

BOŻENNA JAKIMIAK, EWA RÖHM-RODOWALD

BADANIA SZCZELNOŚCI MIKROBIOLOGICZNEJ OPAKOWAŃ
STERYLIZACYJNYCH

TESTING OF THE MICROBIAL BARRIER OF STERILE PACKAGING OF MEDICAL
DEVICES

Zakład Zwalczania Skażeń Biologicznych
Państwowy Zakład Higieny
00–791 Warszawa, ul. Chocimska 24
Kierownik: dr A. Gliniewicz

Przeprowadzono badania szczelności mikrobiologicznej różnych materiałów opakowaniowych jedнокrotnego użytku oraz pojemników wielokrotnego użytku stosowanych do sterylizacji w praktyce szpitalnej w Polsce. Celem pracy było określenie jakości używanych opakowań i ich zdolności do zapobiegania przenikaniu drobnoustrojów.

WSTĘP

Sprzęt przeznaczony do sterylizacji po dezynfekcji, umyciu, wysuszeniu, sprawdzeniu funkcjonowania, należy we właściwy sposób opakować. Zgodnie z definicją podaną w normach europejskich [3] wyrób medyczny wysterylizowany, to wyrób poddany sterylizacji, uprzednio umieszczony w opakowaniu. Opakowanie powinno zabezpieczać sterylizowane wyroby przed zakażeniem drobnoustrojami po procesie sterylizacji, w czasie wyładowania z komory sterylizatora, przechowywania i transportu do miejsca użycia. Zdolność opakowania do zapobiegania wnikaniu drobnoustrojów nazywana jest szczelnością mikrobiologiczną.

Utrzymanie sterylności zawartości opakowania zależy od jakości materiału opakowaniowego i zamknięcia opakowania. Materiały i/lub systemy opakowaniowe powinny utrzymać sterylność zawartości od osiągnięcia stanu sterylności do daty ważności lub momentu użycia [2, 3]. Na zdolność opakowania do zapobiegania przenikaniu drobnoustrojów wpływają różne czynniki m.in. liczba drobnoustrojów w otoczeniu, rozmiar cząstek, na których występują drobnoustroje, warunki otoczenia (temperatura, wilgotność i ciśnienie) oraz szybkość zmian tych warunków, szybkość przenikania przez warstwę opakowania, rozmiar porów i inne parametry filtracyjne materiału opakowaniowego [2].

Utrzymanie sterylności sprawdza się przez badanie szczelności mikrobiologicznej [3]. Badanie to jest jednym z podstawowych przy weryfikacji przydatności materiału lub

¹⁾ Dz. U. 1999 r. Nr 12, poz. 96, art. 1.

systemu jako opakowania do sterylizacji. Badanie szczelności mikrobiologicznej można przeprowadzać metodami polegającymi (patrz poniżej metoda 1 i metoda 2) na testowaniu właściwości filtracyjnych (barierowych) poszczególnych składników opakowania [3, 5]. Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego (RIVM) w Holandii opracował metodę pomiaru szczelności mikrobiologicznej opakowań, którą w odróżnieniu od metod konwencjonalnych opartych na pobieraniu próbek materiału bada się szczelność mikrobiologiczną kompletnego opakowania w jego końcowej formie [1]. Metodę tę wykorzystuje się w badaniu szczelności mikrobiologicznej pojemników wielokrotnego użytku (kontenerów) [6].

Celem niniejszej pracy było określenie i potwierdzanie jakości opakowań stosowanych w praktyce sterylizacyjnej w Polsce.

MATERIAŁ I METODY

Badaniami objęto opakowania sterylizacyjne stosowane w praktyce szpitalnej:

- 4 materiały opakowaniowe jednokrotnego użytku, w tym 3 rodzaje papierów (A, B i C) i włókninę
- oraz
- pojemniki (kontenery) wielokrotnego użytku, w tym 3 rodzaje prostopadłościennych pojemników: metalowy z filtrem, metalowy z zaworem, z tworzywa sztucznego z filtrem i puszkę Schimmelbuscha.

Warunki badania symulowały ekstremalne warunki, na jakie mogą być narażone sterylizowane wyroby w praktyce szpitalnej.

Badania szczelności mikrobiologicznej materiałów opakowaniowych jednokrotnego użytku

Badania przeprowadzono dwiema metodami. W obu metodach przygotowano próbki materiału opakowaniowego o wymiarach 5 x 5 cm. Próbki wysterylizowano parą wodną o temp 134°C w czasie 10 min i wysuszono. W tych metodach zastosowano organizmy testowe: *Staphylococcus aureus* (ATCC 5538) i *Escherichia coli* (ATCC 25922) w trzech rozcieńczeniach dla każdego organizmu testowego o liczbie kolejno 10⁶, 10⁷, 10⁸ jtk/ml. Dodatkowo prowadzono badania bibuły filtracyjnej, traktując ten materiał jako kontrolę negatywną, nie zapewniającą szczelności mikrobiologicznej.

