

Disinfezione e sterilizzazione

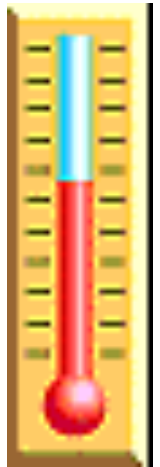
Disinfezione e sterilizzazione

DISINFEZIONE

**Procedimento che si prefigge
l'uccisione dei microrganismi
patogeni, inclusi i virus presenti in
un oggetto o in un ambiente.**

Aspetti critici della disinfezione

- Temperatura: ottimale (20° - 37° C)
 - bassa = ridotta attività,
 - alta = può inattivare alcuni disinfettanti
- Concentrazione: deve essere adeguata e standard ($>$ MIC) per evitare selezione di ceppi resistenti



STERILIZZAZIONE

Procedimento in grado di uccidere tutti i microrganismi, patogeni e non, e di inattivare tutti i virus, presenti in un oggetto o in un ambiente.

La sterilizzazione è utilizzata in campo farmaceutico nella
preparazione di
iniezioni,
colliri e
nella preparazione di «materiali» di medicazione.

Indipendentemente dal metodo utilizzato è necessari
tener presente che:

➤ qualsiasi metodo impiegato non dà certezza di ottenere
la sterilità, ma si hanno solo delle **probabilità** più o meno
elevate;

➤ i processi di sterilizzazione possono avere effetti
dannosi sui prodotti trattati, così bisogna raggiungere un
compromesso per avere l'effetto maggiore con il minimo
danno.

5.9 FUI XII ed.

INDICAZIONI PER I FABBRICANTI

Il livello di assicurazione fornito da un risultato soddisfacente del saggio di sterilità (assenza di unità contaminate nel campione) riguardo alla qualità totale del lotto e' una funzione dell'omogeneità del lotto, delle condizioni di fabbricazione e dell'efficienza del piano di campionamento utilizzato. Questo il motivo per il quale nello scopo di questo saggio un lotto e' definito come un insieme omogeneo di contenitori sigillati preparati in modo tale che il rischio di contaminazione sia lo stesso per ciascuna delle unità che lo costituiscono.

Nel caso di prodotti sottoposti a sterilizzazione terminale, l'assicurazione che forniscono le prove fisiche, biologicamente fondate e registrate automaticamente che dimostrano il corretto trattamento dell'intero lotto.

...

L'interpretazione dei risultati del saggio di sterilità si basa sull'ipotesi che il contenuto di ciascun recipiente che costituisce il lotto avrebbe dato lo stesso risultato se fosse stato sottoposto a saggio.

Tabella 2.6.1-2. - *Quantità minima di prodotto da usare per ogni terreno di coltura*

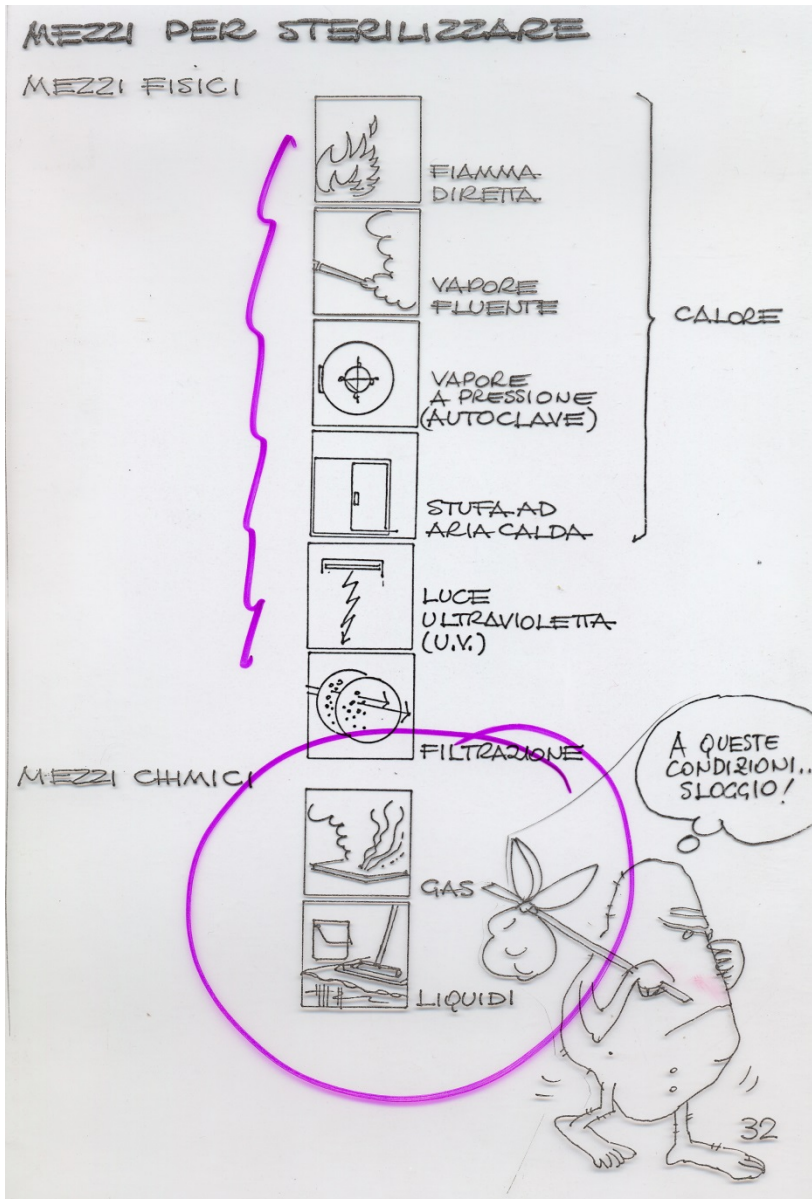
Quantità per contenitore	Quantità minima da utilizzare per ciascun terreno di coltura, salvo diversa indicazione giustificata ed autorizzata
<p><i>Liquidi</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - inferiore ad 1 ml - 1-40 ml - superiore a 40 ml e non superiore a 100 ml - superiore a 100 ml <p><i>Antibiotici liquidi</i></p>	<p>l'intero contenuto di ogni contenitore</p> <p>la metà del contenuto di ogni contenitore, ma non meno di 1 ml</p> <p>20 ml</p> <p>10 per cento del contenuto di ogni contenitore, ma non meno di 20 ml</p> <p>1 ml</p>
<p><i>Preparazioni insolubili, creme ed unguenti da sospendere o da emulsionare</i></p>	<p>l'intero contenuto di ogni contenitore purché non inferiore a 200 mg</p>
<p><i>Solidi</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - inferiore a 50 mg - 50 mg o più, ma inferiore a 300 mg - da 300 mg a 5 g - superiore a 5 g <p><i>Catgut ed altri fili chirurgici per uso veterinario</i></p>	<p>l'intero contenuto del contenitore</p> <p>la metà del contenuto di ogni contenitore, ma non meno di 50 mg</p> <p>150 mg</p> <p>500 mg</p> <p>3 sezioni di un filo (ciascuna di 30 cm di lunghezza)</p>

Tabella 2.6.1.- 3.

