



Jämförelse av rengöringsmetoder genom kvantitativt proteintest.

Namn	Carina Gustafsson
Utbildning	Steriltekniker
Datum	2022-04-12

Abstract

The instrument chosen in this work is a pliers px with blue coating. The reason for this choice is the narrow groove which is difficult to inspect visually and control. The blue coating makes it darker and more difficult to inspect the surface. The study in this work will be a comparison analyse of the cleanliness of the surface in the groove of the pliers px. For analyse of the cleanliness a quantitative protein swab test will be done on the surface, the test method used is Chemdye® Pro1Micro with a detection level of 1 µg. The instrument Bionova® MiniPro are used for reading the result

The swabs to the test are too big for swabbing the surface in the groove of the pliers px. To be able to use the protein swab test it needs to be supplemented.

The pre-treatment to be tested before the wash disinfectant is:

- No treatment
- Ultra sonic with chemicals
- Water + chemicals + nylon brush.

All methods will also be tested with the pliers px in an open position.

The analyse of the surface are done after the selected pre-treatment and the process in the wash disinfectant.

As supplement to the protein swab test a band of nonwoven wrapping sheet was used.

The best result was achieved with the pre-treatment method: water + chemicals + nylon brush in an open position.

Some more studies were done within this method according to the parameters in the Sinner's circle: Time, Chemicals, Mechanical, Temperature.

The protein swab test gave good information to the result after the different pre-treatment method. While using an instrument for reading the result the interpretation of the result was objective.

Förord

Ett stort tack till Frank Axelsson, Hygiene Diagnostic AB, som bidragit till att kunna utföra examensarbetet. Han bistått med Chemdye® Pro1Micro för testning samt lånat ut en Bionova® MiniPro för avläsning av testerna.

Ett stort tack också till Susanne Persson med personal på Karlstad steriltekniska enhet för möjligheten att utföra examensarbetet hos er.

Innehåll

1. Inledning.....	5
1.1 Bakgrund.....	5
1.2 Syfte.....	5
1.3 Problemformulering.....	5
1.4 Avgränsningar och fokus.....	6
1.5 Metod.....	6
2. Teori.....	7
3. Iakttagelser och utförande.....	8
4. Analys av resultatet.....	11
5. Slutsatser.....	12
5.1 Rekommendationer.....	12
6. Referenslista.....	13
Bilagor.....	14

1. Inledning

1.1 Bakgrund

Instrumentet som valdes ut i examensarbetet för jämförelsestudien är en tång px med blå beläggning. Bakgrunden till valet av instrument är att skåran är mycket smal vilket gör det svårt att inspektera och kontrollera ytan. Den blå beläggningen gör dem mörkare och försvårar inspektionen av ytan i skåran ytterligare. Inspektionen behöver därför kompletteras med en objektiv testmetod.

Svabbarna som finns till proteintest är dock för stora för att komma åt ytan inne i skåran. För att kunna använda sig av proteinsvabbtest som jämförelse av olika diskmetoder måste testet kompletteras.

Analysmetoden, Chemdye® Pro1Micro, som används i examensarbete är ett kvantitativt proteintest tillverkad av Terragene (*¹mer information finns att läsa på deras hemsida, se länk under punkt 6 referenslista s.13). Kvantitativa resultat gör det lättare att jämföra rengöringsmetoder jämfört med konventionella kvalitativa testmetoder. Metoden har en detektionsnivå på 1 µg.

1.2 Syfte

Detta arbete avser att jämföra diskresultat på ytan i skåran på tång px med blå beläggning som är svår att inspektera och prov ta med hjälp av en testmetod för kvantitativ proteindetektion.

1.3 Problemformulering

Vad kan man använda för provtagning som komplettering till proteinsvabbtestet för att testa ytan i skåran på tång px med blå beläggning? Provtagningsmaterialet måste vara tunt så det kommer in i skåran och får inte påverka analysen. Det ska också kunna föra med sig smutsen för att sedan kunna svabbas för testning.

Hur effektiv blir provtagningen i skåran på tång px med blå beläggning med provtagningsmaterialet?

Hur ska man låsa tång px med blå beläggning i öppet läge under diskprocessen?

I examensarbetet används tänger px med blå beläggning som kommer in till sterilcentralen i Karlstad för rengöring och sterilisering. Vilket innebär att det inte går att säga hur förorenade de är initialt och det kan variera från tång till tång, kommer det påverka analysresultatet?

