

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΣΗ – ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΣΗΣ – ΑΣΗΠΤΗ ΤΕΧΝΙΚΗ

1. ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΣΗ

Γενικά

Με τον όρο **αποστείρωση** εννοούμε την πλήρη απομάκρυνση ή καταστροφή κάθε μικροβιακής ζωής, όπως είναι τα βακτήρια και οι σπόροι τους, οι μύκητες, οι ιοί, οι ρικέτσιες και τα μυκοπλάσματα. Η αποστείρωση και η πιστοποίηση της στείροτητας έχει μεγάλη σημασία για την παρασκευή φαρμακευτικών σκευασμάτων και υλικών και αποτελεί αντικείμενο φαρμακευτικής πρακτικής. Η αποστείρωση είναι υποχρεωτική στα οφθαλμικά και παρεντερικά σκευάσματα, κλύσματα, σύριγγες, βελόνες, χειρουργικά εργαλεία και γενικά σε οποιοδήποτε προϊόν ή αντικείμενο πρόκειται να έρθει σε άμεση επαφή με το κυκλοφορικό σύστημα.

Αντισηψία είναι η εφαρμογή αντιμικροβιακών ουσιών, των **αντισηπτικών**, τοπικά σε ζωντανούς ιστούς με σκοπό την πρόληψη της λοίμωξης.

Απολύμανση είναι η εφαρμογή αντιμικροβιακών ουσιών, των **απολυμαντικών**, σε χώρους και αντικείμενα με σκοπό την καταστροφή ή αναστολή της ανάπτυξης μικροοργανισμών, ώστε αυτοί να μην μπορούν να προκαλέσουν μόλυνση.

Η δυσκολία της αποστείρωσης οφείλεται στο γεγονός ότι τα μικρόβια είναι παρόντα παντού στο περιβάλλον και οι απαιτήσεις των διαφόρων μικροβίων ποικίλουν λόγω των ιδιομορφιών στην ανάπτυξη και την αντοχή τους. Άλλα μικρόβια αναπτύσσονται σε χαμηλές θερμοκρασίες (0-10°C), άλλα απαιτούν ψηλότερες θερμοκρασίες (50-60°C), άλλα αναπτύσσονται παρουσία αέρα (**αερόβια**) και άλλα απουσία αέρα (**αναερόβια**). Επίσης στην αποστείρωση ιδιαίτερες δυσκολίες προκαλεί ο σχηματισμός **ανθεκτικών σπόρων** των μικροβίων και η μεταβολή της ανθεκτικότητάς τους λόγω **μετάλλαξης**. Για τον λόγο αυτό, οι σημερινές μέθοδοι αποστείρωσης μπορεί να μην επαρκούν στο μέλλον.

Παράγοντες που επηρεάζουν την αντίσταση των μικροοργανισμών

Οι παράγοντες αυτοί είναι:

1. Το pH υδατικών διαλυμάτων ή εναιωρημάτων. Ουδέτερο pH αυξάνει την αντίσταση των μικροβίων, ενώ αντίθετα υψηλή οξύτητα ή αλκαλικότητα έχουν βακτηριοκτόνο δράση.

2. Η παρουσία ενώσεων, όπως πρωτεϊνών, σακχάρων, λιπών, ελαίων κλπ. στο σκεύασμα για αποστείρωση δυσκολεύει την καταστροφή των μικροβίων, ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιούνται θερμικές μέθοδοι. Αυτό συμβαίνει γιατί υπολείμματα των ενώσεων αυτών μπορεί να παγιώσουν μέσα στη μάζα τους κατά την αποξήρασή τους αριθμό μικροβίων και έτσι η αποστείρωση γίνεται δυσκολότερη.

3. Ο σχηματισμός βακτηριδιακών σπόρων από τα βακτηρίδια αποτελεί τον σπουδαιότερο παράγοντα που επηρεάζει την αντίσταση των μικροοργανισμών. Ο σχηματισμός των σπόρων θεωρείται φάση του κύκλου της ζωής του βακτηριδίου. Οι βακτηριδιακοί σπόροι έχουν πολύ μεγαλύτερη αντίσταση από το μητρικό κύτταρο, αφού προέρχονται από τη διαφοροποίηση του μητρικού κυττάρου και κάνουν την αποστείρωση δυσκολότερη. Η αποτελεσματικότητα μιας μεθόδου αποστείρωσης κρίνεται από την επίδρασή της στους σπόρους των βακτηριδίων και αυτό διότι τα γένη *Clostridium* και *Bacillus* που σχηματίζουν σπόρους, υπάρχουν στα σωματίδια της σκόνης που αιωρούνται στην ατμόσφαιρα, έτοιμα να μολύνουν το φαρμακευτικό παρασκεύασμα.

Για την αποστείρωση απαιτείται κάποιος χρόνος ο οποίος εξαρτάται από τον αρχικό αριθμό των μικροβίων και το ρυθμό θανάτωσής τους. Όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των μικροβίων σε ένα σκεύασμα, τόσο μεγαλύτερος χρόνος απαιτείται για την αποστείρωσή του. Ειδικές μελέτες έχουν καθορίσει ορισμένες σταθερές, οι οποίες δείχνουν την ευαισθησία των μικροοργανισμών. Με βάση αυτές, μπορεί να προσδιοριστεί ο απαιτούμενος χρόνος και να προγραμματισθούν οι συνθήκες για την αποτελεσματικότητα της αποστείρωσης.