Metoda 1

5 kropli (1 kropla-0,1 ml) przygotowanej zawiesiny danego organizmu testowego w odpowiednich rozcieńczeniach nanoszono na górną stronę sterylnych próbek materiału tak, żeby krople nie stykały się ze sobą i były rozłożone równomiernie. Zaszczepione próbki suszono 6 godzin w temperaturze 20–25°C i wilgotności względnej 40–60%, przenoszono na agar (zaszczepioną stronę ku górze) i pozostawiano przez 5 s w pełnym kontakcie z podłożem. Następnie płytki inkubowano 48 godzin w temp. 37°C ± 2°C. Jako negatywną kontrolę zamiast zawiesiny organizmów testowych nakrapiano sterylną sól fizjologiczną. Po inkubacji obserwowano wzrost drobnoustrojów na podłożu wzrostowym. W przypadku wzrostu bakterii obliczano jtk na płytce. Do zbadania jednego rodzaju materiału opakowaniowego potrzeba 5 próbek. Materiał można uznać za dostatecznie szczelny, jeżeli na wszystkich 5 płytkach nie ma rozwoju bakterii. Jeśli na płytkach stwierdzamy rozwój więcej niż 5 kolonii, to powtarzamy badanie z 20 próbkami. Na wszystkich 20 płytkach nie może rozwinąć się w sumie więcej niż 5 kolonii.

Badanie wykonano w 5 powtórzeniach.

Metoda 2

Sterylnie próbki z każdego materiału umieszczano na powierzchni agaru w szalkach Petriego. Na górną stronę każdej próbki materiału nanoszono po 0,1 ml zawiesiny danego organizmu

Tabela II. Wzrost *Staphylococcus aureus* (ATCC 5538) – Metoda 2
Staphylococcus aureus Liquid Challenge Contamination Levels – Method 2

Materiał opakowania	Kontr. sól fizjol.	Poziom kontaminacji – wzrost bakterii jtk/ml								
		10 ⁶			10 ⁷			10 ⁸		
		Czas kontaktu (min)			Czas kontaktu (min)			Czas kontaktu (min)		
		5	30	60	5	30	60	5	30	60
Papier A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Papier B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Papier C	0	92	199	287	300	zlewny	zlewny	zlewny	zlewny	zlewny
Włóknina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bibuła	0	zlewny	zlewny	zlewny	zlewny	zlewny	zlewny	zlewny	zlewny	zlewny

Tabela III. Wzrost *Escherichia coli* (ATCC 25922) – Metoda 2
Escherichia coli Liquid Challenge Contamination Levels – Method 2

Materiał opakowania	Kontr. sól fizjol.	Poziom kontaminacji – wzrost bakterii jtk/ml								
		10 ⁶			10 ⁷			10 ⁸		
		Czas kontaktu (min)			Czas kontaktu (min)			Czas kontaktu (min)		
		5	30	60	5	30	60	5	30	60
Papier A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Papier B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Papier C	0	57	173	248	270	zlewny	zlewny	zlewny	zlewny	zlewny
Włóknina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bibuła	0	zlewny	zlewny	zlewny	zlewny	zlewny	zlewny	zlewny	zlewny	zlewny

Tabela IV. Zdolność zatrzymywania drobnoustrojów przez pojemniki sterylizacyjne
 Retention capacity elucidated for the containers tested

Nr pojemnika	Model pojemnika (kontenera)/wsad	% krążków wykazujących wzrost bakterii
1	Metalowy z filtrem/wsad metalowy	0
2	Metalowy z zaworem/wsad metalowy	0
3	Z tworzywa sztucznego z filtrem /wsad metalowy	0
4	Puszka Schimmelbuscha/wsad metalowy	3
5	Metalowy z filtrem/wsad tekstylny	0
6	Metalowy z zaworem/wsad tekstylny	0
7	Z tworzywa sztucznego z filtrem /wsad tekstylny	0
8	Puszka Schimmelbuscha/wsad tekstylny	5

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W wyniku przeprowadzonych badań opakowań sterylizacyjnych jednokrotnego użytku ustalono, że papiery A i B oraz włóknina wykazują szczelność mikrobiologiczną, gdyż nie stwierdzono wzrostu organizmów testowych. Natomiast papier C nie zapewnia szczelności mikrobiologicznej i w związku z tym nie spełnia wymagań stawianych sterylizacyjnym materiałom opakowaniowym (zanotowano wzrost drobnoustrojów testowych w dwóch zastosowanych metodach badawczych).

