

# STERILEZÉS, DEZINFICIÁLÁS

Krizsán Gergely dr.

# Mikrobák inaktiválása

## □ Extracorporalisan:

- Sterilizálás
- Dezinficiálás

## □ Intracorporalisan:

- Antibiotikumok/antimikrobás szerek
- Kemoterapeutikumok

# Sterilizálás és dezinficiálás

- **Sterilizálás: teljes csíramentesítés**
  - ▣ Baktericid, virucid, fungicid, paraziticid, sporocid hatás
  - ▣ **Steril anyag:** élő mikroorganizmus nem tenyészthető ki
  
- **Dezinficiálás: részleges csíramentesítés**

# Sterilizálás: Fizikai módszerek I.

## □ 1., Hő

### □ a) Égetés

- **Elégetés** 1000 °C feletti hőmérsékleten
  - műtéti hulladék, kötszer, kísérleti állatok, egyéb veszélyes hulladékok
- **Leégetés, izzítás:** fémek (üveg)

### □ b) Száraz hő: több óra, magas hőmérséklet

- Hőlégsterilizálás **hőlégszekrényben:**

**180 °C 1 h vagy 160 °C 2 h vagy 140 °C 3 h**

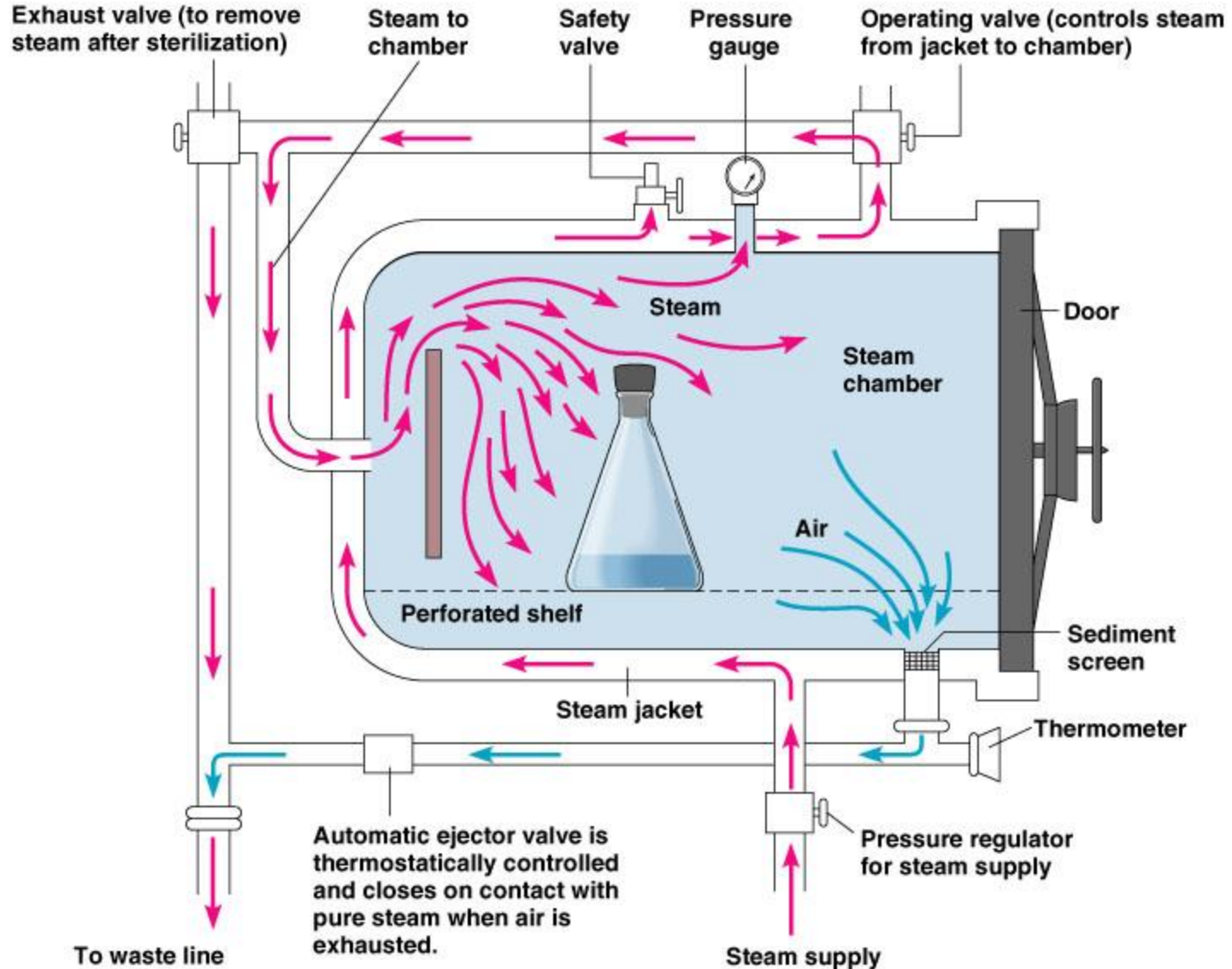
- üvegeszközök, bizonyos orvosi eszközök, nem gyúlékony anyagok
- Ventilátoros és cirkulációs típus



