فصلنامه انسان و محیط زیست، شماره ۲۷، زمستان ۹۲

بررسی روش‌های متداول و نوین در ضدعفونی و دفع بهداشتی پسماندهای خطرناک بیمارستانی

فرنوش باقری زنوز [۱]

افسانه شهبازی [۲]*

a_shahbazi@sbu.ac.ir

چکیده

مدیریت پسماندهای خطرناک بیمارستانی در اکثر کشورهای در حال توسعه به عنوان یک چالش مهم محیط‌زیستی مطرح است. عدم شناسایی، جداسازی، ذخیره‌سازی و ضد عفونی صحیح پسماندهای خطرناک بیمارستانی سبب بروز مشکلات بهداشتی و آلودگی محیط زیست شده است. بر اساس استاندارد سازمان بهداشت جهانی[۳]، پسماندهای خطرناک بیمارستانی به نه گروه شامل پسماند عفونی، آسیب شناسی، شیمیایی، ژنوتوکسیک، تیز و برنده، دارویی، پسماند فلزات سنگین، ظروف تحت فشار و رادیواکتیو تقسیم می‌شوند. روش ضدعفونی پسماندهای خطرناک بیمارستانی باید مقرون به صرفه و قابل اجرا بوده و همچنین سازگار با قوانین محیط زیست هر کشور انتخاب شود. تکنولوژی‌های متداول ضدعفونی و درمان مانند سوزاندن، اتوکلاو و ضدعفونی شیمیایی در بسیاری از کشورهای جهان قابل توصیه و اجرا هستند. از جمله تکنولوژی‌های نوین می‌توان به مایکروویو و مایع فوق بحرانی دی اکسید کربن اشاره کرد. اتخاذ تکنولوژی نوین مایع فوق بحرانی دی اکسید کربن، در ضدعفونی پسماندهای خطرناک بیمارستانی علاوه بر اینکه روش سازگار با محیط‌زیست است باعث کاهش تماس با پسماندهای عفونی، کاهش نیروی کار و کاهش هزینه می‌شود؛ لذا در سال‌های اخیر بعنوان روش جایگزین قابل توصیه بوده است.

کلمات کلیدی: پسماند بیمارستانی، مدیریت، ضدعفونی، دفع.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، پژوهشکده علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران.

۲- استادیار پژوهشکده علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران *(مسئول مکاتبات).

3- World Health Organization (WHO)

مقدمه

پسماند، تهدیدی برای بقای انسان، سایر موجودات و محیط‌زیست محسوب می‌شود و حدود سه دهه است که نگرانی در مورد مدیریت پسماند و مشکلات مرتبط با آن را ایجاد کرده است (۱). بیمارستان‌ها و مؤسسات بهداشتی ارایه کننده خدمات مراقبت برای بیماران هستند که همراه با رشد صنعت بهداشت و درمان، بهبود خدمات بهداشتی و استفاده گسترده از تجهیزات پزشکی یکبار مصرف، باعث تولید پسماندهای بیمارستانی در طول چند سال اخیر شده‌اند. بین ۷۵٪ تا ۹۰٪ پسماندهای تولید شده توسط بیمارستان‌ها، از نوع پسماندهای خانگی می‌باشند و ۱۰٪ تا ۲۵٪ باقیمانده، جزء پسماندهای خطرناک در نظر گرفته می‌شوند. در پسماندهای بیمارستانی به طور بالقوه مواد عفونی و خطرناک (به عنوان مثال، میکروارگانیسم‌های بیماریزا، ویروس HIV، ویروس هپاتیت B و C، آنتی بیوتیک‌ها، داروهای سیتوتوکسیک (ضد سرطان)، فلزات سنگین و ...) وجود دارد (۲). درمان نامناسب و دفع این پسماندها می‌تواند منجر به عواقب جدی بهداشتی ناشی از آسیب و عفونت و آلودگی محیط زیست شود. مدیریت پسماندهای بیمارستانی به شدت شرایط و اوضاع فرهنگی، اجتماعی و اقتصادی را تحت تأثیر قرار می‌دهد که به دلیل عدم سرمایه‌گذاری مالی ناکافی، عدم آگاهی و کنترل مؤثر و فقدان کارکنان پزشکی آموزش دیده در چارچوب مدیریت پسماند، به یک چالش تبدیل شده است (۱). به همین دلیل سیاست‌گذاری صحیح و ایجاد یک چارچوب قانونی و برنامه‌ریزی برای دستیابی به مدیریت صحیح و مناسب، ضروری به نظر می‌رسد. تغییرات باید به تدریج صورت گیرد و همچنین باید از لحاظ فنی و مالی در دراز مدت پایدار باشد (۳). بنابراین بررسی و ارایه اطلاعات و دانش در زمینه مدیریت پسماندهای بیمارستانی به ویژه پسماندهای عفونی، می‌تواند به منظور اجرای یک استراتژی پایدار و مناسب، مفید باشد. لذا هدف از این مقاله شناخت پسماندهای بیمارستانی و همچنین معرفی روش‌های ضدعفونی و دفع آن‌ها به منظور دستیابی به مدیریت صحیح و مناسب است.

۲-طبقه‌بندی پسماندهای خطرناک بیمارستانی

پسماندهای بیمارستانی به طور کلی به دو بخش خطرناک و غیرخطرناک تقسیم می‌شوند؛ بخش غیرخطرناک پسماندها شبیه به پسماند خانگی است که شامل کاغذ، مقواهای بسته‌بندی، شیشه، بقایای مواد غذایی و سایر مواد بی‌اثر می‌باشد و بخش دیگر که به عنوان پسماند خطرناک در نظر گرفته می‌شود حاوی مواد سمی، مضر، سرطان‌زا و عفونی است. پسماندهای خطرناک بر اساس خصوصیات و محل تولید، به پسماند آسیب شناسی، پسماند عفونی، پسماند دارویی، پسماند شیمیایی، پسماند نوک تیز، پسماند فلزات سنگین، پسماند ژنوتوکسیک، ظروف تحت فشار و پسماند رادیواکتیو که تابع مقررات جداگانه‌ای است، تقسیم شده‌اند (۳).

