



DEKONTAMINAČNÍ METODY

Lékařská mikrobiologie – cvičení, jarní semestr 2017
Mikrobiologický ústav LF MU

Osnova

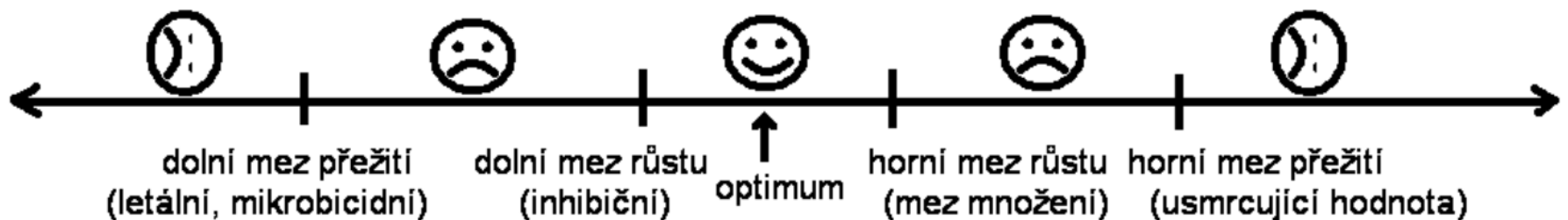
- ▶ Mikroorganismy a vnější vlivy
- ▶ Sporulace
- ▶ Dezinfekční metody
- ▶ Vyšší stupeň dezinfekce
- ▶ Sterilizace
- ▶ Správné mytí rukou



Mikroorganismy a vnější prostředí

► Fyzikální a chemické faktory:

- ❑ **Kultivace** – zajímá nás mez růstu
- ❑ **Usmrcení mikroba** – zajímá nás mez přežití – pro ověření skutečného usmrcení mikroba je třeba je přemístit do optimálních podmínek → pokud nevyrostou, mez přežití ověřena (nešlo pouze o



Mikroorganismy a vnější prostředí

- ▶ Někdy je nezbytné kombinovat více vlivů dohromady pro dosažení optimálního výsledku.
- ▶ **Vždy** se ale kombinuje působení chemického či fyzikálního vlivu a **čas (doba působení)**.

Rezistentní, sporulující bakterie	160 °C	170 °C	180 °C
20 minut	přežívá	přežívá	hyne
30 minut	přežívá	hyne	hyne
60 minut	hyne	hyne	hyne



Sporulace

- ▶ **Spora** – klidové stádium, v němž bakterie může přežít nepříznivé podmínky. Spora nemetabolizuje, nemnoží se, je vysoce odolná proti vysychání a dalším fyzikálním a chemickým vlivům. Buňka je geneticky stejná jako „aktivní“ stádium, ale morfologicky se liší.
- ▶ **Endospora** – vzniká zevnitř bakteriální buňky – rody *Bacillus*, *Clostridium*, *Geobacillus*.
- ▶ **Exospora** – tvořeny některými zástupci rodů *Actinomyces* a *Streptomyces*.
- ▶ **Sporulace** začíná na konci exponenciální fáze růstové křivky (v prostředí začíná ubývat živin). Trvá přibližně 10 hodin.



