit nástroj skutečně sterilní. Tatínkovi tedy vyřízl vřed, stal se králem, vzal si sexy princeznu a jestli nezemřel, žije dodnes s tou princeznou ve svém království a má kupu dětí.

Poučení z naší pohádky

- Pokud se snažíme zahubit mikroby **fyzikálními či chemickými faktory**, musíme **dodržet jejich parametry**.
- Tyto parametry jsou přitom **vzájemně závislé**, tj. hodnota jednoho se mění v závislosti na druhém parametru.
- **Čas** je v naprosté většině případů **jedním z velice významných parametrů**.

Mikroby a vnější vlivy

U dekontaminačních metod je bezpodmínečně nutné dosáhnout takových hodnot působícího fyzikálního či chemického faktoru, aby došlo k usmrcení mikroba.



Různé mikroby mají různé parametry!

Které meze musíme dosáhnout?

- **U dekontaminačních metod** je bezpodmínečně nutné dosáhnout takových hodnot působícího fyzikálního či chemického faktoru, aby došlo k usmrcení mikroba a ne jenom k potlačení růstu.
- V případě použití **antimikrobiálních látek** na tom trváme jen u akutních stavů závažných pacientů, jinak stačí inhibice.

Jak to prakticky rozlišíme?

- Mikroby **přemístíme z optimálních podmínek do podmínek nepříznivých**, jejichž vliv na život mikrobů chceme zjistit. Pokud nerostou, znamená to, že je **inhibován jejich růst**, ale zatím nemáme důkaz, že opravdu **chcípily**.
- Abychom zjistili i tohle, **musíme mikroby ve druhém kroku vrátit do optimálních podmínek**. Pokud byly jenom inhibovány, **ožijí a budou se zase množit**. Pokud chcípily, nepomohou jim ani ty nejdokonaleji optimální podmínky.

Metodologický rozdíl

- Abychom pochopili rozdíl mezi usmrcením a pouhou inhibicí růstu, provedeme pokus:
- Nachystáme si testovací kmen bakterie, u kterého chceme určit, jak zvýšená teplota ovlivňuje jeho schopnost množit se a přežít. Tento kmen naočkujeme do tekuté půdy – bujónu. Tu rozdělíme do šesti zkumavek
- Nastavíme inkubátory na teploty **37, 40, 50 a 60 °C.**
- Zkumavky rozdělíme následujícím způsobem
 - tři dáme do zvýšených teplot (po jedné do 40 °C, 50 °C, 60 °C) na celých 24 h
 - tři dáme do zvýšených teplot (opět po jedné do 40 °C, 50 °C, 60 °C) jen na 4 h a pak na zbylých dvacet hodin do 37 °C (ověřená optimální teplota dané bakterie)

