

STERILIZAREA

1. GENERALITĂȚI

Microorganismele trăiesc în mediul înconjurător în prezența anumitor factori fizici, chimici și biologici care influențează în mod favorabil sau defavorabil dezvoltarea și înmulțirea lor. De-a lungul timpului, omul a învățat să selecteze acei factori care să-i permită distrugerea speciilor patogene sau selectarea speciilor folositoare.

În cele mai vechi civilizații s-au cunoscut practici care au prevenit alterarea alimentelor, putrefacția cadavrelor, fără a se cunoaște rolul microorganismelor în aceste procese. Astfel, alimentele perisabile au fost conservate prin adaus de sare, uleiuri aromatice, afumare sau fermentație acidă. Conservele au apărut cu 50 de ani înaintea cercetărilor lui Pasteur, fără a fi fost lămurit principiul care stă la baza lor. La începutul secolului al XVIII-lea s-a folosit pentru prima oară clorura de var și fenolul pentru dezodorizarea gunoaielor și în final pentru curățirea plăgilor, fără a se cunoaște acțiunea bactericidă a acestor substanțe.

Tehnicile de sterilizare s-au dezvoltat inițial în laboratoare pentru a permite izolarea miocrobilor în culturi pure, ele fiind apoi rapid preluate de toate specialitățile medicale pentru a preveni răspândirea infecțiilor.

Prin termenul de *sterilizare*, care este un termen absolut, se înțeleg procedeele fizice și chimice care elimină toți germenii viabili (bacterii, spori, fungi, virusuri, paraziți) de pe un obiect. Se desemnează ca steril un obiect care a fost supus unui procedeu de sterilizare și protejat în mod corespunzător pentru a preveni contaminarea sa.

Se folosesc, în principiu, 4 metode de sterilizare:

- a) **sterilizarea prin caldură;**
- b) **iradierea cu raze UV sau raze ionizante;**
- c) **filtrarea prin filtre bacteriologice care rețin bacteriile din lichidele ce nu pot fi supuse temperaturilor ridicate;**
- d) **sterilizarea chimică, metodă evitată în general deoarece doar câțiva dezinfecțanți, foarte toxici și iritanți (ca de exemplu, formaldehida, oxidul de etilen etc.) folosiți în condiții riguros controlate, sunt capabili să omoare toate formele de viață inclusiv**

sporii, fără a deteriora obiectele de sterilizat.

Trebuie specificat, însă, că sterilizarea nu este identică cu distrugerea fizică a bacteriei, cu toate că cele două noțiuni se folosesc des una în locul celeilalte. Acest aspect este foarte important, deoarece soluțiile perfuzabile, care sunt sterile dar conțin bacterii omorâte, a căror produși de degradare au efecte pirogene (febră și frisoane), dau reacții toxice a căror gravitate merge până la starea de șoc.

Deci, apa și lichidele care vor servi la prepararea soluțiilor injectabile sau perfuzabile trebuie să fie nu numai sterile, dar să aibă un grad pronunțat de puritate.

a) STERILIZAREA PRIN CALDURĂ

- Microorganismele sunt distruse la temperaturi ridicate într-un timp care depinde de mai mulți factori:

- temperatura, care este invers proporțională cu timpul necesar expunerii bacteriilor,
- numărul microorganismelor și al sporilor, elemente ce afectează rapiditatea sterilizării,
- specia și proprietatea de a sporula a microorganismelor,
- materialul în care este cuprins microorganismul. Un conținut ridicat de substanțe proteice, zaharuri, lipide, amidon, acizii nucleici sau uleiuri protejează sporii și formele vegetative de acțiunea căldurii,
- pH-ul. Rezistența maximă a sporilor la caldura se situează la un pH de 7 și scade o dată cu creșterea acidității sau alcalinității,
- condițiile în care are loc sporularea. Se pare că sporii formați în habitatul natural al microbilor sunt mai rezistenți la caldura decât cei obținuți pe mediile de cultură.

- Sensibilitatea microorganismelor la caldura se poate exprima prin:

- **punctul termic letal**, care se definește ca cea mai joasă temperatură care distruge bacteriile dintr-o cultură cu densitate dată în 10 minute. Pentru *E.coli* valoarea se situează la 55°C, pentru bacilul tuberculos la 60°C, iar pentru majoritatea sporilor la 120°C;
- **timpul termic letal**, care se definește ca timpul minim în care are loc distrugerea bacteriilor la o temperatură dată.

a1) Sterilizarea prin caldura uscată

Caldura uscată omoară microorganismele prin oxidarea distructivă a componentelor celulare a bacteriilor. Cei mai rezistenți spori sunt distruși de

căldura uscată la 160°, timp de 60 de minute. Sporii fungilor sunt distruși în 60 de minute la 115°C, iar cei bacterieni sunt distruși în 60 de minute la temperaturi cuprinse între 120-160°C. În laboratorul de microbiologie se utilizează următoarele tehnici de sterilizare:

- *încălzirea la roșu* în flacără a obiectelor - se aplică anselor bacteriologice în laboratorul de microbiologie;
- *flambarea* (trecerea prin flacără pentru câteva secunde) - se aplică gâtului baloanelor, eprubetelor după deschiderea și înainte de închiderea lor, pipetelor înainte de utilizare pentru a preveni contaminarea cu germeni din aer;
- *sterilizarea la pupinel*. **Pupinelul sau cuptorul cu aer cald** este o cutie metalică cu pereți dubli între care se găsește un strat de azbest care împiedică pierderile de caldură, o sursă de caldură care este energia electrică și un termoregulator. În interior, pupinelul este prevăzut cu rafturi pentru obiectele de sterilizat.