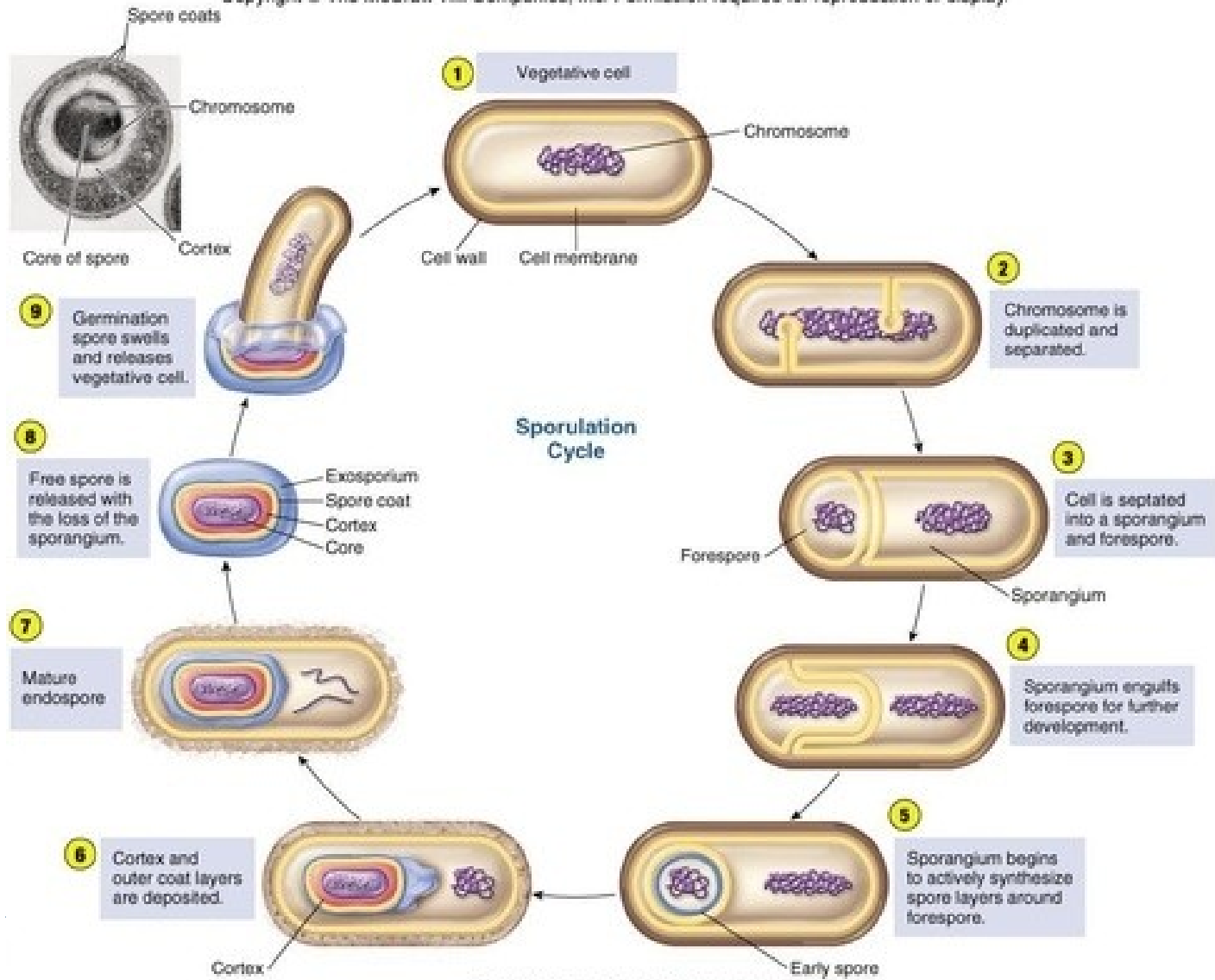
Sporulace

- 1) Replikace DNA a asymetrické dělení buňky (menší část → vzniká z ní spora obalená dvojitou membránou a větší část = sporangium, které lyzuje po dokončení spory).
- 2) Menší část (budoucí spora) se vchlípí dovnitř mateřské buňky → vznik předspory (forespore), která je již obalena dvěma membránami.
- 3) Mezi dvěma membránami vzniká peptidoglykanový komplex a hromadí se vápník a dipikolinová kyselina.
- 4) Je tvořen plášť spory z proteinů pomocí vnější membrány.
- 5) Dozrávání endospory – získávání odolnosti proti nepříznivým vlivům.
- 6) Lyza mateřské buňky a uvolnění spory ze sporangia.



