



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΠΑΤΡΩΝ  
UNIVERSITY OF PATRAS

ΑΝΟΙΚΤΑ ακαδημαϊκά  
μαθήματα ΠΠ

# Φαρμακευτική Τεχνολογία Ι

Αποστείρωση

Κ. Αυγουστάκης

Σχολή Επιστημών Υγείας

Τμήμα Φαρμακευτικής

# Σκοπός της ενότητας

Σκοπός της παρούσας ενότητας είναι η εξοικείωση των φοιτητών με τις έννοιες της αποστείρωσης ως βασικής φαρμακευτικής διεργασίας και με τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την επίτευξη της στείροτητας των φαρμακευτικών προϊόντων

# Περιεχόμενα ενότητας

1. Βασικοί ορισμοί
2. Αδρανοποίηση μικροβίων
3. Μέθοδοι αποστείρωσης
  - i. Κορεσμένου υδρατμού
  - ii. Συνδυασμός υδρατμού χαμηλής θερμοκρασίας και φορμαλδεΰδη
  - iii. Παρουσία βακτηριοκτόνου
  - iv. Ξηρά θερμότητα
  - v. Με ακτινοβολία
  - vi. Με υπεριώδη ακτινοβολία
  - vii. Με ιονίζουσες ακτινοβολίες
  - viii. Με αέρια
  - ix. Με διήθηση
4. Κριτήρια επιλογής μεθόδου αποστείρωσης
5. Έλεγχος αποστείρωσης

# Βασικοί ορισμοί

- **Στείρωση** ορίζεται ως η απουσία κάθε (ικανής να αναπαραχθεί) μορφής ζωής και **αποστείρωση** η διαδικασία με την οποία επιτυγχάνεται η στείρωση.
- **Αποστείρωση** στην φαρμακευτική πράξη είναι η διεργασία με την οποία επιχειρείται η καταστροφή ή η απομάκρυνση όλων των μικροοργανισμών, όπως βακτήρια και σπόροι αυτών, μύκητες, ιοί, ρικέτσιες και μυκοπλάσματα, από τα φαρμακευτικά προϊόντα.
- **Αντισηψία** είναι η εφαρμογή αντιμικροβιακών ουσιών (αντισηπτικά) τοπικά σε ζωντανούς ιστούς με σκοπό την πρόληψη λοίμωξης
- **Απολύμανση** είναι η εφαρμογή αντιμικροβιακών ουσιών (απολυμαντικά) σε χώρους και αντικείμενα με σκοπό την καταστροφή ή αναστολή της ανάπτυξης μικροοργανισμών ώστε αυτά να μην μπορούν να προκαλέσουν μόλυνση

# Κινητική αδρανοποίησης των μικροβίων

Ο αριθμός των επιζώντων μικροοργανισμών ελαττώνεται συνήθως εκθετικά με τον χρόνο κατά την αποστείρωση:

$$N_t = N_0 \cdot e^{-kt}$$

( $N_0$ ,  $N_t$  είναι ο αρχικός αριθμός των μικροβίων και ο αριθμός των επιζώντων μικροβίων σε χρόνο  $t$  αντίστοιχα)

Και με λογαρίθμηση:

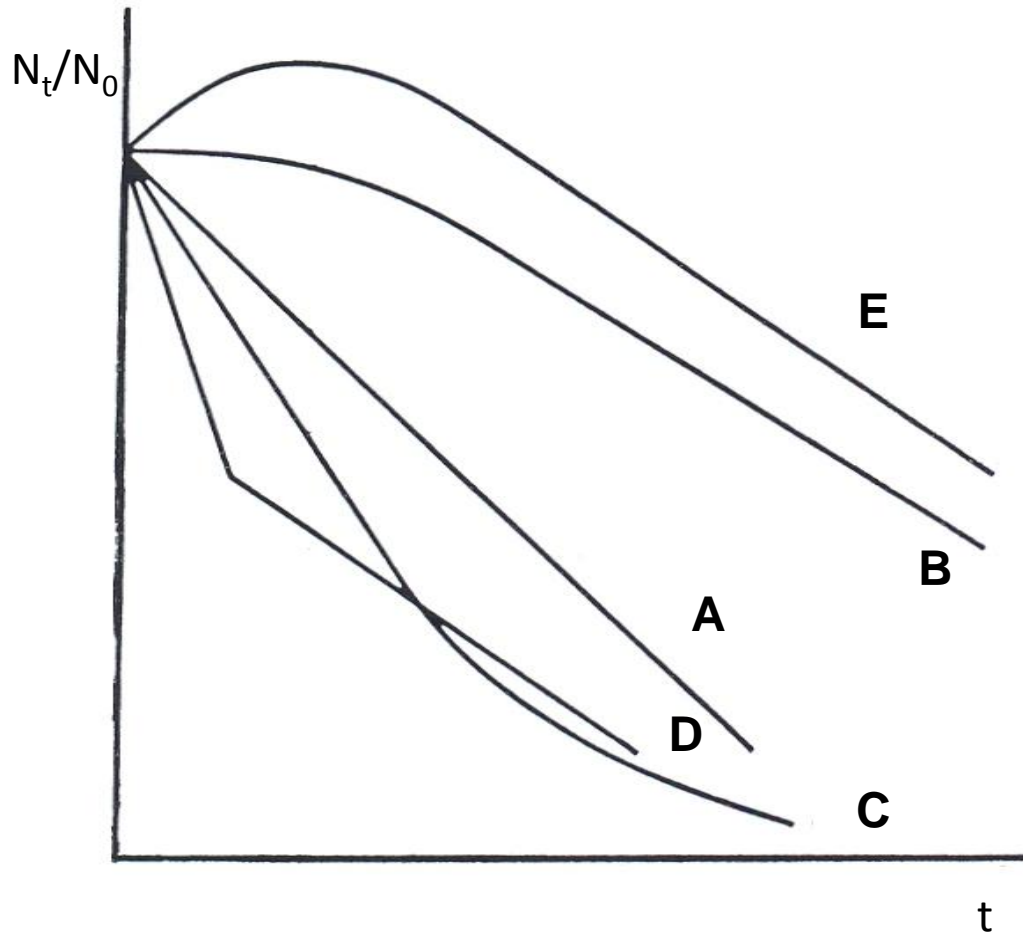
$$\log N_t = \log N_0 - (k/2.303) \cdot t \quad \text{και} \quad \log N_0/N_t = K \cdot T$$

$$(K = k/2.303)$$

**χρόνος υποδεκαπλασιασμού D:** ο χρόνος αποστείρωσης που απαιτείται για ελάττωση του αριθμού των επιζώντων μικροβίων στο 10% του αρχικού υπό καθορισμένες συνθήκες αποστείρωσης

**παράμετρος Z :** η αύξηση της θερμοκρασίας που απαιτείται για αύξηση του ρυθμού θανάτωσης κατά 10 φορές

# Η κινητική της θανάτωσης των μικροβίων δεν είναι πάντοτε πρωτοταξική



Η καμπύλη **A** είναι πρωτοταξική

Οι υπόλοιπες αποτελούν τις  
συνηθέστερες εξαιρέσεις

**B:** συσσωμάτωση των μικροβίων ή  
ύπαρξη περισσότερων ευαίσθητων  
θέσεων στο μικροβιακό κύτταρο που  
πρέπει να αδρανοποιηθούν →  
απαραίτητη η επαρκής εφαρμογή  
θερμότητας

**C:** ύπαρξη ανθεκτικών μικροβίων ή  
έκπλυση χημικών παραγόντων από τα  
κατεστραμμένα κύτταρα που αυξάνουν  
την αντίσταση των επιζώντων

