

Бактериологический метод контроля паровой стерилизации

Владимир Сергеевич Андреев, генеральный директор, к. х. н.

Николай Семенович Васильев, директор по научной работе, к. х. н.

Ольга Николаевна Смолькина, начальник отдела, к. б. н.

ООО «Научно-производственная фирма «ВИНАР»

Бактериологические методы контроля стерилизации – это методы, которые непосредственно выявляют летальность процесса стерилизации. Есть два вида бактериологического контроля: контроль стерильности простерилизованных медицинских изделий и применение биологических индикаторов.

Контроль стерильности

Контроль стерильности простерилизованных медицинских изделий проводят в соответствии с регламентированной методикой [4] в специально оборудованных помещениях микробиологической лаборатории, соблюдая асептические условия, исключая возможность вторичной контаминации изделий микроорганизмами.

При отсутствии роста микроорганизмов делают заключение о стерильности изделий.

Следует иметь в виду, что в практических условиях (в медицинских организациях) выборочный контроль стерильности не является доказательством **надежности стерилизации на уровне 10^{-6}** . Для этого необходимы положительные результаты исследований с использованием всех методов контроля (физического, химического, микробиологического), проведенных в аккредитованной испытательной лаборатории в соответствии с утвержденными методиками и с учетом требований действующих нормативных документов.

При централизованной системе стерилизации в медицинской организации контролю на стерильность подлежит не менее 1 процента от числа одновременно простерилизованных изделий одного наименования, при децентрализованной – не менее двух одновременно простерилизованных изделий одного наименования.

Контроль паровой стерилизации с использованием биологических индикаторов

В соответствии с ГОСТ 31598 [3] разрешается проводить паровую стерилизацию медицинских изделий только в стерилизаторах, обладающих необходимой микробиологической эффективностью стерилизации. Для подтверждения этого проводят циклы стерилизации с полностью загруженной стерилизационной камерой со стандартными контрольными упаковками из текстиля (массой $(7,5 \pm 0,5)$ кг), резиновых изделий (трубок длиной 1500 мм и внутренним диаметром 3 мм), устройств контроля с помещенными внутрь биологическими индикаторами.

Требования к биологическим индикаторам регламентированы ГОСТ ISO 11138-1 [1], ГОСТ ISO 11138-3 [2] и методическими указаниями № 15/6-5 [5]. При этом тест-микрорганизмы, используемые в индикаторах, должны обладать более высокой устойчивостью к водяному пару, чем все патогенные и непатогенные микроорганизмы, контаминирующие изделия. Обычно используют споровые формы тест-микрорганизмов, так как они более устойчивы к действию стерилизующего агента. Тест-микрорганизмы должны быть непатогенными, легко

культивироваться и однозначно идентифицироваться с эталонным штаммом из официальной коллекции культур.

В качестве тест-микрорганизмов для биологических индикаторов, предназначенных для контроля работы паровых стерилизаторов, применяют споры *Geobacillus stearothermophilus* ВКМ В-718 [5] или других штаммов этого вида микроорганизмов, обладающих эквивалентными свойствами [1, 2].

В качестве удерживающего материала для тест-микрорганизмов используют инертный к водяному насыщенному пару носитель.

Основными техническими характеристиками биологических индикаторов являются:

- вид тест-микрорганизма с указанием штамма;
- число жизнеспособных тест-микрорганизмов в споровой форме, содержащиеся в каждом биологическом индикаторе;
- величина D – время, необходимое для десятикратного уменьшения количества спор в биологическом индикаторе при воздействии насыщенного водяного пара при температуре испытания (для каждой серии биологических индикаторов величина D должна быть указана с точностью $\pm 0,5$ мин);
- окно выживания-гибели – определяется по методике ГОСТ ISO 11138-1 [1]

и выражается значением времени для гарантированной гибели тест-микроорганизмов и времени для гарантированного выживания тест-микроорганизмов в индикаторе при воздействии насыщенного водяного пара с температурой стерилизации.