Výsledky pokusu

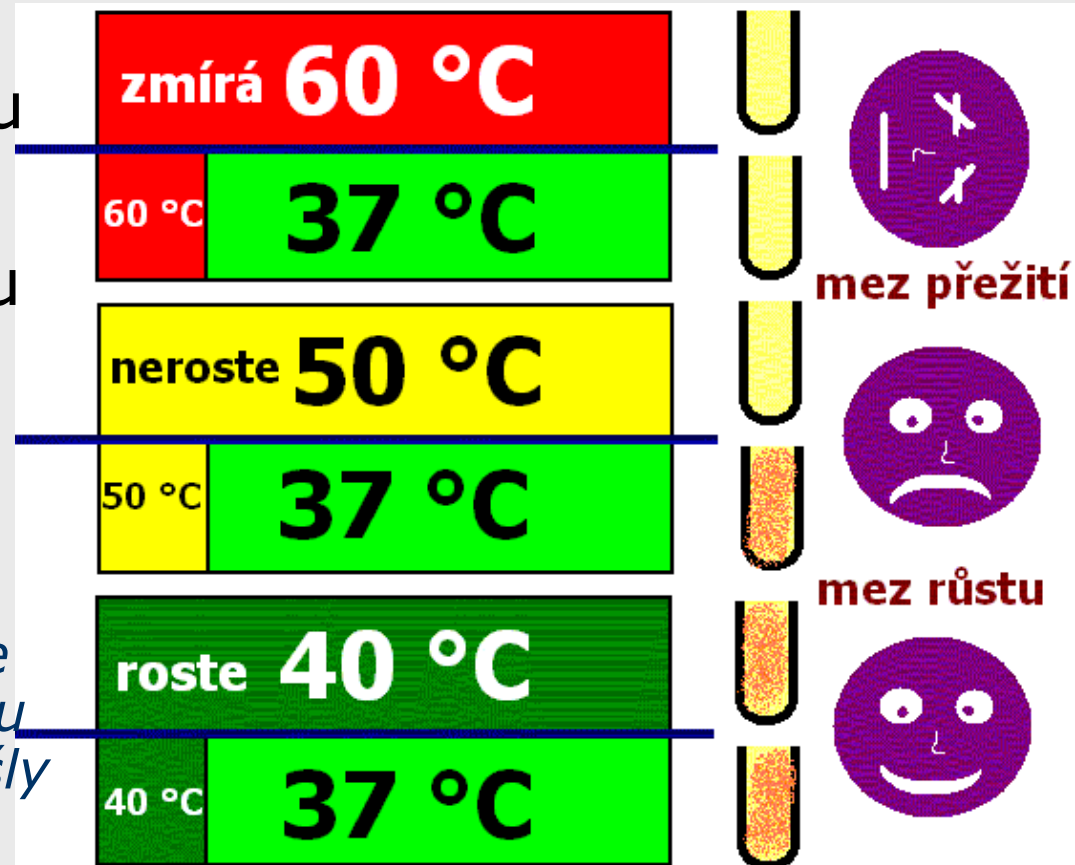
Při 60 °C je bujón v obou variantách pokusu čirý. Mikroby byly zabity a ani pokus o „vzkříšení“ v optimální teplotě nemůže být účinný.

Při 50 °C byly jen inhibovány a jejich růst může být obnoven návratem do optimální teploty.

Při 40 °C nebyly ani inhibovány, zakalené jsou oba bujony.

Vyhodnocení: Mez růstu daného kmene bakterie leží mezi 40 °C a 50 °C, mez přežití mezi 50 °C a 60 °C.

(Poznámka: u každého kmene bakterie budou meze jiné, tj. u jiného kmene by výsledky vyšly zase jinak)



Mikroby a vnější vlivy II

Někdy se účinek faktorů **kombinuje** (například teplota a tlak)

Faktor, který se s ostatními faktory kombinuje vždy, je **čas**

Platí pro rezistentní, sporulující bakterie	160 °C	170 °C	180 °C
20 min	přežívá	přežívá	hyne
30 min	přežívá	hyne	hyne
60 min	hyne	hyne	hyne

*Zde samozřejmě jde již **pouze** o meze přežití.*

Kombinace vnějších vlivů: příklady

- Mikroby lépe snáší **suché teplo** (horký vzduch) **než vlhké teplo** (přehřátá pára)
- Bacily tuberkulózy **dobře snáší vyschnutí ve sputu** (v přítomnosti bílkovin), ale **špatně na starých, vysychajících kultivačních půdách**
- **Formaldehydová sterilizace** probíhá za teplot vyšších než pokojových, ale samozřejmě mnohem nižších než autoklavování nebo horkovzdušná sterilizace

Dekontaminační metody

Jsou to

- fyzikální a chemické postupy **likvidace** mikrobů, hmyzu a hlodavců **mimo organismus**.
- Můžeme na ně pohlížet jako metody **využívající naše znalosti míry odolnosti mikrobů** vůči zevním podmínkám (fyzikálním či chemickým)
- Mezi dekontaminační metody **nepatří likvidace mikrobů v organismu**, byť by byla lokální (použití antiseptik).
- Patří tam ale **působení na povrch kůže** (desinfekce rukou či kůže pacienta před operací).

Antiseptikum je lék, podléhá legislativě stanovené pro léčiva.

Desinfekční prostředek není lék, podléhá jiné legislativě, která se týká tzv. biocidních preparátů.