**D:** απότομη μεταβολή της κλίσης →  
ύπαρξη δύο μικροβιακών πληθυσμών με  
σημαντικά διαφορετική αντίσταση

**E:** (σπάνια) θερμική ενεργοποίηση των  
βακτηριακών σπόρων στα αρχικά στάδια  
της αποστείρωσης με θερμότητα

# Παράμετροι περιγραφής της αποτελεσματικότητας μιας διαδικασίας αποστείρωσης

**συντελεστής αδρανοποίησης IF:** η ελάττωση του αριθμού των μικροβίων που επιτυγχάνεται με μία καθορισμένη διαδικασία αποστείρωσης, υπολογίζεται από την σχέση

$$IF = 10^{t/D} \quad (\text{ισχύει μόνο για γραμμική καμπύλη επιζώντων})$$

Η διαδικασία αποστείρωσης πρέπει να έχει 12 D αποτελεσματικότητα δηλ. να έχει συντελεστή αδρανοποίησης  $10^{12}$

Όταν η καμπύλη επιζώντων δεν είναι γραμμική αντί του IF χρησιμοποιείται η «πιθανότερη αποτελεσματική δόση» ( $MPED_n$ ): η περισσότερη πιθανή δόση που απαιτείται για την ελάττωση του αρχικού αριθμού των μικροβίων κατά n δεκαδικά ψηφία



Για τη σύγκριση της αποτελεσματικότητας διαφορετικών διαδικασιών αποστείρωσης με εφαρμογή θερμότητας, χρησιμοποιείται η **παράμετρος F**

Η τιμή F μιας διαδικασίας αποστείρωσης δείχνει τον χρόνο (min) έκθεσης ενός μικροοργανισμού αναφοράς στην θερμοκρασία αναφοράς που έχει την ίδια καταστρεπτικότητα επί του μικροοργανισμού αυτού με την εν λόγω διαδικασία αποστείρωσης

όταν η θερμοκρασία αναφοράς είναι η 121 °C και ο μικροοργανισμός αναφοράς είναι οι σπόροι του *Bacillus stearothermophilus* (Z = 10 °C) η παράμετρος F συμβολίζεται ως  $F_0$

$$F_0 = D_{121} \log IF$$

# Παρασκευή στείρων σκευασμάτων

Δύσκολη και ακριβή διαδικασία που απαιτεί:

- Κατάλληλα εκπαιδευμένο προσωπικό
- Ειδικά σχεδιασμένο εξοπλισμό
- Ελεγχόμενο περιβάλλον εργασίας

στείρα σκευάσματα παράγονται μόνο  
όταν είναι απαραίτητο

Κύριες πηγές μόλυνσης φαρμακευτικών σκευασμάτων είναι:

- Το νερό
- Οι πρώτες ύλες
- Σημαντικότερη πηγή επιμόλυνσης είναι ο άνθρωπος!!!

# Επιμόλυνση σκευασμάτων

Η επιμόλυνση των σκευασμάτων έχει γενικά δύο ειδών συνέπειες:

- για την υγεία των ασθενών (*μικρόβια και προϊόντα αυτών*)
- για την σταθερότητα και αποτελεσματικότητα των ίδιων σκευασμάτων

Η επιμόλυνση των σκευασμάτων από μικροοργανισμούς μπορεί να οδηγεί σε:

- αλλοίωση του σκευάσματος
- **μη εμφανή** αλλοίωση του σκευάσματος

# Μέθοδοι αποστείρωσης

- Διαδικασίες στις οποίες χρησιμοποιείται αυξημένη ενέργεια (*ξηρή ή υγρή θερμότητα, συνδυασμός θερμότητας και βακτηριοκτόνων ουσιών και η ακτινοβολία*)
- Χημικές διαδικασίες (*εφαρμογή βακτηριοκτόνων αερίων*)
- Διαδικασίες στις οποίες εφαρμόζεται φυσική απομάκρυνση των μικροοργανισμών με διήθηση

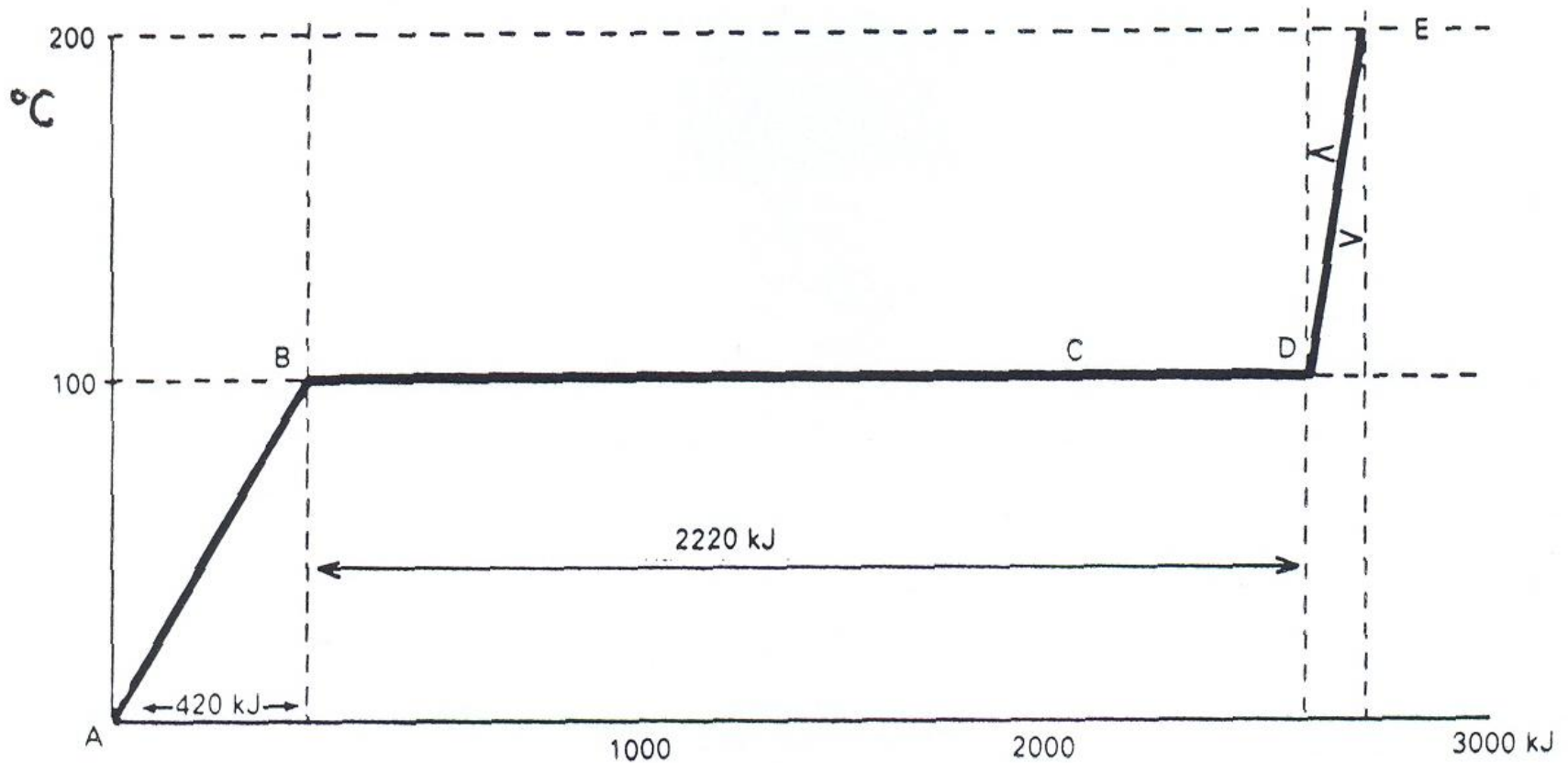
# Αποστείρωση με κορεσμένο υδρατμό

- η υγρή θερμότητα υπό τη μορφή κορεσμένου υδρατμού και πίεση είναι η περισσότερο αξιόπιστη μέθοδος θανάτωσης μικροοργανισμών
- ο θάνατος των μικροοργανισμών επέρχεται λόγω της **υδρόλυσης** απαραίτητων ενζύμων και νουκλεϊκών οξέων
- ο ξηρός κορεσμένος υδρατμός είναι **πολύ αποτελεσματικός** παράγοντας αποστείρωσης