۲-۱-پسماند عفونی

تعداد پاتوژن‌های (باکتری‌ها، ویروس‌ها، انگل‌ها و قارچ‌ها) موجود در پسماندهای عفونی به اندازه‌ای است که در میزبان حساس، باعث بیماری می‌شوند. این طبقه شامل کشت‌ها و عوامل عفونی حاصل از کار آزمایشگاهی؛ پسماند حاصل از یک عمل جراحی و کالبد شکافی بیمارانی با بیماری‌های عفونی (به عنوان مثال، بافت‌ها، مواد یا تجهیزاتی که با خون یا سایر مایعات بدن در تماس بوده‌اند)؛ پسماند تولید شده توسط بیماران آلوده در بخش ایزوله (به عنوان مثال، فضولات، پانسمان زخم آلوده و یا جراحی، لباس به شدت آلوده به خون و یا سایر مایعات بدن)؛ پسماند مربوط به بیماران دیالیزی (به عنوان مثال، تجهیزات دیالیز مانند لوله و فیلتر، حوله یک‌بار مصرف، روپوش، پیش‌بند، دستکش و کت آزمایشگاه) و هر ابزار و یا مواد دیگری که در تماس با افراد و یا حیوانات آلوده بوده‌اند؛ می‌باشد (۳).

اگر پسماند عفونی با پسماندهای غیرعفونی ترکیب شوند، کل جرم پسماند، به طور بالقوه عفونی محسوب می‌شود. از نظر مؤسسات پزشکی، می‌توان این پسماندها را به مدت ۱ روز در بالای $5\ ^{\circ}C$، برای ۷ روز در $5\text{-}0\ ^{\circ}C$ و به مدت ۳۰ روز در زیر صفر درجه نگهداری کرد (۴).

۲-۲-پسماند آسیب شناسی

پسماندهای آسیب شناسی شامل بافت‌ها، ارگان‌ها، قسمت‌های مختلف بدن، جنین انسان و لاشه حیوانات، خون و مایعات بدن است (۵). در این گروه، پسماند حاصل از تشخیص قسمت‌های بدن انسان یا حیوان نیز پسماندهای آناتومی نامیده می‌شوند. این طبقه حتی اگر شامل قسمت‌های سالم بدن باشد، باید به عنوان زیر شاخه پسماند عفونی در نظر گرفته شود.

۲-۲-پسماند نوک‌تیز

پسماندهای نوک‌تیز مواردی هستند که باعث بریدگی یا زخم می‌شوند. از جمله سوزن، سوزن تزریق زیر پوستی، چاقوی کوچک جراحی و سایر تیغ‌ها، چاقوها، لوازم تزریق، اره، شیشه شکسته و ناخن‌ها. این موارد معمولا به عنوان پسماندهای بسیار خطرناک در نظر گرفته می‌شوند.

۲-۳-پسماند دارویی

پسماندهای دارویی شامل داروهای منقضی شده، استفاده نشده، دور ریخته شده، و محصولات دارویی آلوده، داروها، واکسن‌ها و سرم‌هایی که دیگر مورد نیاز نیستند، بطری یا جعبه داروها، دستکش، ماسک و لوله و ویال‌های دارویی، می‌باشد.

۲-۴-پسماند ژنوتوکسیک

پسماندهای ژنوتوکسیک بسیار خطرناک هستند و ممکن است خواص موتاژن، تراتوژن یا سرطان‌زایی داشته باشند. این پسماندها ممکن است شامل داروهای سایتوتوکسیک، استفراغ، ادرار یا مدفوع بیماران تحت درمان با داروهای سایتوتوکسیک، مواد شیمیایی و مواد رادیواکتیو (که خود یک طبق جداگانه است) باشند. داروهای سایتوتوکسیک، مواد اصلی در این طبقه هستند که توانایی کشتن یا متوقف کردن رشد سلول‌های زنده خاص را دارند که در شیمی درمانی استفاده می‌شوند. آن‌ها همچنین نقش مهمی را به عنوان عوامل سرکوب کننده سیستم ایمنی در پیوند عضو و درمان بیماری‌های مختلف ایفا می‌کنند (۳).

۲-۵-پسماند شیمیایی

پسماندهای شیمیایی شامل مواد شیمیایی جامد، مایع و گاز هستند. برای مثال از کار تشخیصی و تجربی و از تمیزکردن و مراحل ضدعفونی‌کردن تولید می‌شوند. پسماندهای شیمیایی ممکن است خطرناک و یا غیرخطرناک باشند؛ در زمینه حفاظت از سلامتی، اگر ماده‌ای حداقل یکی از خواص سمیت، خورندگی ($pH<۲$ و $pH>۱۲$)، اشتعال‌پذیری و واکنش پذیری (مواد منفجره،واکنش در آب، حساس به شوک) را دارا باشد، جزو مواد خطرناک شیمیایی محسوب می‌شوند.

پسماندهای شیمیایی غیرخطرناک متشکل از موادی هستند که هیچ‌کدام از خواص فوق را ندارند؛ مانند قندها، اسیدهای آمینه، نمک‌های معدنی و آلی خاص (۳).

۲-۶-پسماند با محتوای فلزات سنگین

پسماندهای با محتوای بالای فلزات سنگین نشان دهنده یک زیر شاخه از پسماندهای شیمیایی خطرناک و معمولا بسیار سمی هستند. پسماندهای جیوه توسط نشت از تجهیزات پزشکی شکسته تولید می‌شوند اما حجم آن‌ها با جایگزینی توسط ابزار سنجش الکترونیکی (دماسنج، ابزار اندازه‌گیری فشار خون و غیره)، در حال کاهش است (۶).

۲-۷-ظروف تحت فشار

در بیمارستان‌ها، انواع گازها که اغلب در سیلندرهای تحت‌فشار، کارتریج و قوطی‌های آئروسل ذخیره شده‌اند، مورد استفاده قرار می‌گیرند. بسیاری از آن‌ها یا خالی شده و یا اینکه دیگر مورد استفاده قرار نمی‌گیرند (هر چند هنوز هم حاوی گاز هستند)، این ظروف قابل استفاده مجدد هستند، اما برخی از آن‌ها مثل قوطی آئروسل باید دور انداخته شوند. گاز داخل این ظروف به طور بالقوه خطرناک باشد یا نباشد، در هر حالت باید با احتیاط رفتار شود. ظروف ممکن است آتش گرفته و یا سوراخ شوند (۳).