При проведении контроля эффективности работы паровых стерилизаторов с использованием биологических индикаторов после завершения цикла стерилизации тест-микроорганизмы помещают в питательную (индикаторную) среду и инкубируют. Питательная среда при инкубации способствует прорастанию спор тест-микроорганизмов, не погибших в цикле стерилизации.

В случае сбоя работы стерилизатора или при несоблюдении норм загрузки стерилизационной камеры оставшиеся жизнеспособные споры прорастают в питательной среде с последующим размножением тест-микроорганизмов, в результате чего происходит изменение pH среды и изменение ее цвета.

Для поддержания необходимой при инкубировании температуры используют специальные приборы – инкубаторы. Обычно время инкубирования при работе с биологическими индикаторами, предназначенными для контроля работы паровых стерилизаторов, составляет не менее 48 часов. Для получения достоверных результатов необходимо с вы-

сокой точностью (± 2 °C) поддерживать температуру инкубации, которая отличается для различных штаммов и лежит в интервале от +55 °C до +60 °C (ГОСТ ISO 11138-1 [1]).

По конструкции биологические индикаторы разделяются на два вида: неавтономные и автономные.

Неавтономные индикаторы. В неавтономных биологических индикаторах «БиоТЕСТ-П1-ВИНАР» (носитель – полоска фильтровальной бумаги), «БиоТЕСТ-П2-ВИНАР» (носитель – пластиковая пробирка типа Эппендорф) носители с находящимися в них тест-микроорганизмами упакованы в стерилизационную упаковку (первичную упаковку). Стерильную питательную индикаторную среду для неавтономных биологических индикаторов поставляют в комплекте с ними в отдельной емкости. После цикла стерилизации с использованием неавтономных биологических индикаторов их необходимо передавать в микробиологическую лабораторию для осуществления последующих манипуляций (добавление питательной среды в асептических условиях) работниками, имеющими необходимую квалификацию. Индикаторы предназначены для контроля эффективности стерилизации при всех режимах паровой стерилизации медицинских изделий, разрешенных в РФ.



Автономные индикаторы. Автономные биологические индикаторы «БиоТЕСТ-П-ВИНАР» – это индикаторы, представляющие собой первичную упаковку (пластиковая пробирка с колпачком и антибактериальным фильтром), внутри которой содержатся стерильная питательная среда (в стеклянной ампуле) и тест-микроорганизмы, нанесенные на внутреннюю поверхность пробирки.

При активации автономных биологических индикаторов емкость (стеклянную ампулу), содержащую питательную среду, разрушают с помощью специальных устройств – ломателей, применение которых позволяет не нарушать целостность первичной упаковки (пластиковая пробирка), предотвращая риск повреждения кожных покровов рук пользователя и повторной контаминации содержимого биологического индикатора посторонними микроорганизмами. При этом обеспечивается контакт питательной среды с тест-микроорганизмами.

Автономные биологические индикаторы обладают рядом преимуществ перед неавтономными. В частности, их конструктивные особенности исключают возможность вторичной контаминации содержимого биологических индикаторов посторонней микрофлорой после стерилизации, способствуя однозначной трактовке результатов, поскольку для активации не требуется

вскрывать индикатор. Отсутствует необходимость обеспечения асептических условий работы, а следовательно, и необходимость проведения манипуляций в микробиологической лаборатории персоналом, владеющим специальными навыками. Такие биологические индикаторы можно использовать в любой медицинской организации при наличии в ней термостата или инкубатора.

В соответствии с ГОСТ ISO 11138-3 [2] для неавтономных биологических индикаторов номинальное число тест-микроорганизмов может быть не менее 1×10^5 . Для автономных биологических индикаторов номинальное число тест-микроорганизмов может быть менее 1×10^5 при условии выполнения требований для величины D: величина D_{121} должна быть не менее 1,5 мин.