Přehled dekontaminačních metod

(První tři řádky dle Vyhlášky 195/2005)

Sterilizace	Zničení všech mikrobů v daném prostředí
Vyšší stupeň desinfekce	Zničení naprosté většiny mikrobů, některé formy života mohou přežívat
Desinfekce	Zničení patogenních mikrobů (závisí na okolnostech)
<i>Desinsekce</i>	<i>Zničení škodlivého hmyzu</i>
<i>Deratizace</i>	<i>Zničení škodlivých hlodavců</i>

Sterilizace × desinfekce

- **Sterilizace** je postup, který vede ke sterilitě, tj. ničí všechny formy života. Je zbytečné uvádět v definici „včetně spór“ – když všechny, tak zkrátka všechny, i cysty parazitů, houby, neobalené viry, zkrátka všechno.
- **Desinfekce** je postup, který ničí patogeny přítomné v daném prostředí. Protože spektrum patogenů je jiné v ordinaci praktického lékaře a jiné v TBC léčebně, je jiná i správné desinfekce.
- **Oproti klasickým představám existuje i chemická sterilizace a fyzikální desinfekce.**

Důsledek

- Co je **správně provedená sterilizace** jednou, je **správně provedená sterilizace** vždycky
- Co je **správně provedená desinfekce** za určitých podmínek, nemusí odpovídat definici **správně provedené desinfekce** za jiných podmínek, v jiném zařízení apod.

Proto má každé zdravotnické zařízení svůj vlastní protiepidemický řád s uvedením konkrétní používané desinfekce podle místních podmínek

Zásady správné dekontaminace (bez ohledu na typ metody)

1. Vybrat **vhodnou sterilizační/desinfekční metodu/prostředek**. „Vhodný“ znamená:

- musí bezpečně **ničit ty organismy, které připadají v daném prostředí v úvahu** (u sterilizace ovšem to znamená, že musí ničit všechny mikroby)
- **nesmí ničit desinfikovaný či sterilizovaný materiál** (povrch, ruce a podobně)
- musí být **prakticky použitelný** (dostupný místně i cenově, musí ho zvládat personál apod.)

Zásady správné dekontaminace (bez ohledu na typ metody)

pokračování

2. Musíme použít dostatečnou

intenzitu faktoru (teplotu, intenzitu gama záření, koncentraci působící látky)

3. Příslušný faktor musí působit **dostatečně dlouho** (*rozhoduje čistá doba působení faktoru, tj. např. u sterilizace se nepočítá doba zahřívání a chladnutí, ale jen čistý čas působení nadprahové teploty*)

Sterilizace – příklady I

- **1. Sterilizace horkou parou pod tlakem** (autoklávování). Pára musí být právě nasycená (to znamená, že kdyby obsahovala jen nepatrně více vody, začala by se voda srážet). Hodí se na předměty ze skla, kovu, keramiky, kameniny, porcelánu, textilu, gumy a některých plastů. Teploty 121–134 °C.
- **2. Sterilizace horkým vzduchem** (u přístrojů s nucenou cirkulací vzduchu 180 °C 20 minut nebo 170 °C 30 minut nebo 160 °C hodinu). Hodí se na kovy, sklo, porcelán a kameninu.
- **3. Sterilizace horkou vodou pod tlakem** – již se v praxi nepoužívá

Autokláv

www.prodenta.cz



Horkovzdušné sterilizátory

www.optingservis.cz

www.veterinarniklinika.cz



Sterilizace – příklady II

- **4. Sterilizace gama zářením:** používá se většinou při průmyslové výrobě, např. rukavic na jedno použití.
- **5. Plasmová sterilizace** ve vysokofrekvenčním elektromagnetickém poli
- **6. Chemická sterilizace** parami formaldehydu nebo ethylenoxidem (musí být přesně dodržen postup). Používá se tam, kde nelze použít fyzikální metody.

Plazmový sterilizátor



Formaldehydový sterilizátor



Sterilizace – příklady III (co není ve vyhlášce)

- **7. Sterilizace ohněm** se používá prakticky jen u mikrobiologických kliček, protože většinu materiálů silně poškozuje. **Spalování** se hodí u odpadů.
- **8. Paskalizace** je sterilizace tlakem, používaná v potravinářství
- **9. Ostatní metody:** frakcionovaná sterilizace, filtrace roztoků aj. jsou speciální, používají se výjimečně

Vyšší stupeň desinfekce

- „něco mezi“ sterilizací a desinfekcí
- na rozdíl od sterilizace **nemusí zničit například cysty prvoků nebo vajíčka červů.**
- používán **glutaraldehyd, Sekusept nebo Persteril**
- koncentrace vždy jsou **vyšší než pro běžnou desinfekci**
- k **ošetřování flexibilních endoskopů**, kde nelze použít žádné metody sterilizace.