Ο έλεγχος της επιτυχίας της αποστείρωσης γίνεται μετά το τέλος της διαδικασίας και περιλαμβάνει:

- Έλεγχος εάν οι συνθήκες που είχαν προγραμματισθεί, επικρατούσαν πράγματι σε καθόλη την διάρκεια της αποστείρωσης. Ο έλεγχος γίνεται με την βοήθεια βακτηριολογικών και χημικών δεικτών.
- Έλεγχος στεριότητας για διαπίστωση της επιτυχίας της αποστείρωσης. Αυτός έχει ιδιαίτερη σημασία για τα προϊόντα που παράγονται με την άσηπτη τεχνική.

2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΣΗΣ

Οι διάφορες μέθοδοι αποστείρωσης που εφαρμόζονται σήμερα περιλαμβάνουν θερμότητα, ακτινοβολίες, χημικά μέσα ή διήθηση. Οι μέθοδοι αποστείρωσης διακρίνονται σε:

- Α. Φυσικές μεθόδους και
- Β. Χημικές μεθόδους

Α. Οι φυσικές μέθοδοι διακρίνονται ως εξής:

Α. Φυσικές μέθοδοι	
Θερμικές	Μη θερμικές
α) Ξηρή θερμότητα	α) Διήθηση
β) Υγρή θερμότητα	β) Ακτινοβολίες

Β. Οι χημικές μέθοδοι διακρίνονται ως εξής:

Β. Χημικές μέθοδοι
Αποστείρωση με αέρια
α) Αιθυλενοξειδίο
β) Φορμαλδεϋδη
γ) Προπιλενοξειδίο
δ) β-Προπιλοακτόνη

Α. Φυσικές μέθοδοι

1. Θερμικές μέθοδοι

α) Ξηρή θερμότητα

Όλοι οι μικροοργανισμοί καταστρέφονται με την επίδραση θερμότητας όταν επιλέγεται η σωστή θερμοκρασία και ο κατάλληλος χρόνος έκθεσης για τον καθένα.

Η αιτία της μικροβιακής καταστροφής με την ξηρή θερμότητα θεωρείται η οξειδωση βασικών κυτταρικών συστατικών των μικροβίων μετά από αφυδάτωση. Σημαντικές παράμετροι στην αποστείρωση με ξηρή θερμότητα είναι η εκλογή του χρόνου έκθεσης και της θερμοκρασίας η οποία θα απαιτηθεί. Γενικά η θερμοκρασία αυξάνει, όσο ελαττώνεται ο απαιτούμενος χρόνος αποστείρωσης και αντίστροφα. Υψηλές θερμοκρασίες μπορούν να αλλοιώσουν ή να καταστρέψουν το προϊόν, ενώ χαμηλές θερμοκρασίες αυξάνουν το κόστος και μειώνουν την ταχύτητα της όλης παραγωγής. Επομένως η τελική εκλογή του ζεύγους τιμών θερμοκρασίας και χρόνου αποβλέπει σε στείρο παρασκεύασμα, χωρίς καμία αλλοίωση από τη θερμοκρασία, με την ταχύτερη και οικονομικότερη μέθοδο.

Η αποστείρωση με ξηρή θερμότητα γίνεται σε κλιβάνους θερμού αέρα, οι οποίοι θερμαίνονται ηλεκτρικά και η σταθεροποίηση της θερμοκρασίας επιτυγχάνεται με ανεμιστήρα. Τα αποστειρωμένα υλικά πρέπει να βρίσκονται σε κάποια απόσταση μεταξύ τους για να ρέει ανεμπόδιστα ο θερμός αέρας. Η θερμοκρασία επιλέγεται ανάλογα με την αντοχή του υλικού. Μετά το κλείσιμο του κλι-

βάνου η θερμοκρασία παρακολουθείται από ενσωματωμένο θερμόμετρο και ο χρόνος έκθεσης αρχίζει να μετράει μόλις επιτευχθεί η επιθυμητή θερμοκρασία. Μετά το τέλος χρόνου έκθεσης ο κλιβανος αφήνεται να ψυχθεί και στη συνέχεια το περιεχόμενο μεταφέρεται γρήγορα σε χώρο αποθήκευσης του οποίου η ατμόσφαιρα είναι επαρκώς καθαρή. Ο συνολικός κύκλος της ξηρής αποστείρωσης περιλαμβάνει τους χρόνους προθέρμανσης, αποστείρωσης και επαναφοράς του υλικού στην θερμοκρασία περιβάλλοντος 20-22°C.

Η αποστείρωση με ξηρή θερμότητα χρησιμοποιείται για την αποστείρωση ουσιών και υλικών σταθερών σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 120°C. Η μέθοδος περιλαμβάνει την αποστείρωση γυάλινων και μεταλλικών αντικειμένων, εργαλείων και υλικών χειρουργείου, σκονών, ελαίων, άνυδρων υλικών καθώς και υλικών τα οποία δεν μπορούν να αποστειρωθούν με υγρή θερμότητα, επειδή προσβάλλονται από την υγρασία.

Μειονέκτημα της μεθόδου αποτελεί ο μεγάλος χρόνος έκθεσης και η υψηλότερη θερμοκρασία η οποία απαιτείται σε σχέση με την θερμοκρασία που απαιτείται για την αποστείρωση με υγρή θερμότητα.