۲-۸-پسماند رادیواکتیو

این پسماندها اشاره به عناصر شیمیایی رادیواکتیو است و ممکن است در اثر پرتو درمانی و یا واحدهای پزشکی هسته‌ای ایجاد شوند. این پسماندها در بیمارستان‌ها حاوی سطوح پایینی از رادیواکتیوی در جرم و یا حجم هستند. این پسماندها ممکن است حاوی رادیوایزوتوپ‌هایی مانند H_3، P_{32} یا C_{14} باشند. به همین دلیل معمولا توسط سازمان‌های نظارتی دیگر (به عنوان

مثال، آژانس انرژی اتمی) برای جلوگیری از هر گونه خطر بهداشتی و محیط‌زیستی، از طریق انتشار اشعه گاما و بتا، نظارت می‌شوند (۷).

۳- ذخیره‌سازی پسماندهای خطرناک بیمارستانی

اعمال کنترل‌های سختگیرانه در ذخیره‌سازی، حمل و نقل و دفع پسماندهای بیمارستانی که بخش جدایی‌ناپذیری از مدیریت بیمارستان است، در سراسر جهان در حال گسترش می‌باشد. بسیاری از کشورها، کدها و توصیه‌هایی را به منظور ذخیره‌سازی، حمل و نقل و دفع کنترل شده برای حفاظت از بهداشت عمومی و جلوگیری از آلودگی محیط‌زیست به کار می‌گیرند. بدین صورت می‌توان تنها با استفاده از کد، دستورالعمل مربوط به تمام جنبه‌های ذخیره‌سازی، حمل و نقل و دفع را بدست آورد (۲). بسته‌بندی برای طبقات مختلف پسماندهای بیمارستانی از نظر رنگ، شکل و اندازه متفاوت است. کدبندی‌رنگی و نوع ظروف پسماندهای بیمارستانی در جدول ۱ ارایه شده است.

محل ذخیره‌سازی پسماندهای بیمارستانی باید در داخل بیمارستان تعیین شده باشد. کیسه‌ها و ظروف، باید در یک منطقه جداگانه، با توجه به میزان پسماند تولید شده و همچنین فرکانس تولیدی، ذخیره شود. زمان تأخیر بین تولید و تصفیه پسماند باید به این صورت باشد که در اقلیم معتدل: ۷۲ ساعت در زمستان و ۴۸ ساعت در تابستان و در اقلیم گرم: ۴۸ ساعت در طول فصل سرد و ۲۴ ساعت در طول فصل گرم نگهداری شود. پسماندهای سایتوتوکسیک باید به طور جداگانه‌ای از سایر پسماندها در یک محل امن ذخیره شود. پسماندهای رادیواکتیو باید در ظروف سربی نگهداری شوند. برای پسماندی که درطول تجزیه رادیواکتیو ذخیره می‌شود زدن برچسب نوع رادینوکلئید، تاریخ و جزئیات شرایط ذخیره‌سازی، مورد نیاز است.

جدول ۱- کدبندی‌رنگی و نوع ظروف پسماندهای بیمارستانی (۸)

نوع پسماند	نماد	کدگذاری رنگی	نوع ظرف
غیر خطرناک (خانگی)	-	مشکی	کیسه پلاستیکی
پسماند بسیار عفونی		زرد، با برچسب "بسیار عفونی"	محکم، کیسه پلاستیکی ضد نشت و یا قادر به اتوکلاو شدن
سایر پسماندهای عفونی، پسماند آسیب شناسی و آناتومی		زرد	ظرف یا کیسه ضد نشت
پسماند نوک‌تیز	-	زرد، با برچسب "نوک‌تیز"	ظروف مقاوم در برابر سوراخ شدن
پسماند دارویی و شیمیایی	-	قهواه‌ای	ظرف و کیسه پلاستیکی
پسماند رادیواکتیو		-	جعبه سرب، با برچسب نماد رادیواکتیو

۴-روش‌های درمان و دفع

با توجه به گسترش سریع بیماری های ناشی از دفع غیر اصولی همچون ویروس HIV و سایر بیماری‌های واگیردار، دفع پسماندهای عفونی بیمارستانی به یک موضوع مهم سلامت عمومی و محیط زیست تبدیل شده است. پسماندهای بیمارستانی، پسماندهای بسیار خطرناکی هستند؛ اما اگر به درستی و با دقت درمان و دفع شوند، می‌توان آسیب را به حداقل رساند. روشی که برای دفع پسماند بیمارستانی انتخاب می‌شود باید روشی مقرون به صرفه و قابل اجرا بوده و همچنین سازگار با محیط زیست باشد (۱).

۴-۱-سوزاندن

مزایای سوزاندن، آن‌را به یک روش ارجح درمان و دفع پسماندهای خطرناک بیمارستانی در سراسر جهان تبدیل کرده است. سوزاندن یک فرآیند اکسیداسیون خشک در دمای بالا است که پسماندهای آلی را به مواد معدنی غیر قابل احتراق تبدیل می‌کند و در نتیجه سبب کاهش بسیار قابل توجهی در حجم و وزن پسماندها می‌شود (۱). از این روش برای درمان پسماندهایی که غیر قابل بازیافت هستند استفاده می‌شود. یکی از نگرانی‌های مربوط به سوزاندن پسماندهای بیمارستانی، امکان وجود میکروارگانیسم‌های عفونی در گازهای خروجی از دودکش زباله‌سوز و خاکستر باقیمانده است (۹). نتایج مطالعه بلنخارن و همکاران در سال ۱۹۸۹ نشان داد که گازهای خروجی از یک زباله‌سوز بیمارستانی با دمای گاز دودکش در محدوده ۳۰۵-۱۸۶، حاوی باکتری‌هایی از جمله باکتری گرم مثبت (باسیلوس، استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس کواگولاز منفی) و تعداد کمی گونه‌های گرم منفی (مثل سودوموناس فلورسنس) بودند (۱۰).