Temperatura de sterilizare la pupinel este de 180°C timp de 60 de minute.

La pupinel se sterilizează întreaga sticlărie de laborator, instrumentarul de stomatologie, seringi fără armatură metalică, pudre, uleiuri etc. Pupinelul nu trebuie să fie supraîncărcat, pentru ca aerul să poată circula nestingherit printre obiectele de sterilizat.

- *sterilizarea cu raze infraroșii* este folosită pentru sterilizarea seringilor fără armatură metalică la o temperatură de 180°C. Sterilizarea se poate efectua și la 200°C în vid, aplicându-se instrumentelor chirurgicale.

a2) Sterilizarea prin caldură umedă

Căldura umedă este mai eficientă decât căldura uscată, distrugând bacteriile la o temperatură mai scăzută și timp mai scurt. Formele vegetative a majorității bacteriilor, fungilor și virusurilor sunt omorâte de căldura umedă în 10 minute la temperaturi cuprinse între 50°C (*Neisseria gonorrhoeae*) și 65°C (*Staphylococcus aureus*). O susceptibilitate deosebită față de căldura o prezintă *Treponema pallidum*, care este distrusă în 10 minute la 43°C.

O parte din virusurile animale au o rezistență crescută față de căldura umedă, ca, de pildă, virusul poliomieltic care este inactivat la 60°C după 30 de minute, și virusul hepatitei B care dacă se află în ser rezistă 10 ore la 60°.

Omorârea microorganismelor prin căldura umedă se produce prin coagularea proteinelor structurale și inactivarea enzimelor, cu participarea apei. Cei mai rezistenți spori sunt distruși prin expunere la căldura umedă la 121° timp de 30 de minute.

- fierberea este de fapt o metodă de dezinfectie deoarece ea nu distruge toate formele sporulate. Se efectuează la 100°C timp de 30 de minute și se aplică seringilor și instrumentelor de mică chirurgie atunci când nu este posibilă altă metodă. Fierberea se mai folosește în epidemii la sterilizarea apei.
- pasteurizarea a fost introdusă de Louis Pasteur pentru conservarea vinului, fiind utilizată și acum pentru sterilizarea unor alimente lichide care nu suportă temperaturi prea ridicate (lapte, bere, sucuri de fructe). Metoda constă în încălzirea lichidului la 62°C pentru 30 de minute (pasterizare joasă), 71°C 15 minute (pasteurizare medie), 80-85°C 3-5 minute (pasteurizare înaltă). Pasteurizarea este o metodă eficientă deoarece bacteriile patogene care se pot dezvolta în lapte (*Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella*, *Streptococcus* și *Brucella*) nu sunt bacterii sporulate, numărul lor reducându-se după pasteurizare cu 97-99%.
- tyndalizarea constă în încălzirea produsului de sterilizat 3 zile la rând, în baie de apă la 56-100°C câte 60 de minute. Temperatura se alege în funcție de produsul de sterilizat. Metoda se aplică lichidelor care nu suportă temperaturile ridicate, ca de exemplu: vaccinuri.
- autoclavarea este metoda folosită pentru instrumentarul de chirurgie iar în laboratoarele de microbiologie pentru sterilizarea mediilor de cultură și a materialului infecțios. Sterilizarea are loc într-o atmosferă saturată de vapori de apă la 121°C, la o presiune de 1 atm, timp de 20-30 de minute, în aparate speciale numite autoclave sau la 134 °C, la o presiune de 2 atm. 10-15 minute.

b) STERILIZAREA PRIN RADIATII

b1) Razele neionizante

Razele ultraviolete. Puterea bactericidă a razelor luminoase devine perceptibilă la o lungime de undă de 330nm, crescând pe măsura scăderii lungimii de undă a luminii UV. Mecanismul bactericid al razelor UV constă în alterarea replicării ADN-ului bacteriei, deci împiedicarea multiplicării acesteia.

În scop practic, lămpile cu vapori de mercur care produc raze UV se folosesc pentru a reduce numărul de bacterii existente în aer în sălile de operație, în laboratoare, în încăperi în care sunt adăpostite animale de experiență etc.

b2) Radiațiile ionizante

Radiațiile ionizante de tipul *radiațiilor gamma* sunt folosite pe scară largă pentru sterilizarea materialelor medicale de unică folosință.