



РУКОВОДСТВО ПО ПРОВЕРКЕ СТЕРИЛИЗУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ АВТОКЛАВОВ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ УЧРЕЖДЕНИЯМИ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ДЛЯ ОБРАБОТКИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ОТХОДОВ

Этот документ разработан в рамках проекта глобального проекта Программы Развития Организации Объединённых Наций и Глобального Экологического Фонда „Демонстрация и содействие введению лучших практик и методов управления отходами здравоохранения во избежание выбросов диоксинов и ртути в окружающую среду”. Данный документ защищён авторскими правами, но может быть использован в оригинальном виде для аргументации политических актов, информационных компаний и в образовательных целях. Репродукция и тиражирование данного документа в коммерческих целях строго запрещено. Если тиражируются более 5 (пяти) копий, об этом следует информировать Программу Развития Организации Объединённых Наций и Глобальный Экологический Фонд по электронной почте расположенному на <http://www.gefmedwaste.org/contactus.php> . Если содержание документа цитируется или используется, пользователю следует обязательно сослаться на данный документ. Программа Развития Организации Объединённых Наций и Глобальный Экологический Фонд не гарантирует, что информация предоставленная в данном документе, является полной и корректной и несут ответственности за возможные последствия, связанные с использованием данного документа.

Больше о проекте на <http://www.gefmedwaste.org/>

ВВЕДЕНИЕ

Две части Программы развития ООН Глобального проекта о медицинских отходах включают в себя технологии по обработке медицинских отходов без сжигания, из которых наиболее распространенной является использование автоклава. Данный документ предоставляет информацию о протоколе микробиологического теста для валидационной проверки используемых гравитационных или вакуумных автоклавов для обработки медицинских отходов.

ЦЕЛЬ ТЕСТОВОГО ПРОТОКОЛА

Целью тестового протокола является определение способности автоклава эффективно обрабатывать медицинские отходы в соответствии с утвержденными стандартами обработки.

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ И ОБЩИЙ ПОДХОД

Эффективностью обработки является способность автоклава изменять отходы таким образом, чтобы ликвидировать вероятность передачи болезни, или так, чтобы значительно снизить эту вероятность. Обсуждая

эффективность обработки, часто используются термины «дезинфекция» и «стерилизация». Дезинфекцию можно определить как - сокращение или уничтожение болезнетворных микроорганизмов (патогенов) в целях минимизации возможного распространения болезни. Стерилизация определяется как - уничтожение всех микробных форм жизни. Поскольку трудно определить полное уничтожение всех микроорганизмов, уровень стерилизации медицинских и хирургических инструментов, как правило, выражают в виде сокращения определенных микроорганизмов на $6 \log_{10}$, что соответствует вероятности выживания одной миллионной доли (0,000001) любой микробиологической популяции.

Система классификации СТААТТ вместо понятий «дезинфекция» или «стерилизация», особенно в обработке отходов медицинских учреждений, использует уровни «инактивации микроорганизмов». Это понятие было введено для определения меры эффективности технологий обработки отходов медицинских учреждений. Международный стандарт по инактивации микробов при обработке медицинских отходов в соответствии с критериями СТААТТ отвечает III уровню:

III уровень - инактивация вегетативных бактерий, грибов, липофильных/ гидрофильных вирусов, паразитов и микобактерий на $6 \log_{10}$ или более низкое значение; инактивация спор *G. Stearotherophilus* и спор *B. atrophaeus* на $4 \log_{10}$ или более низкое значение.

Как правило, для проверки соответствия данному стандарту, используются следующие микробиологические индикаторы: *Mycobacterium phlei* или *Mycobacterium bovis* (БЦЖ) при инактивации на $6 \log_{10}$ или более; и термостойкие споры *Geobacillus stearotherophilus* или *Bacillus atrophaeus* при инактивации на $4 \log_{10}$ или более.