Numero minimo di campioni da sottoporre a saggio

Numero di campioni nel lotto*	Numero minimo di campioni da sottoporre a saggio per ciascun terreno di coltura, salvo diversa indicazione giustificata ed autorizzata**
<i>Preparazioni parenterali</i> - non più di 100 contenitori - più di 100 contenitori ma non più di 500 contenitori - più di 500 contenitori	il 10 per cento dei contenitori, con un minimo di 4 10 contenitori il 2 per cento dei contenitori con un massimo di 20 (10 nel caso di preparazioni parenterali di grande volume)
<i>Preparazioni oftalmiche ed altre preparazioni non iniettabili</i> - non più di 200 contenitori - più di 200 contenitori - se il prodotto è formulato in recipienti monodose, applicare lo schema descritto precedentemente per le preparazioni parenterali	il 5 per cento dei contenitori, con un minimo di 2 10 contenitori
<i>Catgut e altri fili chirurgici per uso veterinario</i>	il 2 per cento dalle confezioni con un minimo di 5, fino ad un massimo di 20.
<i>Prodotti solidi "in bulk"</i> - fino a 4 contenitori - più di 4 ma non più di 50 - più di 50 recipienti	tutti i contenitori il 20 per cento dei contenitori, con un minimo di 4 il 2 per cento dei contenitori, con un minimo di 10
* Se la dimensione dei lotti non è nota, utilizzare il numero massimo prescritto di unità. ** Se il contenuto di un recipiente è sufficiente per inoculare due terreni di coltura, questa colonna indica il numero di recipienti necessari per entrambi i terreni di coltura.	

STERILIZZARE



- Assicurare l'assenza di ogni forma di vita da un certo ambito.
- Uccidere gli «esseri viventi» presenti o allontanarli dall'ambito specifico con mezzi adatti

LAS (SAL)

LIVELLO di ASSICURAZIONE della STERILITA'

un prodotto è considerato sterile quando la
probabilità di

trovare una **unità non sterile** in un lotto sterilizzato
sia di 10^{-6} , quando cioè una unità su un
milione può non essere sterile

1/1.000.000

Sterilizzazione **TERMINALE**



METODI DI STERILIZZAZIONE

**MEZZI
FISICI**

CALORE

SECCO

UMIDO

*Vapore fluente
Vapore sotto
pressione
Tindalizzazione*

RADIAZIONI

RAGGI UV

RAGGI γ

**FILTRAZIONE
STERILIZZANTE**

ADSORBENTE

SETACCIANTE

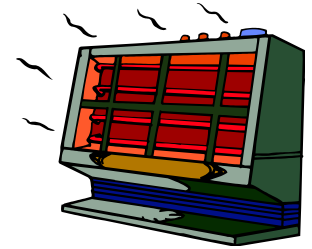
**MEZZI
CHIMICI**

**AGGIUNTA BATTERICIDI
OSSIDO DI ETILENE
FORMALDEIDE
 β -PROPIOLATTONE
ACIDO PERACETICO**

Sterilizzazione mediante calore

Tre forme diverse:

- **Incenerimento o fiamma diretta**
- **Calore secco**
- **Calore umido**



Calore secco



**SI USANO STUFE CON
VENTILAZIONE AD ARIA
FORZATA (CONVEZIONE)
DETTE FORNI PASTEUR**

AGENTE STERILIZZANTE: ARIA CALDA (CATTIVO CONDUTTORE DI CALORE E SCARSO POTERE PENETRANTE)

PROCEDURA: 180-200°C x 60'-90'

LIMITI: NON SI POSSONO STERILIZZARE MATERIALI UMIDI, LIQUIDI E PLASTICHERIA

APPLICAZIONI: STERILIZZAZIONE DELLA VETRERIA (INDISPENSABILE) E DI STRUMENTI METALLICI

L'impiego di calore secco risulta efficiente nelle seguenti condizioni:

- 160°C per almeno 2 ore
- 170°C per almeno 1,5 ore
- 180°C per almeno 45 minuti

Calore umido

AGENTE STERILIZZANTE: VAPORE ACQUEO AD ELEVATA TEMPERATURA (BUONA CONDUCEBILITA' TERMICA E ELEVATO POTERE PENETRANTE = >EFFICIENZA)

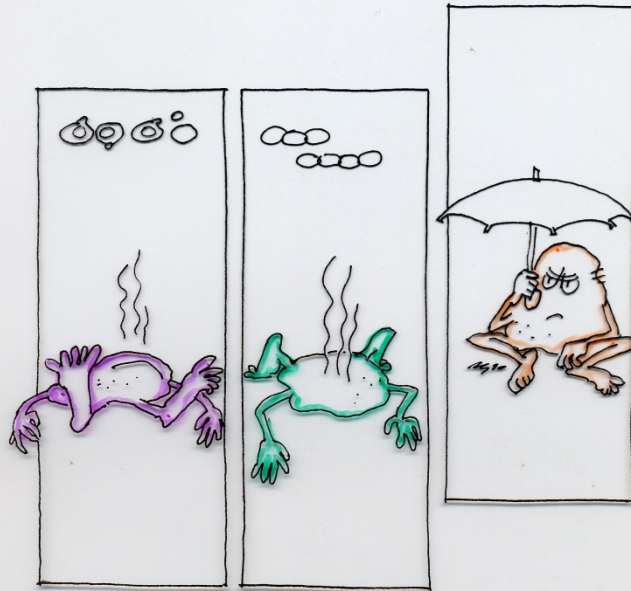
Viene utilizzato nelle seguenti forme:

- **Sterilizzazione frazionata**
- **Vapore fluente**
- **Vapore sotto pressione**

PERCHE' LA STERILITA' NON PUO' ESSERE ASSOLUTA?