β) Υγρή Θερμότητα

Ο συνδυασμός υγρασίας και θέρμανσης διευκολύνει σημαντικά την καταστροφή των μικροοργανισμών. Η καταστροφή των μικροοργανισμών με όλες τις μορφές υγρής θερμότητας οφείλεται στη μετουσίωση και την υδρόλυση των πρωτεϊνών και νουκλεϊνικών οξέων του μικροβιακού κυττάρου. Η επίδραση αυτή στα μικρόβια έχει μεγαλύτερη καταστρεπτική ικανότητα από την οξειδωτική δράση της ξηρής θερμότητας και οι συνθήκες της αποστείρωσης είναι ηπιότερες. Οι διάφορες Φαρμακοποιίες ορίζουν τις συνθήκες αποστείρωσης κατά περίπτωση.

Η αποστείρωση με υγρή θερμότητα γίνεται με νερό και με τις ακόλουθες μορφές:

- α) Θερμό νερό θερμοκρασίας (80-90°C)
- β) Νερό σε θερμοκρασία βρασμού (98-100°C)
- γ) Ατμός σε ατμοσφαιρική πίεση
- δ) Ατμός υπό πίεση

α) Η αποστείρωση με νερό σε θερμοκρασία 80-90°C. Περιλαμβάνει την εμβάπτιση θερμοευαίσθητων υλικών σε νερό θερμοκρασίας 80-90°C το οποίο περιέχει βακτηριοκτόνα, όπως η χλωροκρεσόλη και ο νιτρικός φαινυλδράργυρος. Η μέθοδος χρησιμοποιείται σπάνια και δεν εξασφαλίζει στείφότητα 100%.

β) Η αποστείρωση με νερό σε θερμοκρασία βρασμού (98-100°C) απαιτεί και προσθήκη βακτηριοκτόνου. Η μέθοδος περιλαμβάνει θέρμανση του διαλύματος της ουσίας που θα αποστειρωθεί στους 100°C για 30 λεπτά, με προσθήκη βακτηριοκτόνου. Τα βακτηριοκτόνα που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι η χλωροκρεσόλη και ο νιτρικός φαινυλδράργυρος, χλωριούχο βενζαλκόνιο, κλπ.

Η μέθοδος πλεονεκτεί λόγω της χαμηλής θερμοκρασίας που χρησιμοποιείται

και της απλής και οικονομικής συσκευής που μπορεί να είναι οποιοσδήποτε κατάλληλος βραστήρας. Είναι πολύ χρήσιμη για εργαλεία και διαλύματα φαρμάκων που είναι ευαίσθητα σε θερμοκρασίες άνω από 100°C. Μειονέκτημα της μεθόδου αποτελεί η ασυμβατότητα των βακτηριοκτόνων με ορισμένα φάρμακα και η μείωση της δραστηριότητας των βακτηριοκτόνων στα ελαιώδη διαλύματα.

γ-δ) Αποστείρωση με ατμό. Στην πράξη για την αποστείρωση χρησιμοποιείται κυρίως ο **κορεσμένος ατμός**. Και σε αυτήν την μέθοδο απαιτείται εκλογή του κατάλληλου ζεύγους τιμών θερμοκρασίας και χρόνου έκθεσης. Η αποστείρωση με κορεσμένο ατμό γίνεται σε ειδικές συσκευές που ονομάζονται **αυτόκλειστα (autoclave)** και υπάρχουν σε διάφορους τύπους. Τα αυτόκλειστα εξασφαλίζουν ότι το υλικό για αποστείρωση διαπερνάται από ξηρό, κορεσμένο υδρατμό, ελαχιστοποιείται ο σχηματισμός υπέρθερμου υδρατμού και ο αέρας απομακρύνεται αποτελεσματικά.

Οι πιο συνηθισμένοι τύποι αυτοκλειστών είναι:

- **Εργαστηριακό αυτόκλειστο (laboratory autoclave).** Νερό που έχει τοποθετηθεί στον πυθμένα της συσκευής βράζει και ο υδρατμός που παράγεται εκτοπίζει τον αέρα από τον θάλαμο αποστείρωσης μέσα από στρόφιγγα διαφυγής αέρα. Μετά την ολοκλήρωση του καθορισμένου χρόνου αποστείρωσης στη επιθυμητή θερμοκρασία, ο θάλαμος αφήνεται να ψυχθεί και να μηδενιστεί η διαφορά εξωτερικής και εσωτερικής πίεσης. Τότε ανολογείται η στρόφιγγα διαφυγής αέρα, ώστε να αποφευχθεί η δημιουργία εσωτερικής υποπίεσης και συνεχίζεται η ψύξη.
- **Αυτόκλειστο καθοδικής εκτόπισης ή κατακόρυφης αντικατάστασης του αέρα (Downward displacement autoclave).** Ο υδρατμός παράγεται εξωτερικά υπό υψηλή πίεση, εισάγεται από το άνω μέρος στον θάλαμο αποστείρωσης και ο αέρας εκτοπίζεται προς τα κάτω και απομακρύνεται μέσα από βαλβίδα.
- **Αυτόκλειστο υψηλού κενού (High vacuum autoclave).** Σε αυτήν την συσκευή επιτυγχάνεται ταχύτερη αποστείρωση των υλικών. Ο αέρας απομακρύνεται από τον θάλαμο με αντλία κενού, εισάγεται υδρατμός συνήθως 135°C με πίεση 32 psi για 3-3,5 λεπτά και επιτυγχάνεται η αποστείρωση. Στο τέλος της διαδικασίας, διαβιβάζεται αποστειρωμένος αέρας ώστε να αποκατασταθεί η ατμοσφαιρική πίεση.

