

### Opći pojmovi

- **ASEPSA** – stanje bez prisutnosti mikroorganizama.
- **STERILIZACIJA** – postupak kojim se uništavaju ili uklanjaju sve vrste i svi oblici mikroorganizama, uključujući i bakterijske endospore.
- **ANTISEPSA** – postupak kojim se uništavaju ili uklanjaju mikroorganizmi na živom tkivu kako bi se spriječio njihov razvoj ili ograničila i liječila već postojeća.
- **DEZINFEKCIJA** – postupak kojim se uništavaju, inhibiraju, ili uklanjaju vegetativni oblici mikroorganizama, ali ne nužno i bakterijske spore.
- **ANTISEPTIK** – tvar koja uništava ili inaktivira mikroorganizme na živom tkivu.
- **BIOSTATIK** – tvar koja sprečava mikroorganizme u rastu, ali ih ne ubija.
- **BIOCID** – tvar koja ubija mikroorganizme

---

---

---

---

---

---

---

---

## Utjecaj fizikalnih i kemijskih čimbenika na mikroorganizme

### Sterilizacija, kontrola sterilizacije, dezinfekcija, anitmikrobna sredstva

---

---

---

---

---

---

---

---

### Fizikalni i kemijski zahtjevi za rast mikroorganizama (*in vivo* i *in vitro*)

- |  |                                       |
|--|---------------------------------------|
| - atmosfera (potreba za CO <sub>2</sub> ili O <sub>2</sub> ) | - pH vrijednost                       |
| - temperatura  | - a <sub>w</sub>                      |
| - osmotski tlak  | - oksidacijsko-redukcijski potencijal |
| - hidrostatski tlak  | - sadržaj nutrijenata                 |

---

---

---

---

---

---

---

---

## Atmosfera

1. Obligatni ili striktni aerobi
2. Obligatni ili striktni anaerobi
3. Fakultativni anaerobi
4. Mikroaerofili
5. Aerotolerantni anaerobi

---

---

---

---

---

---

---

---

## pH

- Optimum za rast patogenih bakterija je za 1 jedinicu ispod ili iznad neutralnog pH
- NEUTROFILI: pH 6-8
- ACIDOFILI: do pH 1
- ALKALOFILI: do pH 10,5

---

---

---

---

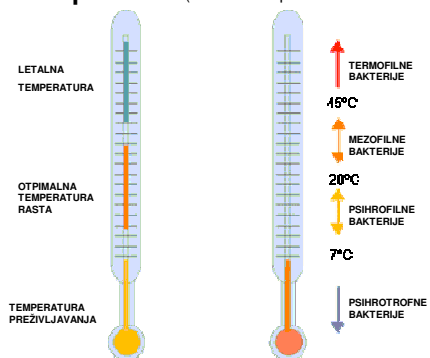
---

---

---

---

## Temperatura (minimalna-optimalna-maksimalna-letalna)



---

---

---

---

---

---

---

---

**Otpornost mikroorganizama prema uvjetima okoline**

- Prioni
- Bakterijske endospore
- Mikobakterije
- Neovijeni virusi
- Gljive
- Vegetativni oblici bakterija
- Ovijeni virusi
- Mikoplazme



---

---

---

---

---

---

---

---

**Otpornost mikroorganizma - sposobnost preživljavanja u nepovoljnim uvjetima**

- Štetni utjecaji iz okoline:
  - Povišena ili snižena temperatura
  - Isušivanje
  - Promjene kiselosti
  - Prirodna zračenja (sunčeva svjetlost)
- Postupci i tvari kojima čovjek nastoji uništiti neželjene mikroorganizme u svojoj okolini

---

---

---

---

---

---

---

---

**DEZINFEKCIJA**

- Dezinfekcija je metoda kojom se ubijanjem ili uklanjanjem smanjuje broj živih mikroorganizama.
- Cilj je ukloniti patogene mikroorganizme, ali metoda nije selektivna.

---

---

---

---

---

---

---

---

## STERILIZACIJA

- Sterilizacija je postupak kojim se ubijaju ili uklanjaju svi živi mikroorganizmi (vegetativni oblici bakterija i njihove spore bakterija, virusi, gljive, paraziti).
- Sterilizacija je apsolutan pojam.
- Ne postoji stupanj sterilizacije.