Dekontaminace endoskopů



Desinfekce v praxi

- Před použitím nové desinfekce je třeba **ověřit účinnost** – je uvedeno v tabulce či schvalovacím ověření (A = bakterie a kvasinky, B = viry, C = spory, T = TBC, M = mykobakteria, V = vláknité houby)
- **Každá desinfekce funguje na něco jiného** (předměty × ruce × povrchy apod.)
- Též je potřeba zkontrolovat **dobu desinfekce** (místo konkrétního času může být „z“ = „do zaschnutí“), koncentraci přípravku a způsob použití

Desinfekce – příklady 1

■ **A. FYZIKÁLNÍ METODY**

■ **1. Var:**

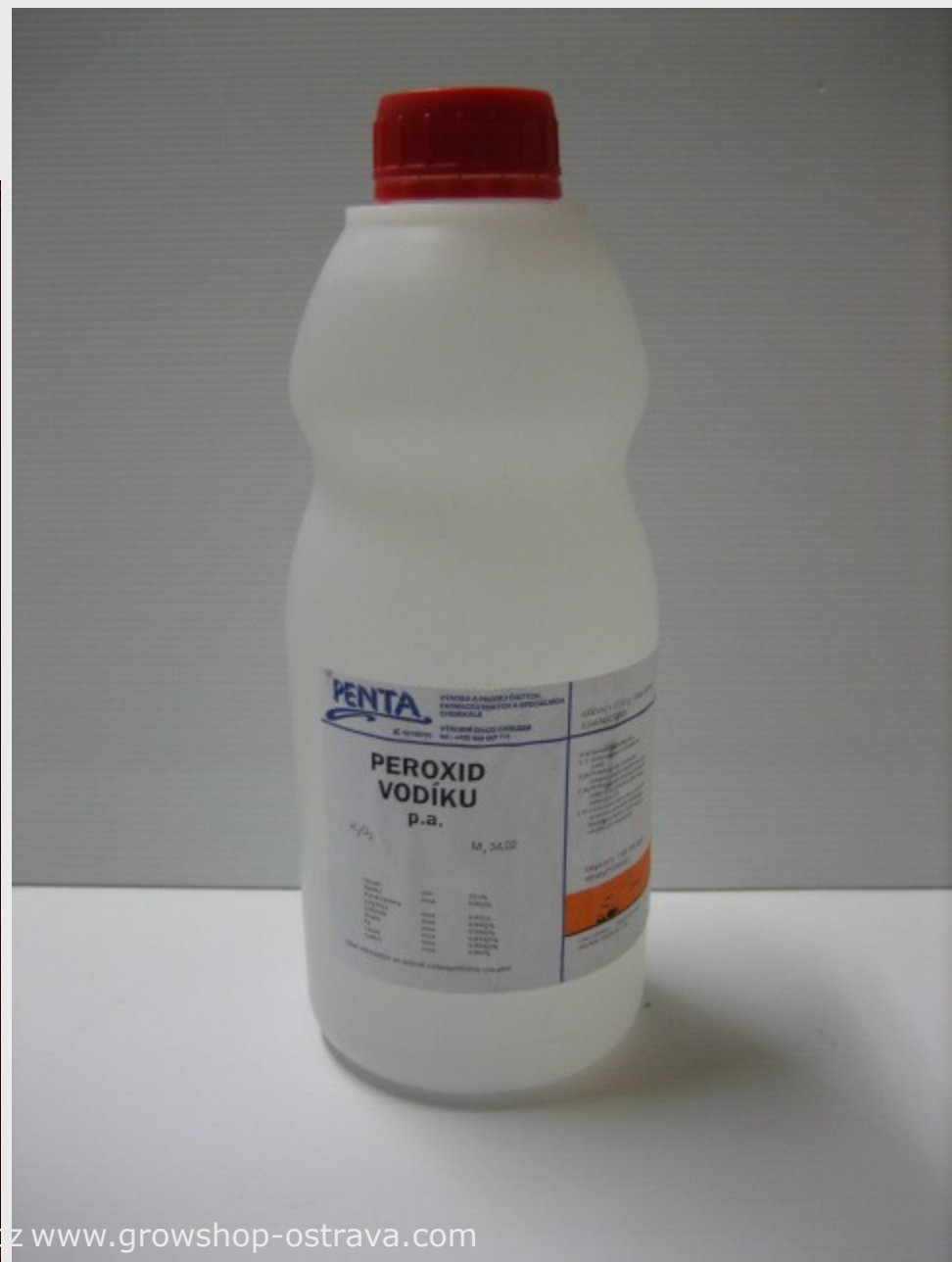
- a) za normálního tlaku – ve zdravotnictví alespoň 30 minut. V kuchyni i méně, ale jídlo se musí provařit (i uvnitř!)
- b) v tlakových hrncích – zkrácení času - ani v tom případě však nejde o sterilizaci!!!