η αποστειρωτική του ικανότητα οφείλεται:

- στο υψηλό και εύκολα αποδιδόμενο θερμικό περιεχόμενό του
- στην ικανότητα διείσδυσής του στα υπό αποστείρωση υλικά
- στην ενυδάτωση των μικροοργανισμών που προκαλεί

# Θερμικό περιεχόμενο υδρατμού: η λανθάνουσα θερμότητα εξαερίωσης του νερού (2240 KJ/Kg, P= 1 atm)



Ο **υγρός** κορεσμένος υδρατμός περιέχει σταγονίδια ύδατος που παρήχθησαν με δευτερογενή ψύξη

- ίδια ικανότητα θανάτωσης των μικροβίων με τον ξηρό κορεσμένο υδρατμό

αλλά

- λιγότερη λανθάνουσα θερμότητα
- μικρότερη διεισδυτικότητα

Ο **υπέρθερμος** υδρατμός δεν έχει μεγαλύτερη ικανότητα καταστροφής των μικροβίων από τον ξηρό αέρα ίδιας θερμοκρασίας

Η **παρουσία αέρα** μπορεί να οδηγήσει σε αποτυχία μια διαδικασία αποστείρωσης με υδρατμό:

- ο αέρας έχει πολύ μικρό συντελεστή θερμικής αγωγιμότητας
- η θερμοκρασία συμπύκνωσης του υδρατμού είναι χαμηλότερη

# Εργαστηριακό αυτόκλειστο

Νερό που έχει τοποθετηθεί στον πυθμένα της συσκευής βράζει μετά από θέρμανση με ηλεκτρικές αντιστάσεις και ο παραγόμενος υδρατμός εκτοπίζει τον υπάρχοντα στον θάλαμο αποστείρωσης αέρα

Το αυτόκλειστο φέρει μανόμετρο και θερμόμετρο

Ο θάλαμος θερμαίνεται στην θερμοκρασία αποστείρωσης (συνήθως  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Η θερμοκρασία αποστείρωσης διατηρείται σταθερή με τη βοήθεια ασφαλιστικής δικλείδας που διατηρεί σταθερή την πίεση ( $15\text{ psi}$  για  $\theta=121\text{ }^{\circ}\text{C}$ )

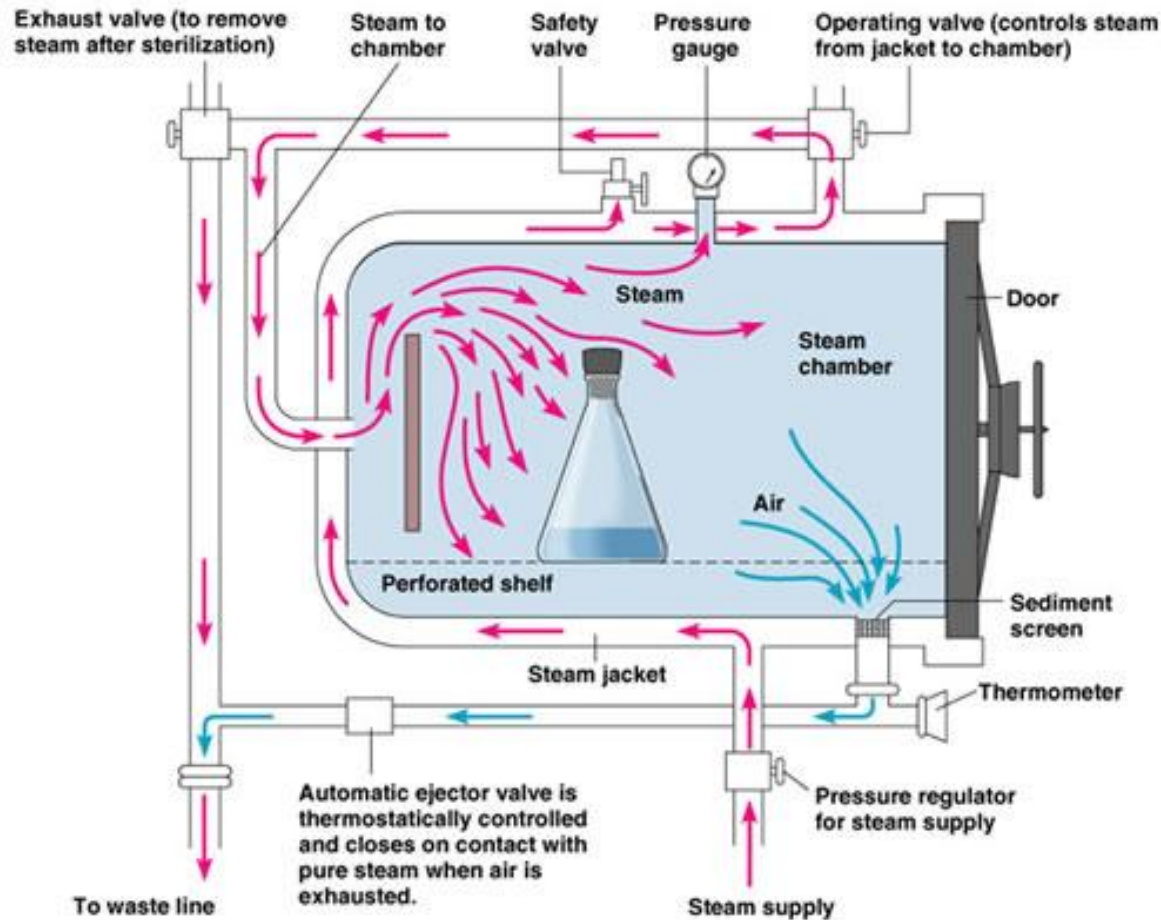


# Αυτόκλειστο καθοδικής εκτόπισης

## Στον αυτόκλειστο καθοδικής εκτόπισης

- Ο υδρατμός παράγεται εξωτερικά υπό υψηλή πίεση
- Αφού διέλθει μέσω ειδικών βαλβίδων ελάττωσης της πίεσης εισάγεται στην κορυφή του θαλάμου αποστείρωσης
- Όταν η θερμοκρασία αυτή γίνει ίση προς την θερμοκρασία του κορεσμένου υδρατμού που αντιστοιχεί στην επικρατούσα στην συσκευή πίεση , τότε η απομάκρυνση του αέρα και του νερού που προέρχεται από συμπύκνωση υδρατμού έχει ολοκληρωθεί.
- Ο έλεγχος της θερμοκρασίας κατά την περίοδο της αποστείρωσης επιτυγχάνεται με ρύθμιση της πίεσης του υδρατμού