?

Παράγοντες που επηρεάζουν την αποστείρωση με υγρή θερμότητα

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την αποστείρωση με υγρή θερμότητα είναι:

- Η σύσταση του ατμού. Κατάλληλότερος είναι ο κορεσμένος ατμός. Ο υπέρθερμος ατμός έχει αποστειρωτικές ιδιότητες όταν υπερβαίνει κατά 5°-100°C την θερμοκρασία του κορεσμένου ατμού. Ο υγρός κορεσμένος ατμός μπορεί να βλάψει το υλικό που αποστειρώνεται λόγω των σταγονιδίων που περιέχει.
- Η παρουσία αέρα κατά την αποστείρωση μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα την πτώση της θερμοκρασίας του κορεσμένου ατμού. Όταν χρησιμοποιείται αέρας

για την αποκατάσταση της πίεσης ή την ξήρανση, αυτός θα πρέπει να έχει περάσει από ειδικά φίλτρα ώστε να είναι αποστειρωμένος.

- Η διαδικασία ψύξης μετά το τέλος της αποστείρωσης

2. Μη Θερμικές μέθοδοι

α) Αποστείρωση με διήθηση

Με τη μέθοδο αυτή οι μικροοργανισμοί δεν θανατώνονται αλλά **απομακρύνονται φυσικά** από το προς αποστείρωση διάλυμα ή αέριο με διήθηση μέσα από ειδικά φίλτρα, μικροβιοκρατείς ηθμούς. Το μέγεθος των πόρων των φίλτρων αυτών είναι μικρότερο από το μέγεθος των μικροοργανισμών και έτσι τους απομακρύνουν από το διάλυμα με κατακράτηση στην επιφάνειά του (σαν κόσκινο). Ο ηθμός δεν πρέπει να προσροφά συστατικά του διαλύματος ή του αερίου, ούτε να αποδίδει σε αυτό δικά του συστατικά.

Η μέθοδος είναι χρήσιμη για αέρια ή για υδατικά ενέσιμα διαλύματα που περιέχουν θερμοευαίσθητα φάρμακα. Απαραίτητη προϋπόθεση τα φάρμακα αυτά να είναι σταθερά σε κατάσταση διαλύματος. Η μέθοδος προσφέρεται για γρήγορη και οικονομική εφαρμογή στο φαρμακείο, για παράδειγμα στην παρασκευή οφθαλμικών διαλυμάτων.

Για την επιτυχία της μεθόδου είναι σκόπιμη η εφαρμογή άσηπτης τεχνικής στο περιβάλλον μέσα στο οποίο γίνεται η διήθηση. Επίσης όταν επιτρέπεται από την φύση του σκευάσματος, συνιστάται η προσθήκη κάποιου βακτηριοστατικού παράγοντα στο διάλυμα. Για το σκοπό αυτό πρέπει:

- Ο ατμοσφαιρικός αέρας να έχει υποστεί κατεργασία για την απομάκρυνση της αιωρούμενης σκόνης και να έχει αποστειρωθεί.
- Όλα τα υλικά που χρησιμοποιούνται στην εργασία πρέπει να έχουν αποστειρωθεί επιμελώς.
- Το προσωπικό πρέπει να λαμβάνει ανάλογες προφυλάξεις εφαρμόζοντας τις απαιτήσεις της άσηπτης τεχνικής.

Για αποτελεσματική αποστείρωση συνιστάται η διήθηση να γίνεται με φίλτρα- μικροβιοκρατείς ηθμούς με μέγεθος πόρων <0.22μm, αφού τα βακτηρίδια έχουν μέγεθος μικρότερο από 0.2μm και οι σπόροι τους 0.5μm. Φίλτρα διήθησης μιας ή πολλαπλών χρήσεων, υπάρχουν από διάφορα υλικά σε πολλούς τύπους, όπως

- Φίλτρα από πορώδη πορσελάνη με διάφορα μεγέθη πόρων (πάχος /διάμετρο)
- Φίλτρα από γη διατόμων
- Φίλτρα από αμιάντο συμπίεσμένο με κυτταρίνη
- Φίλτρα από συντηγμένο γυαλί
- Φίλτρα από μεμβράνες με υλικό νιτρικούς ή οξικούς εστέρες της κυτταρίνης, πλαστικά πολυμερή, Teflon, κλπ, με μορφή δίσκων ή κυλίνδρων μιας χρήσης

Πλεονεκτήματα της αποστείρωσης με διήθηση αποτελούν:

- Η ταχύτητα της μεθόδου ιδιαίτερα για μικρές ποσότητες
- Η δυνατότητα αποστείρωσης θερμοευαίσθητων διαλυμάτων
- Η απομάκρυνση οποιουδήποτε μικροοργανισμού ζωντανού ή νεκρού και κάθε άλλου σωματιδίου στο διάλυμα
- Η σχετική απλότητα των συσκευών που χρησιμοποιούνται

Μειονεκτήματα της μεθόδου αποτελούν:

- Η παρουσία ρωγμής στο φίλτρο που δύσκολα ελέγχεται οπτικά
- Διαλύματα με υψηλό ιξώδες εμποδίζονται να διέλθουν από τα φίλτρα
- Μερικά φίλτρα μπορεί να απορροφούν συστατικά από το διάλυμα όπως η γη διατόμων
- Μερικά φίλτρα μπορεί να αλκαλοποιούν το υδατικό διάλυμα όπως τα φίλτρα αμιάντου

β) Αποστείρωση με ακτινοβολίες.