■ **2. Jiné fyzikální metody** – filtrace, žíhání, slunění, UV záření apod.

Desinfekce – příklady 2

- **B. DESINFEKČNÍ PROSTŘEDKY**
- **3. Peroxidy:** kyselina peroctová (CH_3COOOH , u nás Persteril). Na spory, houby, a tuberkulózu; 0,5% roztok = vyšší stupeň desinfekce. Nevýhodou je agresivita, odbarvování textilií a nestabilita roztoků.
- **4. Peroxid vodíku (H_2O_2)** – podobný, méně agresivní, také ale méně účinný.

Peroxid vodíku



Peroctová kyselina



Desinfekce – příklady 3

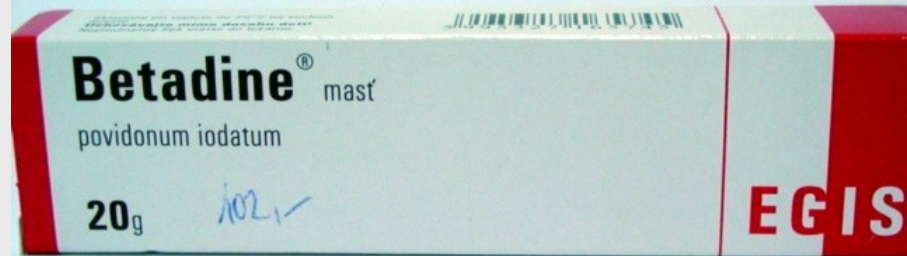
- **5. Halogenové preparáty** – chlornany:
 - chlornan sodný (NaOCl), u nás Savo
 - chlornan vápenatý (Ca(OCl)_2 ; chlorové vápno)
- **6. Chloramin** (Chloramin B; Chloraminy BM a BS jsou s přísadami).
- **7. Jodová tinktura + novější Jodonal B a Jodisol a Betadine**, kde je jód vázán v komplexu. U nealergických pacientů by měl mít Jodonal B přednost před Ajatinem při ošetřování chirurgických ran.



Chlornan sodný a chloramin



Jodové preparáty



Klasické
jodové
pero také
dnes
obsahuje
jodisol,
ne
jodovou
tinkтуру



Desinfekce – příklady 4

- 8. **Manganistan draselný** se již neužívá.
- 9. **Formaldehyd** – ve směsích
- 10. **Kresol** (lysol) je účinný, jenže pro zápach a agresivitu se již téměř neužívá.
- 11. **Ethylalkohol** – pouze ve směsi, sám není příliš účinný; nejúčinnější je asi 70% vodný roztok,
- 12. **Tenzidy**: Orthosan BF 12
- 13. **Ajatin** – běžný pro desinfekci pokožky, méně účinný
- 14. **Septonex** – spíše antiseptikum.
- 15. **Anorganické kyseliny a louhy**, těžké kovy aj.
- 16. **Kombinované přípravky**, např. Incidur

Alkoholové prostředky



Ajatin



Účinnost desinfekce na různé mikroorganismy

V příručkách a jiných materiálech se zpravidla používá abecední systém:

- **A** = účinné na **bakterie** (vegetativní formy) **a kvasinky**
- **B** = účinné na **viry**
- **C** = účinné na bakteriální **endospory**
- **T** = účinné na **tuberkulózní mykobakteria**
- **M** = účinné na **atypická mykobakteria**
- **V** = účinné na **vláknité houby**

Vhodnost k různým účelům

Některé prostředky se hodí jen k něčemu: jsou třeba jen na povrchy, nebo jen na kůži. Zpravidla desinfekční prostředky dělíme na

- prostředky na **nástroje**
- prostředky na **povrchy**
- prostředky na **ruce** (+ desinfekční mýdla)
- desinfekce **potrubí v potravinářství**
- desinfekce vhodná pro **kuchyně**