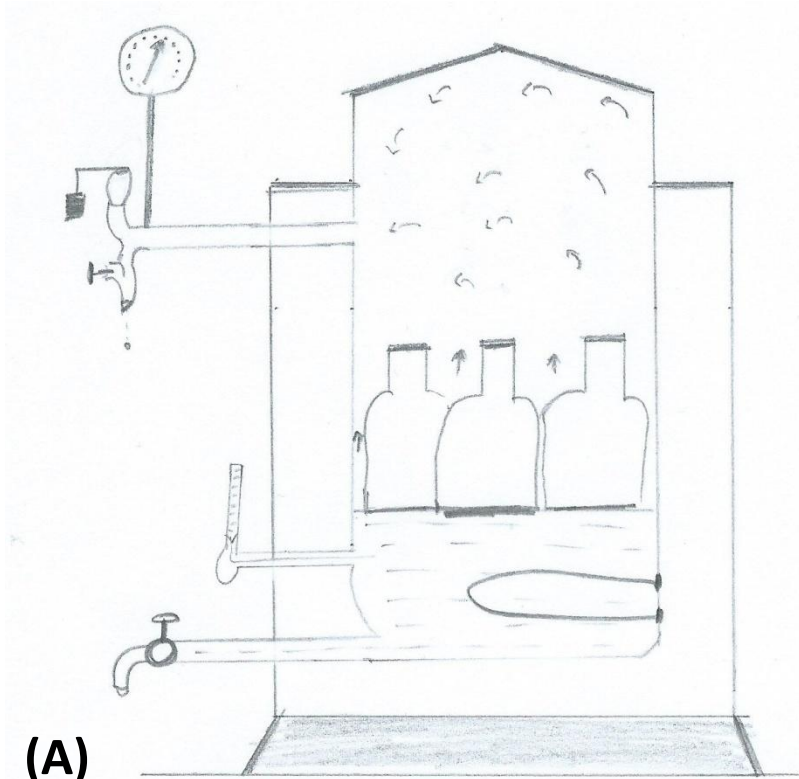
# Αυτόκλειστο καθοδικής εκτόπισης



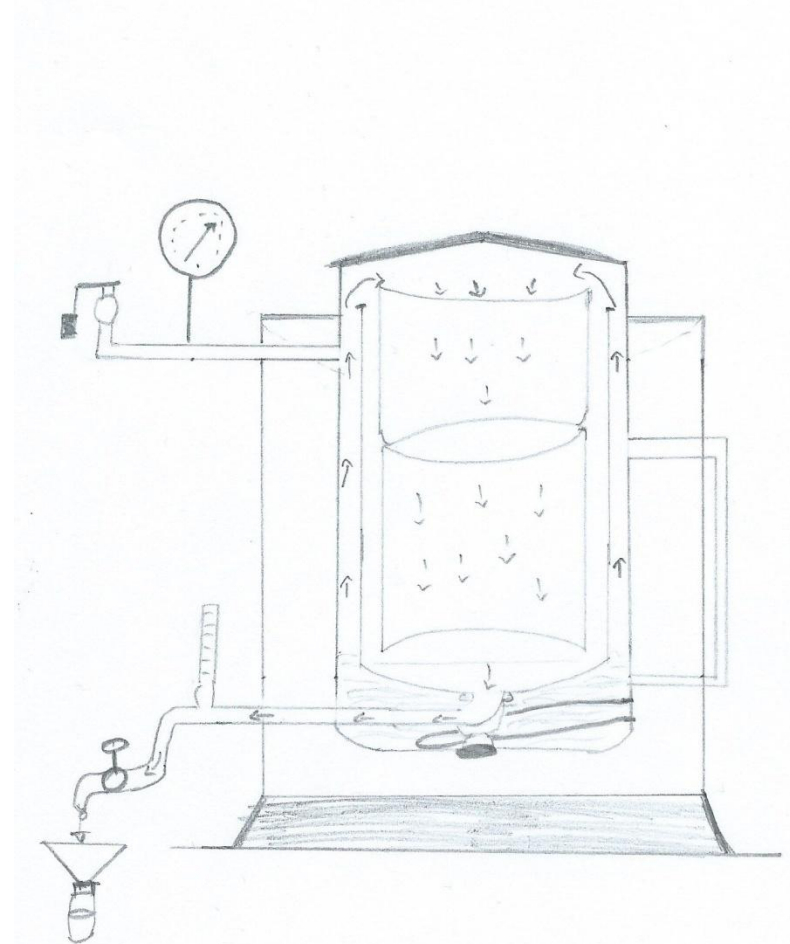
Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

*Tortora, Gerard J.; Funke, Berdell R.; Case, Christine L., Microbiology: An Introduction, 8th Edition, ©2004. P. 187 Figure 7.2.*

# Εργαστηριακό αυτόκλειστο με μονό (α) και διπλό (β) τοίχωμα



**(B)**



# Χρόνοι ενός κύκλου αποστείρωσης

Η **χρονική διάρκεια** ενός κύκλου αποστείρωσης με υδρατμό είναι το άθροισμα:

- (α) του χρόνου που απαιτείται για να αποκτήσει ο θάλαμος και το προς αποστείρωση φορτίο τη θερμοκρασία αποστείρωσης
- (β) του χρόνου στον οποίο κρατείται η θερμοκρασία στην θερμοκρασία αποστείρωσης (πραγματικός χρόνος αποστείρωσης)
- (γ) του χρόνου που απαιτείται για την ψύξη του φορτίου

- ❖ Ο χρόνος ψύξεως μπορεί να ελαττωθεί σημαντικά με ψεκασμό των υποδοχέων με σταδιακά ψυχόμενο νερό και με ταυτόχρονη σταδιακή ελάττωση της πίεσης εντός του θαλάμου. Τα αυτόκλειστα τα οποία διαθέτουν τον εξοπλισμό για ψεκασμό ύδατος καλούνται **αυτόκλειστα ψυχόμενα με ψεκασμό**
- ❖ Ο μεγάλος χρόνος απομάκρυνσης του αέρα και η υπερβολική διύγρυνση του αποστειρούμενου υλικού αντιμετωπίζονται με χρήση **αυτόκλειστων υψηλού κενού**
- ❖ Για την αύξηση της απόδοσης παραγωγής στείρων (εμφιαλωμένων) διαλυμάτων αναπτύχθηκαν **αυτόκλειστα συνεχούς λειτουργίας**

# Πρωτόκολλα αποστείρωσης με κορεσμένο υδρατμό

Φαρμακοποιία	Θερμοκρασία (°C)	Πίεση (psi)	Ελάχιστος χρόνος (min)
Ελληνική	121	15	15
Αμερικανική	121	15	15
Βρετανική 1	115-118	10-12.5	30
Βρετανική 2	121-124	15-18	15

# Αποστείρωση με συνδυασμό υδρατμού χαμηλής θερμοκρασίας και φορμαλδεΐδης

Με την μέθοδο αυτή το προς αποστείρωση φορτίο εκτίθεται σε ένα ομογενές μίγμα μονομερούς αερίου φορμαλδεΐδης και ξηρού κορεσμένου υδρατμού χαμηλής σχετικά θερμοκρασίας

Η διαδικασία λαμβάνει χώρα σε συσκευές παρόμοιες με τα αυτόκλειστα υψηλού κενού

1. Απομάκρυνση του αέρα από τον θάλαμο με εφαρμογή διαδοχικών κύκλων εκκένωσης και εισαγωγής υδρατμού.
2. Εφαρμογή εναλλασσόμενων κύκλων εισαγωγής φορμαλδεΐδης και εκκένωσης του θαλάμου ώστε να εμποτιστεί το φορτίο με φορμαλδεΐδη.
3. Η τελευταία εφαρμογή κενού ακολουθείται από εισαγωγή της αποστειρωτικής δόσης φορμαλδεΐδης μαζί με ξηρό κορεσμένο υδρατμό κατάλληλης θερμοκρασίας και πίεσης.
4. Διατήρηση των συνθηκών σε όλη την περίοδο αποστείρωσης.
5. Επανάληψη των κύκλων εκκένωσης - εισαγωγής υδρατμού για την απομάκρυνση της φορμαλδεΐδης.
6. Τέλος, εισαγωγή στο θάλαμο αποστειρωμένου αέρα

- ❖ Η μέθοδος θεωρείται κατάλληλη για την αποστείρωση θερμοευαίσθητων πορωδών φορτίων και εξοπλισμού
- ❖ Η μικροβιοκτόνος δράση της φορμαλδεΐδης οφείλεται στις αλκυλιωτικές και μεταλλαξιγόνες ιδιότητές της

Παράδειγμα πρωτόκολλου:

έκθεση για 2 ώρες σε  $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  φορμαλδεΐδης σε συνδυασμό με ξηρό κορεσμένο υδρατμό θερμοκρασίας  $73 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $0.35 \pm 0.03 \text{ atm}$ )