Споры *Geobacillus stearotherophilus*, ранее известного как *Bacillus stearotherophilus*, являются спящими непатогенными эндоспорами, которые способны выдерживать как высокие температуры при сухой обработке, так и паро-обработку. Споры *Bacillus atrophaeus*, ранее - *Bacillus subtilis* var. *niger*, также устойчивы к высоким температурам сухой и паро- обработок, а так же к химической инактивации. В Таблице 1 перечислены главные виды микроорганизмов, за исключением прионов, в соответствии с их устойчивостью к химической дезинфекции; та же схема наблюдается и при тепловой дезинфекции. Из-за высокой устойчивости спор бактерий, валидационная проверка автоклавов для обработки отходов «золотым стандартом» (споры *Geobacillus stearotherophilus* или *Bacillus atrophaeus*) в основе - является всем, что необходимо.

Таблица 1: Микроорганизмы сгруппированы по устойчивости к химической дезинфекции в убывающей последовательности

МИКРООРГАНИЗМЫ	ПРИМЕРЫ
СПОРЫ БАКТЕРИЙ [НАИБОЛЕЕ УСТОЙЧИВЫЕ]	<i>GEOBACILLUS STEAROTHERMOPHILUS</i> , <i>BACILLUS ATROPHAEUS</i> , <i>CLOSTRIDIUM SPOROGENES</i>
ПАЗАРИТАРНЫЕ ЦИСТЫ МИКОБАКТЕРИЙ	<i>CRYPTOSPORIDIUM CYSTS</i> <i>MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS</i> VAR. <i>BOVIS</i> , НЕТУБЕРКУЛЕЗНАЯ МИКОБАКТЕРИЯ
НЕЛИПИДНЫЕ ИЛИ НЕБОЛЬШИЕ ВИРУСЫ	ВИРУС ПОЛИОМИЕЛИТА, ВИРУС КОКСАКИ, РИНОВИРУС
ГРИБКИ	<i>TRICHOPHYTON</i> SPP., <i>CRYPTOCOCCUS</i> SPP., <i>CANDIDA</i> SPP.

ВИДЫ ПАЗАРИТОВ	
ВЕГЕТАТИВНЫЕ БАКТЕРИИ	<i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA, STAPHYLOCOCCUS AUREAUS, SALMONELLA CHLOERAESUIS, ENTEROCOCCUS</i>
ЛИПИДНЫЕ ИЛИ СРЕДНЕЙ ВЕЛИЧИНЫ ВИРУСЫ [НАИМЕНЕЕ УСТОЙЧИВЫЕ]	ВИРУС ПРОСТОГО ГЕРПЕСА, ЦИТОМЕГАЛОВИРУС, РЕСПИРАТОРНО-СИНЦИТИАЛЬНЫЙ ВИРУС (RSV), ВИРУС ГЕПАТИТА В, ВИРУС ГЕПАТИТА С, ВИРУС ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА (ВИЧ)

Источник: *Стерилизация, часть 1* Стерилизация в медицинских учреждениях, Арлингтон: Ассоциация содействия развитию медицинских инструментов (2006)

В традиционном методе проверки паро-нагревательной системы, например, автоклава, используют эндоспоры, которые нанесены на полоску сухой бумаги, помещенную в пергаменный конвертик. После обработки полоску вынимают, осторожно достают из пергамена и помещают в стерильную бутылочку. В течение 24 часов тест-полоска асептично помещается в 5.0 мл питательной среды - казеиновый бульон бобов сои. Во избежание попадания микроорганизмов из воздуха в питательную среду данный процесс требует особого внимания. Полоска с питательной средой культивируется не менее 48 часов при температуре 30°C для *Bacillus atrophaeus* и при 55°C для *Geobacillus stearothermophilus*, чтобы позволить выжившим спорам расти и делиться. О проблемах обработки в автоклаве свидетельствует помутнение питательной среды.

