

Metoda za dekontaminaciju priona

Mirko JUNG¹⁾, prof. dr. sc., dr. med.,
specijalist mikrobiolog
Augusto PANA²⁾, prof. dr. sc., dr. med.

1) Ch 8800 Thalwil/Zurich, Saumerstrasse 45,
Švicarska

2) Cattedra di igiene, Università di Roma »Tor
vergata«, Italija

Ključne riječi

prioni
dekontaminacija

Key words

prions
decontamination

Primljeno: 2005-04-08

Received: 2005-04-08

Prihvaćeno: 2005-05-25

Accepted: 2005-05-25

Brojni pokusi za dekontaminaciju priona opisani su u svjetskoj literaturi s kontradiktornim rezultatima obzirom na vrstu i način pripreme ispitivanog materijala, te raznolikost metodike. Na prijedlog Svjetske Zdravstvene Organizacije, SZO [1] u evropskim se zemljama najčešće koristi autoklaviranje u trajanju od 18 minuta pri 134 °C. Metoda nije uvijek uspješna i to ovisi o nekoliko faktora kao (a) vrste autoklava (gravitacijski ili vakuumski), (b) postupka s operacijskim instrumentima neposredno nakon završetka kirurškog zahvata pa do dekontaminacije, (c) od kombinacije otopina s NaOH ili drugih, (d) da li su instrumenti očišćeni, ručno ili strojno, prije dekontaminacije. Činjenica je, da se tim faktorima ne pridaje odgovarajući značaj, a znanje i interes liječnika i medicinskog personala je minimalno ili nikakvo. Zato su jatrogene infekcije s prionima moguće, ne samo u obliku prenosivih spongioformnih encefalopatija, kao što je Creutzfeldt-Jakobova bolest, već se to odnosi i na 34 bolesti, različite molekularno-genetske etiologije.

Stručni članak

Autoklaviranje je metoda najčešće primjenjivana za dekontaminaciju priona, sama ili u kombinaciji s NaOH ili drugim kemijskim reagensima. Naša metoda autoklaviranja u 0,1N NaOH pri temperaturi od 134 °C, kroz 18 minuta je neškodljiva za instrumente i okolinu, pouzdanija od prijedloga Svjetske Zdravstvene Organizacije (bez NaOH) koja se danas primjenjuje u većini evropskih zemalja (Velika Britanija 1986., Švicarska 2003.). Naša metoda je jednostavno izvediva a troškovi dekontaminacije su mali. Uspjeh je ovisan o postupku s instrumentima neposredno nakon uporabe, da bi se spriječilo sušenje; **osušene instrumente više nije moguće dekontaminirati**. Tako se danas radi u većini bolnica na svijetu, a moguće je to izbjeći uranjanjem instrumenata neposredno nakon uporabe u autoklavabilne posude iz polipropilena (pp) u kojima je 0,1N NaOH (ili druge kemikalije). Na kraju rada, instrumenti se ručno, prenesu u autoklav zajedno s tekućinom u koju su uronjeni. Proces autoklaviranja traje 2,5–3 sata. Na kraju se i pp posude, složene jedna u drugu, autoklaviraju na jednaki način i osuše za slijedeći radni dan.

Prion decontamination method

Professional paper

Autoclaving is the method most frequently used for the decontamination of prion infected medical devices alone or in combination with NaOH or chemicals. Our proposal is the simultaneous autoclaving in 0.1N NaOH for 18 minutes at 134 °C; it is considerably more rigorous than autoclaving in water or in porous autoclaves under identical pressure conditions as practiced in Europe (first Great Britain 1986, Swiss law 2003). It is less harmful as 1N solution and completely harmless for the environment and autoclave including the lowest costs for the hospital. Devices must immediately immersed in 0.1N NaOH (or other) contained in autoclavable polypropylene pans (pp) to avoid desiccation. **Dried instruments cannot be decontaminated**. Instruments are then manually transferred to the autoclave (together with the fluid) to immerse instruments. Autoclaving process is for 2.5-3 hours. Finally, pans can also be autoclaved (stacked) under the same condition.