احتراق ترکیبات آلی سبب انتشارات گازی شامل بخار آب، دی‌اکسیدکربن، اکسیدهای نیتروژن و برخی مواد (مثل فلزات، اسیدهای هالوژنه) و ذرات معلق، به علاوه باقیمانده‌های جامد به شکل خاکستر، می‌شود. اگر شرایط احتراق کنترل شده نباشد، مونوکسیدکربن نیز تولید خواهد شد. خاکستر و فاضلاب تولید شده در این فرآیند نیز حاوی ترکیبات سمی هستند که به منظور جلوگیری از اثرات نامطلوب بر سلامت و محیط‌زیست، باید تصفیه شوند. برخی از انواع پسماندهای بیمارستانی (برای مثال، بافت بدن انسان) نیاز به محفظه احتراق ثانویه دارند که در آن گازها، حداقل زمان اقامت لازم برای حذف بو را داشته باشند (۱۱). اگر انواع زباله‌سوزها درست عمل کنند، پاتوژن‌ها را از بین برده و حجم و وزن پسماندها را کاهش می‌دهند. به هر حال، انواع خاصی از پسماندهای بیمارستانی، به عنوان مثال پسماند دارویی و شیمیایی، برای نابودی نیاز به دماهای بالاتر دارند. سه نوع از تکنولوژی سوزاندن پایه برای درمان پسماندهای بیمارستانی وجود دارد:

۴-۱-۱-زباله‌سوز دو محفظه‌ای[1]

قابل اطمینان‌ترین و معمول‌ترین روند درمان برای پسماندهای بیمارستانی، سوزاندن پیرولیزی است، که همچنین سوزاندن هوای کنترل شده یا سوزاندن دو محفظه‌ای نیز نامیده می‌شود. زباله‌سوز پیرولیز شامل یک محفظه پیرولیز و محفظه احتراق سریع است. در محفظه پیرولیز، پسماندها در اثر حرارت از طریق فرآیند احتراق در دمای متوسط (۸۰۰-۹۰۰°C) با کمبود اکسیژن تجزیه می‌شوند و گاز و خاکستر تولید می‌شوند. گازهای تولید شده در این فرآیند توسط مشعل سوخت در دمای بالا (۹۰۰ -۱۲۰۰ °C)، برای کاهش دود و بو، سوزانده می‌شوند.

این زباله‌سوز به تمیز کردن دودکش خروجی و تجهیزات نیازی ندارد و خاکستر تولید شده توسط آن‌ها حاوی کمتر از ۱٪ مواد نسوخته است که می‌تواند در لندفیل‌ها دفن شود. با این حال، برای جلوگیری از تولید دیوکسین، بهتر است کیسه‌های پلاستیکی داخل زباله‌سوز ریخته نشود؛ بنابراین نمی‌توان برای بسته‌بندی پسماندها قبل از سوزاندن از پلاستیک استفاده کرد.

۴-۱-۲-کوره تک محفظه‌ای[2]

در این نوع کوره، عملیات بارگذاری پسماند به داخل کوره به صورت دستی انجام می‌گیرد. کوره‌های تک محفظه‌ای با میل‌های آهنی که باید تنها زمانی که زباله‌سوزهای پیرولیز مقرون به صرفه نیستند، مورد استفاده قرار بگیرد. احتراق با اضافه کردن سوخت، شروع شده و باید سپس بدون اضافه کردن مستمر سوخت، ادامه یابد. این کوره بر پایه تهویه طبیعی به صورت جریان هوا از دهانه کوره به دودکش، است؛ در صورتی که ناکافی می‌باشد و باید توسط تهویه مکانیکی حمایت شود. حذف منظم دوده و سرباره ضروری است. این نوع زباله‌سوزها در دمای ۳۰۰-۴۰۰ °C کار می‌کنند.

۴-۱-۳-کوره دوار[3]

کوره‌های دَوار (سانترفیوژ)، زباله‌سوزهایی هستند که در دمای بالا، قادر به تجزیه مواد ژنوتوکسیک و مواد شیمیایی مقاوم در

1- Starved air
2- Excess air
3- Rotary kiln

برابر حرارت می‌باشند. این کوره‌ها به طور کلی شامل دو محفظه احتراق و تجهیزات کنترل آلودگی هوا هستند. پسماندها مستقیما به کوره تخلیه می‌شوند. نرخ جریان پسماند به کوره، تابعی از سرعت کوره می‌باشد که متغیر است. برای کمک به سوزاندن، معمولا هوا بیش از نیاز استوکیومتری به کوره ارایه می‌شود. پسماندها در کوره به دلیل حرکت چرخشی کوره، به صورت آشفته هستند؛ چرخه کوره معمولا در محدوده ۳-۱ rpm است. این تلاطم پسماندها به تماس آن‌ها با هوا و در نتیجه احتراق کمک کرده و از طرفی هم بار ذرات خروجی از دودکش زباله‌سوز را افزایش می‌دهد. بنابراین این کوره نیاز به کنترل آلودگی هوا دارد (۱۲). در کوره‌های زباله‌سوز طراحی شده به خصوص برای درمان پسماندهای بیمارستانی باید درجه حرارت بین $^{\circ}C$ ۹۰۰ و ۱۲۰۰ به کار گرفته شود.

۴-۲-ضدعفونی شیمیایی

ضدعفونی شیمیایی به طور مداوم در مراکز بهداشتی برای از بین بردن میکروارگانیسم‌ها در تجهیزات پزشکی و در دیوارها و کف، استفاده می‌شود؛ اما در حال حاضر برای درمان پسماندهای بیمارستانی توسعه یافته است. مواد شیمیایی به منظور از بین بردن و یا غیر فعال کردن پاتوژن‌ها به پسماندها اضافه می‌شوند. ضدعفونی شیمیایی مناسب‌ترین درمان پسماندهای مایع مانند خون، ادرار، مدفوع و یا فاضلاب بیمارستان است. از جمله محدودیت‌هایی که در فرآیند ضدعفونی پسماندهای بیمارستانی جامد و حتی بسیار خطرناک، از جمله کشت‌های میکروبیولوژی، نوک‌تیزها و غیره وجود دارد این است که ضدعفونی کننده‌های قوی مورد نیاز است که خود ممکن است خطرناک باشند و باید توسط افراد آموزش دیده مورد استفاده قرار گیرند و همچنین از پرسنل به خوبی حفاظت شود. از دیگر محدودیت‌هایی که می‌توان به آن اشاره کرد این است که تنها سطح پسماندهای جامد ضدعفونی می‌شود.

بخش‌های بدن انسان و لاشه حیوانات معمولا نباید ضدعفونی شیمیایی شوند. در برنامه‌ریزی استفاده از ضدعفونی شیمیایی، الزامات برای دفع نهایی باید در نظر گرفته شود؛ زیرا دفع نامناسب می‌تواند منجر به مشکلات جدی محیط زیستی شود.