# Αποστείρωση με θέρμανση παρουσία βακτηριοκτόνου

- Η μέθοδος μπορεί να εφαρμοσθεί σε υδατικά διαλύματα ή αιωρήματα φαρμάκων που είναι ασταθή στις συνθήκες αποστείρωσης με κορεσμένο υδρατμό
- Η απαιτούμενη ποσότητα της βακτηριοκτόνου ουσίας προστίθεται στο παρασκεύασμα το οποίο στη συνέχεια διανέμεται στους τελικούς υποδοχείς. Οι υποδοχείς κλείνονται ερμητικώς και θερμαίνονται ώστε το περιεχόμενό τους να διατηρηθεί στους 98 -100 °C επί 30 λεπτά.
- Για ενέσιμες μορφές συνιστάται η χρήση 0.2 % β/ο χλωροκρεσόλης ή 0.002% β/ο νιτρικού ή οξικού φαινυλδραργύρου, ενώ για οφθαλμικά διαλύματα, όταν δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί η χλωροκρεσόλη, μπορούν να χρησιμοποιηθούν 0.01% β/ο χλωριούχο βενζαλκόνιο, χλωρεξιδίνη ή θειομερσάλη ως εναλλακτικά των φαινυλδραργυρικών αλάτων.
- Η επιλογή του βακτηριοκτόνου γίνεται με βάση την ατοξικότητά του και την συμβατότητά του με το προϊόν και τον περιέκτη
- Η αξιοπιστία της μεθόδου είναι αμφισβητήσιμη και πρέπει να περιορίζεται σε θερμοευαίσθητα υλικά που δεν είναι δυνατόν να αποστειρωθούν παρά μόνο με θερμική μέθοδο



# Αποστείρωση με ξηρά θερμότητα

- Υλικά τα οποία δε διασπώνται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 140 °C μπορούν να αποστειρωθούν με εφαρμογή ξηράς θερμότητας
- Η αποστείρωση με ξηρά θερμότητα διεξάγεται στα πυριαντήρια θερμού αέρα (κλιβάνους). Οι σύγχρονοι κλίβανοι διαθέτουν θερμοστάτη για έλεγχο της θερμοκρασίας, ανεμιστήρα ή στροβιλοφυσητήρα για την κυκλοφορία του αέρα, συστήματα ασφαλείας έναντι υπερθέρμανσης και διακοπής ηλεκτροδότησης, και σύστημα κλειδώματος της πόρτας του θαλάμου
- Για να διατηρηθεί η στείρα κατάσταση μετά την αποστείρωση θα πρέπει τα αποστειρωθέντα αντικείμενα να προστατεύονται αποτελεσματικά από περιβαλλοντική επιμόλυνση
- Με σκοπό την αύξηση της απόδοσης αναπτύχθηκαν και αποστειρωτές συνεχούς λειτουργίας

## Πρωτόκολλα:

ξηρή θέρμανση στους 180 °C επί 30 min τουλάχιστον, στους 170 °C επί 60 min τουλάχιστον ή στους 160 °C επί 120 min τουλάχιστον (ΕΦ)

# Αντίσταση των μικροοργανισμών στην υγρή και ξηρή θερμότητα

Υπάρχουν διαφορές στην αντίσταση στη θερμότητα ανάμεσα σε διαφορετικά γένη, είδη και ποικιλίες μικροοργανισμών, καθώς και ανάμεσα στους σπόρους και στις φυτικές μορφές του ίδιου μικροοργανισμού

Γενικά ισχύει ότι:

βακτηριακοί σπόροι > σπόροι των μυκήτων > φυτικές

μορφές των μικροοργανισμών > μύκητες > ιοί

# Η αντίσταση των μικροοργανισμών στη θερμότητα επηρεάζεται από

- (α) Το στάδιο ανάπτυξης του μικροοργανισμού
- (β) Τις συνθήκες καλλιέργειας των μικροοργανισμών
- (γ) Το pH και τη σύσταση του μέσου θέρμανσης
- (δ) Τις συνθήκες καλλιέργειας των μικροοργανισμών μετά την εφαρμογή της θερμότητας

# Αποστείρωση με ακτινοβολία

Εφαρμογή με χρήση

- Υπεριώδη ακτινοβολία
- Ακτινοβολία  $\gamma$
- Ακτινοβολία  $\beta$

Η αποστείρωση με ακτινοβολία γίνεται σε χαμηλή θερμοκρασία και εφαρμόζεται για αποστείρωση θερμοευαίσθητων υλικών και αντικειμένων

# Αποστείρωση με υπεριώδη ακτινοβολία

Η περιοχή βακτηριοκτόνου δραστηρότητας κυμαίνεται από τα 220 ως τα 280 nm, με μέγιστο δραστηρότητας περίπου στα 265 nm.

Μηχανισμός βακτηριοκτόνου δράσης:

διέγερση των ηλεκτρονίων των ατόμων



μη φυσιολογικές αντιδράσεις μεταξύ των βασικών μορίων του κυττάρου



σχηματισμός διμερών θυμίνης

Η μικροβιοκτόνος αποτελεσματικότητα της UV ακτινοβολίας είναι συνάρτηση της έντασης ακτινοβολίας και του χρόνου έκθεσης σε αυτή, ενώ εξαρτάται και από το είδος του μικροοργανισμού

Οι μικροοργανισμοί που υπέστησαν βλάβες από απορρόφηση UV ακτινοβολίας μπορούν ορισμένες φορές να διορθώσουν αυτές τις βλάβες και να ***επανακάμψουν***

- Η υπεριώδης ακτινοβολία για αποστείρωση παράγεται από ειδικές λυχνίες ατμών υδραργύρου (2537 Å).
- Για μέγιστη αποτελεσματικότητα θα πρέπει οι λυχνίες να προστατεύονται από την σκόνη, την βρωμιά και την χάραξη
- Οι ακτίνες UV προκαλούν ερυθρήματα στο δέρμα και ισχυρό ερεθισμό των οφθαλμών.

# Εφαρμογές

- ✓ Η υπεριώδης ακτινοβολία έχει πολύ μικρή διεισδυτική ικανότητα και δε χρησιμοποιείται για την αποστείρωση ιατρικών αντικειμένων ή φαρμακευτικών σκευασμάτων
- ✓ Η κύρια εφαρμογή της είναι η ελάττωση της μόλυνσης του αέρα και των επιφανειών σε ειδικούς χώρους εργασίας (π.χ. χώρους ασηπτικής παρασκευής)
- ✓ Έχει επίσης εφαρμοσθεί για την αποστείρωση νερού που θα χρησιμοποιηθεί στην παρασκευή στείρων φαρμακευτικών προϊόντων

## Προσοχή:

οτιδήποτε δημιουργεί μια ασπίδα προστασίας γύρω από τα μικρόβια αυξάνει την αντίστασή τους στην ακτινοβολία

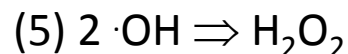
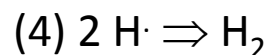
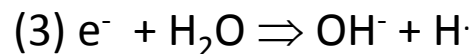
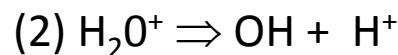
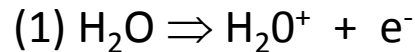


# Αποστείρωση με ιονίζουσες ακτινοβολίες

- Η κυριότερη πηγή γ ακτινοβολίας που χρησιμοποιείται στην αποστείρωση είναι σήμερα το ραδιοϊσότοπο  $^{60}\text{Co}$
- Η ακτινοβολία β που χρησιμοποιείται στην αποστείρωση παράγεται με επιτάχυνση ηλεκτρονίων σε πολύ υψηλές ταχύτητες μέσα σε ειδικές συσκευές που ονομάζονται επιταχυντές ηλεκτρονίων (γραμμικοί και οι Van de Graaff)