Sporulace

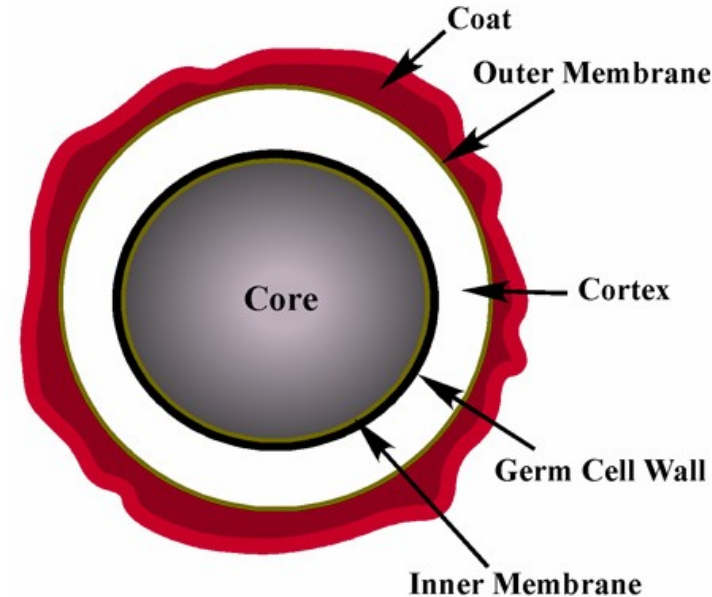
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



© Lee D. Simon/Photo Researchers

Stavba endospory

- ▶ **Cytoplazmatická membrána**
- ▶ **Peptidoglykan** (stejného typu jak v buněčné stěně)
- ▶ **Kortex** – zajišťuje mechanickou odolnost, složen z peptidoglykanu
- ▶ **Vnější membrána**
- ▶ **Plášť spory** – odolnost proti chemickému působení a proti zářením, složen z bílkovin
- ▶ **Protoplast (cytoplasma)** – kyselina dipikolinová a ionty vápníku



Spory

► Tvar

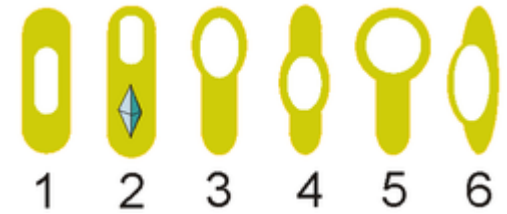
- ❑ **Oválné** – *Bacillus anthracis*, *Clostridium botulinum*
- ❑ **Kulaté** – *Clostridium tetani*

► Velikost

- ❑ **Bubří buňku** – *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*
- ❑ **Nebubří buňku** – *Bacillus anthracis*

► Uložení

- ❑ **Terminální** - *Clostridium tetani*
- ❑ **Subterminální** – *Clostridium botulinum*
- ❑ **Centrální** – *Clostridium novyi*



1,4 - centrální uložení
2, 3, 5 - terminální uložení
6 - centrálně-laterální uložení
3, 4, 5, 6 - bubří buňku

Klíčení spor

- 1) **Aktivace spory** – mechanicky (porušení pláště), fyzikálně (teplota) či chemicky (přítomnost specifických aminokyselin)
- 2) **Germinace** – hydrolyzuje kortex, dipikolinát vápenatý je uvolněn do prostředí, do buňky vstupuje voda a ionty) – **trvá asi 1 minutu**
- 3) **Diferenciace** ve vegetativní buňku



Dekontaminační metody

- ▶ **Fyzikální a chemické postupy** sloužící k likvidaci mikrobů, hmyzu a hlodavců **mimo organismus**. K likvidaci mikroorganismů **uvnitř organismu se používají antiseptika**.
 - ▶ **Asanace** – někdy zvlášť označení odstranění hmyzu a hlodavců.
 - ▶ **Asepse** – pasivní zábrana vniknutí infekce (zábrana kontaminace vzorků, dodržování postupů, sterilní pomůcky, jednorázové pomůcky...).
 - ▶ **Antisepse** – postupy aktivně zasahující proti infekci (dezinfekce, sterilizace).
 - ▶ Asepsi a antisepsi zavedli do chirurgie lord Joseph Lister a do porodnictví Ignaz Semmelweis.
-