# Sterilizálás: Fizikai módszerek II.

- c) Nedves hő: jobb hővezető képesség, nagyobb hőkapacitás → rövidebb idő is elég
  - **Autokláv**: túlnyomásos vízgőz
    - Egyköpenyes és kétköpenyes típus
    - Kötszerek, textíliák, táptalajok, ultrapasztörözött italok tartósítása
  - **Paraméterek**:  
**121 °C, +1 atm, 30' vagy 134 °C, +2 atm, 10'**
- Hideg(hatás) nem használható (vírusok, spórák, gombák: teljes túlélés, baktériumok: részleges túlélés)

# Az autokláv szerkezete I.



# Az autokláv szerkezete II.



# Sterilizálás: Fizikai módszerek III.

## □ 2., Sugárzások

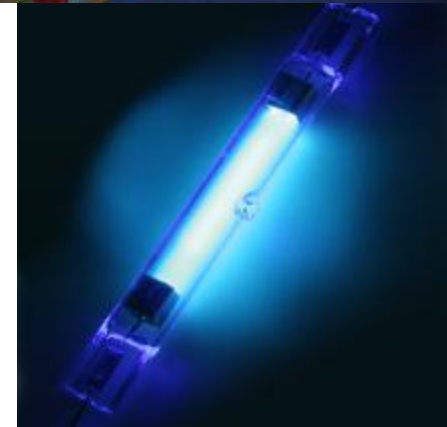
### □ a) $\gamma$ -sugárzás

- $^{60}\text{Co}$ -izotóp alkalmazásával
- Vízmolekulák ionizációja
- Veszélyes és drága
- De: hőérzékeny anyagok is sterilizálhatók
- Egyszer használatos orvosi eszközök

### □ b) UV-sugárzás: germicid lámpák

- Műtők, laborok légterének csíramentesítése

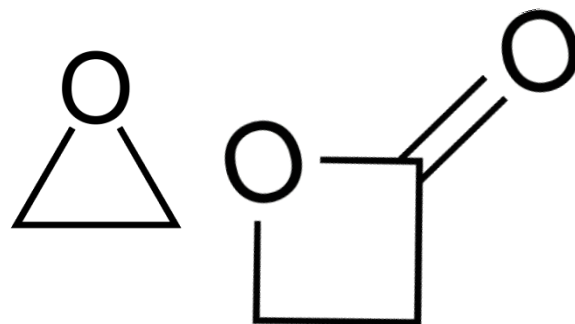
### □ (Mikrohullám)



# Sterilizálás: Kémiai módszerek I.

## □ 1., Gázsterilizálás

- Régen **etilén-oxid**, ma  **$\beta$ -propiolakton**
- Reaktív, alkiláló vegyületek
- Alacsony hőmérsékleten is használható
- Viszonylag olcsó
- De: karcinogén, napokig tartó szellőztetést igényel (min. 48 h)
- Laboratóriumi eszközök, helyiségek, műanyag eszközök, gyógyszerek



## □ 2., Vegyszeres hidegsterilizálás

- **Glutáraldehid** (*Gludesin*-oldat)
- **Billman-oldat** ( $I_2$ , KI és  $H_2CO$  vizes oldata)
- Célpont: fehérjék
- Sterilizálási idő: 3 h
- Kötszerek