В соответствии с действующими методическими указаниями [5] устойчивость спор тест-культуры на носителе к действию насыщенного пара под избыточным давлением при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ должна быть следующей для каждого образца:

- время выживания – не менее 5 мин;
- время гибели не более 15 мин.

Выпускаемые ООО «НПФ «ВИНАР» все биологические индикаторы сертифицированы на соответствие требованиям ГОСТ ISO 11138-1 [1], ГОСТ ISO 11138-3 [2] и методических указаний № 15/6-5 [5].

Применение биологических индикаторов

Биологические индикаторы могут использоваться как самостоятельно (для закладки внутрь тестовых стерилизуемых изделий и упаковок при контроле), так и в составе различных устройств контроля: «Тест-ИБ» (МУК 4.2.1990-05 [6]), пористых устройств контроля одно-разовых «УКП-Винар-ИБ-ПА-ПО», «УКП-Винар-ИБ-ПН-ПО», пористых устройств контроля многоразовых «УКП-Винар-ИБ-ПА-ПМ», «УКП-Винар-ИБ-ПН-ПМ», трубчатого устройства контроля многоразового «УКП-Винар-ИБ-ПА-ТМ».

Бактериологический метод контроля стерилизации применяют:

- для ежегодной валидации и испытаний процесса паровой стерилизации с помощью «Тест-ИБ», устройств контроля;
- периодического (ежеквартального, ежемесячного) испытания на полноту удаления воздуха из стерилизационной камеры паровых стерилизаторов любых типов с помощью «Тест-ИБ», устройств контроля;
- текущего контроля каждого цикла паровой стерилизации сложных и наиболее эпидемиологически значимых медицинских изделий (имплантируемые изделия, инструменты, материалы и изделия для

оперативных вмешательств) в составе тестового стерилизуемого изделия или устройств контроля.

При валидации и периодическом контроле биологические индикаторы используют в составе «Тест-ИБ» и устройств контроля процесса по всем контрольным точкам.

При текущей стерилизации загрузки с наиболее эпидемиологически значимыми имплантируемыми изделиями биологические индикаторы используют при контроле каждого цикла в составе устройства контроля. При этом в каждое устройство контроля закладывают по пять биологических индикаторов. Устройство контроля располагают в наиболее холодные части стерилизационной камеры.

В пористых многоразовых устройствах контроля с биологическими индикаторами при каждом применении необходимо заменять пористый загрузочный модуль и биологические индикаторы, в трубчатом многоразовом при каждом использовании заменяют все пять биологических индикаторов.

Биологические индикаторы должны всегда использоваться в комбинации с физическим и (или) химическим средством контроля процесса стерилизации. Если колебания физико-химических показателей процесса стерилизации,



установленные физическими и химическими методами, выходят за допустимые пределы, процесс стерилизации всегда должен рассматриваться как неудовлетворительный независимо от результатов контроля с помощью биологических индикаторов.

Не допускается использовать биологические индикаторы после истечения

срока годности, указанного изготовителем.

Таким образом, ООО «НПФ «ВИНАР» выпускает все модификации биологических индикаторов для паровой стерилизации, что позволяет организовать эффективный контроль стерилизации медицинских изделий ●

Список источников

- [1] ГОСТ ISO 11138-1-2012 Стерилизация медицинской продукции. Биологические индикаторы. Часть 1. Технические требования.
- [2] ГОСТ ISO 11138-3-2012 Стерилизация медицинской продукции. Биологические индикаторы. Часть 3. Биологические индикаторы для стерилизации влажным теплом.
- [3] ГОСТ 31598-2012 Стерилизаторы паровые большие. Общие технические требования и методы испытаний.
- [4] МУ-287-113 от 30.12.1998. Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения.
- [5] Методические указания по контролю работы паровых и воздушных стерилизаторов № 15/6-5 от 28.02.1991.
- [6] Методические указания МУК 4.2.1990-05. Контроль удаления воздуха в паровых стерилизационных камерах.