در نتیجه بررسی سازمان بهداشت جهانی در زمینه مقاومت میکروبی میکروارگانیسم‌ها به مواد ضدعفونی‌کننده، اسپورهای باکتری، مایکوباکتریا، ویروس‌های آب‌دوست، ویروس‌های چربی‌دوست، قارچ‌های رویشی و اسپورهای قارچی و باکتری‌های رویشی، اکثر انگل‌ها، مانندگیاردیا و گونه کریپتوس‌پُریدیوم، به ترتیب دارای بیشترین تا کمترین مقاومت هستند.

اثر ضدعفونی از نرخ بقای موجودات شاخص در آزمون‌های استاندارد میکروبیولوژی برآورد شده است. در حال حاضر، ضدعفونی شیمیایی پسماندهای بیمارستانی در کشورهای صنعتی محدود می‌باشد ولی در کشورهای در حال توسعه مخصوصا برای تصفیه مایعات فیزیولوژی بسیار خطرناک مانند مدفوع بیمار در مورد شیوع بیماری وبا، یک گزینه جذاب است. پسماندهای ضدعفونی شده، دفع شده و دیگر خطری ایجاد نمی‌کنند ولی مواد شیمیایی ضدعفونی‌کننده ممکن است در اثر نشت بعد از دفع، مشکلات جدی محیط‌زیستی ایجاد کنند.

۴-۲-۱-انواع ضدعفونی‌کننده شیمیایی

برخی از مواد ضدعفونی‌کننده در از بین بردن و یا غیر فعال کردن انواع خاصی از میکروارگانیسم‌ها و برخی در برابر تمام انواع آن‌ها مؤثر هستند. بنابراین شناخت هویت میکروارگانیسم هدف، به منظور نابودی، ضروری است. انتخاب ضدعفونی‌کننده نه تنها به تأثیر آن، بلکه به خورندگی و سایر خطرات آن نیز بستگی دارد.

انواع مواد شیمیایی مورد استفاده برای ضدعفونی پسماندهای بیمارستانی، عبارتند از: اغلب آلدئیدها، ترکیبات کلر، نمک‌های آمونیوم، ترکیبات فنول؛ ویژگی‌های پرکاربردترین این مواد در جدول ۲ به صورت خلاصه، ارایه شده است. استفاده از اکسید اتیلن، به دلیل خطرات مرتبط با مدیریت، برای ضدعفونی، توصیه نمی‌شود. با این حال، هنوز در بعضی مکان‌ها از آن استفاده می‌کنند. بسیاری از مواد ضدعفونی‌کننده پس از باز کردن ظرف، به مدت حداقل ۵ سال

و سدیم هیپوکلریت هم به مدت ۱۲-۶ ماه مؤثر باقی می‌مانند. ضدعفونی‌کننده‌های قوی اغلب برای پوست و غشاهای مخاطی، خطرناک و سمی هستند. بنابراین کاربران باید از لباس‌های محافظ، از جمله دستکش و عینک استفاده کنند (۳).

جدول ۲- ویژگی‌های پرکاربردترین مواد ضدعفونی‌کننده شیمیایی پسماندهای عفونی (۳)

ضدعفونی‌کننده	کاربرد	خواص فیزیکی و شیمیایی	توضیحات
فرمالدهید ($HCHO$)	در ترکیب با بخار در ۸۰°C به مدت ۴۵ دقیقه	واکنش‌پذیر در دمای محیط، پلیمریزاسیون در دمای کمتر از ۸۰°C، فرمالین یک محلول ۳۷٪ فرمالدهید است. آستانه بو: ۰/۱-۱ ppm	-
اکسید اتیلن (CH_2OCH_2)	در ترکیب با بخار در ۵۵-۳۷°C، در رطوبت ۸۰-۶۰٪ به مدت ۱۲-۴ ساعت	واکنش‌پذیر در دمای محیط، پلیمریزاسیون در دوای کمتر از ۸۰°C، محلول در آب و بسیاری از حلال‌های آلی، آستانه بو: ۳۲۰-۷۰۰ppm	استفاده از اکسید اتیلن به دلیل خطرات مرتبط با سلامتی قابل توجه، توصیه نمی‌شود.
گلوتارآلدهید $CHO-(CH_2)_3-CHO$	فعال در برابر باکتری‌ها و تخم انگل‌ها. مدت تماس: ۵ دقیقه برای ضدعفونی تجهیزات پزشکی؛ ۱۰ ساعت برای از بین بردن اسپورها.	مایع، بسیار واکنش‌پذیر و غیر قابل اشتعال. به علاوه، متانول برای مدت طولانی از آن حفاظت می‌کند.	احتمال اشتعال پسماند آن در فاضلاب در اثر مخلوط شدن با حلالهای اشتعال‌پذیر، بسوزد.
هیپوکلریت سدیم ($NaOCl$)	غیر مؤثر برای ضدعفونی مایعات با محتوای آلی بالا مانند خون یا مدفوع. برای پسماند	محلولها باید از نور محافظت شوند تا سریع تجزیه نشوند؛ با اسید واکنش داده و گاز کلر خطرناک تولید می‌کند.	به دلیل خطرات بهداشتی، خیلی کم مورد استفاده قرار می‌گیرد. خنثی سازی قبل از تخلیه به فاضلاب توسط اسید
دی‌اکسیدکلر (ClO_2)	به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد مثلاً در آماده‌سازی آب آشامیدنی و تصفیه پساب.	با آب یا بخار واکنش نشان داده و گازهای خورنده از جمله هیدروکلریک اسید، تولید می‌کند.	-

۴-۳- ضدعفونی حرارتی مرطوب (اتوکلاو[1])

اساس کار ضدعفونی حرارتی مرطوب- یا بخار- وابسته به میزان تماس پسماندهای عفونی خُرد شده با دمای بالا، فشار بخار بالا است. این روش در صورت زمان تماس و درجه حرارت کافی، بیشتر میکروارگانیسم‌ها را غیرفعال می‌کند. برای باکتری‌های اسپور شده، حداقل درجه حرارت ۱۲۱ °C، مورد نیاز است. در این فرآیند، قبل از تصفیه نیاز است تا پسماندها خُرد شوند. فرآیند برای تصفیه پسماندهای آناتومیک و لاشه حیوانات، نامناسب است و همچنین در تصفیه پسماندهای دارویی و شیمیایی نیز مؤثر نمی‌باشد. با این حال، سرمایه‌گذاری نسبتا پایین و هزینه‌های عملیاتی و تأثیرات محیط‌زیستی کم، از مزایای این روش به حساب می‌آید.

