

BOŻENNA JAKIMIAK

## WPLYW WIELKOŚCI ZAŁADUNKU NA EFEKTYWNOŚĆ STERYLIZACJI GAZOWEJ TLENKIEM ETYLENU

### INFLUENCE OF THE GREATNESS OF THE LOAD ON THE RESULT OF ETHYLENE OXIDE GAS STERILIZATION

Zakład Zwalczania Skażeń Biologicznych Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie  
Kierownik: dr H. Krzywicka

*Stwierdzono, że wielkość załadunku – stopień wypełnienia komory sterylizatora sprzętem medycznym ma wpływ na efektywność sterylizacji gazowej tlenkiem etylenu. Skuteczność każdego procesu sterylizacji tlenkiem etylenu należy kontrolować wskaźnikami biologicznymi.*

#### WSTĘP

Sterylizacja gazowa tlenkiem etylenu stosowana jest w szpitalach do wyjaławiania sprzętu medycznego wielokrotnego użytku, wykonanego z materiałów termolabilnych; a w skali przemysłowej do sterylizacji narzędzi i sprzętu medycznego jednorazowego użytku [2, 7, 8, 10, 12].

Tlenek etylenu jest gazem o silnym działaniu bakteriobójczym, ma zdolność wnikania w głąb sterylizowanego tworzywa, ulegając adsorpcji: jest gazem toksycznym, karcinogennym i mutagennym. W związku z tymi właściwościami przy pracy z tlenkiem etylenu, należy ściśle przestrzegać zasad bezpieczeństwa oraz obowiązujących czasów degazacji sprzętu po procesie [2, 4, 7, 12, 13].

Reakcje świadczące o właściwościach toksycznych pozostałości tlenku etylenu i produktów jego rozkładu (etylenochlorohydryny, glikolu etylenowego, merkaptoetanolu, kwasu glikolowego), obserwowano w praktyce klinicznej i w badaniach eksperymentalnych [1, 6, 7, 14].

Zaletą sterylizacji gazowej jest brak zmian właściwości fizyko-chemicznych sterylizowanych tworzyw, nie stwierdza się również występowania takich zmian przy powtórnych procesach sterylizacji. Dlatego tlenek etylenu może być stosowany do wyjaławiania sprzętu z tworzyw sztucznych wielokrotnego użytku [2, 11, 12].

Efektywność sterylizacji tlenkiem etylenu zależy od synchronizacji czterech parametrów: stężenia gazu, wilgotności względnej, temperatury oraz czasu procesu [2, 6, 11, 12]. Poza tymi parametrami, wpływ na końcowy efekt sterylizacji ma także stopień wysuszenia materiałów poddawanych wyjaławianiu oraz różny stopień „wchłaniania” przez nie tlenku etylenu [9, 12].

W związku ze złożonością sterylizacji gazowej, każdy proces powinien być kontrolowany zarówno wskaźnikami biologicznymi jak i wskaźnikami chemicznymi [2, 3, 7].

Do kontroli procesów sterylizacji tlenkiem etylenu stosowany jest szczep bakterii *Bacillus subtilis var niger*, wskazujący wysoką oporność na ten czynnik sterylizujący [2, 3, 5, 11, 12].

W Polsce sterylizatorem gazowym na tlenek etylenu, powszechnie stosowanym w szpitalach, jest aparat GST-21 produkcji węgierskiej firmy Medicor. Jest to nieduże (pojemność komory  $0,02^3$  m), zautomatyzowane urządzenie. Procesy sterylizacji zachodzą tu przy stężeniu gazu 750 mg/l, wilgotności względnej 40%, temperaturze ok. 50°C. Jedynym parametrem, na który może mieć wpływ użytkownik, jest czas procesu (płynna regulacja).

Celem pracy było ustalenie, czy wielkość załadunku – stopień wypełnienia komory sterylizatora sprzętem medycznym, może mieć wpływ na czas zabicia drobno-ustrojów poddawanych działaniu tlenku etylenu w aparacie GST-21 produkcji węgierskiej firmy Medicor.