1.4 Avgränsningar och fokus

Fokus är på att jämföra resultat inte på att tolka resultatet.

Utöver förbehandlingsmetoder beskrivna under 1.5 kommer inga andra metoder att testas.

1.5 Metod

Stor vikt kommer att läggas vid egna iakttagelser och utifrån dem fortsätta examensarbetet.

Testa olika provtagningsmaterial för att se vad som kan användas till komplettering av testmetoden för analys i den smala skåran på tång px med blå beläggning.

Undersöka vad som kan användas för att hålla tång px med blå beläggning i öppet läge under diskprocessen.

Utförande procedur av tång px med blå beläggning:

- Ta ut 3 st tänger
- Utföra vald förbehandling, enligt nedan.
- Diskning i diskdesinfektorn
- Göra ett proteintest av ytan i skåran på tängerna

Förbehandlingar:

1. Ingen förbehandling
2. Ingen förbehandling i öppet läge
3. Blötläggning (vatten+kem+nylonborste)
4. Blötläggning (vatten+kem+nylonborste) i öppet läge
5. Ultraljud + kem
6. Ultraljud + kem i öppet läge

2. Teori

Proteiner kallas ofta för kroppens byggstenar då de ingår i kroppens vävnadsceller, muskler, benstomme samt i hormoner, enzymer och antikroppar. Proteinerna består av ca 20 olika aminosyror. Proteiner finns också i bakterier, mögel, virus och livsmedel.

I en artikel i tidskriften Rena Rum 3/2021 skriver Frank Axelsson, Hygiene Diagnostics AB om fördelen att använda Chemdye® Pro1Micro proteintest vid rengöringskontroll. Smuts som innehåller proteiner är ofta en utmaning. Protein har en hög vidhäftningsförmåga på ytor, särskilt när de genomgår en denatureringsprocess vid höga temperaturer. Det gör att proteintestning är intressant som rengöringskontroll efter rengöring i en diskdesinfektor. (*2länk till artikeln Rena Rum 3/2021 finns under punkt 6 referenslista s.13)

Faktaruta: Chemdye® Pro1Micro och Chemdye® Pro1Micro (*2artikel i Rena Rum 3/2021)

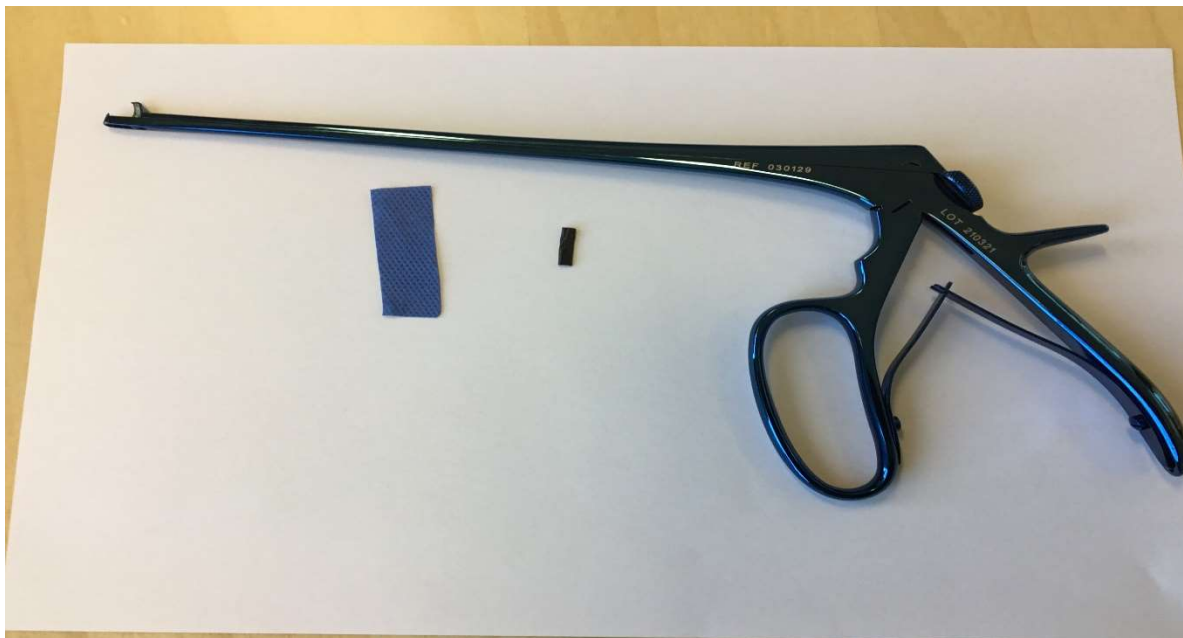
Chemdye® Pro1Micro	Ett svabbtest för totalanalys av proteiner på ytor.
Bionova® MiniPro	En kolorimetrisk autoläsare justerad med en BSA referenskurva. Maximala absorbansen sker vid 562 nm.
Testmetod	Mikro BCA
Detekterar	Totalhalt proteiner från mikroorganismer, humanbiologiskt material, prioner, allergener, livsmedelsrester med mera.
Provyta	10 cm ²
Detektionsnivå	1 µg
Känslighet	0.3 µg
Upplösning	0.1µg
Noggrannhet	± 0.5µg (IC 95%), mätområde 0 till 5µg, ± 0.7µg (IC 95%), mätområde 5 till 10 µg
Kvantifierbart mätområde	0–10 µg. Vid halter >10 µg görs en visuell bedömning med hjälp av ett färgschema som medföljer testet.
Kvalitativt mätområde med färgschema	0–25 µg (0, 1, 3, 5, 10, 15 och 25 µg)
Avläsningstemperatur	60 °C ± 2 °C