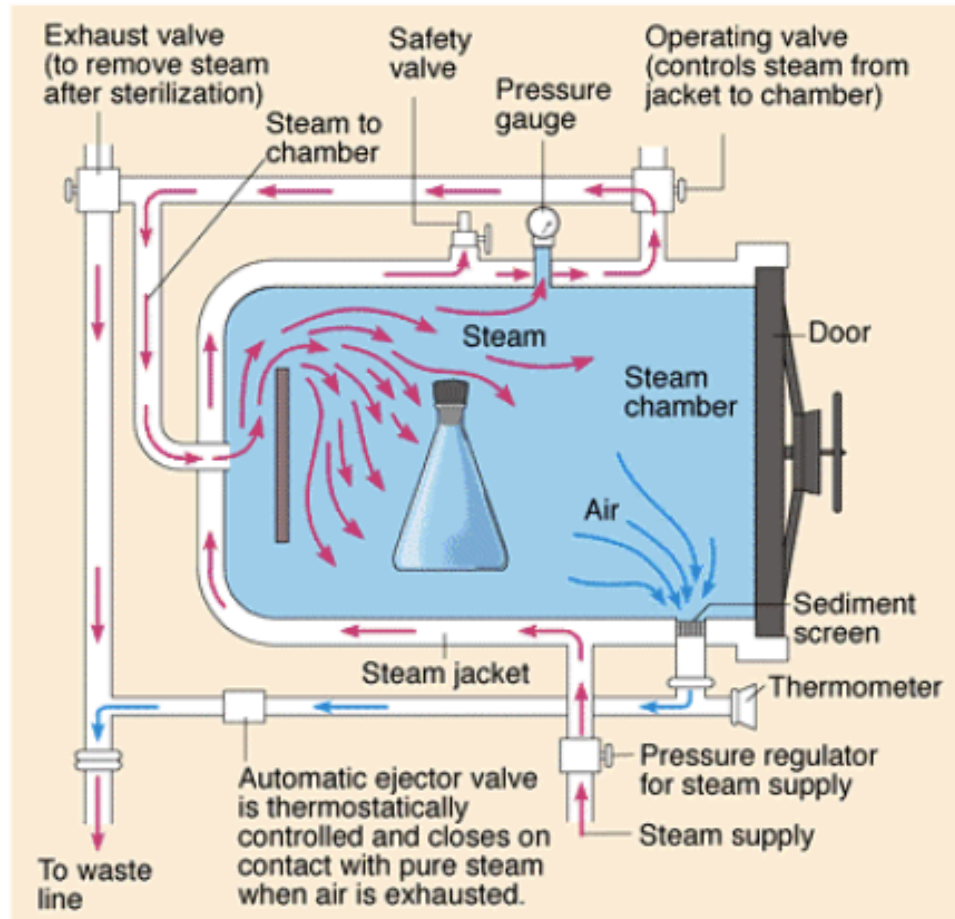
OGNI MICRORGANISMO POSSIEDE UNA PECULIARE SENSIBILITA' (RESISTENZA) NEI CONFRONTI DI UN DATO SISTEMA DI STERILIZZAZIONE:

UN "LIEVITO" O UN "COCCO" VENGONO UCCISI DOPO POCHI SECONDI DI ESPOSIZIONE AL CALORE UMIDO A 121°C. IL BACILLO DEL CARBONCHIO RESISTE PER ORE ALLE STESSA CONDIZIONI!



- **Vediamo
come
funzionano
nella realtà le
cose**

AUTOCLAVE PER UTENSILI



IL VAPORE E' PIU' CALDO E LEGGERO DELL'ARIA, CHE VIENE SPINTA VERSO IL BASSO E SCACCIATA ATTRAVERSO UNA APPOSITA VALVOLA DI SFOGO. QUANDO DALLA VALVOLA ESCE SOLO VAPORE PURO L'ARIA SI CONSIDERA COMPLETAMENTE ALLONTANATA.

STERILIZZAZIONE DI CONTENITORI DI LIQUIDI

- **QUANDO UN LIQUIDO IN UN CONTENITORE SIGILLATO VIENE RISCALDATO, LA PRESSIONE INTERNA AUMENTA; LA PRESSIONE DELLA CAMERA DI STERILIZZAZIONE DEVE CONTROBILANCIARE QUELLA ALL'INTERNO DEI CONTENITORI PER EVITARE ROTTURE.**
- **IL BILANCIAMENTO DEVE ESSERE FATTO CON ARIA (“*AIR BALLASTING*”).**
- **DATA LA PRESENZA D'ARIA IN QUESTE AUTOCLAVI CI DEVE ESSERE UN SISTEMA CHE RENDA LA MISCELA ARIA/VAPORE CONTINUAMENTE OMOGENEA.**
- **DATI I TEMPI DI RAFFREDDAMENTO MOLTO LUNGI, QUESTE AUTOCLAVI HANNO UN SISTEMA DI RAFFREDDAMENTO CHE SPRUZZA ACQUA “FREDDA” (80°C) SUI CONTENITORI ALLA FINE DEL CICLO DI STERILIZZAZIONE.**

o TEMPO DI DECADIMENTO DECIMALE "D":

E' IL TEMPO NECESSARIO PERCHE' UNA DETERMINATA POPOLAZIONE MICROBICA (N), SOTTOPOSTA AD UNA DETERMINATA TEMPERATURA (T), SUBISCA UNA RIDUZIONE NUMERICA DEL 90%, CIOE' DI UN LOGARITMO DECIMALE.

- D_{121}^0 : E' IL TEMPO DI DECADIMENTO DECIMALE A 121°C , PER UN DETERMINATO MICRORGANISMO.