1- Autoclave

مخزن واکنش برای فرآیند حرارتی مرطوب، ممکن است یک استوانه فولادی متصل به یک ژنراتور بخار باشد که هر دو می‌توانند در برابر فشار ۶ bar (۶۰۰kPa) و دمای ۱۶۰°C مقاوم باشند. این سیستم همچنین شامل یک پمپ خلاء و تأمین برق است. در طول فرآیند، فشار و دما کنترل می‌شوند و عملکرد این سیستم ممکن است به صورت خودکار باشد. فرآیندهای حرارتی مرطوب معمولا سیستم‌های ناپیوسته یا گاها پیوسته هستند. از اتوکلاو برای درمان پسماندهای نوک‌تیز، اقلام آلوده به خون، باقیمانده از یک عمل جراحی، باند، پارچه، لباس و دیگر مواد مشابه استفاده می‌شود. اتوکلاو دارای محدوده درجه حرارت ۲۵۰°C-۵۰ است اما ۱۶۰°C به عنوان درجه حرارت مطلوب برای از بین بردن باکتری‌ها می‌باشد (۱). اتوکلاو پسماندهای بیمارستانی یک فن‌آوری جایگزین زباله‌سوز در نظر گرفته شده است؛ اما پر هزینه‌تر از سوزاندن می‌باشد؛ به این دلیل که در روش درمان با اتوکلاو، نیاز به یک روش دیگر برای دفع نهایی وجود دارد. بعلاوه اتوکلاو نمی‌تواند پسماندهای شیمیایی و مواد خطرناک مانند پسماند حاصل از شیمی درمانی، جیوه، ترکیبات آلی فرار و نیمه فرار، رادیواکتیو را درمان کند. به طور کلی این روش، روش کاملی نیست (۱۳).

۴-۴-مایکروویو[1]

امواج ماکروویو، امواج الکترومغناطیسی با فرکانس بین امواج رادیویی و مادون قرمز است (۱۴). بسیاری از میکروارگانیسم‌ها توسط ماکروویو با بسامد ۲۴۵۰ MHz و طول موج cm ۱۲/۲۴، نابود می‌شوند. آب موجود در پسماند به سرعت توسط ماکروویو گرم می‌شود و اجزای عفونی توسط هدایت گرمایی از بین می‌روند. در واحد تصفیه ماکروویو، پسماندها به قطعات کوچک کاهش می‌یابند؛ سپس پسماند مرطوب شده و به محفظه تابش که با یک سری ژنراتور ماکروویو مجهز شده است انتقال داده و به مدت ۲۰ دقیقه تحت تابش قرار می‌گیرد. ماکروویو کردن پسماندهای بیمارستانی با روش سوزاندن، از لحاظ اقتصادی، نزدیک به هم هستند (۱۳). با این حال تکنولوژی ماکروویو برای درمان در مقیاس بزرگ مناسب نیست (۱۵).

۴-۵-دفع در زمین

اگر شهرداری یا مسئولین بیمارستان، واقعا فاقد وسیله‌ای برای تصفیه پسماندها قبل از دفع باشند، استفاده از محل‌های دفن پسماند به عنوان مسیر دفع، قابل قبول است؛ زیرا تجمع پسماندها در بیمارستان یا در جای دیگر، به منزله یک خطر بزرگتر و به مراتب بالاتر از انتقال عفونت از طریق دفع در محل‌های دفن پسماند شهری می‌باشد. لندفیل‌ها را می‌توان به سه دسته تقسیم‌بندی کرد.

۴-۵-۱-رها کردن پسماند در زمین باز[2]

از آنجایی که در این روش هیچ گونه کنترلی وجود ندارد و پسماندها پراکنده هستند، منجر به مشکلاتی از قبیل آلودگی هوا، آتش‌سوزی، انتقال شدید بیماری‌ها و دسترسی آزاد رفتگران و حیوانات، می‌شود. در مطالعه‌ای که توسط بلنخارن (۲۰۰۶)، بر روی شیرابه محل دفن پسماند بیمارستانی انجام شد، وجود باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، گونه سالمونلا، انتروکوک و دیگر انتروباکترها پس از گذشته چندین هفته در شیرابه گزارش شد (۱۶). در مطالعه دیگری، هیل بوت و همکاران (۲۰۰۱) ۴۳ گونه مختلف از باکتری‌ها و مخمر در شیرابه لندفیل شناسایی کردند که برخی از آنها با عفونت‌های انسانی در ارتباط بود (۱۷). پسماندهای بیمارستانی نباید در محل‌های باز ریخته شوند؛ زیرا خطر تماس انسان‌ها و حیوانات با پاتوژن‌های عفونی و انتقال بیماری، چه از طریق زخم، استنشاق یا بلع و یا به طور غیر مستقیم از طریق زنجیره غذایی یا یک گونه پاتوژن میزبان، وجود دارد (۳).

۴-۵-۲-محل دفن نیمه کنترل شده[3]

در این روش پسماند به صورت فشرده در محل‌های دفن ریخته می‌شود و بوسیله پوشش خاک روزانه پوشانده می‌شود. انواع پسماند شهری، صنعتی و بیمارستانی، بدون جداسازی در محل‌های دفن تخلیه می‌شود. این نوع دفن پسماند فاقد مهندسی برای مدیریت گاز و شیرابه است (۱۸).

2- Microwave

3- Open dumps

1- Semi-controlled landfill

۴-۵-۳-محل دفن بهداشتی[1]

این روش بدلیل داشتن چهار مزیت نسبت به مناطق دفع باز، طراحی شده‌اند: جداسازی زمین‌شناسی پسماند از محیط‌زیست، مهندسی آماده‌سازی مناسب سایت برای پذیرش پسماند، حضور کارکنان در سایت برای کنترل عملیات و سازماندهی کردن تخلیه و پوشش روزانه پسماند. به طور کلی، دفن یک روش آسان و کم‌هزینه برای دفع پسماند است؛ اما اگر محل‌های دفن پسماند به درستی مدیریت نشوند، خطر بیماری و آلودگی محیط‌زیست افزایش می‌یابد. ضایعات تولیدی از محل دفن پسماند در طول فرآیند تخریب پسماند، در ۳ فاز جامد (به عنوان مثال، پسماند تخریب شده)، مایع (شیرابه) و گاز (معمولا به عنوان گاز لندفیل اشاره می‌شود، مانند متان و کربن‌دی‌اکسید)، می‌باشد (۱۹). شیرابه تولید شده در محل دفن پسماند، شامل طیف گسترده‌ای از نمک، ترکیبات آلی هالوژنه، فلزات کمیاب و اسیدهای آلی است که می‌تواند خاک و آب اطراف خود را آلوده کند. بنابراین، محل دفن یک راه حل ایمن برای درمان پسماندهای بیمارستانی محسوب نمی‌شود (۱).