Inkubationstid	10 minuter
Applikationsområden	Diskdesinfektorer, hygienkontroll

I SS-EN ISO 15883-1:2009 Annex C skriver man att man kan använda Biuret metoden för att bestämma proteinrester efter att instrument genomgått processen i en diskdesinfektor. I faktarutan ovan står att Chemdye® Pro1Micro är en BCM metod dvs Biuret metod.

I dagsläget finns inget gränsvärde i Sverige för proteinhalt efter rengöring. Rekommenderad nivå enligt brittiska riktlinjer för vården är godkänt $\leq 5\mu\text{g}$ per sida av instrumentet (Health Technical Memorandum, HTM 01-01:2016). Om detta skriver Dr Juan Diaz från Terragene i artikeln Medical devices: Hygiene monitoring through protein detection i tidskriften Cleanroom Technology (*³länk till artikeln under punkt 6 referenslista s.13)

3. Iakttagelser och utförande

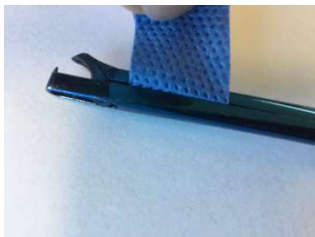


För att kunna göra ett test av ytan i skåran på tång px med blå beläggning behöver man använda något som kommer in i skåra. Smutsen ska fastna på ytan så att man sedan kan svabba den samt ska det inte störa analysen.

För detta ändamål testades olika provtagningsmaterial och test gjordes på förorenade tänger, se några exempel nedan.

- Plasttandpetare – det fungerade inte då den var för stor för skåran
- Engångsvisir – ingen smuts fastnade.
- Lådskydd i plast– den har struktur på ytan men ingen smuts fastnade
- Tyvek – ingen smuts fastnade på den
- Nonwoven packskynke – här gav det positivt resultat på proteintestet.

Svabbade sedan en ren remsa av nonwoven packskynke och det visade 0µg på proteintestet, vilket innebär att remsan inte tillför protein till testresultaten. I testerna av tängerna kommer en remsa av packskynket att användas.



I normal läget av tång px med blå beläggning är skåran stängd, testade olika varianter för att öppna upp den under diskprocessen. Först testades s-krok men den var svår att hålla på plats i handtagen. Den behöver dessutom vara i ett material som inte riskerar att tängerna eller andra instrument korroderar. Provade sedan med buntband i handtagen men det var också svårt att få fast dem. Klippte sedan en bit av buntbandet och satte i en led som höll skåran öppen.