## Μηχανισμός Δράσης:

- Άμεσες ενέργειες: βλάβη στο DNA
- Έμμεσες ενέργειες: ιονισμός νερού και δημιουργία ελευθέρων ριζών και υπεροξειδίων:



# Αντίσταση μικροβίων στις ιονίζουσες ακτινοβολίες

Η αντίσταση των μικροβίων στις ιονίζουσες ακτινοβολίες ελαττώνεται σημαντικά παρουσία οξυγόνου λόγω του σχηματισμού



Την αντίσταση των μικροβίων επηρεάζει επίσης η χημική σύσταση του μέσου καλλιέργειας (παρουσία ουσιών με σουλφυδρυλομάδες) και η πήξη του μέσου καλλιέργειας

# Εφαρμογές αποστείρωσης με ιονίζουσες ακτινοβολίες

- μέθοδο κατάλληλη μόνο για μεγάλης κλίμακας εφαρμογές
- κυρίως για την αποστείρωση πλαστικών ιατρικών αντικειμένων και εξοπλισμού (σύριγγες, τρυβλία, retri, αυτοκόλλητους επιδέσμους, ράμματα κ.α.)
- βιταμίνες, ορμόνες και αντιβιοτικά έχουν αποστειρωθεί με ακτινοβολία

**Πρωτόκολλα αποστείρωσης με ακτινοβολία:**

Η αποδεκτή δόση αποστείρωσης είναι 2.5 Mrad  
(25 KGy)

# Αποστείρωση με αέρια

Τα σημαντικότερα αέρια που έχουν χρησιμοποιηθεί στην αποστείρωση χώρων ή υλικών είναι:

- η φορμαλδεΐδη
- η β-προπιολακτόνη
- το προπυλενοξείδιο
- το αιθυλενοξείδιο

Το αιθυλενοξείδιο προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα και βρίσκει ευρεία χρήση στην αποστείρωση

# Αιθυλενοξειδίο

- ❖ Το αιθυλενοξειδίο είναι αέριο στη θερμοκρασία δωματίου
- ❖ Μόνο του είναι πολύ εύφλεκτο ενώ τα μίγματά του με αέρα που έχουν συγκέντρωση αιθυλενοξειδίου μεγαλύτερη από 3% είναι εκρηκτικά
- ❖ Το αέριο αιθυλενοξειδίο διαπερνά εύκολα υλικά όπως πλαστικό, χαρτόνι, ύφασμα και κόνεις όχι όμως και κρυσταλλικά υλικά
- ❖ Απομακρύνεται από τα υλικά με απλή έκθεσή τους στον αέρα
- ❖ Η μικροβιοκτόνος δράση του αιθυλενοξειδίου σχετίζεται με την αλκυλιωτική του ικανότητα

Η μικροβιοκτόνος δραστηριότητα του αιθυλενοξειδίου είναι ανάλογη:

- της μερικής πίεσης του αερίου στον θάλαμο αποστείρωσης
- του χρόνου έκθεσης στο αέριο
- της θερμοκρασίας
- του επιπέδου και τύπου της μικροβιακής μόλυνσης
- της σχετικής υγρασίας (28 - 33% )

# Διαδικασία αποστείρωσης με αέρια

1. Το υλικό προϋγραίνεται με έκθεση σε υψηλή σχετική υγρασία για ορισμένο χρόνο και εισάγεται στον θάλαμο αποστείρωσης (55 °C)
2. Στη συνέχεια εφαρμόζεται κενό για την απομάκρυνση του αέρα χωρίς όμως να προκληθεί ξήρανση του φορτίου
3. Κατόπιν εισάγεται αιθυλενοξειδίο (σε μίγμα με άλλο αέριο) και υγρασία. (Η συγκέντρωση του αιθυλενοξειδίου στο θάλαμο καθορίζεται με ρύθμιση της πίεσης)
4. Την περίοδο έκθεσης στο αιθυλενοξειδίο (6 - 24 ώρες) ακολουθεί η εφαρμογή υψηλού κενού
5. Εισάγεται στείρος αέρας μέχρι η πίεση στο θάλαμο γίνει ίση με την ατμοσφαιρική

Συνθήκες αποστείρωσης με αιθυλενοξειδίο στους 55 °C ( μετά από έκθεση του φορτίου σε περιβάλλον 60% σχετικής υγρασίας για 1 ώρα).

---

<b>Σύσταση μίγματος (%)</b>	<b>Συγκέντρωση αιθυλενοξειδίου (mg/l)</b>	<b>Πίεση στον θάλαμο (psig)</b>	<b>Ελάχιστος χρόνος έκθεσης (ώρες)</b>
10 αιθυλενοξειδίο 90 διοξειδίο άνθρακα	450	28	6
20 αιθυλενοξειδίο 80 διοξειδίο άνθρακα	670	18	4
12 αιθυλενοξειδίο 88 διχλωροδιφθορο- μεθάνιο	650	7	4

---

# Εφαρμογή της μεθόδου

- ✓ Η μέθοδος αυτή έχει κάνει δυνατή την αποστείρωση υλικών και αντικειμένων που δε θα μπορούσαν να αποστειρωθούν με καμία άλλη μέθοδο
- ✓ Η μέθοδος βρίσκει ευρεία εφαρμογή στην αποστείρωση πλαστικών ή ελαστικών υλικών και λεπτεπίλεπτων οπτικών οργάνων
- ✓ Η διεισδυτική ικανότητα του αιθυλενοξειδίου καθιστά δυνατή την αποστείρωση συστημάτων παρεντερικής χορήγησης, υποδερμικών βελόνων, πλαστικών συριγγών και άλλων σχετικών αντικειμένων μετά την συσκευασία στους πλαστικούς ή από χαρτόνι υποδοχείς τους.
- ✓ Ο εξοπλισμός από ανοξείδωτο χάλυβα έχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής όταν αποστειρώνεται με αιθυλενοξείδιο αντί με υδρατμό.
- ✓ Η μέθοδος χρησιμοποιείται μόνο για την αποστείρωση ξηρών κόνεων φαρμάκων που δεν επηρεάζονται από το αιθυλενοξείδιο
- ✓ *Το αιθυλενοξείδιο πρέπει να εκδιώκεται εντελώς από τα αντικείμενα μετά την αποστείρωση (προκαλείται ερεθισμός των ιστών, έχει καρκινογόνες και μεταλλαξιογόνες ιδιότητες): Στις Η.Π.Α. η μέγιστη επιτρεπτή συγκέντρωση οκτάωρης έκθεσης σε αιθυλενοξείδιο καθορίστηκε στο 1 ppm*



# Αποστείρωση με διήθηση

Η μέθοδος εφαρμόζεται για την αποστείρωση διαλυμάτων και αερίων

- ❖ Χρησιμοποιούνται **ηθμοί μεμβράνης**.
- ❖ Οι ηθμοί μεμβράνης κατασκευάζονται από πλαστικά πολυμερή όπως οξική-νιτρική κυτταρίνη, νάυλον, πολυβινυλοχλωρίδιο, polycarbonate, polysulfone και teflon
- ❖ Οι ηθμοί μεμβράνης λόγω του μικρού πάχους και του υψηλού και ομοιόμορφου πορώδους τους εξασφαλίζουν υψηλό ρυθμό διήθησης
- ❖ Οι ηθμοί μεμβράνης εξασφαλίζουν υψηλό ρυθμό διήθησης, χαμηλή κατακράτηση υγρού και ελάχιστη προσρόφηση συστατικών του διαλύματος
- ❖ Οι ηθμοί μεμβράνης κατασκευάζονται συνήθως με τη μορφή δίσκων ή πτυχωτών κυλίνδρων (φύσιγγες)

# Δοκιμασίες ηθμών

- Πίεση εμφάνισης φυσαλίδων
- Στους ηθμούς τύπου φύσιγγας είναι πιο πρακτικό να μετρείται ο ρυθμός διάχυσης του αέρα ή άλλου αερίου μέσω των γεμισμένων με νερό πόρων
- Έλεγχο της μικροβιοκρατούς ικανότητας της μεμβράνης από τον κατασκευαστή

# Διαδικασία

1. Διήθηση του διαλύματος μέσω αποστειρωμένου μικροβιοκρατούς ηθμού (0.2-0.22  $\mu$ )
2. Ασηπτική διανομή του διηθήματος σε αποστειρωμένους υποδοχείς
3. Κλείσιμο υποδοχέων υπό ασηπτικές συνθήκες

# Επιλογή μεθόδου αποστείρωσης

Με τις μεθόδους αποστείρωσης στις οποίες εφαρμόζονται θέρμανση, ακτινοβολία ή χημικά μέσα υπάρχει πάντοτε η πιθανότητα πρόκλησης βλάβης στο υλικό που αποστειρώνεται.