Στην αποστείρωση με ακτινοβολία χρησιμοποιούνται αφενός ακτινοβολίες ηλεκτρομαγνητικής φύσης υπεριώδεις και ακτινοβολία γ, και αφετέρου ακτινοβολίες σωματιδιακής φύσης με ηλεκτρόνια υψηλών ταχυτήτων όπως η ακτινοβολία β. Οι ακτινοβολίες β και γ είναι υψηλής ενέργειας και ανήκουν στις ιονίζουσες ακτινοβολίες. Η αποστείρωση με ακτινοβολία γίνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες και εφαρμόζεται στην αποστείρωση θερμοευαίσθητων υλικών και αντικειμένων.

➤ Υπεριώδης ακτινοβολία

Η υπεριώδης ακτινοβολία (UV ακτινοβολία) εκτείνεται στην περιοχή του φάσματος από 15 – 330 nm, αλλά αντιμικροβιακή δραστηριότητα εμφανίζει η περιοχή από 220-280 nm. Η καταστροφή των μικροβίων από υπεριώδη ακτινοβολία οφείλεται στην εκλεκτική απορρόφσή της από συστατικά του πυρήνα του μικροβιοκύτταρου. Εκεί παρεμποδίζει την αντιγραφή των χρωμοσωμάτων και οδηγεί σε διαταραχή βασικών χημικών ενδοκυττάρων αντιδράσεων, προκαλώντας τον θάνατο του μικροβίου. Η μικροβιοκτόνος αποτελεσματικότητα της υπεριώδους ακτινοβολίας εξαρτάται από το είδος του μικροοργανισμού και επιπλέον είναι συνάρτηση της έντασης και του χρόνου έκθεσης σε αυτή. Οι σπόροι είναι πιο ανθεκτικοί από τους μικροοργανισμούς και οι μύκητες από τα βακτηρίδια.

Η υπεριώδης ακτινοβολία για την αποστείρωση παράγεται από ειδικές λυχνίες ατμών υδραργύρου που εκπέμπουν ακτινοβολία στα 253,7 nm και χρησιμοποιούν ειδικό γυαλί για να διέρχεται η ακτινοβολία.

Κυριότερη εφαρμογή της υπεριώδους ακτινοβολίας είναι η ακτινοβολήση χώρων για την δημιουργία άσηπτων συνθηκών. Η αποστείρωση των επιφανειών αυτών των χώρων περιορίζεται σε αυτές που έρχονται σε άμεση επαφή και η αποστείρωση του αέρα γίνεται με ακτινοβολήση του αέρα, είτε πριν την εισοδό του στο χώρο της άσηπτης εργασίας, είτε μετά. Επίσης η υπεριώδης ακτινοβολία

έχει εφαρμοσθεί για την αποστείρωση του νερού που θα χρησιμοποιηθεί στην παρασκευή στεριών φαρμακευτικών προϊόντων, με την προϋπόθεση ότι το πάχος της μάζας του νερού είναι αυστηρά καθορισμένο.

Εκτός από τα παραπάνω οι υπεριώδεις ακτίνες έχουν χρησιμοποιηθεί για την ασηψία χώρων σε νοσοκομεία, σχολεία κλπ., για την αποφυγή μετάδοσης μολυσματικών ασθενειών. Έχουν χρησιμοποιηθεί επίσης για την αδρανιοποίηση ιών και βακτηριδίων κατά την παρασκευή των εμβολίων.

Βασικό μειονέκτημα της υπεριώδους ακτινοβολίας είναι ότι έχει μικρή διεισδυτική ικανότητα και δεν είναι αποτελεσματική σε ορισμένες περιπτώσεις. Έτσι για παράδειγμα η αιωρούμενη σκόνη δημιουργεί προστατευτικό κάλυμμα επάνω στα αιωρούμενα μικρόβια, τα οποία υπάρχουν σε πολλά σημεία του χώρου και δεν βρίσκονται σε άμεση επίδραση της ακτινοβολίας. Γι' αυτό πρέπει ο αέρας του χώρου που πρόκειται να αποστειρωθεί να έχει υποστεί διήθηση με φίλτρα για την κατακράτηση των σωματιδίων της σκόνης. Επίσης μεγάλη υγρασία απορροφά την ακτινοβολία με αποτέλεσμα αυτή να μην είναι αποτελεσματική, για αυτό η υγρασία του χώρου δεν πρέπει να ξεπερνά το 50%. Η υπεριώδης ακτινοβολία δεν χρησιμοποιείται για αποστείρωση ιατρικών αντικειμένων ή φαρμακευτικών σκευασμάτων.

Τα προσωπικό που εργάζεται σε χώρους με UV ακτινοβολία πρέπει να προφυλάσσεται, διότι οι ακτίνες UV προκαλούν ερυθρήματα στο δέρμα και ισχυρό ερεθισμό των οφθαλμών.