Försöken utfördes sedan efter följande procedur:

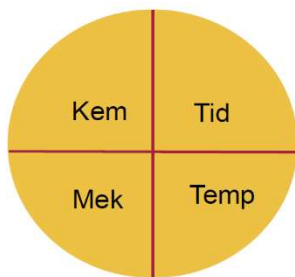
- Tog 3 st tänger när de kom till sterilcentralen
- Utförde en av de utvalda förbehandlingsmetoderna
- Diskning i diskdesinfektor

- Gjorde ett proteintest av ytan i skåran
 - Remsan fuktades med aktivator till testet
 - Drog remsan fram och tillbaka i skåran, först 5ggr på ovan sidan sedan 5ggr på undersidan
 - Följde sedan instruktionerna till testet, se bilaga s.14-16, med att svabba remsan. (*⁴ mer information om testet finns att läsa på Hygiene Diagnostics hemsida, se länk under punkt 6 referenlista s.13)

Steg	Beskrivning	Tänger		
		1	2	3
		(µg)	(µg)	(µg)
1	Ingen förbehandling	1,6	5,8	> 10
2	Ingen förbehandling i öppet läge	9,2	> 10	> 10
3	Vatten + Kem (100 ml/l, 5 min 22°C) + nylonborste	<1,0	1,8	5,3
4	Vatten + Kem (100 ml/l, 5 min, 25°C) + nylonborste i öppet läge	<1,0	<1,0	0
5	Ultraljud + Kem	0	>10	2,4
6	Ultraljud + Kem i öppet läge	2,8	7,8	>10
7 ¹	Vatten + Kem 50ml/l, 30 min, temp 39°C - 30°C + nylonborste i öppet läge	<1,0	<1,0	
8	Vatten + Kem 15 ml/l, 30 min, temp 39°C - 29°C + nylonborste i öppet läge	<1,0	<1,0	<1,0
9	Vatten + Kem 15 ml/l, 30 min, temp 45°C - 34°C + tryckluft i öppet läge	<1,0	3	<1,0
10	Vatten + Kem 15 ml/l, 30 min, temp 45°C - 34°C + vattenpistol i öppet läge	<1,0	<1,0	4
11	Vatten + Kem 15 ml/l, 30 min, temp 23°C - 22°C + nylonborste i öppet läge	5,2	<1,0	<1,0

¹ Kom endast 2 st px tänger

I steg 1–6 testas de olika utvalda metoderna. Bäst resultat uppnåddes i steg 4, vatten + kem (100ml/l, 5 min, 22°C) + nylonborste. Utifrån Sinner's cirkel utfördes fler tester med varianter av steg 4.



Sinners cirkel består av fyra delar som påverkar resultatet vid rengöring. Om en del minskas ökar någon/ra av de andra delarna och tvärsom.

I steg 7 minskades mängden kem medan tiden och temperaturen ökades, fungerade bra

I steg 8 minskades mängden kem ytterligare, fungerade bra

I steg 9 testades tryckluft i stället för nylonborste, fungerade sämre

I steg 10 testades vattenpistol i stället för nylonborste, fungerade sämre

I steg 11 testades en lägre temperatur, fungerade sämre

4. Analys av resultatet

Av de provtagningsmaterial som testades fungerade nonwoven packskynke bäst. Det var tillräckligt tunt för att komma in i skåran påverkade inte proteinresultatet och förde med sig smutsen från ytan i skåran.

Det går inte säga om man får med sig all smuts från ytan i skåran. Testproceduren gjordes dock lika för alla metoder så jämförelsen blir likvärdig.

Det fungerade bra att sätta en bit buntband i leden. Den satt kvar under hela diskprocessen och höll skåran delvis öppen. Tängerna är individuella så öppningen i skåran varierade från tång till tång. Vilket innebar att ytan man kom åt med remsan varierade. För vissa tänger gick det endast att dra remsan ca 2 cm av ytan i skåran och för andra upptill ca 4 cm. Så delarna av ytan i skåran man inte kom åt med remsan går inte att säga hur rena de blivit.

Smutsgraden varierade på tängerna som kom till sterilcentralen. Resultaten varierade inom de olika metoderna. Målet är att alla ska bli rena oberoende hur förorenade de är initialt.

Blötläggning i öppet läge var metoden som gav bäst resultat. Det var den metod där alla tänger inom metoden fick låga värden. Inom den metoden kan man sedan optimera förhållandet utifrån Sinners cirkel.

5. Slutsatser

Kvantitativt proteintest har gett bra information om resultatet av olika diskmetoder. Med avläsning av testresultatet i Bionova® MiniPro får man en objektiv tolkning av resultatet. Tolkningen av färgstyrkan och nyansen blir inte en subjektiv bedömning av testresultatet.

Med komplettering till testet med remsan av nonwoven packskynke kom man åt att analysera ytan i den smala skåran.

Bäst fungerade det med tängerna i öppet läge. Det fungerade bra med en bit buntband i leden för att hålla tängerna öppna under hela diskprocessen. Det visar också på vikten av att vattnet behöver komma åt ytorna som ska rengöras.