Badane papiery A i B oraz włóknina pochodziły z importu i były przez producentów przeznaczone na opakowania do sterylizacji. Papier C był to papier siarczynowy bielony o gramaturze 60 g/m² produkcji krajowej. W latach osiemdziesiątych został on wytypowany przez Centralny Ośrodek Techniki Medycznej jako najbardziej odpowiedni do sterylizacji z papierów krajowych i znalazł powszechne zastosowanie w naszych placówkach służby zdrowia.

W badaniach pojemników wielokrotnego użytku wykazano, że następujące pojemniki do sterylizacji w parze wodnej: metalowe z filtrem, z tworzywa sztucznego z filtrem, a także pojemniki metalowe z zaworem, zapewniają szczelność mikrobiologiczną, gdyż nie zaobserwowano wzrostu organizmów testowych. Rezultaty te pokrywają się z uzyskanymi przez innych badaczy wynikami, w których skuteczność filtracji kontenerów spełniających wymagania normy EN 868–8 określającymi ich budowę wynosi 99,999% [4, 6]. Natomiast stwierdzono brak szczelności mikrobiologicznej w puszcze *Schimmelbuscha*. Puszka *Schimmelbuscha* to „historyczne” opakowanie sterylizacyjne, bardzo często i chętnie używane. Puszka ta nie zawiera filtrów, zaworów ani uszczelki. Perforacje na pierścieniu, umożliwiające dostęp pary, zamyka się po procesie sterylizacji.

Jak wynika z własnych badań i danych z piśmiennictwa w celu zapewnienia szczelności mikrobiologicznej pojemniki sterylizacyjne muszą posiadać wymienione w normie EN 868–8 uszczelki, filtry lub zawory.

WNIOSKI

1. Papier siarczynowy bielony o gramaturze 60 g/m², produkcji polskiej oraz puszki *Schimmelbuscha* nie zapewniają szczelności mikrobiologicznej.
2. W praktyce medycznej nie należy stosować ww. wyrobów jako opakowań do sterylizacji.
3. Zaleca się używanie specjalistycznych opakowań do sterylizacji, które spełniają odpowiednie międzynarodowe wymagania normalizacyjne.

B. Jakimiak, E. Röhm-Rodowald

TESTING OF THE MICROBIAL BARRIER OF STERILE PACKAGING OF MEDICAL DEVICES

Summary

After decontamination, cleaning, maintenance and functional testing, sterilised items must be packed suitably. The package must protect sterilised items against microbial contamination during removal from the sterilising chamber, and during storage or transport until use. The ability of any given pack to withstand penetration by bacteria is termed bacterial barrier

efficiency. The assurance to keep the contents of the packaging sterile is determined by quality of the materials and the quality of seals.

The research was done to proof the microbial barrier, determined by quality of the packaging materials/systems used to sterilization in hospital practice in Poland.

4 packaging materials and 4 types of containers were tested. In all used methods the growth of microorganisms indicated the lack of the bacterial efficiency, the lack of growth – the bacterial barrier efficiency.

It was proved that two tested specialistic sterilization papers, non woven material and specialistic containers (metal with a filter or valve, plastic with a filter) are effective microbial barriers because it was no microorganisms growth.

It has been determined that sulphite bleachery paper of 60 g/m² and Schimmelbusch container do not provide the microbial barrier. Based on the performed studies it has been determined that sulphite bleachery paper and Schimmelbusch container can not be used as sterilization packaging system in sterilization practice in hospitals.

PIŚMIENICTWO

1. *Bruijn A.C.P., van Asten J.A.A.M.*: Test method for the microbial barrier properties of packaging for medical devices – RIVM method, report Nr 319011012, 1995.
2. *Bruijn A.C.P., Kastelein J.*: Single or Multiple Wrapping of Medical Devices: Procedure Assessment Through Research. *Zentral Sterilisation* 1999, 5, 292–303.
3. European Standard EN 868–1 Packaging materials and systems for medical devices which are to be sterilized – Part 1: General requirements and test methods.
4. European Standard EN 868–8 Packaging materials and systems for medical devices which are to be sterilized – Part 8: Re-usable sterilization containers for steam sterilizers conforming to EN 285 – Requirements and test methods.
5. DIN 58953–6:1987 Sterilization – Sterile supply – Sterilization paper for bags and tube packaging – test; subclause 2.14: Testing for germ proofness in moisture and clause 15: Testing for germ proofness with passage of air.
6. *Junghannß U., Winterfeld S., Gabele L., Kulow U.*: Hygienic-Microbiological and Testing of Steriliser Container Systems. *Zentral Sterilisation* 1999, 3, 154-162.

Otrzymano: 2002.01.21