Dekontaminační metody

- ▶ **Předpis č. 306/2012 Sb.:** Vyhláška o podmínkách předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a o hygienických požadavcích na provoz zdravotnických zařízení a ústavů sociální péče

Sterilizace	Zničení všech mikrobů v daném prostředí
Vyšší stupeň dezinfekce	Zničení naprosté většiny mikrobů, některé formy života mohou přežívat (cysty prvoků apod.)
Dezinfekce	Zničení patogenních mikrobů (závisí na okolnostech)
Dezinsekce	Zničení škodlivého hmyzu
Deratizace	Zničení škodlivých hlodavců



Zásady správné dekontaminace

- ▶ Klíčový je **výběr vhodné metody/prostředku**.
 - **Vhodný:**
 - = musí bezpečně zničit všechny organismy v prostředí (sterilizace)
 - = musí bezpečně zničit všechny patogenní organismy v prostředí (dezinfekce)
 - = nesmí ničit dekontaminovaný materiál
 - = musí být prakticky použitelný
- ▶ Použít **dostatečnou intenzitu po dostatečně dlouhou dobu**.



Před a po dekontaminaci

- ▶ **Před dekontaminací:** často nutné mechanické očištění a osušení (např. chirurgické nástroje). Postupy jsou upraveny vyhláškou.
- ▶ **Po dekontaminaci:** může následovat opláchnutí nebo odvětrání působící chemikálie. Nutno dbát správného uchovávání předmětů (udržení sterility) → upraveno vyhláškou.



Dezinfekce (1)

► Fyzikální metody:

- ❑ Var za atmosférického tlaku po dobu nejméně 30 minut
- ❑ Var v přetlakových nádobách po dobu nejméně 20 minut
- ❑ UV záření
- ❑ Filtrace
- ❑ Žíhání / spalování
- ❑ Pasterizace (zahřátí na 62,5 °C / 30 minut)



Dezinfekce (2)

► Chemické metody:

❑ Peroxidy:

- kyselina peroctová (Persteril) – působí i na spory, houby, TBS. 0,5 % roztok kyseliny peroctové = vyšší stupeň dezinfekce. **Nevýhody:** agresivita, odbarvování textilií, odbarvování.
- Peroxid vodíku – podobné účinky jako kyselina peroctová, ale méně účinky a méně agresivní

❑ Chlorové preparáty:

- Chlornan sodný (Savo), chlornan vápenatý (chlorové vápno), chloramin (chloramin T)



Dezinfekce (3)

► Chemické metody:

❑ Oxidační činidla:

- Jodové preparáty – jodová tinktura, Jodonal B, Jodisol, Betadine (obsahují jód v komplexu)
- Manganistan draselný (již se v praxi nevyužívá)

❑ Formaldehyd – konzervant ve směsích, kresol (lysol)

❑ Etanol (70 % roztok, ve směsích)

❑ Tenzidy (Orthosan BF 12, Ajatin – dezinfekce pokožky, Septonex)

❑ Anorganické kyseliny a zásady

❑ Těžké kovy

❑ Kombinované přípravky (Incidur)



Účinnost dezinfekce na různé MO

► Zpravidla je používán abecední systém:

- ❑ A – baktericidní (účinné na vegetativní bakterie a mikroskopické kvasinky)
- ❑ B – virucidní (účinné na viry)
- ❑ C – sporocidní (účinné na bakteriální endospory)
- ❑ T – tuberkulocidní (účinné na tuberkulózní mykobakteria)
- ❑ M – mykobaktericidní (účinné na atypická mykobakteria)
- ❑ V – fungicidní (účinné na mikroskopické kvasinky a vláknité houby)