Η επιλογή μίας μεθόδου αποστείρωσης είναι συνεπώς ένας συμβιβασμός ανάμεσα στο μέγιστο αποδεκτό κίνδυνο αποτυχίας της αποστείρωσης και στη μέγιστη επιτρεπτή βλάβη του προϊόντος

Η αποστείρωση με θερμότητα είναι η πρώτη επιλογή όταν η φύση του προϊόντος το επιτρέπει

Η αποστείρωση **με κορεσμένο υδρατμό** μπορεί να εφαρμοσθεί:

- υδατικά παρασκευάσματα για παρεντερική και μη χορήγηση
- σε υλικά από φυσικό ελαστικό ή πλαστικό
- υάλινα σκεύη και διάφορες συσκευές (αν επαρκής διείσδυση του υδρατμού)

Η αποστείρωση με **ξηρή θερμότητα** είναι η πρώτη επιλογή για:

- υάλινα σκεύη και υάλινες σύριγγες
- χειρουργικά εργαλεία και εξοπλισμό.
- υλικά που βλάπτονται από την υγρασία, όπως έλαια, κηροί, βάσεις αλοιφών και κόνεις

Ο κίνδυνος διάσπασης του προϊόντος κατά την αποστείρωση με ξηρή θερμότητα, μπορεί να ελαχιστοποιηθεί αν ακολουθηθεί μία ολοκληρωμένη προσέγγιση θανάτωσης των μικροοργανισμών

Πολλά υλικά δεν μπορούν να αντέξουν τις θερμοκρασίες που εφαρμόζονται στην αποστείρωση με θερμότητα και μπορούν να αποστειρωθούν μόνο με τεχνικές «αποστείρωσης εν ψυχρώ»

Το **αιθυλενοξείδιο** έχει χρησιμοποιηθεί για

- την αποστείρωση θερμοευαίσθητων κόνεων,
- αντικειμένων από πλαστικό ή ελαστικό
- χειρουργικών οργάνων όπως βρογχοσκόπια και κυτοσκόπια
- χειρουργικών επιδέσμων και μάλλινων κουβερτών.

Η **μέθοδος LTSF** μπορεί επίσης να εφαρμοσθεί

- στην αποστείρωση μάλλινων κουβερτών και
- ορισμένων χειρουργικών οργάνων

Η αξιοπιστία όμως των μεθόδων αποστείρωσης με αέρια είναι αμφισβητήσιμη

Η αποστείρωση με ιονίζουσα **ακτινοβολία** είναι πολύ αξιόπιστη (πρόβλημα η πιθανότητα πρόκλησης διάσπασης) και εφαρμόζεται για

- μεγάλης κλίμακας αποστείρωση πλαστικών συρίγγων,
- πλαστικών τρυβλίων petri,
- χειρουργικού εξοπλισμού και χειρουργικών εργαλείων,
- ραμμάτων και επιδέσμων

# Καθορισμός του πρωτόκολλου αποστείρωσης

- 1) Επιλογή του μικροοργανισμού αναφοράς  
βακτηριακοί σπόροι

## κριτήρια επιλογής:

- ευκολία καλλιέργειας και ταυτοποίησης,
- επαναληψιμότητα της απόκρισης στον παράγοντα αποστείρωσης  
(επιθυμητό: η καμπύλη επιζώντων του μικροοργανισμού αναφοράς να είναι γραμμική)

## μικροοργανισμοί αναφοράς:

αποστείρωση με θερμότητα: σπόροι του *B. stearothermophilus*,

αποστείρωση με ιονίζουσες ακτινοβολίες: σπόροι του *B. Pumilus*

αποστείρωση με αιθυλενοξειδίο: σπόροι του *B. subtilis* ποικιλία *niger*

- 2) Προσδιορισμός του D και μετά του IF (για συγκεκριμένες πρότυπες συνθήκες)  
→ απαιτούμενος χρόνος έκθεσης στις πρότυπες συνθήκες

- 3) Προσδιορισμός χρόνου έκθεσης σε διαφορετικές από τις πρότυπες συνθήκες (με βάση το Z)

# Έλεγχος αποστείρωσης

Η στειρότητα δεν χαρίζεται στο προϊόν με την αποστείρωσή του μόνο στο τέλος της διαδικασίας παραγωγής αλλά πρέπει να εξασφαλίζεται σε κάθε στάδιο αυτής της διαδικασίας

Η αποτελεσματικότητα μίας διαδικασίας αποστείρωσης πρέπει να αποδεικνύεται πριν εφαρμοσθεί στην παραγωγή

Η επιτυχία της αποστείρωσης εκτιμάται με ελέγχους τόσο κατά τη διάρκεια της εργασίας (in process controls) όσο και στο αποστειρωθέν προϊόν



# Έλεγχοι κατά τη διάρκεια της αποστείρωσης

- Μέτρηση φυσικών μεγεθών (θερμοκρασία, πίεση, πίεση εμφάνισης φυσαλίδων)
- Χημικοί δείκτες
- Βιολογικοί δείκτες

# Χημικοί δείκτες

## Χημικοί δείκτες της αποστείρωσης με θερμότητα

1. σωλήνες Browne
2. κρυσταλλικοί δείκτες (απλοί και εξελιγμένοι τύποι με 2,4-δινιτροφαινυλδραζόνη)
3. χάρτες ή ταινίες μελάνης
4. θερμοευαίσθητες ταινίες (ύπαρξη αέρα από την ομοιομορφία τελικού χρώματος)

## Χημικοί δείκτες της αποστείρωσης με αέριο

φάκελοι Royce (περιέχουν  $MgCl_2$ ,  $HCl$  και κυανούν της βρωμοφαινόλης: έκθεση σε ορισμένη συγκέντρωση αιθυλενοξειδίου για ορισμένο χρόνο οδηγεί στον σχηματισμό αιθυλενοχλωρουδρίνης και μεταβολή του χρώματος από κίτρινο σε πορφυρό)

## Χημικοί δείκτες της αποστείρωσης με ακτινοβολία

Η απορροφηθείσα ακτινοβολία μετρείται με χημικά δοσίμετρα: υμένα από πολυμερή όπως πολυμεθυλμεθακρυλικό οξύ ή νάυλον -πολυβινυλοχλωρίδιο, που μετά την αποστείρωση μετράται η μεταβολή στην οπτική πυκνότητά τους.