Naša metoda dekontaminacije priona uzima u obzir sve te činjenice. Preporučeni autoklav je opisan u hrvatskoj literaturi [2]. Autoklav je gravitacijski, potpuno izoliran od okoline i nije potrebno ispustiti zrak prije početka procesa, kako je to bilo potrebno kod starijih autoklava tog tipa. Na taj se način izbjegne kontaminacija okoline s filtrabilnim virusima i prionima. Zračni filteri konstruirani u tu svrhu, nisu bili nikada validirani za nepropustnost priona. Iste je godine opisana i detaljna konstrukcija novog autoklava [3], koji se može koristiti do 141 °C, a materijal od kojeg je napravljen je otporan na NaOH [4]. Homogenost mješavine zraka i pare postignuta je elektromagnetskim ventilatorom, no to za prionsku dekontaminaciju nije od značaja jer su instrumenti uronjeni u NaOH otopinu. Tlak je moguće postići do 5,7 bara (4,7+1,0).

Najveću smo pažnju posvetili postupku s kirurškim instrumentima u vremenu od završetka upotrebe pa do početka dekontaminacije [5, 6]. Preporučenim načinom izbjegava se sušenje instrumenata na zraku, što se događa

u svim bolnicama na svijetu. U Škotskoj, zemlji, u kojoj je najviše učinjeno na području dekontaminacije, taj vremenski interval, od završetka operacije, pa do uranjanja instrumenata u određenu otopinu, iznosi u prosjeku 4 sata. **Osušene instrumente nije moguće dekontaminirati**, jer su proteini, a prema tome i prioni, fiksirani na površini instrumenta. Sličan je i učinak vakuuma u modernim tzv. porous-load autoklavima i zato takvi nisu prikladni za dekontaminaciju priona [7]. Treba koristiti gravitacijski tip autoklava kod kojeg nema vakuuma, iako je svojevremeno bio zabranjen za uporabu u bolnicama, jer nije pogodan za finalnu sterilizaciju. To smo riješili na taj način da instrumente, neposredno poslije upotrebe, uronimo u otopinu 0,1N NaOH (4g/L w/v) ili u odgovarajuću rastopinu kemikalija (SDS, tenzidi, proteaze-proteinaza K,-properaza,-pronaza i dr) koje su u nekim ispitivanjima dale dobre rezultate. Otopine (0,1 N NaOH) držimo u autoklavabilnim polipropilenskim (pp) posudama zapremnine 2,8 ili 9,4 litara, tako da razina tekućine u posudi bude iznad potopljenih instrumenata. Vrijeme čekanja na dekontaminaciju sada više nije važno, jer se instrumenti ne mogu osušiti. Nakon toga instrumente prenesemo u autoklav skupa s NaOH otopinom i uključimo proces autoklavliranja na 134 °C kroz 18 minuta, a instrumenti još ostaju u autoklavu kroz 2,5–3,0 sata.

Na kraju radnog dana autoklaviramo i pp posude, složene jedna u drugu na jednaki način.

NaOH je za dekontaminaciju od velikog značaja jer razara visokomolekularne proteine na niskomolekularne i na taj način značajno olakšava čišćenje. Direktno autoklavliranje instrumenata, koji nisu uronjeni u tekućinu, zahtijevalo je čišćenje prije autoklavliranja, (jer se nakon toga vrlo teško čiste) a to dovodi do rizika kontaminacije tehničara i radnog prostora. U takvom slučaju SZO [1] traži dekontaminaciju svega korištenog za pranje i čišćenje, te radnog mjesta, što je praktički nemoguće. Za inaktivaciju priona u 1N NaOH je dovoljna 1 minuta u uzavreloj kipućoj vodi [8]. Mi preporučamo za dekontaminaciju instrumenata koncentraciju NaOH od 0,1 N NaOH pri temperaturi 134 °C, što predlaže SZO [1]. Naš je režim još stroži, jer koristi i NaOH, kojeg u metodi SZO nema.