Сегодня также используется упрощенный метод, который и рекомендуется в данном руководстве. Для использования метода требуется самокультивирующийся биологический индикатор (SCBI), состоящий из полоски со спорами в бутылочке со средой, запаянной внутри ампулы, в качестве бактериального барьера используется крышечка с отверстиями, которая дополнена гидрофобным фильтром. Бутылочка помещается в тестовую-загрузку и извлекается после обработки. После извлечения из стерилизатора бутылочку необходимо сжать, чтобы раздавить находящуюся внутри ампулу, и позволить питательной среде смешаться с обработанной тест-полоской со спорами. Бутылочка инкубируется при указанной температуре 24 или 48 часов самокультивирующийся биологический индикатор для автоклавов, обрабатывающих отходы содержит заранее известное количество спор (в концентрации 10^4), чтобы отрицательный результат теста соответствовал инактивации 4 Log₁₀. SCBI с pH-индикатором изменяет цвет, что, выявляет выжившие споры и указывает на положительный результат (или ошибку). Другой метод использует герметичную стеклянную ампулу со средой и pH-индикатором. Каждая ампула, содержащая известную популяцию эндоспор, хранится до использования охлажденной и требует 48-часового инкубационного периода. Рост очевиден, если произошло помутнение и/или изменение цвета. Следующая система биоиндикации определяет ферментативную активность спор бактерий. Ферментативная реакция эквивалентна способности спор делиться. В этом методе констатируют флуоресценцию индикатора, вызванную положительным результатом. Из-за высокой чувствительности метода результаты известны уже в течение от одного до трех часов, что эквивалентно 7-дневному инкубационному периоду.

У нового автоклава цикл процесса должен быть налажен к началу валидационного тестирования, пока результаты, по крайней мере, трех следующих друг за другом тестов будут соответствовать требуемому log критерию инактивации. Рабочие параметры (время экспозиции, температура или давление), которые соответствуют этому успешному

тесту, должны быть задокументированы. Для всех будущих загрузок рабочие условия должны повторять эти параметры и быть зарегистрированными.

Подход, используемый в настоящем протоколе, является проверкой микробиологической стерилизации с использованием автономных *Geobacillus stearothermophilus* биологических индикаторов, размещая их на носителях, которые затем помещаются в мешок для отходов, чтобы доказать инактивацию $\geq 4 \log$ бактериальных спор.

ТЕСТОВЫЙ ПРОТОКОЛ

Общее руководство Приводится общее руководство по тестовому протоколу:

Автоклав должен работать в нормальных условиях эксплуатации.

Тесты следует проводить, используя характерные отходы конкретного медицинского учреждения. Особое внимание следует обратить на острые инструменты и отходы лабораторных культур. Тест следует проводить, используя те же контейнеры и мешки, которые используются медицинским учреждением, которые должны быть закрыты обычным, используемым в учреждении образом.

Расположение образца мешка для отходов в системе обработки должно отображать привычный в учреждении порядок загрузки и укладки. Если обрабатывается несколько мешков, то биологические индикаторы следует поместить в мешки для отходов в местах, где обработка является наиболее сложной.

Персонал Тест проводится специально обученными для этих целей сотрудниками. Тест может проводить оператор автоклава, если он надлежащим образом обучен и контролируется руководителем учреждения.

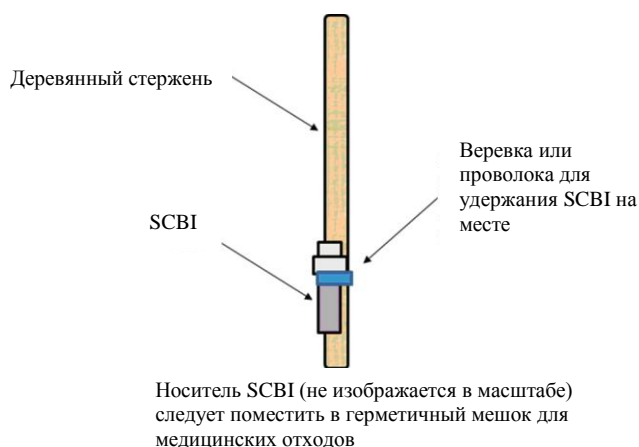
СИЗ Тестируя инфекционные отходы, должны соблюдаться требования безопасности труда. Открывая мешки с медицинскими отходами, помещая в мешки тестируемую среду, закрывая и помещая мешки в автоклав, следует использовать следующие средства индивидуальной защиты (СИЗ): особо стойкие перчатки, защитную маску для лица, защитные очки, туфли на жесткой подошве (или сапоги) и фартук (или защитную одежду). Извлекая тестовую среду, следует использовать следующие СИЗ: особо стойкие перчатки, защитную маску, чтобы защитить лицо от паров, туфли на жесткой подошве (или сапоги) и фартук (или защитную одежду). После использования СИЗ следует очистить.