5.1 Rekommendationer

Kvantitativt proteintest ger bra information om renheten på ytorna efter processen i en diskdesinfektor. Det kan vara svårt att inspektera vissa ytor och låga proteinhalter är svåra att se med ögat.

En jämförelsestudie av renheten på ytor kan vara givande att göra när t ex:

- Ytor är svåra att inspektera
- Vid byte av kemikalier
- Instrument som frekvent behöver diskas om
- Nya instrument

Rena ytor är grunden till sterila instrument

6. Referenslista

Internet

*¹ [Home - Terragene](#)

(hämtat 2022-04-09)

*² [RenaRum nr 3 2021 – Rentforum.se](#)

(hämtat 2022-04-03)

*³ [Medical devices: Hygiene monitoring through protein detection \(cleanroomtechnology.com\)](#)

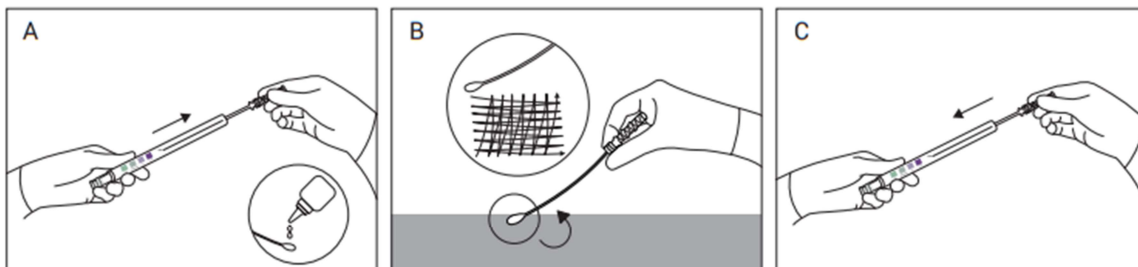
(hämtat 2022-04-09)

*⁴ [Hygiene Diagnostics AB - Specialisten på hygienkontroll \(hygiene-diagnostics.se\)](#)

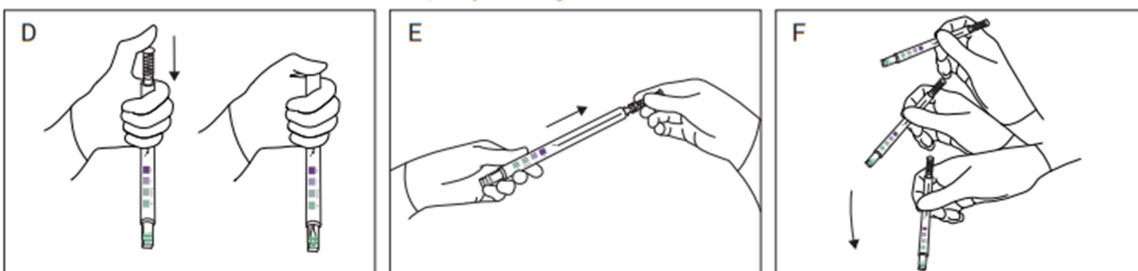
(hämtat 2022-04-09)