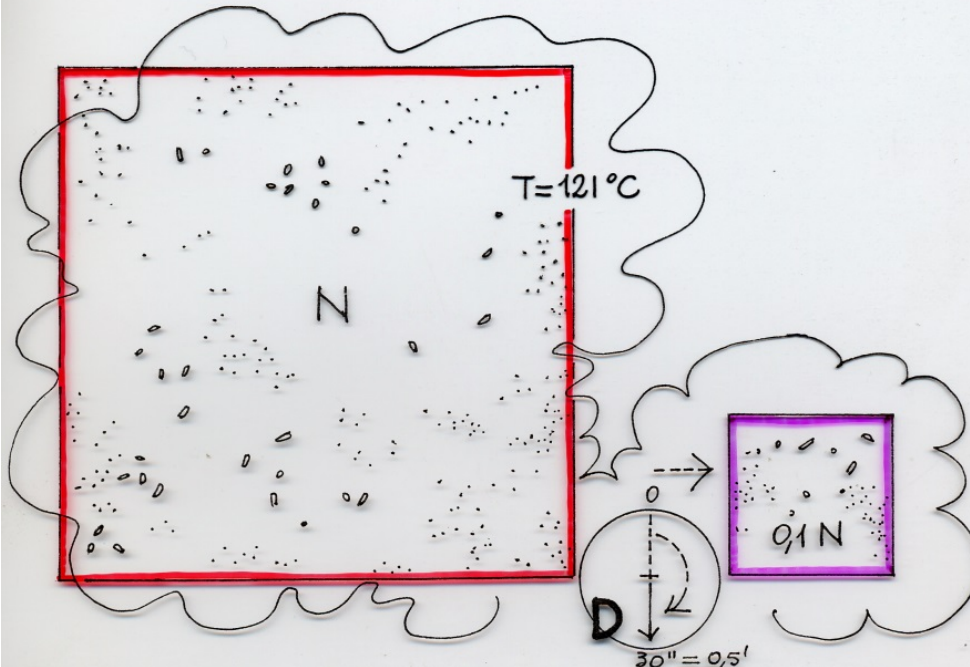
UNA POPOLAZIONE DI BACILLUS SUBTILIS (B.S.) COSTITUITA DA

10.000.000 DI INDIVIDUI (10^7 ; LOG = 7) VIENE RIDOTTA A

1.000.000 DI INDIVIDUI (10^6 ; LOG = 6) DOPO

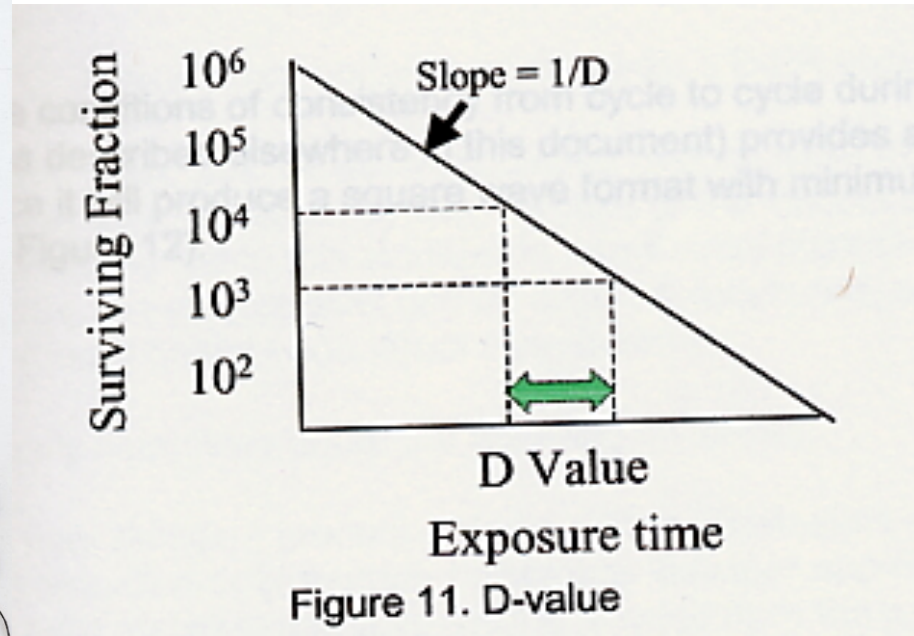
0,5 MINUTI DI ESPOSIZIONE A 121°C (CALORE UMIDO)

SI DICE ALLORA CHE IL " D_{121}^0 " DEL B. SUBTILIS E' = 0,5.



IL DECADIMENTO DECIMALE "D"

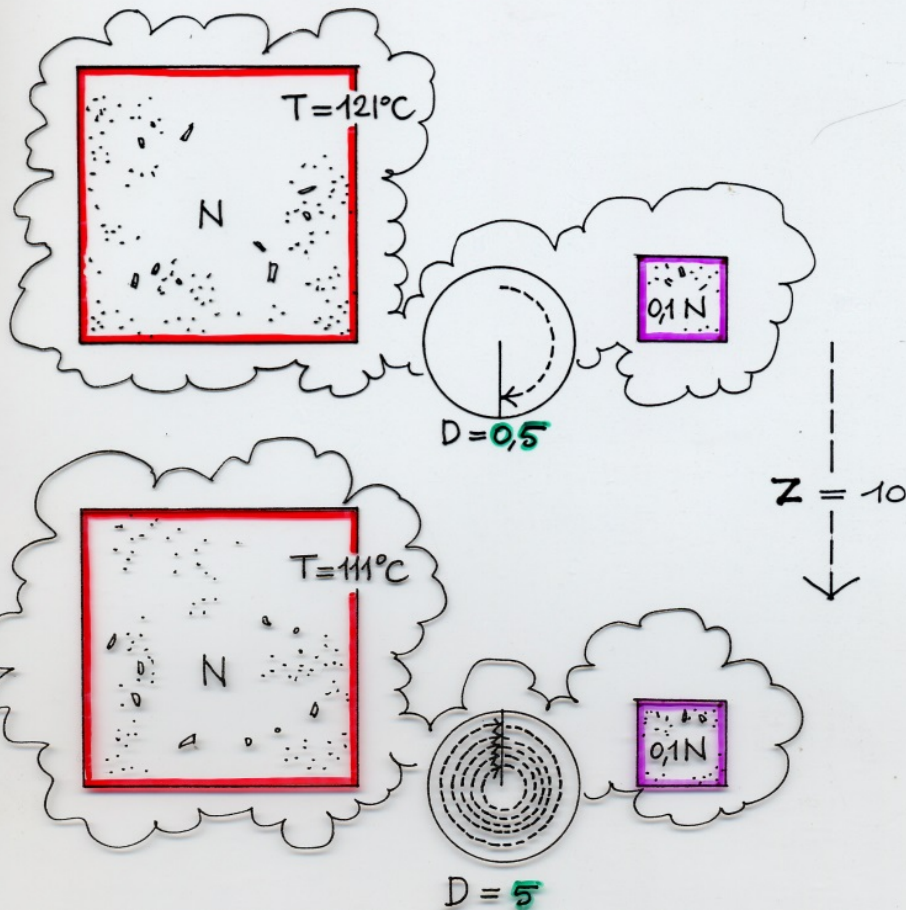
E' il tempo, in **minuti**, per ridurre una popolazione microbica del 90%, a determinate condizioni ($^{\circ}\text{C}$)



0 COEFFICIENTE DI TEMPERATURA "Z":
 E' LA RELAZIONE LOGARITMICA PER UNA DATA SPECIE MICROBICA
 TRA IL VALORE DI "D" E IL VALORE DELLA TEMPERATURA.

- "Z" E' CIOE' IL NUMERO DI GRADI (°C) CHE FA VARIARE DI 10 VOLTE IL VALORE DI "D", PER UNA DETERMINATA SPECIE MICROBICA. POICHE' VARIA NORMALMENTE FRA 6 E 13, SI ASSUME CONVENZIONALMENTE IL VALORE 10 PER LE STERILIZZAZIONI A CALORE UMIDO.