# Βιολογικοί δείκτες

- Κατασκευάζονται με εναπόθεση ενός ορισμένου αριθμού μικροοργανισμών ( $10^5 - 10^7$ ) επάνω σε κατάλληλους φορείς
- Οι δείκτες διασκορπίζονται σε όλη τη μάζα του προς αποστείρωση φορτίου, μετά την αποστείρωση οι δείκτες καλλιεργούνται για να διαπιστωθεί εάν υπάρχουν επιζώντες μικροοργανισμοί.
- Ο μικροοργανισμός που θα χρησιμοποιηθεί στην παρασκευή βιολογικών δεικτών πρέπει να:
  - εμφανίζει υψηλή και επαναλήψιμη αντίσταση στον παράγοντα αποστείρωσης
  - παρέχει λογαριθμο-γραμμική καμπύλη επιζώντων
  - είναι γενετικώς σταθερός
  - χαρακτηρίζεται εύκολα και να μην είναι παθογόνος
- Η παρασκευή και διαφύλαξη των βιολογικών δεικτών, καθώς και οι συνθήκες καλλιέργειας των μικροοργανισμών μετά την αποστείρωση πρέπει να έχουν τυποποιηθεί και να ελέγχονται αυστηρά
- Θεωρείται καλό ο δείκτης να έχει μορφή παρόμοια με αυτήν του προς αποστείρωση προϊόντος

# Στους βιολογικούς δείκτες χρησιμοποιούνται ανθεκτικοί βακτηριακοί σπόροι

- στην αποστείρωση με υγρή θερμότητα σπόροι του *B. stearothermophilus* και του *B. coagulans* ξηραθέντες επάνω σε διηθητικό χαρτί ή λωρίδες PVC ή υπό την μορφή υδατικού εναιωρήματος
- στην αποστείρωση με ξηρή θερμότητα σπόροι του *B. subtilis* ποικιλία *niger* και *Cl. sporogenes* ξηραθέντες πάνω σε φύλλα αλουμινίου, ύαλο ή λωρίδες ανοξειδωτου χάλυβα, ή επάνω σε αποστειρωμένη καθαρή άμμο
- στην αποστείρωση με ακτινοβολία σπόροι του *B. pumilus* και *B. sphaericus* ξηραθέντες επάνω σε διηθητικό χαρτί ή φύλλα αλουμινίου
- στην αποστείρωση με αιθυλενοξειδίο σπόροι του *B. subtilis* ποικιλία *niger* ξηραθέντες σε φύλλα αλουμινίου ή λωρίδες PVC.

*Η μικροβιοκρατής αποτελεσματικότητα των ηθμών μπορεί να μετρηθεί απευθείας με διήθηση υγρού που περιέχει γνωστό αριθμό μικροβίων και προσδιορισμό του αριθμού των μικροοργανισμών που πέρασαν στο διήθημα (δοκιμασία με *Serratia marcescens*)*

# Δοκιμασία στειρότητας

Δείγματα από το αποστειρωθέν προϊόν προστίθενται σε κατάλληλα μέσα καλλιέργειας μικροοργανισμών και μετά από μία περίοδο επώασης εξετάζεται η ανάπτυξη ή όχι μικροοργανισμών

## Αξιώσεις

- 1) Θα πρέπει να ληφθεί επαρκής αριθμός δειγμάτων ώστε το συμπέρασμα που θα εξαχθεί μετά την εξέταση των δειγμάτων σχετικά με τη στειρότητα της παρτίδας να είναι με μεγάλη πιθανότητα το ορθό.
- 2) Το μέσο καλλιέργειας θα πρέπει να βοηθά την ανάπτυξη έστω και μικρού αριθμού μικροοργανισμών, ιδιαίτερα των παθογόνων και των πιθανών μολυντών του υπό εξέταση προϊόντος.
- 3) Η δράση αντιμικροβιακών ουσιών που τυχόν συνυπάρχουν στο προϊόν πρέπει να εξουδετερώνονται στα υπό εξέταση δείγματα
- 4) Η δοκιμασία πρέπει να είναι κατάλληλα σχεδιασμένη ώστε να ελαχιστοποιείται ο κίνδυνος επιμόλυνσης των δειγμάτων κατά τη διεξαγωγή της δοκιμασίας (αν παρ' όλα αυτά συμβεί επιμόλυνση αυτή πρέπει να μπορεί να γίνεται αντιληπτή)

# Η δοκιμασία στειρότητας μπορεί να διεξαχθεί με δύο τρόπους

- απευθείας εμβολιασμός δειγμάτων του προϊόντος σε κατάλληλα μέσα καλλιέργειας
- διήθηση του προϊόντος μέσω μικροβιοκρατούς ηθμού (αν το προϊόν περιέχει αντιμικροβιακές ουσίες)

**Δοκιμασίες ελέγχου** της ορθότητας της δοκιμασίας στειρότητας.

α) διαπίστωση των θρεπτικών ιδιοτήτων του μέσου καλλιέργειας

β) απόδειξη της αδρανοποίησης των αντιμικροβιακών ουσιών που τυχόν υπάρχουν στο προϊόν

γ) διαπίστωση τυχόν επιμόλυνσης του προϊόντος κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας

# Στατιστική θεώρηση της δοκιμασίας στειρότητας

Πιθανότητα αποδοχής παρτίδων με διαφορετικό ποσοστό μόλυνσης ως στείρες μετά από εκτέλεση μίας δοκιμασίας στείροτητας

---

**% μολυσμένα αντικείμενα στην παρτίδα**

<b>Μέγεθος παρτίδας</b>	<b>Μέγεθος δείγματος</b>	<b>0.1</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>20</b>
≤ 100	4	0.996	0.961	0.815	0.656	0.410
101-500	10	0.990	0.904	0.599	0.349	0.107
> 500	20	0.980	0.818	0.358	0.122	0.012

---

Πιθανότητα αποδοχής παρτίδων (500 αντικείμενα) με διαφορετικό ποσοστό μόλυνσης ως στείρες όταν χρησιμοποιηθεί μέρος μόνο του δείγματος ή μετά από επανάληψη της δοκιμασίας στείριότητας.

---

**% μολυσμένα αντικείμενα στην παρτίδα**

	0.1	1	5	10	20
χρησιμοποιώντας όλο τον όγκο του δείγματος	0.980	0.818	0.358	0.122	0.012
χρησιμοποιώντας 10% του όγκου του δείγματος	0.998	0.980	0.905	0.820	0.670
μετά από μία επανάληψη της δοκιμασίας	>0.999	0.967	0.588	0.229	0.024

---



# Συμπέρασμα

Καμιά δοκιμασία στειρότητας δεν μπορεί να εξασφαλίσει την στειρότητα

Παρ' όλα αυτά όταν διεξάγεται προσεκτικά και τα αποτελέσματά της ερμηνευτούν σωστά παρέχει επιπλέον σιγουριά για την στειρότητα των προϊόντων που πρέπει να αποστειρώνονται και αποτελεί σημαντικό τμήμα της διασφάλισης ποιότητας

Τέλος η δοκιμασία στειρότητας έχει σημαντικές ηθικές και νομικές προεκτάσεις

# Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Αθηνών**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



# Βιβλιογραφία

Όλα τα σχήματα, οι εικόνες και τα γραφήματα που παρουσιάστηκαν σε αυτή την ενότητα προέρχονται από το βιβλίο «Φαρμακευτική Τεχνολογία τόμος Ι, (Σχεδιασμός Φαρμακομορφών ,Τεχνολογία κόνεων, Φαρμακευτικές διεργασίες)», Κ. Αυγουστάκης, Εκδόσεις Πανεπιστημίου Πατρών, Πάτρα 2006

# Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Μη Εμπορική Χρήση Παρόμοια Διανομή 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Ως **Μη Εμπορική** ορίζεται η χρήση:

- που δεν περιλαμβάνει άμεσο ή έμμεσο οικονομικό όφελος από την χρήση του έργου, για το διανομέα του έργου και αδειοδόχο
- που δεν περιλαμβάνει οικονομική συναλλαγή ως προϋπόθεση για τη χρήση ή πρόσβαση στο έργο
- που δεν προσπορίζει στο διανομέα του έργου και αδειοδόχο έμμεσο οικονομικό όφελος (π.χ. διαφημίσεις) από την προβολή του έργου σε διαδικτυακό τόπο

Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.

# Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.