#### MATERIAŁ I METODY

- Organizm testowy: *Bacillus subtilis var niger* ATCC 9372.
  - Podłoża hodowlane: bulion zwykły, agar zwykły.
  - Nośnik bakterii: krążki bibuły *Wathman 3* o średnicy 13 mm, produkcji Krakowskiej Wytwórni Surowic i Szczepionek
  - Naboje GP 1, Gas Gartrige – zawierające tlenek etylenu w mieszaninie z freonem 12.
  - Wyroby z tworzyw sztucznych: jałowe dreny medyczne z polietylenu wysokociśnieniowego (produkcji firmy „Tomel”), długość 1mb, średnicazew. 1.3 mm, średnicawew 0,8 mm opakowane w torebki z folii polietylenowej o wymiarach 12 cm × 15 cm. Grubość folii 50 μm
  - Końcówki do pipet automatycznych z polipropylenu (produkcji firmy Plastomed).
  - Automatyczny aparat na tlenek etylenu – typ GST – 21 (pojemność komory  $0,02$  m<sup>3</sup>) produkcji węgierskiej firmy „Medicor”.
- Warunki sterylizacji: stężenie TE 750 mg/l, wilgotność względna – 40%, temperatura  $50 \pm 8^\circ\text{C}$ .

#### SPOSÓB PRZYGOTOWANIA TESTÓW BAKTERYJNYCH

Na podłoża agarowe w butelkach Roux, wysiewano po 10 ml 48-godzinnej bulionowej hodowli bakterii i inkubowano w temp. 37°C przez 3 do 4 dni. Po inkubacji hodowlę zmywano 10 ml sterylnej wody destylowanej (przy użyciu kulek szklanych). Zawiesinę odwirowano przy 3000 g w czasie 15 min; czynność tę powtarzano 3-5 krotnie. Po ostatnim odwirowaniu osad zawieszano w 5 ml wody destylowanej. Zawiesinę bakterii ogrzewano w temp. ok. 100°C w czasie 10 minut i ponownie odwirowano. Osad zawieszano w 10 ml sterylnej wody destylowanej. Gęstość zawiesiny określano metodą seryjnych rozcieńczeń. Na krążki bibuły ułożone w płytkach *Petriego* наносono automatyczną pipetą po 0,05 ml wodnej zawiesiny spor. Krążki suszono w temperaturze pokojowej; wysuszone pakowano pojedynczo w kapsułki papierowe.

Przygotowano testy o liczbie  $4 \times 10^6$  spor/test. Następnie testy eksponowano w sterylizatorze w 3 wariantach:

Wariant 1 – w pustej komorze sterylizatora,

Wariant 2 – w komorze z załadunkiem o masie 600 g. Załadunek stanowiło: 60 drenów opakowanych pojedynczo w torebki z folii polietylenowej oraz pakiet końcówek do pipet automatycznych w opakowaniu z folii polietylenowej. Do co drugiej torebki z drenem wkładano test biologiczny. Torebki zgrzewano. Materiał układano luźno na tackach stanowiących wyposażenie aparatu.

Wariant 3 – w komorze z załadunkiem o masie 1200 g. Załadunek stanowiło: 120 drenów medycznych i 2 pakiety końcówek do pipet. Do co czwartej torebki z drenem wkładano test biologiczny. Torebki zgrzewano. Materiał układano na tackach w aparacie; cała komora sterylizatora była ściśle wypełniona.

W czasie badań eksponowano po 30 testów w czasie 30, 60, 120, 180, 240 i 300 min. w każdym wariantcie. Po ekspozycji każdy test posiewano do 10 ml bulionu zwykłego i inkubowano w temperaturze 37°C w ciągu 7 dni.

Badanie wykonano w 5 powtórzeniach.

Skuteczność procesu w danym czasie ekspozycji oceniono na podstawie wzrostu lub braku wzrostu bakterii w podłożu płynnym.