---

---

---

---

---

---

---

---

### Ciljevi sterilizacije

1. Sprječavanje kvarenja hrane zbog kontaminacije različitim mikroorganizmima
2. Sprječavanje prenošenja i raznošenja patogenih mikroorganizama po čovjekovoj sredini, kao i njihovog unošenja u organizam
3. Sprječavanje prisustva mikroorganizama na materijalu, instrumentima i predmetima na kojima ne smije biti mikroorganizama

---

---

---

---

---

---

---

---

## Sterilizacija

### Fizikalne metode

- toplina
- zračenje
- filtriranje

### Kemijske metode

- etilen oksid
- peroksid plazma
- formaldehid
- glutaraldehid

---

---

---

---

---

---

---

---

## Toplina/Povišena temperatura

- djelovanje visokih temperatura izaziva privremene ili trajne promene kod mikroorganizama
- djelovanjem visokih temperatura dolazi do denaturacije a samim tim i inaktivacije fiziološki značajnih komponenti stanice kao što su enzimi
- uginuće mikroorganizama je dijelom uslovljeno i toplinskom inaktivacijom RNA i oštećenjima citoplazmatske membrane
- vegetativne stanice su posebno osjetljive na djelovanje visokih temperatura za razliku od spora
- najveći broj vegetativnih oblika ugiba nakon 10-15 minuta na 60-70 °C, dok spore opstaju duže i na 100°C
- najotpornije su spore vrste *Clostridium botulinum*

---

---

---

---

---

---

---

---

## Suha toplina

### Izravna primjena plamena

- žarenje (eze, igle, pincete)
- opaljivanje (rub epruvete, čepovi, grlo boca)
- spaljivanje (kirurška odjeća, igle i šprice, materijal s patologije...)

---

---

---

---

---

---

---

---

## Suha toplina

### Vrući zrak

- **suhi sterilizator** (pećnica)
- 150 °C; 160 °C; 170 °C kroz 1,5 - 2 h
- stakleno posuđe, metalni pribor i instrumenti; praškaste tvari (puder i sl.), masne tvari (parafin, glicerín, voskovi itd.)

---

---

---

---

---

---

---

---

## Vlažna toplina

**< 100 °C**

- tindalizacija
- pasterizacija

**= 100 °C**

- kuhanje

**> 100 °C**

- autoklaviranje

---

---

---

---

---

---

---

---

## Vlažna toplina

### Topla voda

- kuhanje (100°C)
- gumeni pribor; određeni metalni pribor; šprice za višekratnu uporabu
- dodavanje  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

---

---

---

---

---

---

---

---

## Vlažna toplina – do 100 °C

### Pasterizacija

- 63 - 65°C kroz 30 – 40 min
- 85 - 95°C kroz 1 – 1,5 min



Louis Pasteur (1822-1895)  
Prva pasterizacija 1860.

---

---

---

---

---

---

---

---

## Vlažna toplina – do 100 °C

### Vodena para koja struji

- Koch-ov lonac (do 100 °C)
- TINDALIZACIJA ili FRAKCIONIRANA STERILIZACIJA – provodi se u tri navrata na 100 °C u trajanju od 20 minuta;



Robert Koch (1843-1910)

---

---

---

---

---

---

---

---

## Vlažna toplina – iznad 100 °C

### Vodena para pod pritiskom

- sterilizacija koja podrazumijeva istovremeno djelovanje pritiska čime se podiže temperatura iznad 100 °C
- to je najčešći postupak sterilizacije u praksi (većina hranjivih podloga, odbačene kulture; tekstil: mantili, komprese; instrumenti)
- -ovaj vid sterilizacije se vrši u posebno dizajniranom uređaju koji se zove AUTOKLAV
- **1,2 atm = 103 kPa; 121 °C; 15 -20 min**
- **2,5 atm = 220,8 kPa; 134 °C; > 3,5 min**

---

---

---

---

---

---

---

---

## Autoklav

- prepunjena komora autoklava
- istovremena sterilizacija "prijavog" i "čistog" materijala
- prečvrsto stisnuta ambalaža (vreća koja ne dopušta ulazak pare)
- pogreške u određivanju temperature, pritiska ili vremena sterilizacije