➤ **Ιονίζουσες ακτινοβολίες**

Όλοι οι τύποι ακτινοβολιών διαθέτουν το απαραίτητο ποσό ενέργειας για να προκαλέσουν ιονισμό. Για τους σκοπούς όμως της αποστείρωσης μόνο οι ακτίνες γ και τα ηλεκτρόνια υψηλών ταχυτήτων δηλαδή η ακτινοβολία β, εκπληρώνουν τους όρους που είναι απαραίτητοι:

- Έχουν αρκετή διαπερατότητα
- Δεν προκαλούν μεγάλες αλλοιώσεις στα ακτινοβολούμενα υλικά
- Έχουν υψηλή αποστειρωτική ικανότητα
- Είναι δυνατόν να παραχθούν σε μεγάλη κλίμακα για την αποστείρωση

Η ακτινοβολία γ λαμβάνεται από ραδιενεργά ισότοπα κοβαλτίου και καϊσίου.

Τα ηλεκτρόνια υψηλών ταχυτήτων παράγονται από μία συνθήκη πηγή ηλεκτρονίων και στην συνέχεια επιταχύνονται με κατάλληλα συστήματα.

Η καταστρεπτική επίδραση των ιονίζουσών ακτινοβολιών οφείλεται στον ιονισμό των κυτταρικών συστατικών των μικροβίων τον οποίο προκαλούν όταν απορροφηθούν από αυτά. Ο ιονισμός αυτός οδηγεί σε πλήρη αποδιοργάνωση του ενζυμικού μηχανισμού του μικροοργανισμού και στην πρόκληση μεταλλάξεων που οδηγούν στον θάνατο του μικροοργανισμού. Η ευαισθησία του μικροοργανισμού στην ιονίζουσα ακτινοβολία ποικίλει. Την μεγαλύτερη ευαισθησία παρουσιάζουν τα Gram αρνητικά βακτηρίδια και μικρότερη οι ιοί και οι σπόροι. Οι μύκητες και

τα Gram θετικά βακτηρίδια παρουσιάζουν ενδιάμεση ευαισθησία.

Η αντίσταση των μικροοργανισμών με αυτή τη μέθοδο αποστείρωσης είναι μεγαλύτερη σε υψηλή ξηρότητα και σε ατμόσφαιρα αζώτου ή από κενό, δηλαδή σε απουσία οξυγόνου. Η αντίσταση είναι μικρότερη με παρουσία οξυγόνου και σε υψηλές θερμοκρασίες. Τα αποτελέσματα της ακτινοβολίας είναι αθροιστικά και η δόση μπορεί να χορηγηθεί τμηματικά

Οι ιονίζουσες ακτινοβολίες χρησιμοποιούνται κυρίως βιομηχανικά για την αποστείρωση πολλών θερμοευαίσθητων από πλαστικό ή καουτσούκ προϊόντων, ιατρικών αντικειμένων και εξοπλισμού, όπως είναι σύριγγες, καθετήρες, γάντια ράμματα, αυτοκόλλητοι επίδεσμοι, τρυβλία petri, χειρουργικά εξαρτήματα, κλπ.. Η μέθοδος βρίσκει εφαρμογή σε αποστειρώσεις ιστών όπως μετά από χειρουργική αφαίρεση κακοήθων όγκων και πλάσματος αίματος. Επίσης βιταμίνες, ορμόνες και αντιβιοτικά έχουν αποστειρωθεί με ακτινοβολία Δεν μπορούν να αποστειρωθούν φαρμακευτικά σκευάσματα και κυρίως υδατικά διαλύματα φαρμάκων λόγω της εκτεταμένης διάσπασης ή αδρανιοποίησης του φαρμάκου που προκαλείται από την ραδιόλυση του νερού.

Για να ελαττωθούν οι ανεπιθύμητες ενέργειες έχουν αναπτυχθεί ποικίλες τεχνικές, οι οποίες εφαρμόζονται κυρίως στην αποστείρωση τροφίμων και έχουν σκοπό την ελάττωση του προκαλούμενου βαθμού ιονισμού.

B. Χημικές μέθοδοι

Αποστείρωση με αέρια

Πολλά στερεά υλικά, αλλά και **φαρμακευτικές ουσίες** ευρισκόμενες σε στερεά κατάσταση αποστειρώνονται όταν εκτίθενται στην επίδραση ενός χημικού αερίου τοξικού για τα μικρόβια. Η αποστείρωση με αέρια έχει πρακτική εφαρμογή κυρίως σε απολυμάνσεις χώρων, εργαλείων και άλλων υλικών και λιγότερο σε αποστείρωση φαρμακευτικών προϊόντων. Με την μέθοδο αυτή αποστειρώνονται στερεές μορφές δραστικών συστατικών, ενζύμων, αντιβιοτικών, εάν εξασφαλιζέται ότι αυτές δεν αντιδρούν χημικά με το αέριο που χρησιμοποιείται. Δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν αέρια για να αποστειρωθούν διαλύματα, αλοιφές και άλλες φαρμακοτεχνικές μορφές στις οποίες δεν μπορεί να εισέλθει το αέριο.

Σε αντίθεση με τη θερμότητα οι σπόροι των βακτηρίων παρουσιάζουν σχετικά μικρή ανθεκτικότητα περίπου 5 φορές σε σχέση με τις μορφές των βακτηρίων.