Przeżycie spor bakterii wyrażano w procentach testów, które nie uległy wyjałowieniu.

### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wyniki zostały przedstawione w tabeli I oraz na ryc 1.

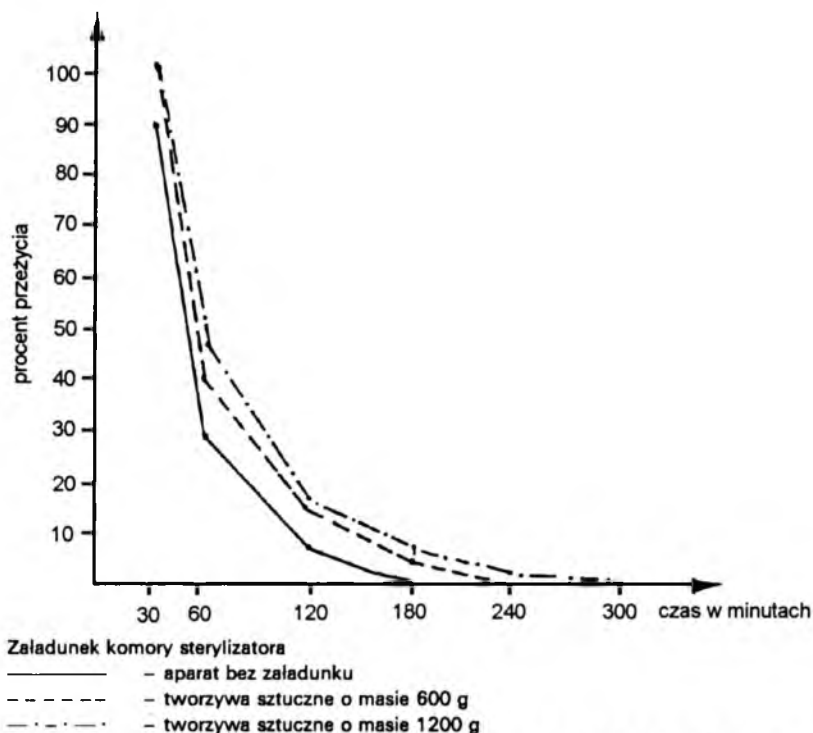
Proces zabicia spor bakterii eksponowanych w tlenku etylenu przy różnym stopniu wypełnienia komory przebiega w różnym czasie. W aparacie bez załadunku (kontrola) następuje szybka redukcja liczby drobnoustrojów. W pierwszej godzinie

Tabela I. Przeżywalność spor *Bacillus subtilis* var. *niger* ( $3,6 \times 10^6$  spor/test) eksponowanych w tlenku etylenu\* w zależności od wielkości załadunku.

Dependence of the greatness of the load on the survival of *Bacillus subtilis* var *niger*  $3,6 \times 10^6$  spores/test exposed in ethylene oxide

Czas ekspozycji (min)	Załadunek komory sterylizatora					
	Aparat bez załadunku		Tworzywa sztuczne o masie 600 g (polietylen + polipropylen)		Tworzywa sztuczne o masie 1200 g (polietylen + polipropylen)	
	Liczba testów: eksponowanych/ % przeżycia /niewyjałowionych	Liczba testów: eksponowanych/ % przeżycia /niewyjałowionych	Liczba testów: eksponowanych/ % przeżycia /niewyjałowionych	Liczba testów: eksponowanych/ % przeżycia /niewyjałowionych	Liczba testów: eksponowanych/ % przeżycia /niewyjałowionych	Liczba testów: eksponowanych/ % przeżycia /niewyjałowionych
30	150/134	89,3	150/150	100,0	150/150	100,0
60	150/43	28,7	150/63	42,0	150/70	46,7
120	150/13	8,7	150/21	14,0	150/25	16,7
180	150/0	0,0	150/6	4,0	150/10	6,7
240	150/0	0,0	150/0	0,0	150/2	1,3
300	150/0	0,0	150/0	0,0	150/0	0,0

\* Warunki ekspozycji: Stężenie TE – 750 mg/l; Temperatura –  $50 \pm 8^\circ\text{C}$ ; Wilgotność względna – 40%



Ryc. 1. Przeżywalność spor *Bacillus subtilis* var *niger* o liczbie  $3,6 \times 10^6$  spor/test eksponowanych w tlenku etylenu w zależności od wielkości załadunku.