LA STESSA POPOLAZIONE DI "B.S." SOPRA CONSIDERATA, SE ESPOSTA A UNA TEMPERATURA DI 111°C, PER RIDURSI DELLA STESSA ENTITA' AVREBBE IMPIEGATO 5 MINUTI.



COEFFICIENTE DI TEMPERATURA 'Z'

E' il numero di gradi (°C) che fa variare di 10 volte il valore di "D"

$$Z = \frac{T_2 - T_1}{\log\left(\frac{D_2}{D_1}\right)}$$

dove T_2 e T_1 sono le temperature in °C e D_1 e D_2 sono i valori di D corrispondenti a quelle temperature

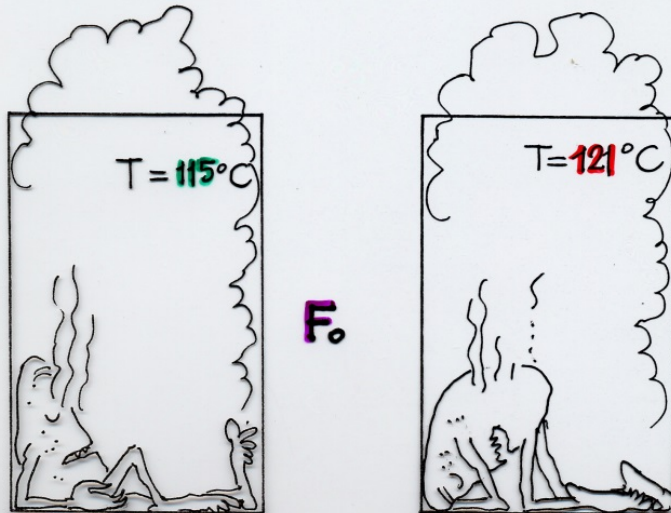
IL FATTORE DI LETALITA' "FO"

0 TEMPO EQUIVALENTE DI STERILIZZAZIONE A 121°C. "Fo":
E' IL TEMPO EQUIVALENTE DI STERILIZZAZIONE A 121°C
(COMUNEMENTE DETTO FATTORE DI LETALITA') DI UN PROCESSO DI
STERILIZZAZIONE ESEGUITO A TEMPERATURA DIVERSA. FO E'
RAPPRESENTATO DALLA ESPRESSIONE:

$$F_0 = \Delta t \times 10^{\left[\frac{T - 121}{Z} \right]}$$

PER ESEMPIO, SE STERILIZZIAMO PER 8 MINUTI ALLA T DI 115°C,
AVREMO LO STESSO EFFETTO OTTENIBILE STERILIZZANDO A 121°C
PER CIRCA 2 MINUTI. INFATTI

$$F_0 = 8 \times 10^{\left[\frac{115 - 121}{10} \right]} = 8 \times 10^{-0,6} \approx 2$$



Consente di calcolare
l'effetto, cioè la letalità, di
qualsiasi ciclo di
sterilizzazione e di
valutare la "Sterility
Assurance"

Fattore di inattivazione o grado di sterilità

Indica il grado di riduzione di una popolazione microbica.

E' dato dal rapporto tra la popolazione microbica iniziale e popolazione microbica finale a seguito ad un processo di sterilizzazione.

$$F.I. = N^{\circ} \text{ microbi iniziali} / N^{\circ} \text{ microbi finali}$$

$$F.I. = 10^{\frac{t}{D}}$$

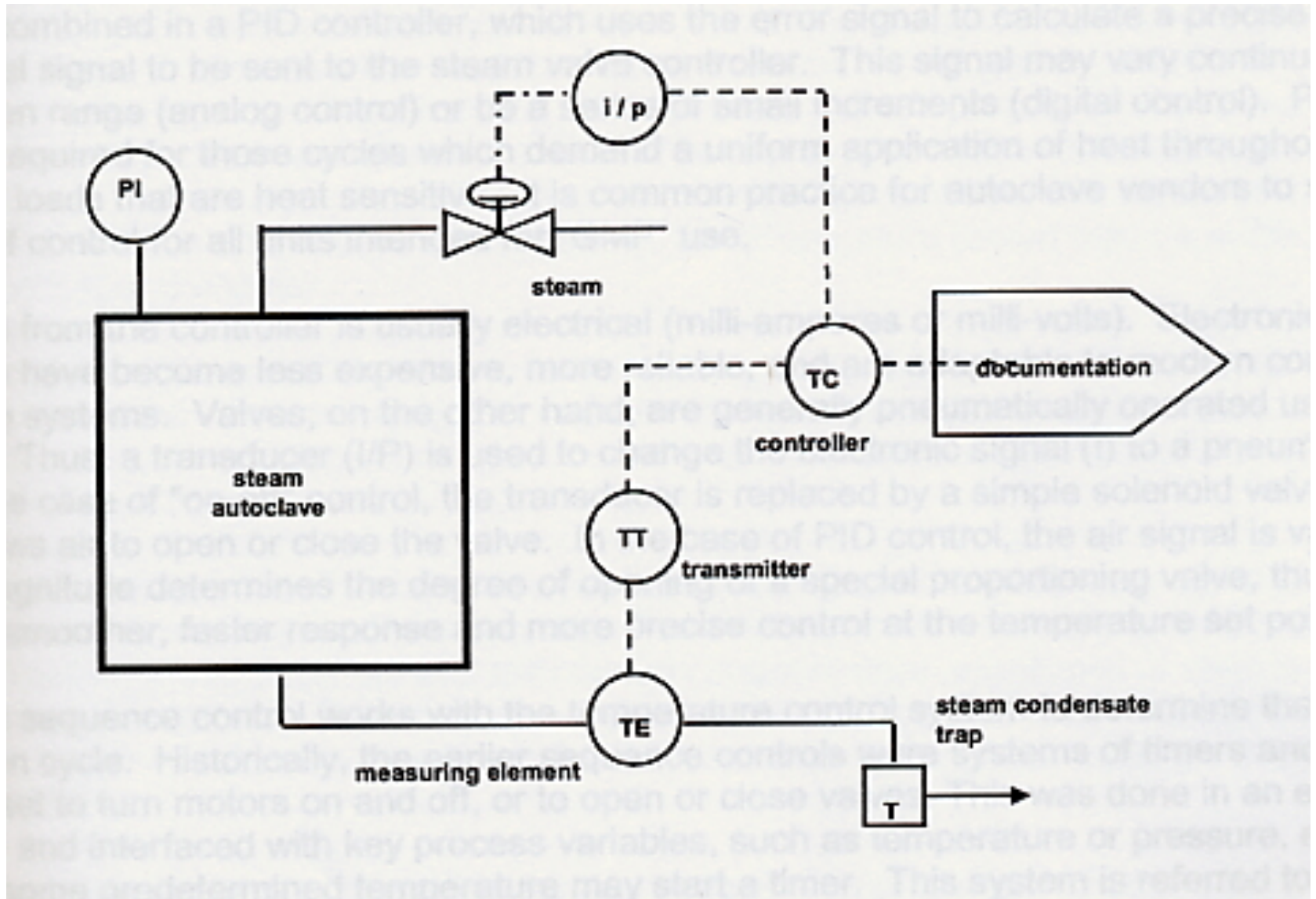
dove t è il tempo di trattamento in minuti.