Η εφαρμογή της μεθόδου απαιτεί ειδικούς θαλάμους στους οποίους ελέγχεται η θερμοκρασία, η υγρασία, η συγκέντρωση του αερίου και ο χρόνος έκθεσης της ουσίας που αποστειρώνεται. Οι ιδιότητες που πρέπει να έχει το αέριο είναι:

- Να διαχέεται εύκολα, να διεισδύει σε βάθος και να απομακρύνεται γρήγορα και πλήρως στο τέλος της αποστείρωσης
- Να είναι άκαυστο

- Να μην είναι εκρηκτικό
- Να είναι αβλαβές
- Να είναι οικονομικό
- **Να αποθηκεύεται εύκολα**

Τα σημαντικότερα αέρια που έχουν χρησιμοποιηθεί για την αποστείρωση χώρων ή υλικών είναι το αιθυλενοξειδίο (ΕΤΟ), η φορμαλδεύδη, το προπυλενοξειδίο και η προπιολακτόνη.

α) Αιθυλενοξειδίο (ΕΤΟ)

Το αέριο που χρησιμοποιείται κυρίως είναι το αιθυλενοξειδίο (ΕΤΟ). Το ΕΤΟ ασκεί ισχυρή **αντιμικροβιακή δράση**, δεσμεύοντας βασικές ομάδες των κυριότερων συστατικών του μικροβιακού κυττάρου. Η **αντίσταση** των μικροβίων στο ΕΤΟ επηρεάζεται από την θερμοκρασία, το χρόνο έκθεσης και τη συγκέντρωση του αερίου, την σχετική υγρασία, το είδος του υποστρώματος και το είδος του μικροβίου. Σε χαμηλή υγρασία 10%, η μικροβιοκτόνος δράση του ΕΤΟ είναι πολύ μικρή, ενώ για υγρασία 30-50% εμφανίζει το μέγιστο της δράσης του.

Βασικό **μειονέκτημα** του αερίου αιθυλενοξειδίου είναι ο σχηματισμός εκρηκτικών μίγμάτων με το οξυγόνο του αέρα όταν βρίσκεται σε αναλογία μεγαλύτερη από 3% στον αέρα. Για το λόγο αυτό το αιθυλενοξειδίο χρησιμοποιείται σε μίγμα με αδρανή αέρια και κυρίως αλογονωμένους υδρογονάνθρακες όπως CCl_2F . Για να αποφεύγονται τα εκρηκτικά μίγματα με τον αέρα στο θάλαμο αποστείρωσης δημιουργείται κενό πριν την εισαγωγή του μίγματος των αερίων.

Άλλο **μειονέκτημα** του ΕΤΟ είναι η τάση του να προσροφάται από τα διάφορα υλικά και γι' αυτό πρέπει να απομακρύνεται μετά το τέλος της αποστείρωσης. Τα πλαστικά και ιδιαίτερα το πολυβινυλοχλωρίδιο προσροφούν μεγάλα ποσά ΕΤΟ μέσα στη μάζα τους και λόγω της μεγάλης τοξικότητας του αερίου δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν, αν δεν απομακρυνθεί αυτό. Η απομάκρυνση επιτυγχάνεται με διατήρηση των υλικών σε ατμόσφαιρα κενού επί 2ώρες αμέσως μετά την αποστείρωση. Η πλήρης απομάκρυνση του αερίου από τα υλικά με καλό αερισμό επιβάλλεται, γιατί μπορεί να προκαλέσει δερματίτιδες και αιμολυτικά φαινόμενα με την εξωτερική και εσωτερική χρήση των υλικών αντίστοιχα.

β) Φορμαλδεύδη

Η φορμαλδεύδη υστερεί απέναντι στο ΕΤΟ ως προς τη διαπερατότητα. Σε επαφή με οργανικές ενώσεις είναι πολύ ερεθιστική και απομακρύνεται δύσκολα από τα υλικά λόγω της προσροφητικότητάς της. Για αυτό η χρήση της περιορίζεται στην απολύμανση χώρων που είναι ύποπτοι φορείς μολυσματικών ασθενειών. Χρησιμοποιείται είτε με τη μορφή δισκίων παραφορμαλδεύδης, τα οποία θερμαίνονται και αναδίδουν τους ατμούς της, είτε με τη μορφή διαλύματος το οποίο αναδίδει ατμούς με προσθήκη KMnO_4 .

γ) Προπυλενοξειδίο

Είναι περισσότερο εύχρηστο από το αιθυλενοξειδίο και λιγότερο εκρηκτικό, αλλά απαιτούνται μεγαλύτερες συγκεντρώσεις για αποστείρωση.

δ) Προπιολακτόνη

Οι ατμοί της έχουν υψηλή βακτηριοκτόνο επίδραση, αλλά καταστρέφουν και τα πλαστικά. Η χρήση της έχει ανασταλεί διότι υπάρχουν υποψίες ότι προκαλεί καρκίνο στο δέρμα πειραματόζωων.

3. ΑΣΗΠΗΤΗ ΤΕΧΝΙΚΗ

Η **άσηπτη τεχνική** αποτελεί μία τεχνική και όχι **μέθοδο αποστείρωσης**. Με την άσηπτη τεχνική παρασκευάζεται ένα φαρμακευτικό σκεύασμα κάτω από συνθήκες που είναι προσεκτικά οργανωμένες και ελεγχόμενες, έτσι ώστε να προλαμβάνεται η είσοδος μικροοργανισμών και αδρανών σωματιδίων στο σκεύασμα αυτό. Η παρασκευή αυτών των σκευασμάτων είναι δύσκολη και ακριβή διαδικασία η οποία απαιτεί κατάλληλα εκπαιδευμένο προσωπικό, ειδικά σχεδιασμένο εξοπλισμό και ελεγχόμενο περιβάλλον εργασίας. Η άσηπτη τεχνική επιβάλλεται όταν λόγω της φύσης της φαρμακευτικής ουσίας δεν είναι δυνατόν αυτή να αποστειρωθεί στον τελικό περιέκτη με θέρμανση, όπως για παράδειγμα η άσηπτη τεχνική ακολουθείται κατά την αποστείρωση με διήθηση.