Dependence of the greatness of the load on the survival of *Bacillus subtilis* var *niger*  $3,6 \times 10^6$  spores/test exposed in ethylene oxide.

procesu uległo wyjałowieniu blisko 80% testów, podczas gdy w aparacie luźno wypełnionym tworzywami sztucznymi (masa 600 g) w blisko 40% przypadków obserwowano wzrost drobnoustrojów. W aparacie pustym po 3 godzinach procesu nastąpiło wyjałowienie wszystkich testów, natomiast w aparacie luźno wypełnionym wyrobami z tworzyw sztucznych ten sam efekt obserwowano po 4 godzinach.

Przy dwukrotnym zwiększeniu masy załadunku z tworzyw sztucznych (aparatus „przeładowany”) nie uzyskano wyjałowienia testów po 4 godzinach ekspozycji, a uzyskano ten efekt dopiero po 5 godzinach procesu.

Tak więc można stwierdzić, że wielkość załadunku ma wpływ na skuteczność procesu.

Zależność taka została wykazana w badaniach przeprowadzonych przez Christensen i wsp. [3] w aparatach handlowych o różnych pojemnościach.

Aparatus GST-21 jest urządzeniem powszechnie stosowanym w zakładach opieki zdrowotnej w naszym kraju; jest urządzeniem zautomatyzowanym umożliwiającym nastawianie czasu sterylizacji od 0 do 5 godzin oraz obserwację podciśnienia, a następnie nadciśnienia w komorze. Nie ma możliwości precyzyjnego pomiaru temperatury i wilgotności w czasie każdego cyklu sterylizacji. Obydwa te czynniki, obok stężenia gazu i czasu ekspozycji, wywierają zasadniczy wpływ na skuteczność

procesu. Skontrolowanie stężenia gazu lub wilgotności jakie ustalają się w czasie ekspozycji w komorze sterylizatora, w wyniku sorpcji tlenu etylenu przez wyroby sterylizowane, zdaniem wielu autorów jest niemożliwe, zwłaszcza jeśli są one zróżnicowane pod względem rodzaju i wielkości. Ciepło utrzymuje tlenek etylenu w stanie gazowym, wzmacnia stopień dyfuzji i zwiększa penetrację przez tworzywa. Jeśli w czasie procesu temperatura spadnie o kilka stopni część gazu może ulegać kondensacji, stężenie w komorze spada i proces może być nieskuteczny [9, 12]. Podobnie jest z wilgotnością. Materiały porowate wymagają niższej wilgotności niż np materiały gładkie i ciężkie. Optymalna wilgotność względna wg różnych autorów wynosi od 20 do 40%, niższa lub wyższa wilgotność zmniejsza właściwości bakteriobójcze tlenu etylenu [3, 5, 9].

Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono, że nie należy przeladowywać komory sterylizatora wyjalawianym materiałem. Przy „luźnym” załadunku z tworzyw sztucznych efekt sterylizacji otrzymujemy w krótszym czasie. W aparacie GST-21 firmy Medicor należy zalecać czas sterylizacji, z uwzględnieniem marginesu bezpieczeństwa, – 5 godzin.

Wyniki powyższych badań świadczą o konieczności przeprowadzania bieżącej kontroli biologicznej procesów sterylizacji tlenkiem etylenu w warunkach szpitalnych. Kontrola taka zalecana jest przez Światową Organizację Zdrowia [7].