Vapore sotto pressione



Si utilizzano apparecchi detti Autoclavi, con coperchio a tenuta, in modo che in essi possa aumentare la pressione.

AUTOCLAVE A “VAPOR SATURO”



Vapore sotto pressione

AGENTE STERILIZZANTE: VAPORE SATURO SOTTO PRESSIONE

PROCEDURA: CICLI DIFFERENTI IN BASE AL MATERIALE IL PIU' FREQUENTE E': 121°C X 15' (= PRESSIONE +1atm)

LIMITI: NON SI POSSONO STERILIZZARE MATERIALI CHE TEMONO L'UMIDITA' (POLVERI, CARTA)

APPLICAZIONI: INDISPENSABILE PER LA STERILIZZAZIONE DEI LIQUIDI

FASI:

- Rimozione aria dalla camera
- Saturazione camera con vapore
- Raggiungimento temperatura
- Sterilizzazione per tempo stabilito
- Rimozione vapore



AUTOCLAVE AD “ACQUA SURRISCALDATA”

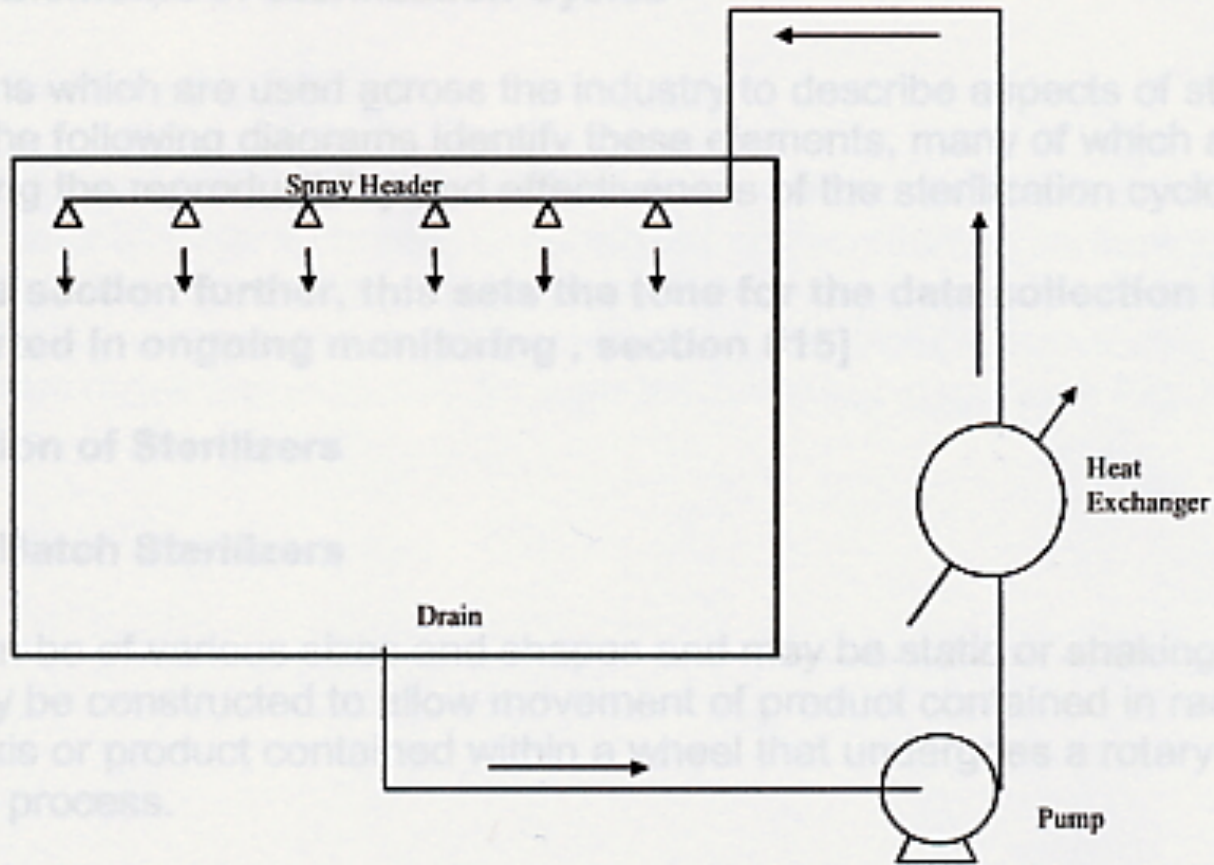
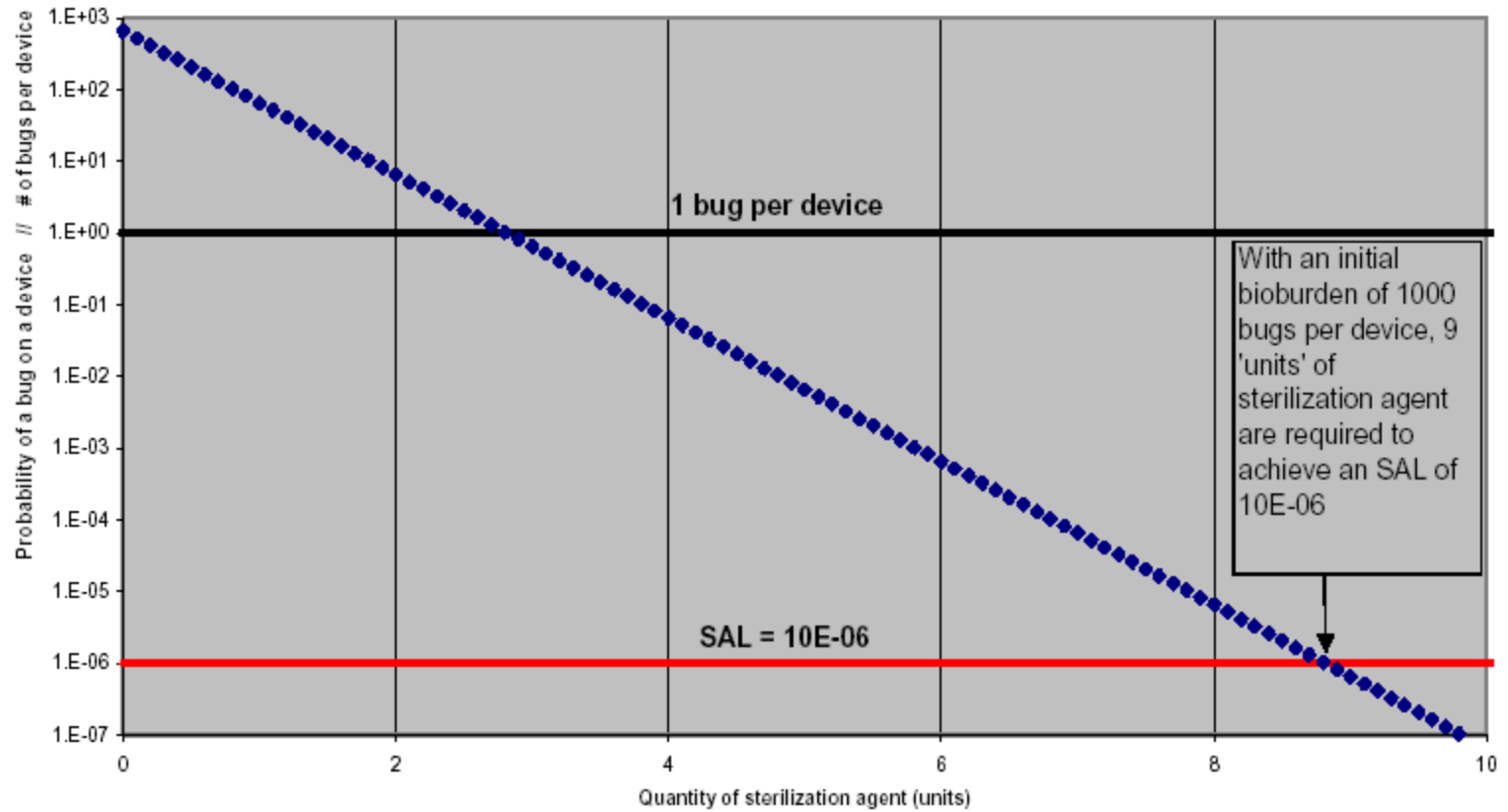