Bilagor

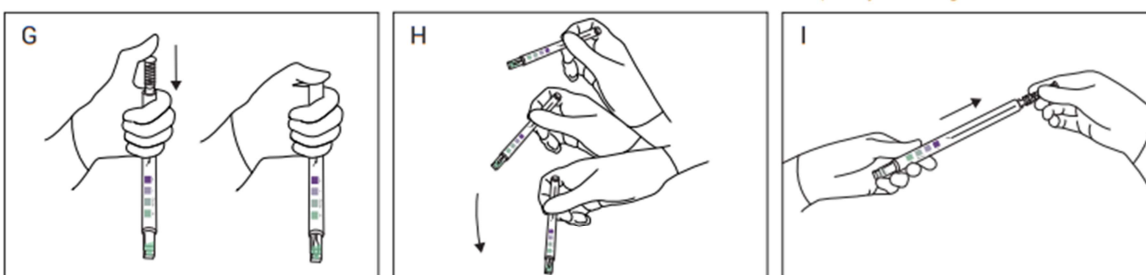
Instruktion PRO1 MICRO



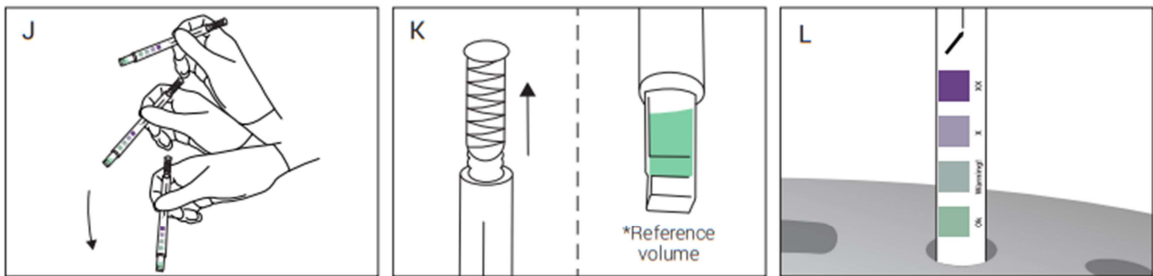
- A. Dra ut svabben från provrör och fukta den med 2 droppar av den medföljande fuktvätskan.
- B. Svabba en yta på cirka 10 cm² genom en sicksackrörelse. Roter samtidigt svabben några gånger och tryck ordentligt för att maximera provupptaget.
- C. Lägg tillbaka svabben i provröret.



- D. Aktivera genom att trycka ner svabben hela vägen till botten av provröret
- E. Dra upp svabben lite grann, men inte hela vägen
- F. Skaka försiktigt så att lösningen lägger sig i botten



- G. Tryck ned svabben igen hela vägen
- H. Skaka ordentligt
- I. Dra upp svabben igen lite grann, men inte hela vägen



- J. Skaka försiktigt
- K. Dra upp svabben igen lite grann om det behövs. OBS! Svabben får inte vara kvar i botten.
- L. Inkubera testet vid $60 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 10 min. Vid manuell analys så jämförs färgen mot färgskalan på röret. Vid automatisk analys behövs en Bionova® autoläsare (följ instruktionen för denna).
- Färgtolk: Ingen färg = test ej aktiverat, Grönt = rent (negativt), Lila = protein (positivt)

Snabbinstruktioner för BIONOVA® autoläsare

Förberedelser

- Ställ BIONOVA autoläsaren på ett rakt bord.
- Koppla i strömkällan och vänta cirka 20 min tills autoläsaren uppnår 60 ± 2 grader innan användning. Termometersymbolen på autoläsaren blinkar med ett blått ljus medan uppvärmningen pågår.
- Det går att kontrollera temperaturen med den externa termometern som medföljer autoläsaren om man vill. Starta extern temperaturmätning genom att stoppa in termometerspetsen i sidan av autoläsaren och tryck "ON" på termometern.
- Läs instruktion noga hur du tar ett prov med svabbpennan. Rekommenderad provyta är cirka 10 cm^2 .

- Viktigt att tänka på!
Placera ett prov i autoläsaren så fort som möjligt efter att det är aktiverat (< 1 minut). Autoläsaren kan kvantifiera proteinhalter upp till $10 \mu\text{g}$. Proteinhalter mellan $5\text{--}10 \mu\text{g}$ indikeras med att lampan "Higher" tänds. Vid ännu högre proteinnivåer ($> 10 \mu\text{g}$) slår färgen om snabbt till lila. Autoläsaren ger meddelandet "Pen not valid". I dessa fall skall bedömning av proteinhalt göras visuellt med färgschemat som medföljer testet.

Provanalys

1. Tryck på en (Pro)-knapp i en 1 sekund för att välja position för ett prov. En vald position indikeras med blått ljus.
2. Placera ditt prov i den valda positionen.
OBS! Du måste trycka ned provröret hela vägen till botten.
3. Starta analysen genom att trycka 2 sekunder på (Pro)-knappen.
Att analysen påbörjats indikeras med ett grönt-rött blinkande sken. Inkubationen tar 10 minuter. Strax innan inkubationen är färdig hörs en kort signal. Efter ytterligare några sekunder skrivs resultatet ut automatiskt via den inbyggda miniprintern.
OBS! om du tar ut svabbpennan innan 10 minuter blir testet ogiltigt.
4. Riv försiktigt av pappersremsan med resultatet.
Tips: du kan mata fram pappret innan du river av det genom att trycka på knappen med "skiftnyckeln". Om pappret börjar ta slut indikeras detta med en röd färgmarkering på pappret.
5. Testet är förbrukat efter analysen. Tag ut provet och kasta i brännbart avfall.