Vyšší stupeň dezinfekce

- ▶ **Dezinfekční přípravek s vyšším spektrem účinnosti** (Persteril, glutaraldehyd, apod.)
- ▶ Nemusí ničit cysty prvoků a vajíčka červů.
- ▶ **Použití:** zdravotnické prostředky, které nemohou být dostupnými metodami sterilizovány. K výkonům a vyšetřování mikrobiálně fyziologicky **neosídlených tělních dutin (endoskopy).**
- ▶ **Dvoustupňová dezinfekce** = vyšší stupeň dezinfekce + oplach pitnou/přečištěnou vodou. Používá se k výkonům a vyšetřování mikrobiálně **fyziologicky osídlených tělních dutin.**



Sterilizace (1)

► Fyzikální metody:

- ❑ **Vlhkým teplem pod tlakem** – sytá vodní pára, autoklávování. Vhodné na předměty z kovu, skla, porcelánu, keramiky, textilu, plastů, gumy, aj.
 - **121 °C, přetlak 1,05 bar / 20 minut**
 - **134 °C, přetlak 2,04 bar / 10 minut**
 - **134 °C, přetlak 2,04 bar / 60 minut (priony)**
- ❑ **Cirkulujícím horkým vzduchem** – vhodné na předměty z kovu, skla, porcelánu, keramiky
 - **160 °C / 60 minut**
 - **170 °C / 30 minut**
 - **180 °C / 20 minut**



Sterilizace (2)

► Fyzikální metody:

- **plazmou** – vysokofrekvenční elektromagnetické pole nebo vysokonapěťový náboj.
 - Ve vysokém vakuu působením na páry peroxidu vodíku nebo jiné chemické látky uvolňují volné radikály kyslíku (hydroxyl, hydroxyperoxyl).
 - Účinek je dán nízkoteplotní plazmou plynu (peroxid vodíku, kyselina peroctová) při teplotě 50 °C / 30 – 75 minut. Vhodné na termolabilní nástroje a pomůcky.



Sterilizace (3)

► Fyzikální metody:

- ❑ **záření** – využití gama záření v dávce minimálně 25 kGy. Vhodné pro sterilizaci nových výrobků, především lékařských prostředků na jedno použití vyrobených z plastu či textilií (např. pro sterilizaci jednorázových rukavic).
- ❑ **Ohněm** – mikrobiologické kličky, spalování – odpady
- ❑ **Tlakem** – paskalizace, 6000 barů, využití v potravinářství
- ❑ Další možnosti: frakcionovaná sterilizace, filtrace, ...



Sterilizace (4)

- ▶ **Chemické metody:**
- ▶ Používají se v případě termolabilních materiálů, na které nelze použít fyzikální metody.
- ▶ Sterilizuje se pomocí plynů (páry formaldehydu nebo ethylenoxidu) předepsaného složení a koncentrace za předepsaného přetlaku/podtlaku a teplotě do 80 °C.



Kontrola účinnosti dekontaminace

- ▶ **Orientačně – smyslově: např. pomocí charakteristického zápachu**
 - ▶ **Stanovení skutečné koncentrace dezinfekčních prostředků**
 - ▶ **Chemická kontrola sterilizace – využívá indikátorů, které při určité teplotě mění vlastnosti (např. zbarvení).**
 - ▶ **Biologický způsob – použití odolných kmenů rodu *Bacillus* nebo *Geobacillus* (*B. atrophaeus*, *G. stearothermophilus*). Jejich spory absolvují celý cyklus → zjišťuje se, zdali byly pouze inhibovány či skutečně eliminovány.**
-



Umývání a dezinfekce rukou

- ▶ **Pojmy ze současné legislativy:**
 - ▶ **Mechanické mytí rukou (MMR)** – běžné mytí mýdlem jakou součástí osobní hygieny nebo jako krok předcházející CHDR
 - ▶ **Hygienické mytí rukou (HMR)** – používají se dezinfekční mýdla, účinnější než MMR, ale méně účinné než HDR
 - ▶ **Hygienická dezinfekce rukou (HDR)** – pomocí alkoholových prostředků, doporučená ve zdravotnictví
 - ▶ **Chirurgická dezinfekce rukou (CHDR)**
 - ▶ Mytí rukou a správná dezinfekce je nezbytná i při používání rukavic!!!
-