Материалы Самокультивирующиеся биологические индикаторы (SCBI) должны иметь следующие характеристики (примеры приведены в Приложении А):

- Биологический индикатор: споры *Geobacillus stearothermophilus*
- Концентрация: $\geq 1 \times 10^4$ КОЕ/мл
- Величина D: больше на 1,5 минуты при 121°C
(рекомендованная величина D > 2 мин.)

Если во время одной загрузки в автоклаве обрабатываются несколько мешков или контейнеров, то для трех тестов стерилизации должны использоваться SCBI и один элемент контроля. Каждый SCBI маркируется, чтобы отличить тестовые индикаторы от контрольного. Три SCBI должны помещаться в три отдельных мешка, один из которых должен находиться в центре нижней части кучи. Если во время одной загрузки в автоклаве обрабатывается только один мешок, то для теста стерилизации используется один SCBI и один элемент контроля.

Носитель подготавливается так, как это указано на рисунке ниже.



Процедура Необходимо соблюдать следующую процедуру помещения, извлечения и инкубации:

А) Соблюдая принцип случайности, для загрузки выберите три обычных, средней величины мешка для отходов учреждений здравоохранения. Мешки следует осторожно открыть и положить вовнутрь носители. Деревянный стержень расположить так, чтобы SCBI был бы в центре мешка. Если внутри мешка с медицинскими отходами есть еще другой мешок, то носитель следует положить вовнутрь того мешка. Затем мешки закрепляются обычным способом.

В) В автоклаве эти три мешка находятся в центре, сбоку и сверху нижней части группы отходов. Элемент контроля устанавливается отдельно и хранится при комнатной температуре.

С) После того, когда автоклав заполнен в обычном порядке, начинается процесс обработки.

Д) Необходимо зарегистрировать следующие данные: имена лиц, проводящих тест, дату, рабочие параметры, в том числе время начала и окончания, общее описание отходов и вес мешка.

Е) В конце процесса обработки отходов мешки вынимаются, отделяются три мешка с носителями.

F) SCBI вынимаются из носителей, и проводится наблюдение для установления возможно возникших повреждений SCBI.

G) Когда наблюдения зафиксированы, три SCBI и элемент контроля инкубируются в соответствии с инструкциями поставщика SCBI (обычно 24 часа при температуре 55-60°C). Инкубатор должен быть способным поддерживать температуру в пределах $\pm 2^\circ\text{C}$.

H) После инкубации ампулы или бутылочки с SCBI должны быть проверены на «Рос» или «Не рос», соблюдая инструкции поставщика SCBI. Результаты необходимо зарегистрировать (см. образец в приложении В).

Частота За исключением начального теста валидации нового автоклава, обычная проверка микробиологической стерилизующей способности проводится с частотой раз в неделю.

Если все тестовые индикаторы показывают «Не рос» в четырех, следующих друг за другом тестах (в течение одного месяца), частоту тестирования можно сократить до одного раза в две недели.

Ошибки SCBI, показывающие какие-либо повреждения, которые могут повлиять на определение инактивации микроорганизмов (например, треснувшие бутылочки и поврежденные полоски спор, течь стеклянных ампул, содержащих питательную среду, поврежденные крышки), должны отмечаться в докладе, и они не учитываются при определении результатов. Для проведения теста требуется три неповрежденных SCBI, в противном случае тест следует повторить.