# Sterilizálás: Kémiai módszerek II.

## 3., Plazmasterilizálás

- ionok és szabadgyökök gáz halmazállapotban
- $\text{H}_2\text{O}_2$  porlasztása vákuumba  $\rightarrow$  telített  $\text{H}_2\text{O}_2$  felhő keletkezik
- Nagyfeszültségű elektródokkal plazma előállítása
- Alacsony hőmérsékleten működik
- Fémek, műanyagok, hőérzékeny anyagok
- Textíliákhoz, cellulózhoz nem használható
- Drága és energiaigényes
- Nincs toxikus termék,  $\text{H}_2\text{O}$  és  $\text{O}_2$  keletkezik



# A sterilizálás folyamata

- Fizikai tisztítás: áztatás detergens-oldatokban
- Megfelelő csomagolás
- **Ellenőrzés fizikai paraméterek alapján:** hőmérséklet (termoregulátor, időkapcsoló), gáztér nyomása (manométer), idő, nedvességtartalom
- **Ellenőrzés kémiai indikátorokkal:** színváltozás adott paraméter adott mértékű változásakor
- **Biológiai ellenőrzés**, a sterilizálási dózis meghatározásához (pl. *B. stearothermophilus* spóra vagy kioltás táptalajra)
- Ha a spórák inaktiválódtak, akkor minden más is elpusztult, kivéve: **prionok!**

# A prionokról

- **Csak fehérjét tartalmazó infektív ágensek („protein only”)**
- Jellemző szerkezet:  $\beta$ -lemezek, natív fehérjéket is képesek módosítani
- **Magas szintű hőrezisztencia**
- Az idegszövet progresszív pusztulását okozzák
- Átvitel: idegsebészeti eszközökkel, dura-transzplantátummal, humán GH-készítményekkel
- Pl. kuru, *Creutzfeldt-Jakob*-kór (CJD)

**Do you kuru?**



**Smart cannibals don't eat brains!**

(A public service announcement from the Association for Informed Anthropophagy and the Cannibal Anti-Defamation Society)

# A prionmentesítés folyamata

- **Tisztítás** detergens-oldattal
- **Áztatás:** 1 N NaOH (aq) vagy 5 t% NaOCl (aq), 2 h (vagy 2 N NaOH (aq), 1 h)
- **Autokláv:** 134 °C, +2 atm, 1 h
- **Áztatás** ismétlése
- **Autokláv** ismétlése

# Fertőtlenítés

- **Cél: patogének csíraszámának csökkentése, inaktiválásuk, így a fertőzések megelőzése**
  - Szappanos kézmosás vs. sebészi bemosakodás
- **Dezinficiensok:** élettelen felületek, tárgyak fertőtlenítése
  - Igen toxikus, izgató, maró anyagok
- **Antiszeptikumok:** bőr és nyálkahártyák fertőtlenítése

# Fertőtlenítés: fizikai módszerek I.

## □ 1., Nedves hő

- a) Kifőzés: forró vízben 20-30'
  - Nem steril orvosi eszközök
  
- b) Áramló gőz: *Arnold*-készülék, 100 °C 30-60'
  - Szilárd táptalajok olvasztása
  
- c) Pasztörözés: 65 °C 30' vagy 85 °C 5'
  - Folyadékok csíraszámának csökkentése, pl. élelmiszerek
  
- d) Tyndallozás: frakcionált sterilizálás, 85 °C 30' majd lehűtés többször váltakozva
  - Sporuláció-germináció
  - Hőérzékeny táptalajok

# Fertőtlenítés: fizikai módszerek II.

## □ 2., Mechanikus módszerek

### □ a) Szűrés: 0,1-0,4 $\mu\text{m}$ pórusméret

- Hőérzékeny folyadékok
- Vírusok, bizonyos baktériumok átjutnak
- Adszorpciós hatás: újra felhasználhatók
- Szitahatás: a szűrendő oldatok összetétele változatlan
  - Infúziós oldatok, táptalajok

### □ b) Ultrahang

- Üvegeszközök tisztítása (sejtek feltárása)

# Fertőtlenítés: kémiai módszerek

- **1., (viszonylag) Erős savak/bázisok:** fehérjék denaturációja
  - Savak: ecetsav, tejsav, citromsav, propionsav; krómkénsav
- **2., Erős oxidálószer**
  - $H_2O_2$
  - Halogének és vegyületeik: jódtinktúra, jodofórok; klóramin-B, Neomagnol, Hypo
- **3., Detergensek:** membránkárosítás
  - Anionaktív: alacsonyabb hatékonyság!
  - Kationaktív: invert szappanok
- **4., Fenolok, alkoholok:** membránkárosítás
  - fenol: *Lister* (1867)
  - Fenolok: krezol, klórhexidin
  - Alkoholok: etanol, izopropanol
- **5., Nehézfémionok:** funkciós csoportokra hatnak (fehérjékben), pl. Hg, Ag (*Credé*-féle szemcsepp)
- **6., Alkilálószer:** pl. formaldehid
  