Figure 9 - Raining Water Sterilizer

Sterility Assurance Level (SAL)



Tindalizzazione

esistono situazioni per le quali è importante mantenere **basse le temperature** di esposizione, come nel caso dei materiali degradabili da eccessive temperature.

La tindalizzazione consiste nel riscaldare tramite vapore sostanze termolabili a temperature di **100°C** in modo discontinuo, ad intervalli regolari (24 ore) per un'ora, per più giorni consecutivi. Alla base del procedimento sta l'osservazione che **le forme microbiche vegetative vengono uccise a 65°-100°C**.

Lasciando riposare a 30°C le spore si aprono e le forme vegetative sviluppatesi vengono uccise dal riscaldamento successivo.

Questo metodo non dà garanzia di sterilità.

STERILIZZAZIONE PER FILTRAZIONE

GENERALITA'

LA **FILTRAZIONE** COSTITUISCE UN METODO ALTERNATIVO DI STERILIZZAZIONE PER LE SOLUZIONI TERMOLABILI.

E' ANCHE USATA PER ALLONTANARE MICROORGANISMI E ALTRO MATERIALE PARTICOLATO DAI **GAS**, AD ESEMPIO DALL'**ARIA** NELLE ZONE DI PRODUZIONE IN ASEPSI.

LA FILTRAZIONE DIFFERISCE SOSTANZIALMENTE DA TUTTI GLI ALTRI METODI DI STERILIZZAZIONE PERCHE' I MICROORGANISMI SONO **FISICAMENTE RIMOSI** DAL PRODOTTO E **NON INATTIVATI**.

INOLTRE, LA FILTRAZIONE STERILIZZANTE **NON E' L'ULTIMO PASSAGGIO** NELLA PRODUZIONE DI UN PREPARATO STERILE, CHE SUBIRA' ALTRE MANIPOLAZIONI IN ASEPSI.

TIPI DI FILTRI

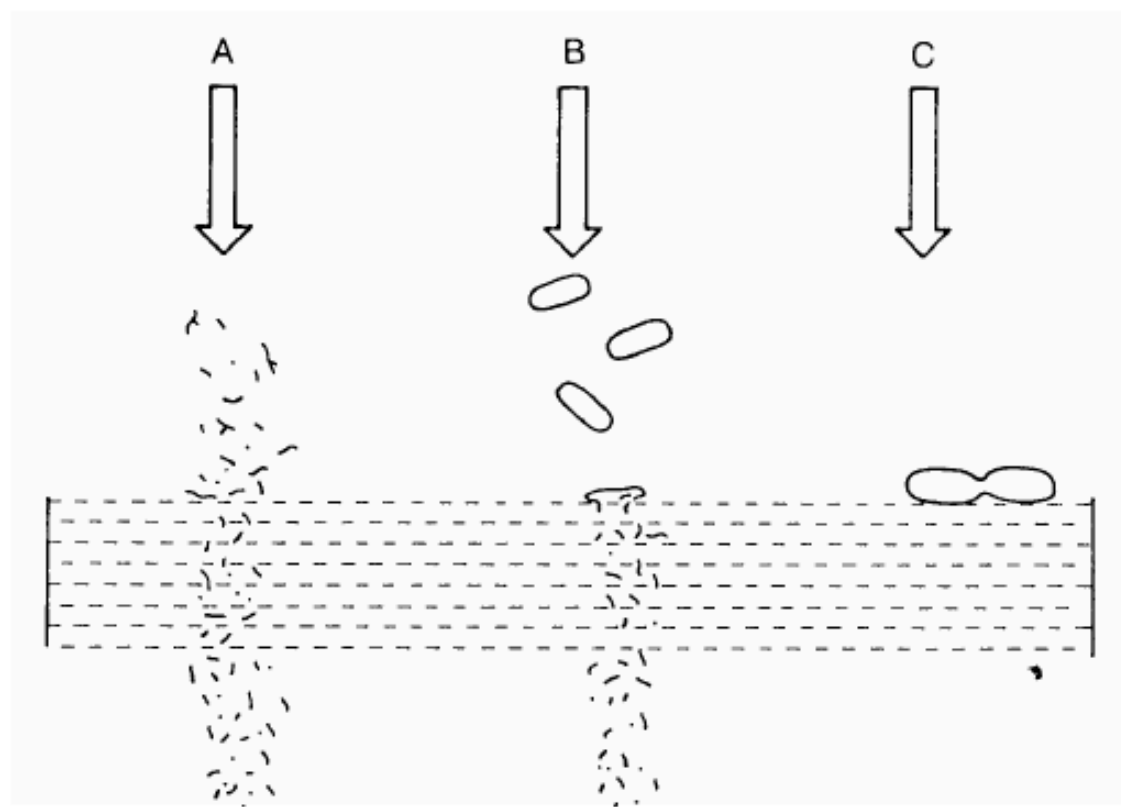
I FILTRI UTILIZZABILI PER LA STERILIZZAZIONE POSSONO ESSERE FONDAMENTALMENTE DI DUE TIPI:

- ❖ **FILTRI IN PROFONDITA'**
- ❖ **FILTRI A MEMBRANA**

I **FILTRI IN PROFONDITA'** SONO COSTITUITI DA UN **LETTO DI MATERIALE POROSO O GRANULARE** (POLVERI CERAMICHE O METALLICHE, FIBRE DI VETRO, POLIMERI COMPRESI, ETC.) NEI CUI INTERSTIZI PASSA IL FLUIDO. GLI SPAZI DOVE PASSA IL FLUIDO SONO IN GENERE PIU' GRANDI DELLE PARTICELLE CHE DEVONO ESSERE TRATTENUTE; PERCIO' IL MECCANISMO DI FILTRAZIONE NON E' SOLO MECCANICO.

I **FILTRI A MEMBRANA** SONO SOTTILI DISCHI POROSI FATTI DI ESTERI DI CELLULOSA O ALTRI POLIMERI, CHE POSSONO ESSERE FABBRICATI CON PORI DI DIMENSIONI ACCURATAMENTE CONTROLLATE.

MECCANISMO D'AZIONE DELLE MEMBRANE STERILIZZANTI



**A = PASSAGGIO DI
DETRITI BATTERICI, ES.
PIROGENI,
ATTRAVERSO UNA
MEMBRANA CON PORI
DA 0.22 μm .**

**B = BATTERIO CHE SI
LISA IN SUPERFICIE
FACENDO PASSARE
DETRITI**

**C = BATTERIO INTEGRO
BLOCCATO DALLA
MEMBRANA**

SCELTA DELLE MEMBRANE

- **LA SCELTA DEL FILTRO STERILIZZANTE DIPENDE DAL TIPO DI LIQUIDO CHE DEVE ESSERE SOTTOPOSTO A FILTRAZIONE. LE MEMBRANE DI NITRATO DI CELLULOSA SI USANO PER SOLUZIONI ACQUOSE, OLEOSE O DEBOLMENTE ALCOOLICHE, MENTRE QUELLE DI ACETATO DI CELLULOSA SONO PARTICOLARMENTE ADATTE PER SOLUZIONI FORTEMENTE ALCOOLICHE.**
- **LE POROSITA' PIU' COMUNEMENTE UTILIZZATE SONO 0.22 μm E 0.45 μm ; SOLO LA PRIMA GARANTISCE UNA RIMOZIONE SODDISFACENTE DEI BATTERI.**

APPLICAZIONI DELLA STERILIZZAZIONE PER FILTRAZIONE

- LA STERILIZZAZIONE PER FILTRAZIONE E' UTILIZZATA PER **SOLUZIONI TERMOLABILI** COME SIERI, SOLUZIONI DI VITAMINE, ANTIBIOTICI, LIQUIDI BIOLOGICI.
- UNA LIMITAZIONE DELLA STERILIZZAZIONE PER FILTRAZIONE E' **L'INCAPACITA' DEI FILTRI DI TRATTENERE I VIRUS**

MEZZI FISICI

RAGGI γ



PRINCIPIO: radiazioni ionizzanti prodotte da radioisotopi (^{60}Co ; ^{137}Cs). Provocano la **DENATURAZIONE** di proteine ed acidi nucleici

FATTORI DETERMINANTI: l'effetto sterilizzante è dose-dipendente: si raggiunge a dosi di 25 KGy

MEZZI FISICI

RAGGI U.V.



PRINCIPIO: radiazioni non ionizzanti prodotte da lampade a vapori di mercurio eccitati da una corrente elettrica.

Svolgono la massima azione battericida a 254 nm provocando **ALTERAZIONE** degli acidi nucleici

LIMITI: scarsa capacità di penetrazione. Azione lesiva sulla cute e sulle mucose (eritemi, congiuntiviti)

USO: sterilizzazione di aria, acqua e piani di appoggio in ambienti protetti

MEZZI CHIMICI

OSSIDO DI ETILENE (EtO)

PRINCIPIO: per molti anni la scelta predominante per la cosiddetta *sterilizzazione "a freddo"*; agisce per **ALCHILAZIONE** dei gruppi sulfidrilici, amminici, carbossilici, fenolici ed idrossilici delle proteine strutturali ed enzimatiche

MEZZI CHIMICI

OSSIDO DI ETILENE (EtO)

PRO: grande capacità di penetrazione che ne consente l'utilizzo a basse temperature

CONTRO: gas inodore, infiammabile, esplosivo e tossico. Utilizzo, rigorosamente disciplinato dal R.D. 147/27 e dalle Circ. M. S. 47/81 e 56/83, in Centrali di Sterilizzazione. Gli oggetti sterilizzati con EtO (fanno eccezione vetro e metallo) devono essere sottoposti a DEGASIFICAZIONE e non utilizzati per almeno 48 h

MEZZI CHIMICI

GLUTARALDEIDE

PRINCIPIO: fa parte dei composti registrati dall'EPA (*Environmental Protection Agency*) come sterilizzanti/disinfettanti. Viene utilizzata al 2% in soluzione acquosa sia acida che alcalina. Agisce mediante **ALCHILAZIONE** dei gruppi amminici, sulfidrilici, idrossilici, carbonilici delle proteine denaturandole

MEZZI CHIMICI

GLUTARALDEIDE

FATTORI DETERMINANTI: tempo di contatto di 30 min per una disinfezione di alto livello oppure superiore alle 3 h per esplicare un'azione sterilizzante

MATERIALI: trova applicazione per dispositivi termolabili (endoscopi, apparecchi per la respirazione controllata e per anestesia, dializzatori, tubi per spirometria)

CONTRO: dopo il trattamento gli strumenti devono essere accuratamente lavati con acqua sterile. **Impossibilità di confezionamento**

KSNI4U3Y