---

---

---

---

---

---

---

---

## Sterilizacija zračenjem = HLADNA sterilizacija

### Ionizirajuće zračenje

- Koriste se  $\gamma$  zrake (kobalt) ili  $\beta$  čestice (linearni akcelerator).
- Izravno oštećenje DNA i RNA (pucanje jednolančanih i dvolančanih molekula nukleinskih kiselina) i neizravno (nastankom toksičnih slobodnih radikala i vodikovog peroksida iz vode unutar stanice).
- Velika moć prodiranja.

---

---

---

---

---

---

---

---

## “Sterilizacija” zračenjem

### UV zračenje

- 253,7 nm (UV zračenje ima spektar od 300 do 220 nm, a koristi se UV zračenje od 240-280 nm).
- Mala prodorna moć UV zraka. Zrake ne prodiru kroz staklo niti plastiku!
- Efikasnost UV zračenja ovisi o brojnim čimbenicima (vlažnost, prašina, intenzitet UV zraka...).

---

---

---

---

---

---

---

---

Energiju UV zračenja apsorbira DNA bakterija i nastaju pirimidinski dimeri (T-T).  
Većina mikroorganizama ima enzime kojima mogu ukloniti dimere.  
FOTOREAKTIVACIJA!

Dezinfekcija zraka i održavanje postignute mikrobiološke čistoće;  
Inaktivacija mikroorganizama na površinama

---

---

---

---

---

---

---

---



## Kemijska sterilizacija

Kemijski spojevi u vidu plinova

- etilen oksid
- formaldehid

Kemijski spojevi u vidu tekućine

- vodikov peroksid (6 - 30%)
- glutaraldehid (2%)
- peroctena kiselina (0,23%)

---

---

---

---

---

---

---

---

-**Etilen oksid** - Plin za kemijsku sterilizaciju; eksplozivan; toksičan za ljude

- postupak se provodi u posebnim aparatima (12% EtO; 60 °C; 2 – 4h

-**Formaldehid** ( $H_2CO$ ); nije eksplozivan; manje je toksičan

- postupak kao i kod EtO; 60-70 °C; 1 – 3h

**Vodikov peroksid** ( $H_2O_2$ )

- **peroksid plazma sterilizacija**

- vodikov peroksid + visokofrekventna električna struja; 40 °C; 1h

---

---

---

---

---

---

---

---

## Mehanička “sterilizacija” - filtriranje

- Bakterijski filteri - pore 0,2  $\mu m$  (mikoplazme i mali virusi!!)
- Mehanizam filtriranja se ne temelji samo na veličini pora filtera, već i na elektrostatičkim silama koje nastaju između mikroorganizama i filtera.

---

---

---

---

---

---

---

---

## KONTROLA STERILIZACIJE

- Fizikalne metode
- Kemijske metode
- Biološke metode

---



---



---



---



---



---



---

## KONTROLA STERILIZACIJE

- **Biološke metode** (spore *Bacillus* spp.)

*Bacillus atropheus*

*Geobacillus stearothermophilus*

---



---



---



---



---

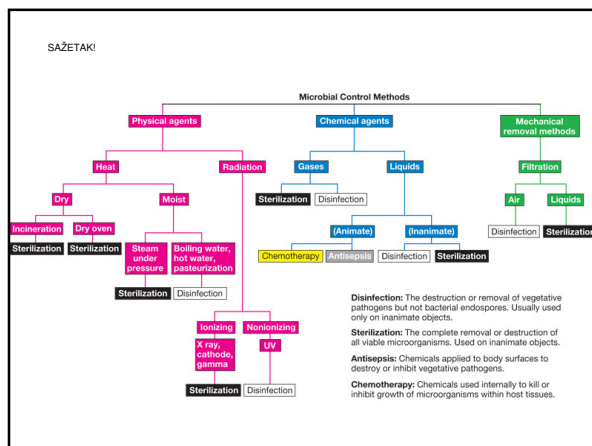


---



---

SAŽETAKI




---



---



---



---



---



---



---