Metode s dodatkom drugih kemijskih supstanci mogu također biti vrlo uspješne [9] ali i za njih se predlaže kombinacija s autoklavliranjem.

Sama otopina NaOH se može koristiti i za dekontaminaciju instrumenata osjetljivih na visoke temperature. Rabi se 1N NaOH kroz jedan sat na temperaturi okoline, ali je potrebno naglasiti da je NaOH neupotrebiva za staklo i aluminijski. Najbolji rezultati dekontaminacije za fine instrumente, naročito u oftalmologiji i za neke dijelove endoskopa, dobivaju se, ako se stave u otopinu NaOCl (slobodni klor) 20,000 ppm jedan sat na temperaturi okoline, ali je to neupotrebivo za plemeniti čelik (stainless steel). Danas se intenzivno radi na rješavanju i tog problema.

Spektar ispitivanih kemikalija i osnove ovdje prikazane metodike smo objavili [5] a metode dekontaminacije prikazane su u tablici 1.

Tablica 1. Sažetak metoda za dekontaminaciju instrumenata okuženih prionima

Table 1. Summary of methods for prion decontamination of instruments

Metoda/Method	Efekt/Effect	Komentar/Comment
Incineracija/Incineration	4	
Jednokratno/Disposable	4	Prva primjena/ First Use
Autoklav gravitacijski/ Autoclav gravity	3–4	
NaOH 1N	3–4	
NaOH 1 N + Autoklav	4	Rijetko ili nikad/ Rarely or never
NaOH 0,1/0,3 N + Autoklav	4 (*)	Simultano/ Simultaneously
NaOCl	3–4	
NaOCl + Autoklav	4	Oprani instrumenti/ Washed instruments
GndSCH	3	
Kemikalije/Chemicals	3	
Kemikalije + Autoklav	4 (**/**)	Simultano/ Simultaneously

Legenda: (*) Postupak sa instrumentima kao opisano, (**) SDS, ionski tenzidi, proteaze (properaza-proteinaza-K-pronaza)

Legend: (*) Instrument treated as described, (**) SDS, ionic tensides, proteases (properase, proteinase K, pronase)

Literatura

- [1] WHO Infection Control Guidelines for Transmissible Spongiform Encephalopathies. Report of a WHO Consultation, Geneva, Switzerland, 23–26 March, 1999.
- [2] Jung M. New Steam Sterilisation. High pathogen safety autoclave (HPS). *Croat.J.Infect.(Infekt. Glasnik)* 22, 119–122, 2002.
- [3] Pistolesi D. Sterilisation by moist heat. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Cop. 2002, Marcel Dekker.
- [4] Ruggirello G. Autoclaving in 0.1N NaOH. *Fedegari RD Dept.*, 2004.
- [5] Jung M.J., Pistolesi D., Pana A. Prions, prion diseases and decontamination. *Ig. Sanita Pubbl.* 2003 Oct.; LIX(5):331–334, 2003.
- [6] Jung M.J., Pistolesi D., Pana A. Prion diseases and iatrogenic infections II. Decontamination. *Ig. Sanita Pubbl.* 2005 (In press).
- [7] Jepsen O.B. Infection control: Preventing iatrogenic transmission of spongiform encephalopathy in Danish hospitals. *APMIS* 110,104–112, 2002.
- [8] Taylor D.M. Prion decontamination. *Biochemical Scientist* 48, 376–376, 2003.
- [9] Jackson G.S., McKintosh E., Flechsig E, Prodromidou K., Hirsch P., Linehan J., Brandner S., Clarke A.R., Weissmann C., Collinge J. An enzyme-detergent method for effective prion decontamination of surgical steel. *J.Gen.Virol.*86, 869–878, 2005.