Střídání desinfekce

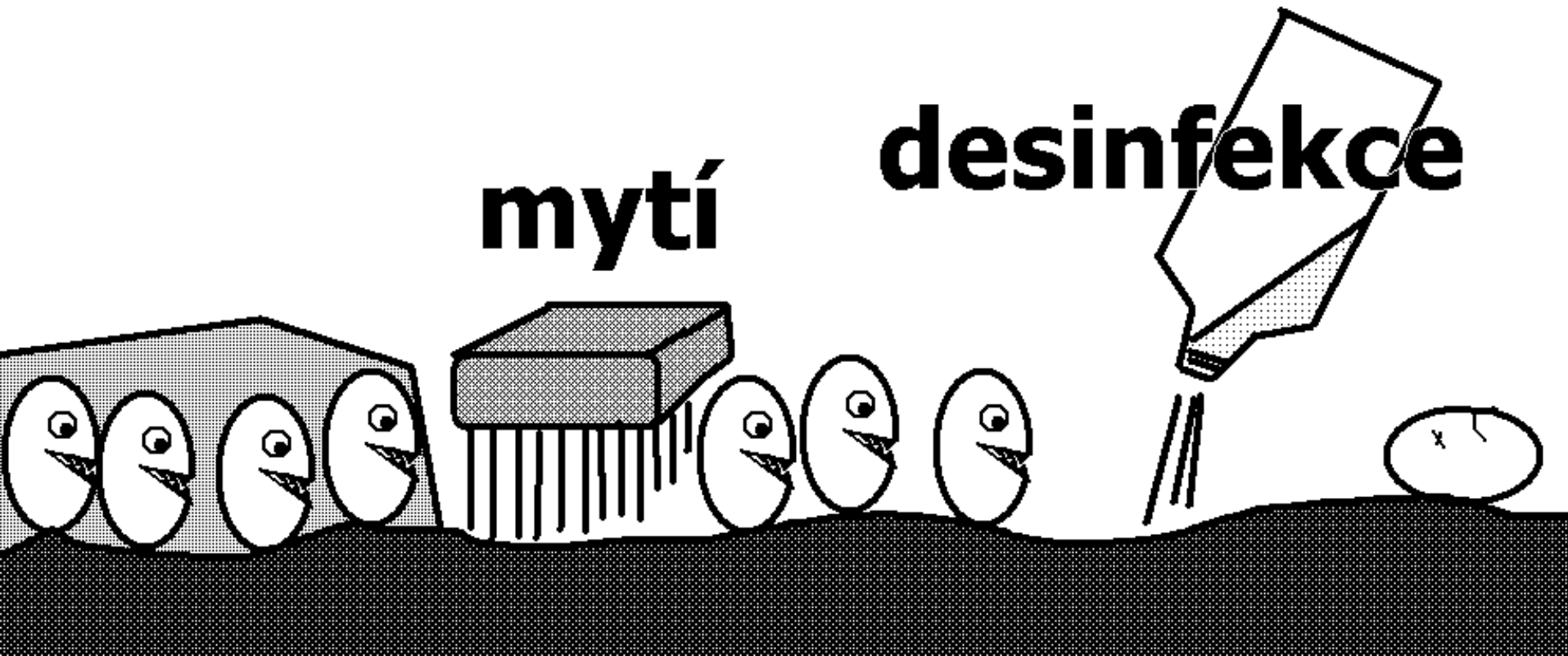
- Na desinfekční prostředky nevzniká pravá rezistence jako na antibiotika, **bakterie se však mohou stát dočasně nevnímavými** vůči působení určitých látek
- Ve zdravotnických zařízeních tedy bývá předepsáno **střídání desinfekce** (např. jeden prostředek 1. – 15. den v měsíci, druhý prostředek 16. – 31. den)
- Důležité je střídat **látky s různými účinnými složkami**

Před a po dekontaminaci

- **Před dekontaminací** je často nutná příprava – mechanické očištění, zajištění, aby dekontaminace správně proběhla. Tyto postupy opět přesně upravuje vyhláška
- **Po dekontaminaci** je v některých případech nutno učinit určité kroky (např. odvětrat zbytek působící chemikálie). Je nutno dbát na pravidla uchovávání dekontaminovaných předmětů.
- **Uchovávání** dekontaminovaných předmětů (jak dlouho vydrží sterilní) rovněž upravuje vyhláška

Desinfekce a čištění

- Pozor! Čištění nenahrazuje desinfekci, desinfekce nenahrazuje čištění! To platí pro nástroje i ruce. U nástrojů většinou mechanické mytí předchází desinfekci, u rukou spíše naopak.