## WNIOSKI

1. Wielkość załadunku (stopień wypełnienia komory sterylizatora sprzętem medycznym) ma wpływ na efektywność sterylizacji gazowej tlenkiem etylenu.

2. Konieczna jest kontrola skuteczności każdego procesu sterylizacji gazowej tlenkiem etylenu testami bakteryjnymi.

3. Procesy sterylizacji gazowej tlenkiem etylenu w aparacie GST-21 produkcji węgierskiej firmy Medicor należy przeprowadzać w czasie 5 godzin.

B. Jakimiak

## EFFECT OF LOAD SIZE ON THE RESULT OF ETHYLENE OXIDE GAS STERILIZATION

### Summary

The purpose of the study was establishing whether the size of the load – that is the degree of filling of sterilizer chamber with medical instruments – could have an effect on the time needed for eradication of all microorganisms subjected to the action of ethylene oxide.

The test organism used was the strain of *Bacillus subtilis* var. *niger* ATTC 9372. Tests were prepared with about  $3.6 \times 10^6$  spores per one test. The tested samples were exposed to ethylene oxide at concentration of 750 mg/l, at 50–80°C, at 40% humidity during 30, 60, 120, 180, 240 and 300 minutes in three variants:

– in empty sterilizer chamber

– in chamber loaded with plastic objects (polyethylene and polypropylene) – 600 g weight

– in chamber with similar load weighing 1200 g.

The obtained results showed that the degree of filling of sterilizer chamber influenced the efficiency of gas sterilization with ethylene oxide. The effectiveness of each sterilization process with ethylene oxide should be controlled using biological indicators.

## PIŚMIENICTWO

- 1. *Binder H., Mose J.R., Tschliessnigg K.*: Zur Praxis der Ethylenoxid – Sterilization. Zbl. Bakt. Hyg., I Abt. Orig., 1982, B 176, 453–462.
- 2. *Block S.S. ed.*: Disinfection, sterilization and preservation, Lea and Febiger, Philadelphia, 1991.
- 3. *Christensen F.A., Kristensen H.*: Biological indicators for control of ethylene oxide sterilization. Acta path. microbiol. scand. Sect B 6505, 1979, 1–8.
- 4. *Conviser S.A.*: Ethylene oxide in the 1990s conference, HIMA, Wash, D.C., 1989, 18.
- 5. *Dadd A.H., Mc Cormick K.E., Daley G.M.*: Factors influencing the resistance of biological monitors to ethylene oxide. J. Appl. Bact. 1983, 55, 39–48.
- 6. Environmental Health Criteria 55. Ethylene oxide. World Health Organization, 1985.
- 7. Food and Drug Administration, Public Health Service, Washington D.C. Ethylene Oxide Sterilization. Guide for Hospital Personnel, 1975.
- 8. *Gardner J.F., Peel M.M.*: Introduction to sterilization, disinfection and infection control. Churchill Livingstone, 1991.
- 9. *Gilbert G.L., Gambill V.M., Spiner D.R., Hoffman R.K., Philips C.R.*: Effect of moisture on ethylene oxide sterilization. Appl. Microb., 1974, 12, 6, 496–504.
- 10. *Jansen D.W., Schneider P.M.*: Overview of ethylene oxide alternative sterilization technologies. Zentr. Steril., 1993, 1, 16–32.
- 11. *Rubbo S., Gardner J.*: Sterilization and disinfection. Lloyd-Luke, London 1965.
- 12. *Perkins J.J.*: Principles and methods of sterilization. Charles C Thomas Publisher 1975.
- 13. *Schulte P.A., Boeniger M., Walker J.T.*: Biologic markers in hospital workers exposed to low levels of ethylene oxide. Mutat. Res., 1992, 278, 237–251.
- 13. *Star E.C.*: Die Toxische Wirkung von Athylenchlorhydrin und Athylenglykol im Tierversuch und auf menschliche Zellkulturen. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 171, 1980, 25–32.

Dn. 1994.12.14

00-781 Warszawa, ul. Chocimska 24