۴-۶-مایع فوق بحرانی دی‌اکسیدکربن[2]

تکنولوژی‌های ضدعفونی مورد استفاده معمول، از جمله اتوکلاو، اکسید اتیلن و مایکروویو می‌باشند (۲۰). اگرچه تمام این روش‌ها اطمینان رضایت‌بخشی در غیر فعال کردن میکروب‌ها به دست می‌دهند، اما دارای محدودیت نیز هستند. تمام این تکنیک‌ها بسیار گران بوده و مدیریت و کنترل آن‌ها سخت می‌باشد زیرا دما و فشار بسیار بالا، مورد نیاز است (۲۱). بنابراین بیشتر روش‌های ضدعفونی برای ضدعفونی پسماندهای بیمارستانی نامناسب است زیرا ممکن است پسماندهای قابل استفاده مجدد حساس به گرما، در اثر افزایش دما از بین بروند. از این رو، فوریت تعیین یک تکنولوژی ضدعفونی در دمای پایین، استفاده از تکنولوژی ضدعفونی سیال فوق بحرانی (SCF) را بسیار امیدوار کننده نشان می‌دهد (۱).

هر گونه ترکیب در یک دما و فشار بیشتر از حد بحرانی را، سیال فوق بحرانی گویند. فشار بحرانی، فشار بخار گاز در دمای بحرانی است. در محیط فوق بحرانی فقط یک فاز وجود دارد. با اینکه مایع نامیده می‌شود ولی نه مایع است و نه گاز، بلکه به عنوان حد واسط این دو شرح داده می‌شود. این فاز دارای قدرت حلالیت مایعات و همچنین قدرت انتقال گازها را دارد و همینطور، ویسکوزیته کمتر و نفوذ بالاتری نسبت به مایع دارد (۲۲).

استفاده از سیال فوق بحرانی دی‌اکسیدکربن شایع‌ترین نوع SCFاست. سیال فوق بحرانی دی‌اکسیدکربن به دلیل داشتن مزایایی از جمله مؤثر در برابر میکروارگانیسم‌ها، پارامترهای بحرانی کم (۳۱/۱°C ، ۷۳/۸ bar)، هزینه کم و غیر سمی، غیرقابل اشتعال، به وفور در دسترس، قابل بازیافت و سازگار بودن با محیط‌زیست، به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۳). علاوه بر این، قدرت حلالیت و نفوذ بالا و ویسکوزیته کم، برای غیر فعال کردن میکروب‌ها، باعث شده است که از آن به عنوان یک تکنولوژی ضدعفونی استفده کنند. اگر چه در برخی موارد، مواد افزودنی مانند پراکسید هیدروژن و پراستیک اسید، نیز استفاده می‌شود(۱). ضدعفونی میکروارگانیسم‌های مختلف با استفاده از $SCF\text{-}CO_2$ در شرایط مختلف آزمایشی در جدول ۳ نشان داده شده است.

1- Sanitary landfill
2- Super Critical Fluid Carbon Dioxide (SCF- CO_2)

جدول ۳- مطالعات انجام شده در زمینه ضدعفونی میکروارگانیسم‌ها توسط $SCF\text{-}CO_2$ در شرایط مختلف (یافته‌های تحقیق)

میکروارگانیسم	شرایط آزمایش				منبع
	فشار (bar)	دما (°C)	زمان (min)	افزودنی	
Salmonella enterica	۸۰-۲۵۰	۳۵-۵۵	۱۵-۳۰		(۲۴)
B. megaterium & B. subtilis	۳۰۰	۴۰	۳۰	-	(۲۵)
Bacillus pumilus	۲۷۵	۶۰	۲۴۰	H_2O_2	(۲۶)
biological pathogens	۸۰/۸	۵۰	۳۰	H_2O_2, H_2O	(۲۷)
Bacillus pumilus	۱۰۱	۵۰	۴۵	H_2O_2	(۲۸)
Alicyclobacillus acidoterrestris	۲۷۵	۴۰	۲۴۰	H_2O_2	(۲۹)
Bacillus subtilis	۷۰-۱۵۰	۳۶-۷۵	۱۲۰	-	(۳۰)

با توجه به تأثیر این تکنولوژی بر میکروارگانیسم‌ها، برنامه‌های بازیافت و استفاده مجدد از پسماندهای بیمارستانی می‌تواند بدون هیچ گونه خطر عفونی، انجام گیرد. بدیهی است، پسماند جامد بیمارستانی از جمله ابزار و تجهیزات پزشکی ساخته شده از فلز یا قطعات پلاستیکی، کاغذ، مقوا و غیره را می‌توان بعد از ضدعفونی کردن توسط $SCF\text{-}CO_2$، مورد استفاده مجدد قرار داده و یا بازیافت کرد. بنابراین، اتخاذ تکنولوژی ضدعفونی $SCF\text{-}CO_2$ در مدیریت پسماندهای جامد بیمارستانی، می‌تواند تماس با پسماندهای عفونی، نیروی کار و هزینه‌ها را کاهش دهد.

نتیجه‌گیری

اگرچه تمام تکنولوژی‌های ضدعفونی مورد استفاده در بیمارستان‌ها نتایج قابل قبولی در غیر فعال سازی میکروارگانیسم‌ها بدست می‌دهند، اما تمام این تکنیک‌ها بسیار گران بوده و به دلیل نیاز به دما و فشار بسیار بالا مدیریت و کنترل آن‌ها سخت می‌باشد. با توجه به این معایب و محدودیت‌ها نیاز جدی به انتخاب و اتخاذ یک تکنولوژی مؤثر ضدعفونی در مدیریت پسماندهای بیمارستانی قبل از دفع وجود دارد. از این رو، اتخاذ سیال فوق بحرانی دی‌اکسیدکربن برای ضدعفونی کردن پسماندهای بیمارستانی، به منظور جلوگیری از عفونت و آلودگی به شدت توصیه می‌شود. در نتیجه، پسماند خطر عفونت ندارد؛ بنابراین، در حین جمع‌آوری، تفکیک، بازیافت و استفاده مجدد، احتیاجی به استفاده از کارکنان ماهر پزشکی وجود ندارد. بر این اساس، بیمارستان‌ها می‌توانند یک محیط ایمن برای بیماران و کارکنان مهیا کنند. علاوه بر این، اتخاذ روش نوین $SCF\text{-}CO_2$، در مدیریت پسماندهای بیمارستانی باعث کاهش تماس با پسماندهای عفونی، کاهش نیروی کار، کاهش هزینه شده و همچنین سازگار با محیط‌زیست می‌باشد. لذا در سال‌های اخیر به عنوان روش جایگزین مطرح شده است. به طور کلی انجام مطالعات آزمایشگاهی و تحقیقاتی بیشتر، جهت انتخاب روش مطلوب و سازگار با کشور ایران از نظر اقتصادی- اجتماعی و محیط‌زیستی ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