Τα προϊόντα που παράγονται με αυτή την τεχνική αναφέρονται σαν **ασηπτικάς παρασκευαζόμενα** και παράγονται σε **ασηπτικούς χώρους**. Ο ασηπτικός χώρος είναι ένας καθαρός χώρος ο οποίος έχει σχεδιαστεί, κατασκευασθεί και χρησιμοποιείται έτσι, ώστε να παρεμποδίζεται η μικροβιακή μόλυνση του προϊόντος. Οι μικροοργανισμοί και τα αδρανή σωματίδια λαμβάνονται υπόψη κατά την σχεδίαση αυτών των καθαρών χώρων. Οι πιθανές πηγές **επιμόλυνσης των ασηπτικών (καθαρών) χώρων** είναι:

- Η **ατμόσφαιρα**. Η ατμόσφαιρα περιέχει τεμαχίδια σκόνης τα οποία μεταφέρουν μικροοργανισμούς. Επιπλέον σε κλειστούς χώρους περιέχει και μικρόβια ανθρώπινης προέλευσης στον αέρα από το δέρμα και τα ρούχα, αλλά και που εκσφενδονίζονται με την ομιλία, τον βήχα και το φτέρνισμα. Για να αποφευχθεί η αύξηση του αριθμού των μικροβίων ο αερισμός των ασηπτικών χώρων γίνεται με κατάλληλο σύστημα, έτσι ώστε ο αέρας να απαλλάσσεται από μικροοργανισμούς περνώντας μέσα από μικροβιοκτατείς ηθμούς. Η πλεον στους άσηπτους χώρους είναι λίγο μεγαλύτερη της ατμοσφαιρικής. Το καλύτερο σύστημα αερισμού για τους χώρους αυτούς αποτελεί το «Laminar-air flow», δηλαδή ρεύμα αέρος που εισέρχεται στον άσηπτο χώρο με ομοιόμορφη ταχύτητα και μορφή παράλληλων στρωμάτων, μέσω ενός ηθμού HEPA, ο οποίος έχει μεγάλη ικανότητα κατακράτησης των αιωρούμενων σωματιδίων. Λαμπτήρες υπεριώδους ακτινοβολίας τοποθετημένοι κατάλληλα σαρώνουν τον χώρο και εξασφαλίζουν την απολύμανσή του.
- Το **προσωπικό**. Το δέρμα, τα μαλλιά και τα ρούχα των εργαζομένων στους καθαρούς χώρους αποτελούν πηγή μικροβιακής ή μολυσματικής επιμόλυνσης. Για αυτό και τα πρόσωπα που εργάζονται στο χώρο φορούν αποστειρωμένη

ενδυμασία η οποία περιλαμβάνει και κάλυμμα της κεφαλής, μάσκα προσώπου, καλύμματα ποδιών και γάντια μιας χρήσης. Η όλη στάση του προσωπικού, η εμπειρία, η προσοχή και η κατανόηση των προβλημάτων της τεχνικής, καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό την παρουσία ή όχι μικροοργανισμών στα τελικά προϊόντα.

- **Οι πρώτες ύλες.** Όλα τα υλικά που εισάγονται στον χώρο πρέπει να είναι στείρα. Το νερό μπορεί να γίνει πηγή επιμόλυνσης εάν έχει δεν επεξεργαστεί και αποθηκευτεί σωστά. Η φύση και η προέλευση των συστατικών, ιδιαίτερα στα φάρμακα φυτικής προέλευσης, μπορεί να αποτελέσουν πηγή μικροβιακής μόλυνσης, σε αντίθεση με τα συνθετικά παραγόμενα φάρμακα που είναι ελεύθερα μικροοργανισμών. Όλες οι ουσίες, οι διαλύτες και τα αντικείμενα όπως περιέκτες, βαλβίδες, πώματα, αποστειρώνονται είτε με θέρμανση είτε με μικροβιοκρατείς ηθμούς πριν εισέλθουν στον χώρο.
- **Ο εξοπλισμός.** Όλα τα χρησιμοποιούμενα σκεύη είναι αποστειρωμένα. Οι επιφάνειες των δαπέδων, των εργαστηριακών τραπεζών και των συσκευών μπορεί να αποτελέσουν πηγή επιμόλυνσης λόγω επικαθάμισης σε αυτές τις επιφάνειες σωματιδίων και σταγονιδίων από την ατμόσφαιρα. Για αυτό το λόγο απολυμαίνονται μετά από κάθε χρήση.

Η επιμόλυνση των σκευασμάτων με μικροοργανισμούς έχει διπλή συνέπεια.

Αφενός εγκυμονεί κινδύνους για την υγεία του ασθενή που θα χρησιμοποιήσει το σκεύασμα και αφετέρου επηρεάζεται η σταθερότητα και η αποτελεσματικότητα των ίδιων των σκευασμάτων.