Umývání a dezinfekce rukou – zdravotník

- ▶ **Příchod do práce:** umýt ruce mýdlem a otřít ručníkem. Na suché ruce aplikovat alkoholovou dezinfekci.
- ▶ **Během dne:** používat pouze alkoholovou dezinfekci (např. mezi jednotlivými pacienty), mytí mýdlem zařadit pouze při viditelně špinavých rukou či při pocitu „lepkavých rukou“
- ▶ **Před odchodem z práce:** umýt ruce mýdlem.
- ▶ Během pracovního dne tedy spíše dezinfikovat, než mýt → zničili byste si ruce, ale mikroorganismy nezničili.



Úkol 1: Vliv různých faktorů na růst a přežití bakterií

- ▶ **Úkol 1a: vliv teploty na bakterie** – posud'te, kdy jde pouze o inhibici růstu a kdy o usmrcení.
- ▶ **Úkol 1b: vliv dezinfekčního činidla na bakterie** – určete minimální baktericidní koncentraci daného dezinfekčního činidla.
- ▶ **Úkol 1c: vliv času v kombinaci s teplotou na růst bakterií** – posud'te, jaký je vztah mezi teplotou a dobou působení.



Úkol 2: Praktické dezinfekční a sterilizační postupy

- ▶ **Úkol 2a:** vypište do tabulky různé situace a použité dezinfekční prostředky.
- ▶ **Úkol 2b:** vypište do tabulky vlastnosti dezinfekčních prostředků.
- ▶ **Úkol 2c:** zvolte vhodný sterilizační postup.



Úkol 2: Praktické dezinfekční a sterilizační postupy

► Úkol 2b:

Název	Skupina	Použití
Persteril	Ox. činidlo, kys. peroctová	pomůcky, účinný i na spory, TBC, houby
Peroxid vodíku	Ox. činidlo, peroxid	pomůcky, účinný i na spory, TBC, houby - méně účinný než Persteril
Chloramin	Ox. činidlo, halogen	povrchy, pomůcky
Chlornan sodný	Ox. činidlo, halogen	Savo, povrchy
Jodisol	Ox. činidlo, halogen	rány, kůže, včetně spor, virů
Jodonal B	Ox. činidlo, halogen	plochy, teploměry
Ajatin	Tenzidy (kvarterní amoniové soli)	kůže, ruce, rány
Septonex	Tenzidy (kvarterní amoniové soli)	kůže, ruce, rány



Úkol 3: Kontrola účinnosti dezinfekce

- ▶ **Úkol 3a:** zkontrolujte účinnost horkovzdušného sterilizátoru a zhodnoťte, jestli je možné ho používat.
- ▶ **Úkol 3b:** zkontrolujte autokláv a zhodnoťte, zdali je možné ho používat.
- ▶ **Úkol 3c:** zapište si místo stěru z prostředí a jeho (ne)sterilitu.
- ▶ **Úkol 3d:** zkuste zjistit čichem, o které dezinfekční činidlo se jedná (kys. Peroctová, Ajatin, Jodonal B, Chloramin B, Promanum).



Úkol 3: Kontrola účinnosti dezinfekce

► Úkol 3d:

- ❑ Kyselina peroctová – číslo 1
- ❑ Ajatin – číslo 4
- ❑ Jodonal B – číslo 5
- ❑ Chloramin B – číslo 2
- ❑ Promanum (alkoholový) – číslo 3



Po tomto cvičení byste měli umět

- ▶ Popsat proces sporulace a stavbu spory.
- ▶ Znát rozdíl mezi dezinfekcí a sterilizací.
- ▶ Vyjmenovat možnosti chemické a fyzikální dezinfekce.
- ▶ Vyjmenovat možnosti chemické a fyzikální sterilizace.
- ▶ Umět si správně umýt a dezinfikovat ruce.