Umývání a desinfekce rukou

Pro ruce platí jiná pravidla než pro povrchy.
Zpravidla na rukou nemáte tlustou vrstvu špíny 😊

Současná legislativa používá následující pojmy:

■ **Mechanické mytí rukou (MMR)** je běžné mytí mýdlem jako součást osobní hygieny nebo jako krok předcházející CHDR

■ **Hygienické mytí rukou (HMR)** používá desinfekční mýdla; je účinnější než MMR, ale méně účinné než HDR

■ **Hygienická desinfekce rukou (HDR)** např. alkoholovými prostředky, doporučena ve zdravotnictví

■ **Chirurgická desinfekce rukou (CHDR)**

Jak by měl vypadat zdravotníkův den z hlediska mytí a desinfekce?

- **Při příchodu do práce** by si měl umýt ruce mýdlem a otřít ručníkem. Poté na suché ruce aplikovat alkoholovou desinfekci
- **Během pracovního dne** používat např. mezi pacienty pouze alkoholovou desinfekci, mytí zařadit jen při pocitu „lepivých rukou“
- **Před cestou domů** ruce zase umýt

Během pracovního dne je tedy doporučeno spíše jen desinfikovat, nikoli umývat ruce, jinak si ruce zničíte, ale mikroby nezničíte



<http://www.osha.gov>

WASH YOUR HANDS







Wash thoroughly with soap and water for at least 20 seconds.

Use a paper towel to dry your hands.

Use a hand sanitizer if soap and water are not available.

Do not touch your eyes, nose, or mouth.

Use a hand sanitizer if soap and water are not available.

Do not touch your eyes, nose, or mouth.

Use a hand sanitizer if soap and water are not available.

Do not touch your eyes, nose, or mouth.

Správný postup při mytí či desinfekci

- **1. krok:** Dlaň proti dlani.
- **2. krok:** Dlaň pravé ruky přes hřbet levé a naopak.
- **3. krok:** Dlaň proti dlani s propletenými prsty.
- **4. krok:** Vnější část prstů proti dlani s „uzamčenými“ prsty.
- **5. krok:** Sevřít pravý palec v levé dlani a vtírat krouživým pohybem a naopak.
- **6. krok:** Krouživé pohyby sevřených konečků prstů pravé ruky v levé dlani a naopak.
- **(7. krok:** Zápěstí levé ruky prsty pravé a naopak.)

Jak si mýt a desinfikovat ruce



1. Dlaň proti dlani



2. Hřbet dlaní druhé ruky

3. Mezi prsty

4. Klouby prstů proti dlani



5. Velmi důležitý palec (krouživým pohybem)



6. Špetka na rýhy v dlani




(7. Zápěstí)

Na která místa se nejčastěji zapomene

Nejčastěji opomíjená místa jsou znázorněna bleděmodře, tmavomodře tak místa rovněž poměrně často opomíjená.

harmful microorganisms.

Areas frequently missed during handwashing

-  Most frequently missed
-  Frequently missed
-  Less frequently missed



Oblíbená pověra

~~„Když používám rukavice,
nemusím si mýt a
desinfikovat ruce“~~

velmi nebezpečný nesmysl!

Why Wash Your Hands?

To remove or destroy potentially harmful microorganisms.

Areas frequently missed during handwashing

- Most frequently missed
- Frequently missed
- Less frequently missed



When Must You Wash Your Hands?

Before...

- Handling high risk area clothing.
- Changing into high risk area clothing.
- Putting on gloves.
- Going into food handling areas.
- Handling ready to eat food.

After...

- Handling raw food.
- Handling waste.
- Using the toilet.
- Blowing your nose.
- Carrying out cleaning duties.

HANDWASHING

How To Wash Your Hands...



When Using Gloves...

- 1 Wash and sanitise your hands as above.
- 2 Put on gloves, taking care not to tear them.
- 3 Remove gloves when leaving

- 4 Always change your gloves if there are any holes or tears, and report them to a line manager.

- 5 Dispose of gloves safely.
- 6 Thoroughly wash, dry and sanitise hands before re-applying a new pair of gloves.