- **A hatás függ:**
  - Kémiai minőség, koncentráció, behatási idő
  - pH, mikrobák mennyisége és jellege, szennyezettség
  
- **Bakteriosztatikus és baktericid hatás**

# A fenol-koefficiens

- **Megmutatja, hogy az adott dezinficiens erőssége hogyan viszonyul a fenoléhoz**
- Fenolból és a kérdéses dezinficiensből desztillált vízzel hígítási sor készítése
- 24 órás tenyészetek beoltása (pl. *E. coli*, *S. aureus*)
- Kioltások 5 és 10 perc múlva lemezagar táptalajra
- 24 ill. 48 órás inkubáció után a növekedés vizsgálata
- Annak a hígításnak a megkeresése, amely 5 perc után még nem, de 10 perc után már gátolja a növekedést
- Az adott szer így megállapított hígítását osztva a fenol ugyanígy megállapított hígításával kiszámítható a fenol-koefficiens

# A kontaminált hulladékok kezelése

- Tűmegsemmisítők
- Elkülönítve a kommunális szeméttárolóktól



# Gyógyszerek tisztasága

- Alapvető követelmény:  
**csíra- és pyrogen-mentesség**
- Pyrogen = lázkeltő anyag, sokkot idézhet elő
  - ▣ Bakteriális komponensek: pl. endotoxinok (hőrezisztens!)
  - ▣ *In vivo* vizsgálat: nyulak
  - ▣ *In vitro* vizsgálat: LAL
  - ▣ „Az antibiotikumok nem antipiretikumok!”

# LAL-teszt

- *Limulus polyphemus*: ősi rákfaj (élő kővület)
- **LAL = Limulus Amoebocyta Lizátum-teszt**
- Endotoxin kimutatására szolgál
- Páncélján keresztül kinyerhető a haemolympha
- Az „amoebocyta” sejtek (fehérvérsejt lizátum) granulumaiban proenzim
- LPS hatására keletkezik az aktív koaguláz
- Az aktivált enzim a koagulogén monomert koagulin polimerré alakítja, alvadás következik be
- Módszerek: gélkoaguláció, spektrofotometria,  
turbidimetria



# Modifikáció, mutáció, reverzió

## □ **Modifikáció:**

- Fenotípusos változás
- Az egész populációt érinti
- Reverzibilis
- Rövid távú adaptációhoz szükséges
- Nem öröklődik

## □ **Mutáció:**

- Genotípusos változás
- Csak a mutált sejtet érinti
- Irreverzibilis
- Szelekciót tesz lehetővé
- Öröklődik

## □ **Reverzió:**

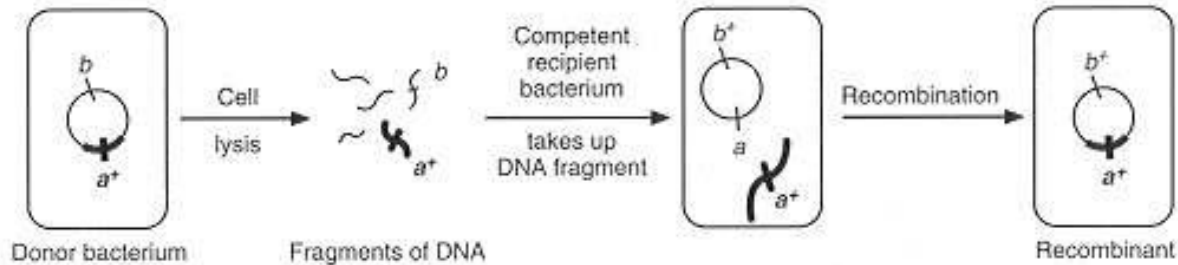
- A mutáns gén visszaalakulása az eredeti, vad változattá
- **Veszély: attenuált kórokozót tartalmazó vakcinák**