1. Hossain, M.S., et al., *Clinical solid waste management practices and its impact on human health and environment – A review.* Waste Management, 2011. **31**(4): p. 754-766.
2. Bdour, A., et al., *Assessment of medical wastes management practice:*

A case study of the northern part of Jordan. Waste Management, 2007. **27**(6): p. 746-759.
3. Prüss, A., E. Giroult, and P. Rushbrook, *Teacher's Guide: Management of Wastes from Health-care Activities*. 1999: World Health Organization.
4. Ho, C.C. and C.-J. Liao, *The use of failure mode and effects analysis to construct an effective disposal and prevention mechanism for infectious hospital waste.* Waste Management, 2011. **31**(12): p. 2631-2637.
5. Salkin, I.F., E. Krisiunas, and W.L. Turnberg, *Medical and infectious waste management.* JOURNAL-AMERICAN BIOLOGICAL SAFETY ASSOCIATION, 2000. **5**(2): p. 54-69.
6. Marinković, N., et al., *Management of hazardous medical waste in Croatia.* Waste Management, 2008. **28**(6): p. 1049-1056.
7. Jang, Y.C., *Infectious/Medical/Hospital Waste: General Characteristics*, in *Encyclopedia of Environmental Health*, O.N. Editor-in-Chief: Jerome, Editor. 2011, Elsevier: Burlington. p. 227-231.
8. Taghipour, H. and M. Mosaferi, *Characterization of medical waste from hospitals in Tabriz, Iran.* Science of The Total Environment, 2009. **407**(5): p. 1527-1535.
9. Saini, S., et al., *The study of bacterial flora of different types in hospital waste: evaluation of waste treatment at Aiims Hospital, New Delhi.* 2004.
10. Blenkharn, J. and D. Oakland, *Emission of viable bacteria in the exhaust flue gases from a hospital incinerator.* Journal of Hospital Infection, 1989. **14**(1): p. 73-78.
11. Moritz, J.M., *Current legislation governing clinical waste disposal.* Journal of Hospital Infection, 1995. **30, Supplement**(0): p. 521- 530.
12. Lee, C.C. and G.L. Huffman, *Medical waste management/incineration.* Journal of Hazardous Materials, 1996. **48**(1–3): p. 1-30.
13. Lee, B.-K., M.J. Ellenbecker, and R. Moure-Ersaso, *Alternatives for treatment and disposal cost reduction of regulated medical wastes.* Waste Management, 2004. **24**(2): p. 143-151.
14. Hossain, M.S., et al., *Clinical solid waste management practices and its impact on human health and environment–A review.* Waste management, 2011. **31**(4): p. 754-766.
15. Cha, C.Y. and C.T. Carlisle, *Microwave process for volatile organic compound abatement.* Journal of the Air & Waste Management Association, 2001. **51**(12): p. 1628-1641.
16. Blenkharn, J.I., *A backward step: landfill disposal of clinical wastes.* Journal of Hospital Infection, 200:(1) 63.6 p. 105-106.
17. Hale Boothe, D.D., et al., *Characterization of microbial populations in landfill leachate and bulk samples during aerobic bioreduction.* Advances in Environmental Research, 2001. **5**(3): p. 285-294.
18. Narayana, T., *Municipal solid waste management in India: From waste disposal to recovery of resources?* Waste Management, 2009. **29**(3): p. 1163-1166.

19. Williams, P.T., *Waste treatment and disposal*. 2005: Wiley. com.
20. Dempsey, D.J. and R.R. Thirucote, *Sterilization of medical devices: a review*. Journal of biomaterials applications, 1988. **3**(3): p. 454-523.
21. White, A., D. Burns, and T.W. Christensen, *Effective terminal sterilization using supercritical carbon dioxide.* Journal of biotechnology, 2006. **123**(4): p. 504-515.
22. Baiker ,A., *Supercritical fluids in heterogeneous catalysis.* Chemical reviews, 1999. **99**(2): p. 453-474.
23. Nik Norulaini, N., et al., *Sterilization and extraction of palm oil from screw pressed palm fruit fiber using supercritical carbon dioxide.* Separation and Purification Technology, 2008. **60**(3): p. 272-277.
24. Kim, S.R., et al., *Fatty acid profiling and proteomic analysis of< i> Salmonella enterica</i> serotype Typhimurium inactivated with supercritical carbon dioxide.* International journal of food microbiology, 2009. **134**(3): p. 190-195.
25. Ishikawa, H., et al., *Inactivation of Bacillus spores by the supercritical carbon dioxide micro-bubble method.* Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 1997. **61**(6): p. 1022-1023.
26. Zhang, J., et al., *Sterilizing >i> Bacillus pumilus</i> spores using supercritical carbon dioxide.* Journal of microbiological methods, 2006. **66**(3): p. 479-485.
27. Checinska, A., et al., *Sterilization of biological pathogens using supercritical fluid carbon dioxide containing water and hydrogen peroxide.* Journal of Microbiological Methods, 2011. **87**(1): p. 70-75.
28. Shieh, E., et al., *Sterilization of Bacillus pumilus spores using supercritical fluid carbon dioxide containing various modifier solutions.* Journal of Microbiological Methods, 2009. **76**(3): p. 247-252.
29. Zhang, J., et al., *On the mechanisms of deactivation of Bacillus atrophaeus spores using supercritical carbon dioxide.* The Journal of Supercritical Fluids, 2006. **38**(2): p. 268-273.
30. Spilimbergo, S., et al., *Inactivation of Bacillus subtilis spores by supercritical CO2 treatment.* Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2003. **4**(2): p. 161-165.