Acknowledgement: John Babb, Hospital Infection Research Laboratory, City Hospital NHS Trust, Birmingham, UK. ©Chilled Food Association 1999.



Existují systémy, umožňující pod UV zářením zkontrolovat stav desinfekce rukou

<http://www.newhamuniversityhospital.nhs.uk/press.php?15a2e6d35a31864e72c9a857450ee983>



Návyky personálu obecně

- **Důležité od sanitářů až po primáře.**
- **Není vůbec samozřejmostí správná technika mytí rukou** – pro nácvik je nejlepší praktické otestování
- **Používání rukavic**, popř. ústenek aj.
- **Správná manipulace s jehlami** po použití
- **Organizace práce** (oddělení „čisté“ a „špinavé“ manipulace místem a/nebo časem na všech úrovních: špinavé a čisté vozíky, vyčlenění místa pro přípravu infuzí a jiného pro manipulaci s biologickým materiálem apod.)

Kontrola účinnosti dekontaminace

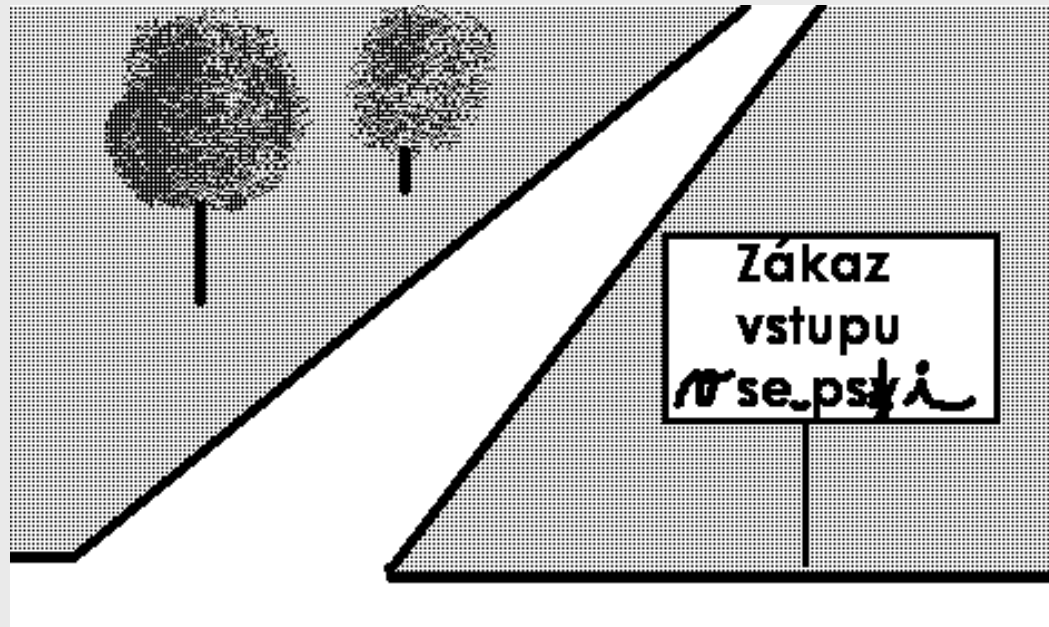
- **Orientačně – smyslově**, např. pomocí charakteristického zápachu
- **Stanovení skutečné koncentrace** desinfekčních prostředků (chemicky)
- **Chemická kontrola sterilizace** využívá indikátorů, které při určité teplotě mění vlastnosti (např. zbarvení)
- **Způsob biologický** užívá odolné kmeny rodu *Bacillus*. Ty absolvují celý cyklus a pak se zjišťuje, zda přežily.

Biologický způsob – co obnáší

- Pro tuto metodu existují **živé, ale vysušené kmeny v podobě „peciček“**. Ty se rozmístí do sterilizátoru rovnoměrně na několik (4 až 12, podle velikosti sterilizátoru) míst
- **Poté se kmeny pošlou do laboratoře**. Zde se kultivují ve speciálních bujónech – je-li přístroj v pořádku, bujon musí zůstat čirý
- Používají se **odolné sporující kmeny** *Bacillus subtilis* a *Bacillus stearothermophilus*

Pojmy asepse a antiseptise

- **Asepse:** pasivně brání vniknutí infekce do takového prostředí
- **Antiseptise:** postupy, které aktivně zasahují proti infekci



Děkuji za pozornost



www.dentalcare.cz