# A génátvitel módjai I.

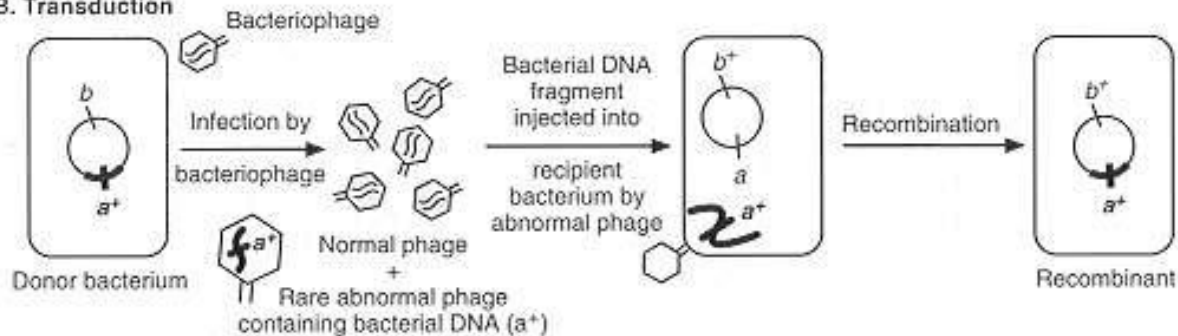
- **Konjugáció:** plazmidok (F-faktor)
  - Extrakromoszómális cirkuláris DNS
  - Donor és akceptor (plazmidprofil)
  - Virulencia- és rezisztencia (R-) plazmidok
  - F-típus: sex-pilus → plazmahíd
  - Hfr-törzsek: integráció a kromoszómába
  - F'-plazmid: szexdukció (részleges diploidia)
  - Főleg *Gram*-negatív baktériumokban
- **Transzdukció:** (bakterio)fágok
  - Litikus ciklus vagy lizogén konverzió
  - Utóbbi: temperált fágok; profág kialakulása
  - LFT-HFT
  - Pl. *Corynebacterium diphtheriae*: diphtheria toxin ill. *Streptococcus pyogenes*: erythrogen toxin
- **Transzformáció:** szabad DNS
  - Felvétel: kompetens állapotban
  - Pl. *Streptococcus pneumoniae* tokjának kifejeződése
- **Transzpozonok:** mobilis genetikai elemek

# A génátvitel módjai II.

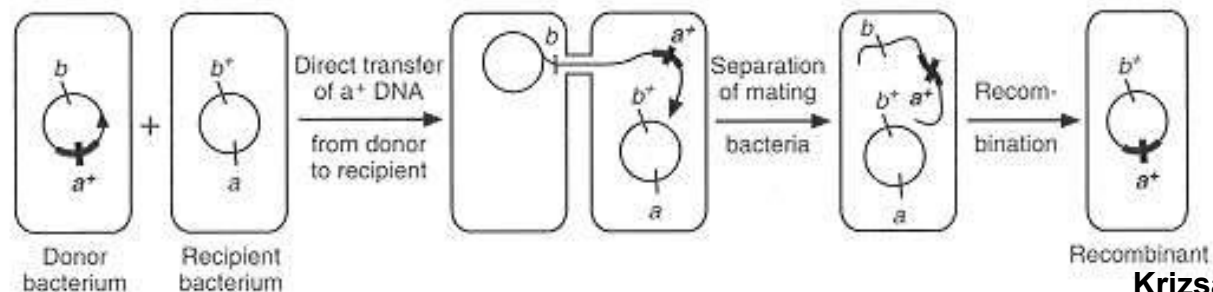
## A. Transformation



## B. Transduction



## C. Conjugation



# DNS-rekombinációs technikák

- Homológ rekombináció
  - Hfr-konjugáció
  - Transzdukció
  - Transzformáció
- Hely-specifikus rekombináció
- Transzponálódó elemek
  - Transzpozonok (rezisztencia-gének)
  - Inzerciók szekvenciák (IS)
- Patogenitási szigetek
- Reguláció:
  - Fázisvariáció: *Neisseria gonorrhoeae* adhézions fimbriák
  - Fázisváltás: *Salmonella* törzsek csillói
- **Felhasználás:**
  - Génátvitel
  - Gyógyszerek termeltetése
  - Rekombináns vakcinák előállítása (pl. hepatitis B)

# Kísérleti állatok alkalmazása

- **Toxinok**
  - Kimutatás
  - Értékmérés
- **Mikrobák tenyésztése, fenntartása**
  - Baktériumok
    - Intracelluláris
    - Egyéb
  - Vírusok
- **Ellenanyagok termeltetése**