Процесс считается успешным, если SCBI показали «Не рос». Если один или несколько SCBI показали «Рос», необходимо провести действия, направленные на устранение неполадок, чтобы определить источник проблемы, например, необходимость ремонта установки или корректировка рабочих параметров (увеличение времени экспозиции, температуры или числа циклов, или глубины вакуума, в случае использования вакуумного автоклава). Тест следует повторять до тех пор, пока SCBI покажут «Не рос». Затем следует продолжить проверку, пока три следующие друг за другом теста покажут «Не рос» для всех SCBI. Поэтому, проверки должны проводиться еженедельно, пока четыре, следующие друг за другом, теста покажут «Не рос», а затем тестирование может быть сокращено до частоты один раз в две недели.

Протоколы .Протоколы результатов тестирования микробиологической стерилизующей способности должны быть доступны по требованию государственных органов управления или должны периодически предоставляться в государственные органы управления в соответствии с существующими правилами. Протоколы должны храниться в учреждении не менее трех лет.

ДРУГИЕ МОДИФИКАЦИИ СИСТЕМ ОБРАБОТКИ

Настоящий протокол может быть модифицирован для микроволновых устройств и паровых гибридных систем, включающих внутренние

дробление или смешивание, когда мешки для отходов разрываются и их содержимое высыпается в автоклав или в микроволновую камеру.

Для предотвращения повреждения SCBI внутренними измельчителями, биологические индикаторы следует расположить таким образом, чтобы те беспрепятственно пересекали измельчительный отсек. Устройство, в котором используется лопасть для смешивания или лопатка, а также во вращающихся автоклавах, носитель должен отвечать следующим характеристикам:

Относительно небольшой.

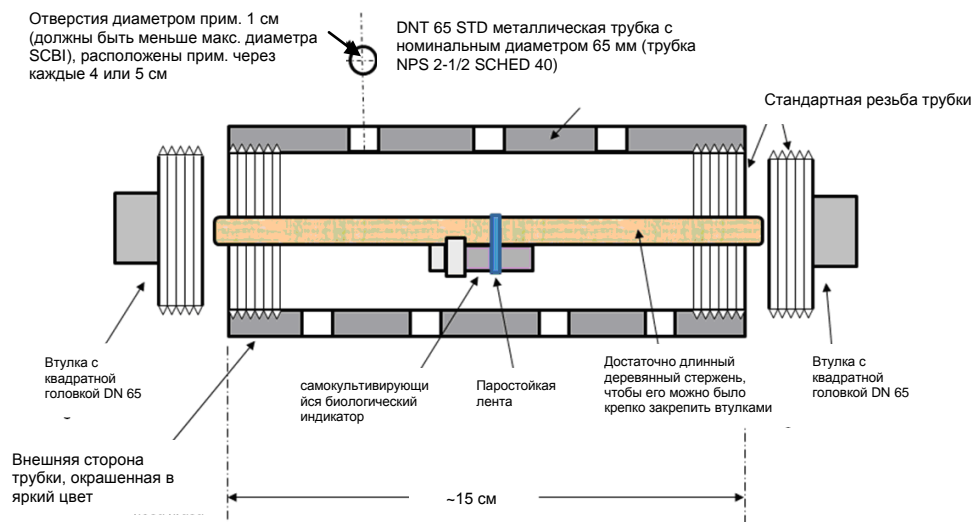
Легко открывающийся и закрепляющийся.

Достаточно надежный, чтобы защитить SCBI, и чтобы его можно было использовать повторно.

Сконструированный таким образом, чтобы легко попадал пар.

Легко различим (например, ярко окрашен), чтобы можно было достать.

Примером простых носителей являются теннисные мячики с проделанными в них отверстиями, трубки Teflon® с отверстиями и деревянные колышки, которые удерживаются при помощи проволоки с большим поперечным сечением с обоих концов и коротких металлических трубок с отверстиями и резьбой на обоих концах, как показано на рисунке ниже. Измельченные отходы помещают в носитель вместе с SCBI.



Носитель SCBI (изображен без масштаба) следует поместить в мешок медицинских отходов

Jorge Emmanuel, PhD un Ed Krisiunas, MT(ASCP), MPH
2010.gada 14.novembris

Приложение А

Примеры принадлежностей тестирования

Примечание 1: Информация о нижеуказанных продуктах не означает, что проект ГЭФ Программы развития ООН рекомендует или утверждает именно эти продукты. Продукты указаны только в качестве примера. Есть и другие продукты, которые соответствуют указанным требованиям настоящего руководства.

Примечание 2: В примерах использована концентрация спор бактерий 1.0×10^5 . Для обработки отходов в автоклавах требуется концентрация спор бактерий СТААТТ 1.0×10^4 . Концентрация 10^5 является более строгим требованием, но более доступным с коммерческой точки зрения.

Самокультивирующиеся биологические индикаторы Raven ампулы ProSpore или ProSpore 2

Geobacillus stearothermophilus ATCC 7953, минимальная концентрация 1.0×10^5 КОЕ/мл
ProSpore или ProSpore 2 инкубатор сухой ванны, 12 лунок, 240 вольт, 35 или 55 °C
Raven Labs, P.O. Box 27261, Omaha, NE 68127 США; ТЕЛ.: +1-402-593-0781
<http://www.mesalabs.com/products-services/raven-labs.html>

Самокультивирующиеся биологические индикаторы 3M™ Attest™

Geobacillus stearothermophilus (из ATCC 7953) в эластичном полипропиленовом пенале, минимальная популяция спор на полоске 1×10^5 , содержит триптиказовую соевую среду с рН-чувствительным красителем индикатора (бромкрезоловый фиолетовый), инкубатор Attest, 220/240 вольт, ёмкость 14 пеналов, $56 \pm 2^\circ\text{C}$
3M Center, St. Paul, MN 55144 США
http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en_US/IP/infectionprevention/solutions/sterilization-assurance/load-control/

Самокультивирующиеся биологические индикаторы SporView®

Geobacillus stearothermophilus, популяция 2.2×10^5 , результаты через 24 часа
Medical Engineering Technologies Ltd., Yew Tree Studios, Stone Street, Stanford North, Ashford, Kent TN25 6DH, UK; ТЕЛ.: +44 (0)8454 588924
<http://www.met.uk.com/6a-medical-sterilisation-indicators.php#self-contained-biological>

Самокультивирующиеся биологические индикаторы Bionova Terragene

Споры бактерий *Geobacillus stearothermophilus* на фильтровальной бумаге, упакованные в пластиковую трубку, запаянные в стеклянную ампулу с культурой и цветовым индикатором.
MedNet GmbH, Borkstraße 10, 48163 Münster, Germany; ТЕЛ.: +49 (0) 251 32266-0
<http://www.medneteuropa.com/Sterilisation-Monitori.14.0.html?&L=2>

Приложение В

TestLog биологического индикатора

Тест стерилизующей способности

Имя, фамилия _____ Дата теста: _____

Адрес: _____

Бренд биологического индикатора: _____ Концентрация: _____

продукта/партии - _____ Срок годности: _____

Номер/модель автоклава: _____

Рабочие параметры автоклава: _____

Время начала цикла: _____

Время окончания цикла: _____

Описание выбранного мешка для отходов, в который помещаются SCBI

# образца	Вес (кг)	Описание отходов	Местонахождение в автоклаве
# 1			
# 2			
# 3			

Результаты теста

Отрицательный контроль	
# образца	Результаты
# 1	
# 2	
# 3	
Положительный контроль	

Отрицательный контроль – это необработанный БИ
Зарегистрируйте результаты как «+» в случае «Рос» (ошибка)
и «НГ» в случае «Не рос»

Комментарии /отклонения в процессе тестирования, если есть:
