

Università degli Studi di Perugia
FACOLTÀ DI FARMACIA

- CORSO DI IGIENE E SANITA' PUBBLICA -

La sterilizzazione

Prof. Silvano Monarca

MISURE DI CONTROLLO

per la riduzione della carica microbica (1)

- **Decontaminazione:** riduzione della carica microbica, mediante detersione, che può essere rinforzata con agenti disinfettanti o sterilizzanti
- **Antisepsi:** insieme di interventi capaci di eliminare o distruggere i germi patogeni presenti nei tessuti viventi, cute e mucose
- **Asepsi:** insieme di pratiche finalizzate al mantenimento della sterilità (es.: evitare l'introduzione di microrganismi in un ambiente sterile)

MISURE DI CONTROLLO

per la riduzione della carica microbica (2)

- **Pulizia/detersione (sanificazione):** metodiche di rimozione meccanica dello sporco con o senza l'uso di detersivi
- **Disinfezione:** distruzione dei microrganismi patogeni e non, escluse le spore
- **Sterilizzazione:** distruzione di tutti i microrganismi patogeni e non, comprese le spore
- **Disinfestazione** distruzione di macroparassiti/ vettori

STERILIZZAZIONE

DISINFEZIONE

STERILIZZAZIONE FISICA

ARIA CALDA (STUFA A SECCO)

VAPORE SOTTO PRESSIONE (AUTOCLAVE)

VAPORE FLUENTE o TINDALIZZAZIONE

FILTRAZIONE

Radiazioni ionizzanti

RAGGI GAMMA, RAGGI ULTRAVIOLETTI

STERILIZZAZIONE CHIMICA

OSSIDO DI ETILENE

ACIDO PERACETICO

GLUTARALDEIDE

FORMALDEIDE

O-FTALALDEIDE

STERILIZZAZIONE CHIMICO/FISICA

GAS PLASMA

EBOLLIZIONE

Pastorizzazione

DISINFEZIONE CHIMICA

DISINFETTANTI: organici ed inorganici

DISINFEZIONE MECCANICA (detersione)

- **INDICAZIONI STERILIZZAZIONE**

- **PRESIDI MEDICI**
- **PRESIDI CHIRURGICI**
- **FARMACI INIETTABILI**
- **ALCUNI ALIMENTI**
- **VETRERIE, TERRENI DI COLTURA**

- **INDICAZIONI DISINFEZIONE**

- **MATERIALI PATOLOGICI (SANGUE, FECE, PUS, ...)**
- **OGGETTI INFETTI**
- **PRESIDI DI LABORATORIO**
- **ALIMENTI INFETTI (ANCHE SOLO POTENZIALMENTE)**
- **SUPERFICI INFETTE**

MECCANISMO DI INATTIVAZIONE DEI MICRORGANISMI

AGENTE

EFFETTO

<u>TEMPERATURA ELEVATA</u>	→ Distruzione di componenti essenziali, inclusi enzimi
CALORE UMIDO	→ Reazioni di denaturazione e idrolisi
CALORE SECCO	→ Trasformazioni ossidative
<u>RADIAZIONI IONIZZANTI</u>	Proteine: Denaturazione , aggregazione, alteraz. chimica su catene laterali → DNA: Separazione catene (distr. legami H) Mutageno / Letale
<u>RADIAZIONI UV</u>	→ Alterazioni DNA (dimeri basi puriniche)
<u>PRODOTTI CHIMICI</u>	→ Alchilazione o altri legami covalenti con gruppi (SH₂, OH, NH₂, COOH) di proteine o di basi di ac. nucleici.

Sterilizzazione

Si intende per sterilizzazione qualsiasi processo, fisico o chimico, che porta alla distruzione di tutte le forme di microrganismi viventi, comprese le spore

La norma UNI EN 556 Direttiva CEE 93/42 stabilisce il livello di sicurezza di sterilità (Sterility Assurance Level) che deve corrispondere alla probabilità inferiore ad 1 su 1 milione ($S.A.L. < 10^{-6}$) di trovare un microrganismo sopravvivente all'interno del lotto di sterilizzazione.

Può essere corretto definire la sterilità come la condizione in cui la sopravvivenza di un microrganismo è altamente improbabile. In quanto, statisticamente parlando non è possibile uccidere tutti i microrganismi.

Sterilizzazione

La sterilizzazione deve essere praticata su :

- **tutti i presidi da introdurre nell'organismo in modo cruento;**
- **tutti i presidi che entrano in cavità sterili del corpo;**
- **tutti i presidi che vengono a contatto con soluzioni di continuo di cute e mucose;**
- **determinati presidi da introdurre in cavità non sterili del corpo durante attività diagnostiche o terapeutiche in grado di aumentare il rischio di contaminazione o infezione;**
- **materiali di supporto all'effettuazione di procedure asettiche;**
- **farmaci o soluzioni iniettabili.**

La Direttiva 42/93/CEE

sui **dispositivi medici**, recepita in Italia con il **D.Lgs. n. 46/1997**, ha individuato i **requisiti minimi** che i dispositivi medici **sterili** devono possedere prima della loro immissione sul mercato da parte del fabbricante (“... i dispositivi forniti allo stato sterile devono essere fabbricati e sterilizzati con un **metodo convalidato ed appropriato...**”).

ANALOGAMENTE

Anche la Centrale di Sterilizzazione negli ospedali **DEVE** essere considerata un centro di produzione di dispositivi medici sterili e **DEVE fornire le stesse caratteristiche qualitative di sterilità** garantite dall’Industria.

Le norme armonizzate

Le norme europee sulla sterilizzazione sono nate a supporto della **Direttiva Europea 93/42** (recepita in Italia dal D.L. 46/97)

Queste norme si definiscono armonizzate

Sterilizzatrici

UNI EN 285

Processo di sterilizzazione

UNI EN 550 (EtO)
UNI EN 552 (Irradiazione)
UNI EN 551 (Vapore)
UNI EN 556 (Ind. Generali)

Prodotti

UNI EN 868

ARTICOLI CRITICI

(strumenti a contatto con organi,
tessuti normalmente sterili e cute lesa)

STERILIZZAZIONE

ARTICOLI SEMI CRITICI

(strumenti a contatto con mucose
integre)

**STERILIZZAZIONE
O DISINFEZIONE AD
ALTO LIVELLO**

ARTICOLI NON CRITICI

(strumenti a contatto con cute integra)

**DETERSIONE E/O
DISINFEZIONE A
BASSO LIVELLO**

Preparazione del materiale da sterilizzare

- **raccolta**
- **decontaminazione termica o chimica**
- **detersione-pulizia**
- **risciacquo**
- **asciugatura**
- **manutenzione strumentario**
- **selezione e controllo**
- **scelta metodo e procedura di confezionamento**

Metodi per effettuare la sterilizzazione (1)

Metodi fisici:

- Calore secco: incenerimento, flambaggio, aria calda (stufe a secco)
- Calore umido: vapore saturo sotto forma di pressione (autoclave)
- Radiazioni ionizzanti: raggi gamma (^{60}Co , ^{137}Cs), raggi beta (elettroni ad alta velocità), raggi x
- Filtrazione di liquidi o gas

Metodi chimici:

- Ossido di etilene, ossido di propilene (agenti alchilanti)
- Formaldeide (agente alchilante)
- Glutaraldeide (agente alchilante)
- Orto-Ftalaldeide (agente alchilante)
- Acqua ossigenata (agente ossidante)
- Acido peracetico (agente ossidante)
- Ozono (O_3) (agente ossidante)
- Biossido di cloro (ClO_2) (agente ossidante)

Metodi per effettuare la sterilizzazione (2)

Metodi chimico-fisici:

- **Ossido di etilene + T° (autoclave)**
- **Formaldeide + vapore + T°(70°-80°)**
- **Gas-plasma (O₂, H₂, NO, NO₂)**
- **Gas-plasma + H₂O₂ (<50°C)**
- **Chemiclave (formaldeide + alcol + T° 121°C) (per odontoiatri)**

Efficacia della sterilizzazione

L'efficacia del processo di sterilizzazione dipende da:

- ***fattori fisici***: i parametri di sterilizzazione devono essere raggiunti e mantenuti per un tempo sufficiente alla distruzione dei microrganismi in modo da ottenere una corretta sterilizzazione;
- ***qualità e quantità della carica batterica***: i processi di decontaminazione, lavaggio e asciugatura debbono essere eseguiti con una corretta metodologia al fine di diminuire la carica batterica iniziale presente sulla superficie da sterilizzare e per non inficiare il processo di sterilizzazione;
- **You can clean without sterilization, but you NEVER can sterilize without cleaning**
- ***caratteristiche strutturali dell'oggetto da sterilizzare***: tipo di materiale (metallo, gomma, ecc) e grado di porosità;
- ***conservazione dei dispositivi medici sterilizzati***: il materiale sterilizzato non si conserva tale per un tempo illimitato (da 24 h a 60 gg). Ogni pacco deve riportare l'indicazione del contenuto, la data di sterilizzazione e la data di scadenza, il numero ed il ciclo di sterilizzazione, nonché l'indicatore termosensibile che attesti l'efficacia del trattamento.

Sterilizzazione mediante calore

Il calore, nelle sue forme di utilizzo, rappresenta il più antico metodo di sterilizzazione. Questa metodica va preferita alle altre, qualora non sia controindicato il suo uso, per la facilità di esecuzione, l'inesistenza di pericoli per l'operatore e la sua economicità.

Si impiega come:

- **CALORE SECCO** (esposizione diretta alla fiamma, aria calda)
- **CALORE UMIDO** (vapore fluente, sotto pressione).

Le forme che ancora oggi sono efficaci riguardano l'utilizzo di aria calda e del vapore sotto pressione; l'impiego di acqua in ebollizione e di vapore fluente sono da proscrivere in quanto le temperature raggiunte in entrambi i procedimenti (<110°C) non sono tali da assicurare una sterilizzazione efficace.

STERILIZZAZIONE A SECCO

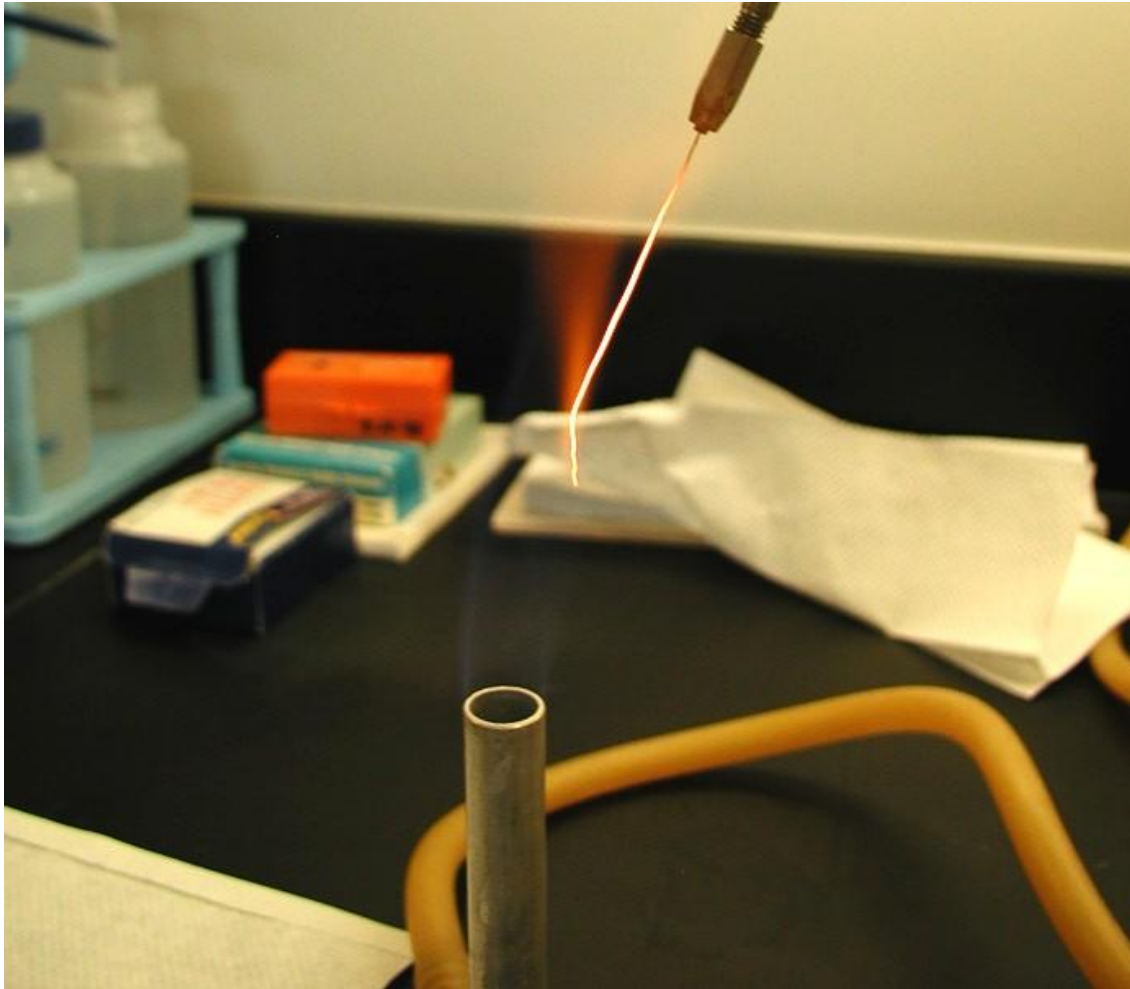
INCENERIMENTO

Utilizzato per distruggere materiale di vario tipo soprattutto di provenienza ospedaliera.

Non permette il riciclaggio del materiale o del substrato, è fonte di inquinamento.

La temperatura di esercizio oscilla fra i 900 – 1300°C

L'incenerimento distrugge i microrganismi



Flaming the microbiologist's inoculating loop to sterilize it before transfer of cultures

Meccanismo di distruzione termica

La morte dei microrganismi è il risultato **della inattivazione di proteine cellulari o enzimi essenziali**: ciò è dimostrato dall'alto coefficiente di temperatura del processo di morte e dalla stretta relazione fra la distruzione cellulare e l'inattivazione proteica in diverse condizioni. I meccanismi dei due processi (calore secco, calore umido) non sono gli stessi, la maggiore resistenza opposta al calore secco viene generalmente attribuita alla maggiore stabilità termica delle proteine allo stato secco.



**Bollire l'acqua per 5 minuti la rende sicura, perchè uccide i patogeni
ma non uccide tutti i microrganismi
E' un trattamento di DISINFEZIONE!**



Pastorizzazione del latte: 63°
per 30 minuti

Pastorizzazione di bevande:
72° per 15 secondi



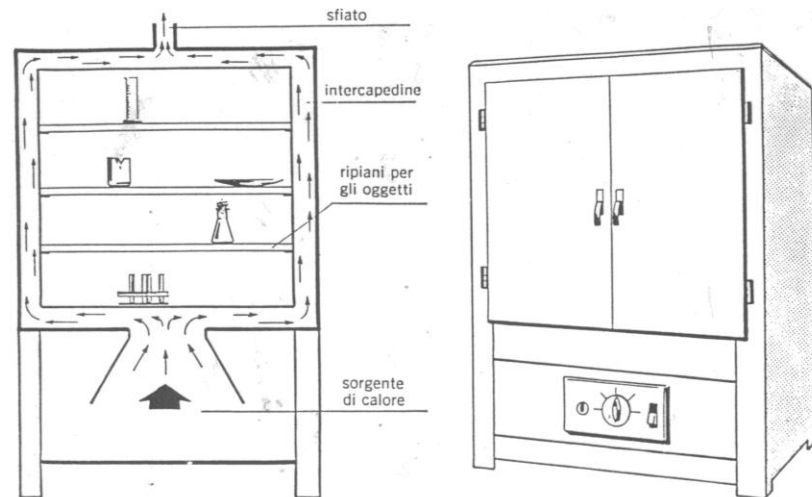
Sterilizzazione con calore secco

E' un processo fisico condotto in assenza di umidità, che consiste nel portare l'oggetto da sterilizzare alla temperatura appropriata per il tempo capace di uccidere anche le spore.

Le apparecchiature che vengono utilizzate per sterilizzare sono variamente chiamate : "stufe a secco", "forni di Pasteur ", ecc; si tratta di armadi a forma cilindrica o cubica a doppia parete in cui, la sorgente di calore, incorporata all'interno della stufa, è costituita da resistenze elettriche che assicurano il riscaldamento dell'aria.

Cicli di sterilizzazione

temperatura	tempo
180°C	30 min
170°C	60 min
160°C	120 min
150°C	150 min
140°C	180 min
120°C	6 ore



Stufa di Pasteur.

**La sterilizzazione nelle stufe a secco richiede
160° per 2 ore o 170° per 1 ora**



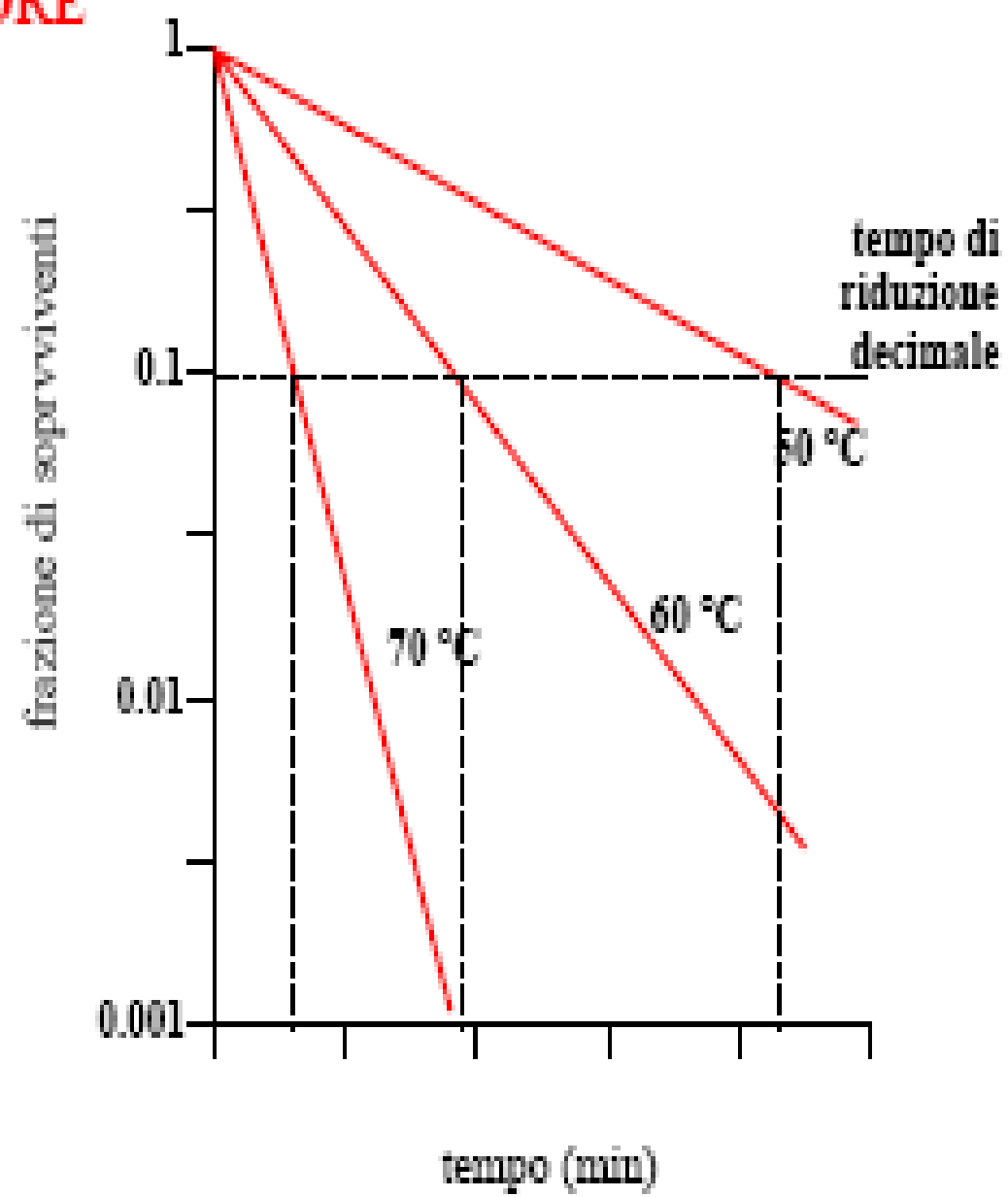
Meccanismo di inattivazione microbica

Processi ossidativi sono alla base del meccanismo di inattivazione, la cui efficacia dipende dal contenuto di acqua dei microrganismi.

Temperatura di coagulazione albumina di uovo:

- Alb + 50% acqua : 56°C
- Alb + 25% acqua : 74-80°C
- Alb + 6% acqua : 145°C
- Alb + 0% acqua : 160-170°C

Metodi fisici: CALORE



Tecnica di sterilizzazione con calore secco

Le modalità operative, alcune delle quali comuni a qualsiasi tipo di sterilizzazione sono estremamente semplici e si riassumono come segue:

- pulizia preliminare di tutti gli strumenti: eliminare particelle oleose o di grasso e ogni altra sostanza organica;**
- introduzione del materiale asciutto a temperatura ambiente: non riempire in eccesso la camera e non ammassare il materiale contro le pareti per favorire la migliore circolazione dell'aria;**
- eliminazione dell'umidità presente nella camera, per impedire una sua azione ossidante;**
- rigoroso rispetto dei parametri tempo e temperatura: conteggiare il tempo di sterilizzazione solo dal momento in cui la temperatura ha raggiunto il valore prestabilito;**
- raffreddamento del materiale sterilizzato: attendere che la temperatura sia scesa a circa 58°C prima di aprire la stufa.**

Materiale sterilizzabile con il calore secco

Si può sterilizzare con il calore secco il seguente materiale:

- **materiale termoresistente**
- **vetreria di laboratorio**
- **strumenti chirurgici metallici**
- **porcellane**
- **siringhe in vetro**
- **composti farmaceutici sotto forma di polveri**
- **preparazioni non acquose di sostanze termostabili (olii)**

Non può essere sterilizzato con il calore secco il seguente materiale:

- **materiale termosensibile**
- **materiale tessile (per il danno apportabile alle fibre)**
- **soluzioni acquose**
- **farmaci organici**
- **oggetti smaltati**

Monitoraggio della sterilizzazione con calore secco

Scopo dei controlli è quello di accertare l'efficacia delle procedure di sterilizzazione. I metodi utilizzati sono: controlli fisici, controlli chimici, controlli biologici.

CONTROLLI FISICI

Si effettuano tramite strumentazione fissa installata sulle stufe a secco, in genere si tratta di termometri.

CONTROLLI CHIMICI

Consistono in indicatori di processo a nastro od a etichette autoadesive sensibili al tempo o alla temperatura; il cambiamento di colore durante la sterilizzazione indica che le condizioni sono rispettate.

CONTROLLI BIOLOGICI

Utilizzano spore di microrganismi altamente resistenti (es. *Bacillus subtilis* per sterilizzazioni a secco da 121°C a 170°C secondo la Farmacopea Ufficiale degli Stati Uniti); la mancata sopravvivenza alla sterilizzazione indica che il processo si è compiuto.

Sterilizzazione con calore umido

La normativa U.N.I. definisce come sterilizzazione a vapore il “procedimento di sterilizzazione con vapore d’acqua saturo a temperatura non minore di 110°C”.

Il vapore acqueo è da considerarsi migliore dell’aria calda perché **possiede una conduttività termica maggiore, agisce anche condensandosi (cedendo calore) sugli oggetti da sterilizzare ed inoltre ha un potere di penetrazione negli oggetti porosi molto spiccato.**

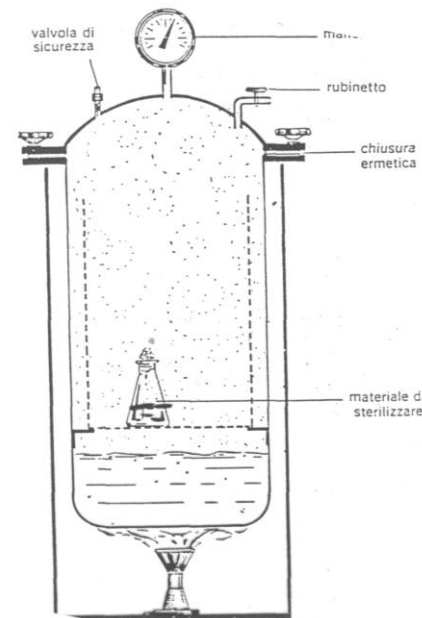
La sterilizzazione con vapore viene effettuata in particolari apparecchi chiamati **autoclavi**; il processo sfrutta il principio secondo il quale riscaldando l’acqua in recipiente chiuso, in modo che sia impedita la fuoriuscita di vapore, la pressione nel recipiente aumenta in funzione della temperatura, e, con l’aumento della pressione, il punto di ebollizione si eleva.

Sterilizzazione con calore umido

Le **autoclavi** sono recipienti a forma cilindrica o cubica resistenti alla pressione, nei quali viene prodotto il vapore scegliendo una pressione tale da permettere di raggiungere la temperatura desiderata.

Cicli di sterilizzazione

temperatura	pressione
115°C	0,7 atm
121°C	1 atm
133°C	2 atm
144°C	3 atm



AUTOCLAVE

All'interno dell'apparecchio va eliminata tutta l'aria presente che ridurrebbe l'effetto sterilizzante del vapore diminuendo la temperatura del vapore stesso e formando isole di aria nel materiale da sterilizzare

Perché l'autoclave è più efficace contro i microrganismi

I microrganismi sono più sensibili al calore quando si trovano in ambiente umido

Ciò è dovuto alla:

- minore stabilità delle proteine
- maggiore conducibilità termica e capacità di penetrazione dell'acqua e del vapore rispetto all'aria
- cessione diretta del calore alle superfici degli oggetti da parte del vapore durante la condensazione

Il problema prioni

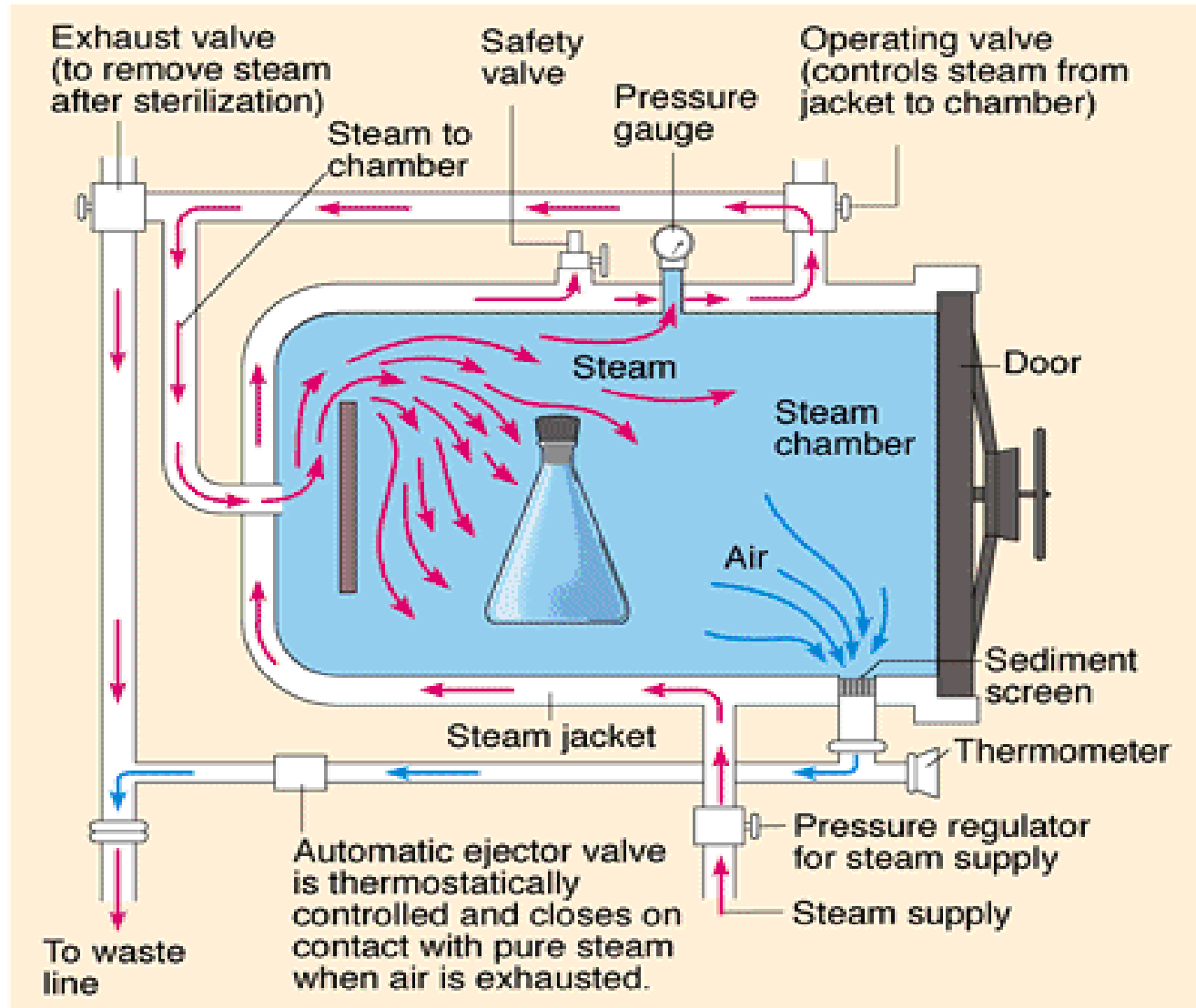
Sono estremamente resistenti alle normali procedure di disinfezione e sterilizzazione



Procedura:

- **Pulizia strumenti contaminati** → **Sterilizzazione:**
 - immersione in NaOH 1N e trattamento in autoclave a 134°C 1h
 - 2 cicli di 1h a 134°C (se non è possibile lasciarli in immersione in NaOH)
- **Superfici ambientali non critiche devono essere ricoperte con teli in plastica monouso e decontaminate con diluizioni 1:10 di ipoclorito di sodio (NaClO)**

Autoclave



Le autoclavi da laboratorio

coperchio

termostato

termometro

manometro



Autoclave orizzontale



Autoclave per la disinfezione dei letti





Controllo del funzionamento dell'autoclave



Tecnica di sterilizzazione con calore umido

Una corretta tecnica di sterilizzazione è essenziale per la distruzione di tutti i microrganismi; è importante ricordare che il vapore è più leggero dell'aria e che l'aria deve essere eliminata dall'autoclave. Di seguito si riportano le procedure raccomandate:

- **Caricamento dell'autoclave:** il materiale da sterilizzare deve essere messo nell'autoclave in posizione verticale e non deve toccare le pareti dello strumento, non bisogna caricare eccessivamente l'autoclave;
- **Ciclo di sterilizzazione:** bisogna sempre seguire in maniera scrupolosa, per ogni ciclo di sterilizzazione, le indicazioni prescritte dalla ditta costruttrice dell'autoclave;
- **Scarico dell'autoclave:** una volta terminato il ciclo attendere fino a che la pressione in autoclave sia scesa a 0 quindi aprire leggermente la valvola di sfiato e poi il coperchio.

Materiale sterilizzabile con il calore umido

Si può sterilizzare con il calore umido il seguente materiale:

- **materiale tessile (materassi, coperte, biancheria)**
- **vetreria**
- **soluzioni acquose**
- **attrezzature metalliche, in acciaio inox, non taglienti**
- **materiali di medicazioni**
- **guanti e drenaggi di gomma**

Non può essere sterilizzato con il calore umido il seguente materiale:

- **materiale termosensibile**
- **attrezzature per endoscopie**
- **sostanze non idrosolubili (sostanze oleose e certe polveri)**
- **tessuti imbrattati da materiale organico**

La sterilizzazione in ambito Ospedaliero

Vantaggi e svantaggi della sterilizzazione a vapore

Vantaggi	Svantaggi
Rapidità del processo	Degradazione del materiale plastico e termolabile
Efficacia del processo	Alterazione col tempo del materiale laparoscopico (ottiche)
Efficacia dei controlli	Tempo di reimpiego del materiale sterilizzato medio/lungo (almeno 2 ore)
Non tossico	Impossibilità a sterilizzare materiali non idrosolubili
Economico	

Sterilizzazione degli alimenti

La sterilizzazione degli alimenti:

- **sterilizzazione classica o appertizzazione:** 100-120 gradi per un tempo maggiore di 20 minuti, effettuata su alimenti sciolati;
- **UHT (Ultra High Temperature) indiretto:** 140-150 gradi per pochi secondi, effettuata sull'alimento sfuso immerso in acqua o in autoclave;
- **UHT diretto o uperizzazione:** 140-150 gradi per pochi secondi, effettuata con iniezione di vapore surriscaldato nel prodotto sfuso.

Sterilizzazione frazionata

Tindalizzazione:

Utilizza $T \leq 100^{\circ}\text{C}$

Si applica ai liquidi che risentono della sterilizzazione ad alte temperature

I materiali da sterilizzare vengono portati alla temperatura di 80°C - 100°C per 30-60min per 3 giorni consecutivi.

Durante l'intervallo, incubazione a 30 - 35°C per consentire la germinazione delle spore, uccise poi dal successivo trattamento termico.



Vantaggi e svantaggi della sterilizzazione a vapore

VANTAGGI:

- rapidità di penetrazione del vapore nei materiali
- distruzione dei microrganismi sia allo stato vegetativo che di spora in breve tempo
- facile controllo di efficacia del processo
- atossicità
- economicità

SVANTAGGI:

- Degradazione del materiale plastico
- corrosione del materiale metallico
- impossibilità di sterilizzazione dei grassi e delle polveri anidride

Monitoraggio della sterilizzazione con calore umido

Scopo dei controlli è quello di accertare l'efficacia delle procedure di sterilizzazione. I metodi utilizzati sono: controlli fisici, controlli chimici, controlli biologici.

CONTROLLI FISICI

Si effettuano tramite strumentazione fissa installata sull'autoclave (registratori, avvisatori elettrici, termometri, manometri)

CONTROLLI CHIMICI

Consistono in **indicatori di processo** a nastro od a etichette autoadesive sensibili al tempo o alla temperatura e **indicatori di sterilizzazione**, sensibili ai tre parametri (tempo, temperatura e vapore); il cambiamento di colore durante la sterilizzazione indica che le condizioni sono rispettate. Si devono applicare su tutti i pacchi. La prova di Bowie-Dick serve per autoclavi con pompa a vuoto

CONTROLLI BIOLOGICI

Utilizzano spore di microrganismi altamente resistenti (es. *Bacillus stearothermophilus*: la mancata sopravvivenza alla sterilizzazione indica che il processo si è compiuto. Si devono effettuare una volta alla settimana.

Indicatori chimici

Chemical Indicators

- Change color after exposure to sterilizing conditions



- Failure to change color indicates improper exposure to the sterilization environment (e.g., proper pressure or temp.) & the instrument load should be re-sterilized



Monitoraggio della sterilizzazione con calore umido

La tabella sintetizza i test da adottare per il controllo della sterilizzazione.

TEST	CARATTERISTICHE	FREQUENZA D'USO
Prova di BOWIE-DICK	Identifica un eventuale cattivo funzionamento del prevuoto	Ogni mattina prima del primo ciclo completo, per autoclavi con pompa a vuoto
Indicatori di Sterilizzazione	Indicano che un oggetto è stato sottoposto a sterilizzazione, perché sensibili ai 3 parametri necessari: tempo-temperatura e vapore saturo	Ogni mattina prima del primo ciclo completo, per autoclavi con pompa a vuoto
Indicatori di Processo	Indicano che un oggetto è stato sottoposto a sterilizzazione, ma non danno alcuna garanzia di effettiva sterilizzazione	Su tutti i pacchi e cestelli
Prova Biologiche	Utilizzano spore di microrganismi altamente resistenti. Rappresentano i test più efficaci	1 volta alla settimana

TEST BOWIE & DICK

- Per sterilizzazione in autoclave con pre-vuoto e vapore di acqua saturo. Controlla le tre condizioni di sterilizzazione: tempo, temperatura e vapore (134°C - 2 bars - 3 minuti e 30"). Controlla l'assenza di sacche d'aria residua.

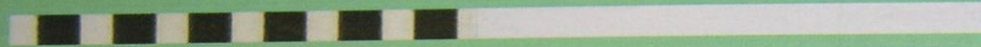
Test di Bowie-Dick



Bowie-Dick simulation test

Test di simulazione Bowie-Dick

TEST RIUSCITO



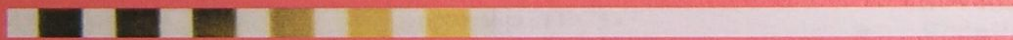
tutti i segmenti di colore sono neri ⇒ sufficiente rimozione dell'aria e penetrazione del vapore
Parametri corretti di tempo, temperatura e pressione

Un risultato positivo del test di simulazione Bowie-Dick prova una penetrazione del vapore rapida ed omogenea, a condizione che tutti i successivi cicli di sterilizzazione abbiano le stesse caratteristiche di rimozione dell'aria e di penetrazione del vapore e che tutti gli altri parametri per la riuscita della sterilizzazione (tempo, temperatura e pressione) siano raggiunti.

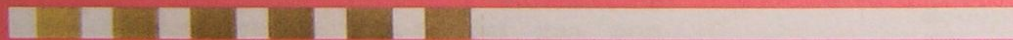
TEST FALLITO

Se il primo test di simulazione Bowie-Dick dà risultato negativo, ripeterlo. Se il test continua a dare risultato negativo, l'autoclave deve essere controllata e, se necessario, riparata.

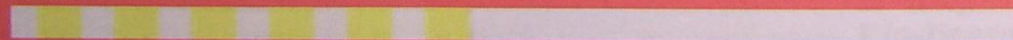
Il risultato negativo può essere dovuto a vari fattori (vedi nota) e non garantisce una sufficiente penetrazione del vapore su tutte le superfici interne del carico.



i segmenti di colore sono neri da un lato e marroni-giallastri dall'altro ⇒ insufficiente penetrazione del vapore e rimozione dell'aria



tutti i segmenti di colore sono marroni ⇒ presenza di temperatura, mancanza di penetrazione di vapore e rimozione dell'aria

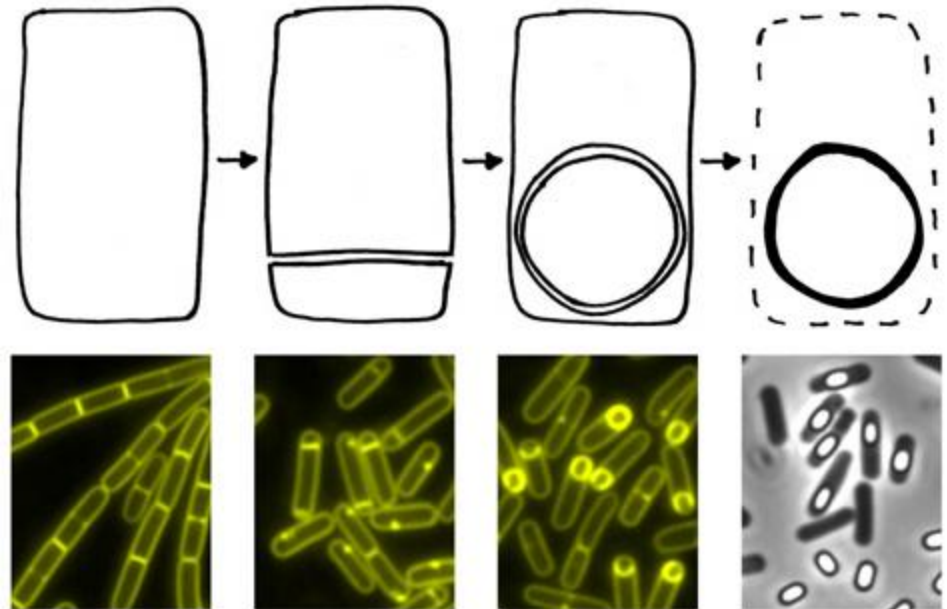
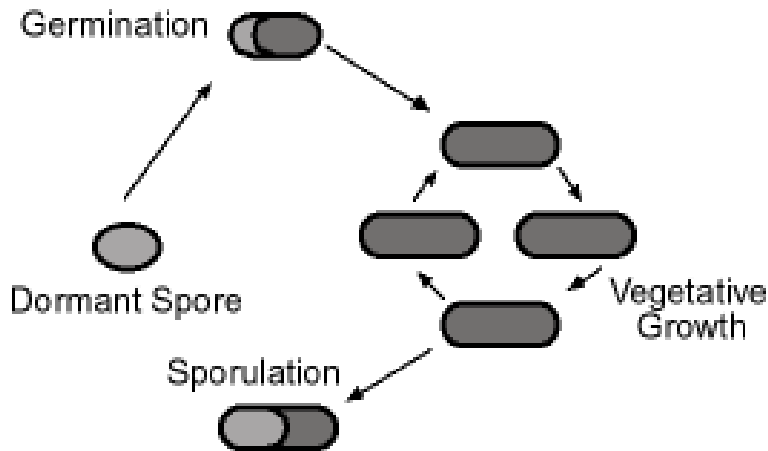


tutti i segmenti sono gialli ⇒ mancanza di adeguata temperatura, penetrazione del vapore e rimozione dell'aria

Nota.

Il fallimento del test di simulazione Bowie-Dick non è la prova conclusiva che il difetto è necessariamente associato all'autoclave (insufficiente rimozione dell'aria o perdite), ma può anche essere dovuto a cause esterne come il mancato spurgo del vapore all'inizio del processo, la presenza di gas non condensabili nel vapore fornito o cambiamento di temperatura nell'acqua di raffreddamento. Quindi successivi tests possono dare risultati differenti.

Le spore sono il principale problema per raggiungere la sterilità, a causa della loro grande resistenza!!!!



http://www.samedanltd.com/members/archives/PMPS/Spring2003/graphics/f1_p12.gif

<http://micro.med.harvard.edu/faculty/rudner.html>

Indicatori biologici



Indicatori biologici

- **Bacillus stearothermophilus** - Bastoncino Gram-variabile, non patogeno. Deriva il suo nome da “stearo=grasso” e “thermophilus =amante del caldo”. Si moltiplica a temperature comprese tra 50-70°C. Si usa per il controllo della sterilizzazione a **vapore** (121°C e 134°C) e della **sterilizzazione chimica** (Formalina, Vapori di acqua ossigenata, immersione in acido paracetico).
Bacillus subtilis - Bastoncino Gram-positivo, non patogeno. Si moltiplica bene a temperature comprese tra 30-35°C, ma si sviluppa anche a 2°C-40°C. Si usa per il controllo della sterilizzazione con **ossido di etilene** (600 mg/l, Umidità Relativa 60%, 54°C), con **calore secco** (140-180°C), con plasma (con H₂O₂), con fumigazioni di formalina.
- **Bacillus pumilus** - Bastoncino Gram-positivo, non patogeno. Si moltiplica a temperature

CONTROLLI DI STERILIZZAZIONE

Agente	Controlli di processo		Controlli di esito
	Fisici*	Chimici **	Batterologici***
Calore secco	Registrazione di: Temperatura Tempo	Sostanze sensibili al calore (inchiostro o cere)	Spore di <i>Bacillus stearothermophilus</i> e <i>B. subtilis</i>
Calore umido	Registrazione di: Temperatura Tempo Pressione Umidità	Sostanze sensibili al calore, pressione e umidità	Spore di <i>Bacillus stearothermophilus</i> e <i>B. subtilis</i>
Ossido di etilene	Registrazione di: Temperatura Tempo Umidità relativa Concentrazione del gas	Sostanze sensibili alla concentrazione del gas	Spore di <i>Bacillus pumilus</i> o <i>Bacillus subtilis</i>
Raggi gamma	Contatore	Coloranti radiosensibili	<i>Streptococcus faecalis</i> . Tests statistici
Gas Plasma (Sterrad®)	Controllo elettronico, il ciclo si interrompe se uno dei parametri che non è rispettato		

*) Per ogni programma **) Giornalmente ***) Mensilmente e dopo ogni revisione o riparazione

Alcuni tempi di uccisione di spore batteriche mediante calore secco

ORGANISMO	TEMPO DI DISTRUZIONE, MIN						
	A 120°C	A 130°C	<u>A 140°C</u>	<u>A 150°C</u>	<u>A 160°C</u>	A 170°C	A 180°C
<i>Bacillus anthracis</i>			Fino a 180	60 ÷ 120	9 ÷ 90		3
<i>Clostridium botulinum</i>	120	60	15 ÷ 60	25	20 ÷ 25	10 ÷ 15	5 ÷ 10
<i>Clostridium welchii</i>	50	15 ÷ 35	5				
<i>Cl. tetani</i>		20 ÷ 40	5 ÷ 15	30	12	5	1
Spore del suolo				180	30 ÷ 90	15 ÷ 60	15

Fonte: G. Sykes, *Disinfection and Sterilization*, 2ª ed., Filadelfia, Lippincott, 1965.

Alcuni tempi di uccisione di spore batteriche mediante calore umido

ORGANISMO	TEMPO DI DISTRUZIONE, MIN							
	A 100°C	A 105°C	A 110°C	A 115°C	<u>A 120°C</u>	A 125°C	A 130°C	A 134°C
<i>Bacillus anthracis</i>	2÷15	5÷10						
<i>B. subtilis</i>	Molte ore							
Un batterio anaerobio putrefattivo	780	170	41	15	5,6			
<i>Clostridium tetani</i>	5÷90	5÷25						
<i>Cl. welchii</i>	5÷45	5÷27	10÷15	4	1			
<i>Cl. botulinum</i>	300÷530	40÷120	32÷90	10÷40	4÷20			
Batteri del suolo	Molte ore	420	120	15	6÷30	4		1,5÷10
Batteri termofili		400	100÷300	40÷110	11÷35	3,9÷8,0	3,5	1
<i>Cl. sporogenes</i>	150	45	12					

Fonte: G. Sykes, *Disinfection and Sterilization*, 2ª ed., Filadelfia, Lippincott, 1965.

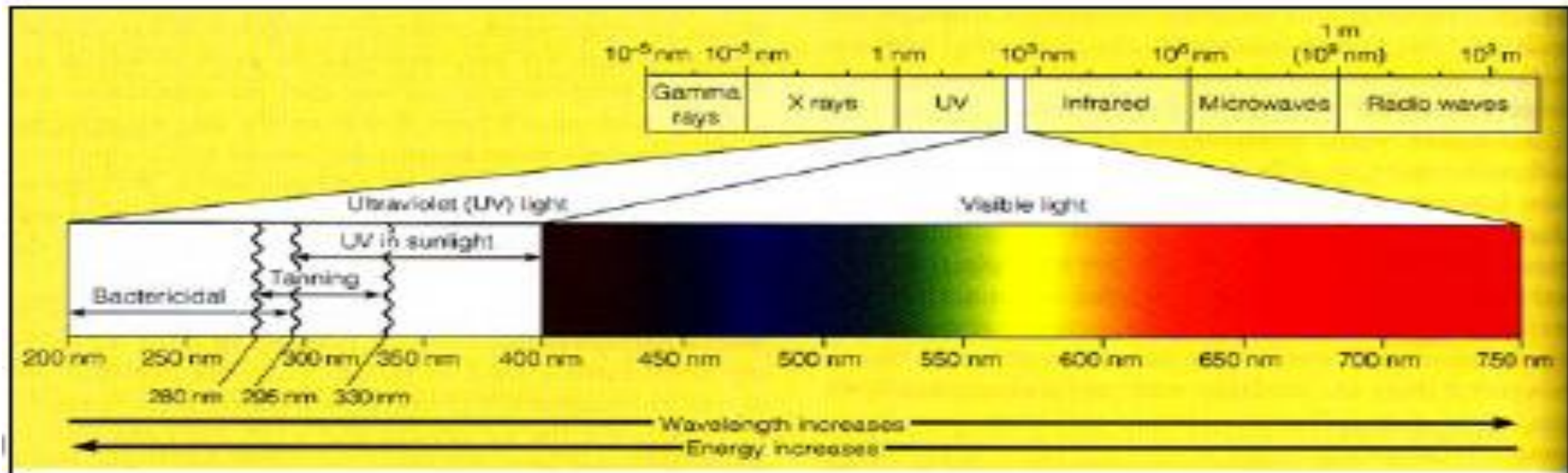
Sterilizzazione con radiazioni

Radiazioni non ionizzanti (UV) $\lambda \geq 1 \text{ nm}$

Provocano legami tra due timine adiacenti sul DNA

Radiazioni ionizzanti (raggi gamma, x, elettroni ad alta energia) $\lambda \leq 1 \text{ nm}$

Provocano ionizzazione dell'acqua che forma radicali idrossilici altamente reattivi che reagiscono con il DNA

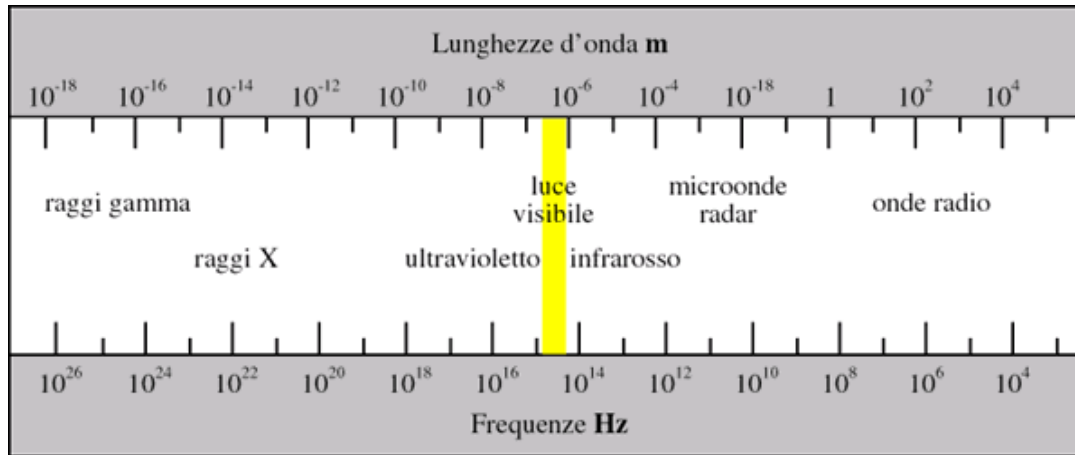


RADIAZIONI ULTRAVIOLETTE (UV)

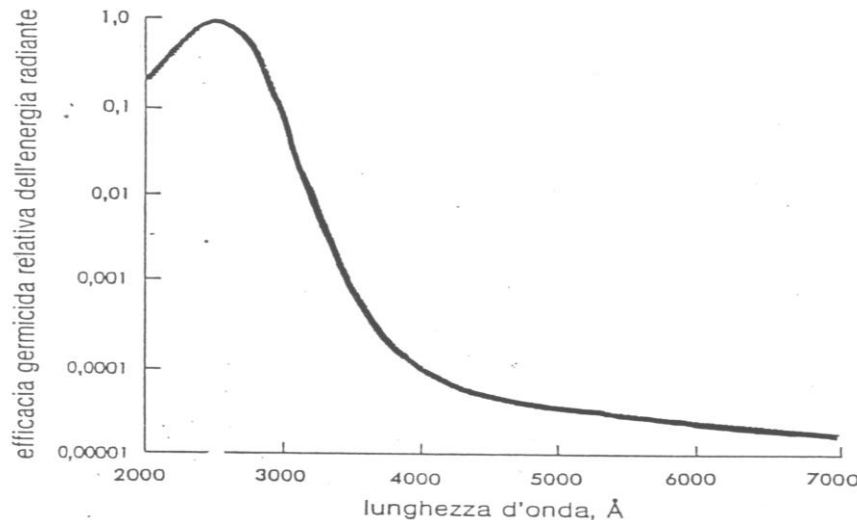
Le radiazioni UV sono radiazioni elettromagnetiche prodotte dal bombardamento, con elettroni o con un fascio di raggi catodici, di un bersaglio di metallo pesante (lampade germicide).

Risultano sterilizzanti i raggi UV con lunghezza d'onda compresa fra 240 e 280 nm

$$240 \text{ nm} < \lambda < 280 \text{ nm}$$



Spettro delle radiazioni elettromagnetiche



Efficacia germicida relativa dell'energia radiante fra 2000 e 7000 Å
(da: General Electric Company, Lamp Division, Publication LD-11)

Lampade germicide a UV

- efficacia = ottima ma limitata alle superfici esposte (radiazioni non penetranti)
- impieghi = potabilizzazione dell'acqua, sterilizzazione dell'aria e delle superfici (laboratori, sale operatorie)

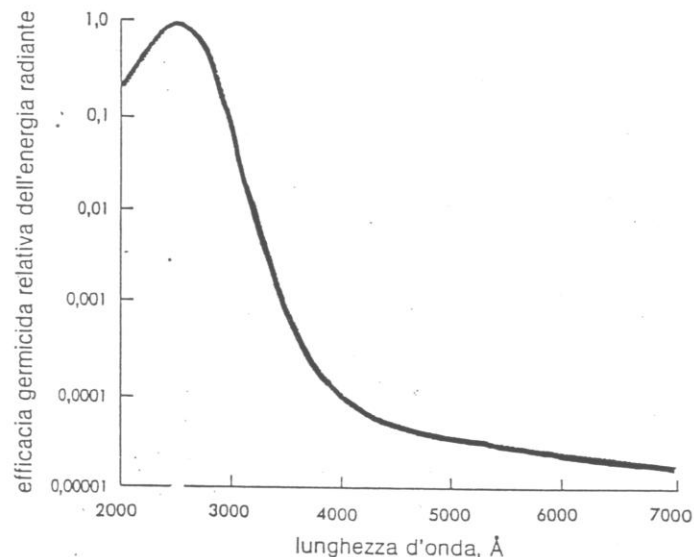


Raggi ultravioletti nel trattamento dell'acqua potabile

Proprietà: i raggi ultravioletti possiedono un'energica azione battericida e vengono rapidamente assorbiti dall'acqua. In acqua distillata la penetrazione dei raggi ultravioletti è efficace per il 92%, pertanto i fluidi opachi non possono essere disinfettati con questo procedimento in quanto l'azione battericida è limitata alla superficie esposta ai raggi ultravioletti, poiché l'azione disinfettante è fotochimica e questa a sua volta dipende dall'intensità della radiazione e dalla sua lunghezza d'onda. Le lunghezze d'onda germicide per le singole specie microbiche sono differenti.

Sistema di dosaggio: per sfruttare al meglio le proprietà degli UV rispettare le seguenti condizioni:

- emissione di radiazioni di lunghezza d'onda compresa tra $2500 < \lambda < 2800 \text{ \AA}$.
- esposizione dell'acqua da trattare, ai raggi UV in strato sottile (circa 10cm max 20 cm)



Sterilizzazione con radiazioni ionizzanti

RADIAZIONI ELETTROMAGNETICHE

(alto potere penetrante perché senza carica):

- Raggi gamma (Co-60): è il sistema di sterilizzazione più usato per i dispositivi sanitari a perdere
- Raggi X (poco usati, se non per la pastorizzazione degli alimenti)

RADIAZIONI PARTICELLARI

(meno penetranti):

- Elettroni accelerati: stanno in parte sostituendo i raggi gamma e l'ETO per la loro minore pericolosità

Principi di sterilizzazione con radiazioni

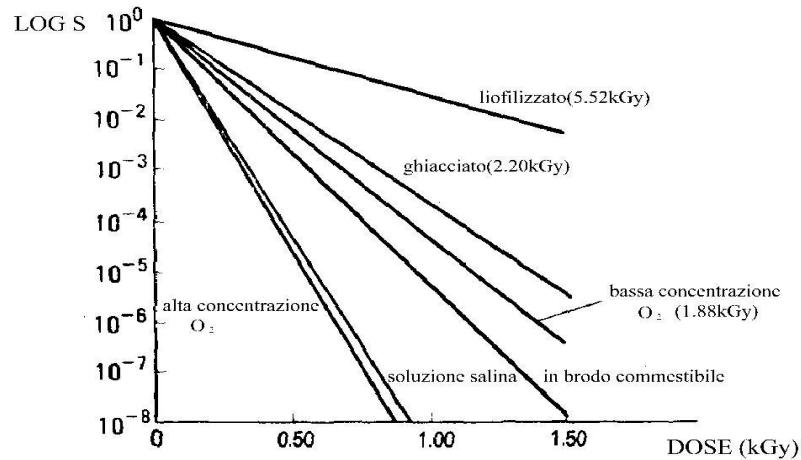
Il meccanismo con cui le radiazioni distruggono i microrganismi è legato al danno causato al DNA, cioè alla molecola che governa la riproduzione cellulare. La frazione di sopravvivenza S alle radiazioni è un fattore fondamentale nei processi biologici ed è esprimibile con l'equazione statistica di Poisson:

$$S = \exp [- K D]$$

D è la dose assorbita, mentre K è la probabilità, per unità di dose, che la radiazione interagisca con il DNA per produrre una lesione letale.

Il valore di K rappresenta la sensibilità alla radiazione dei microrganismi; esso dipende dalla quantità di DNA nel nucleo cellulare, dal metodo di sterilizzazione, dal tipo di microrganismo e dal tipo di ambiente.

Curve di sopravvivenza



Nel grafico sono mostrate le curve di sopravvivenza della *Salmonella typhimurium* in diversi ambienti. Si osserva che la dose di radiazione per ridurre a 10^{-8} la popolazione di questo batterio in una soluzione salina, ad esempio, è minore di 1 kGy, mentre se il batterio è congelato o liofilizzato le dosi sono rispettivamente 2.20 e 5.52 kGy.

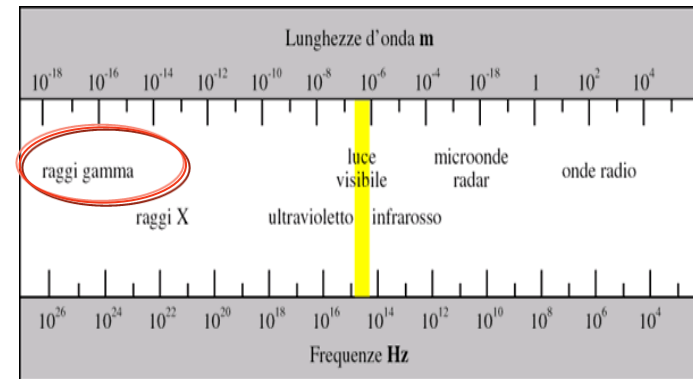
Il processo di sterilizzazione è fortemente influenzato dalla diversa sensibilità dei vari ceppi di microrganismi e dalle condizioni di irraggiamento. La natura statistica del processo di radiosterilizzazione rende impossibile eliminare tutti i microrganismi (inattivazione totale), ma li riduce solo di una certa percentuale che cresce al crescere della dose.

Raggi gamma

Sono onde elettromagnetiche, come la luce, e non sono di natura corpuscolare come i raggi alfa e beta ma possono essere considerati raggi X di cortissima lunghezza d'onda ed hanno un notevole potere di penetrazione nella materia.

Le principali applicazioni pratiche sono:

- sterilizzazione di materiale sanitario monouso (siringhe, aghi, fili di sutura, cateteri, protesi, ecc.)
- sterilizzazione degli alimenti
- sterilizzazione dei vaccini
- eliminazione salmonelle dalle uova
- pastorizzazione degli alimenti
- inibizione germogliazione vegetali



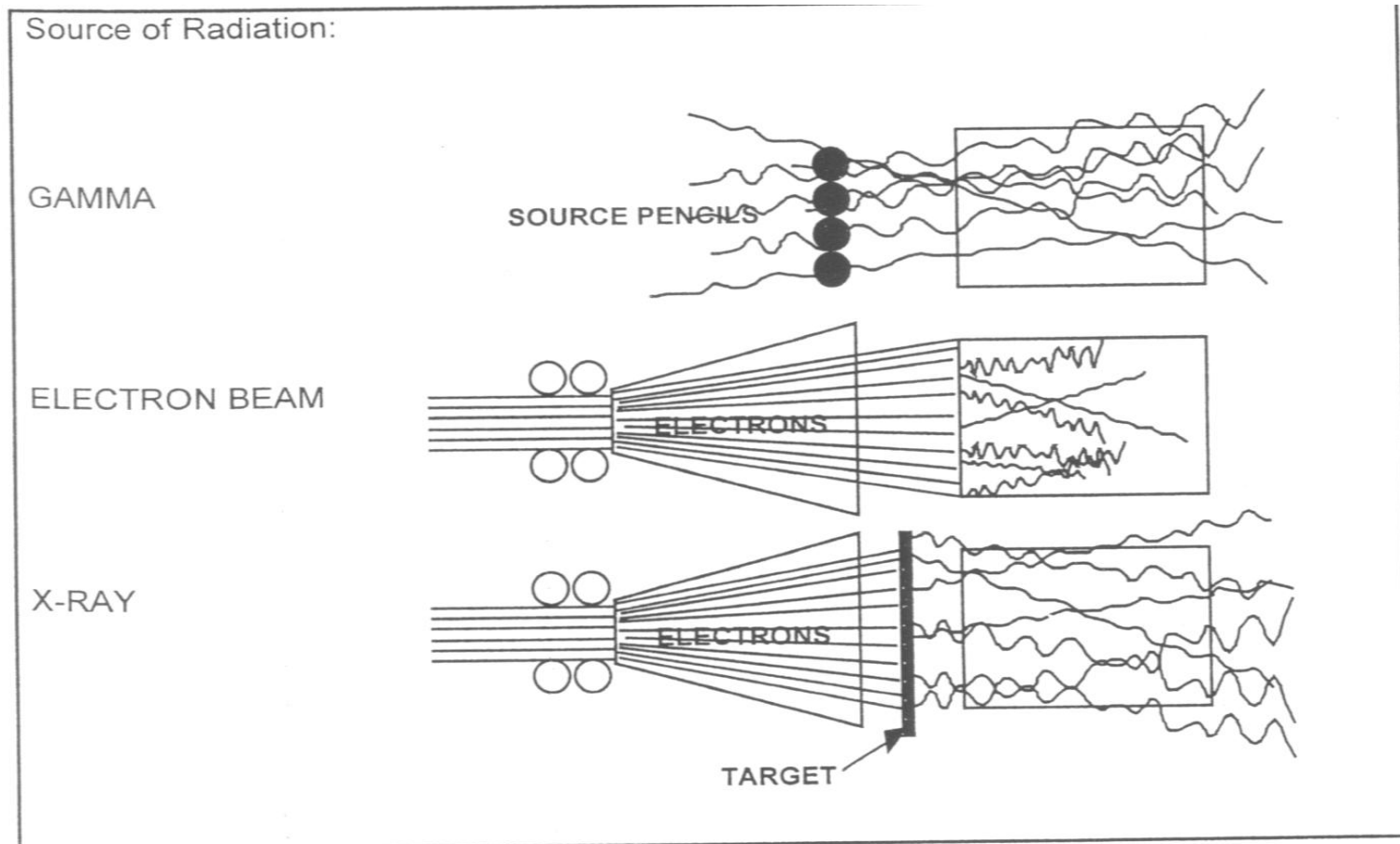
Pur essendo un ottimo sistema di sterilizzazione/disinfezione si è evidenziato che alcuni ceppi batterici sono poco sensibili alla loro azione (gram+).

Raggi gamma

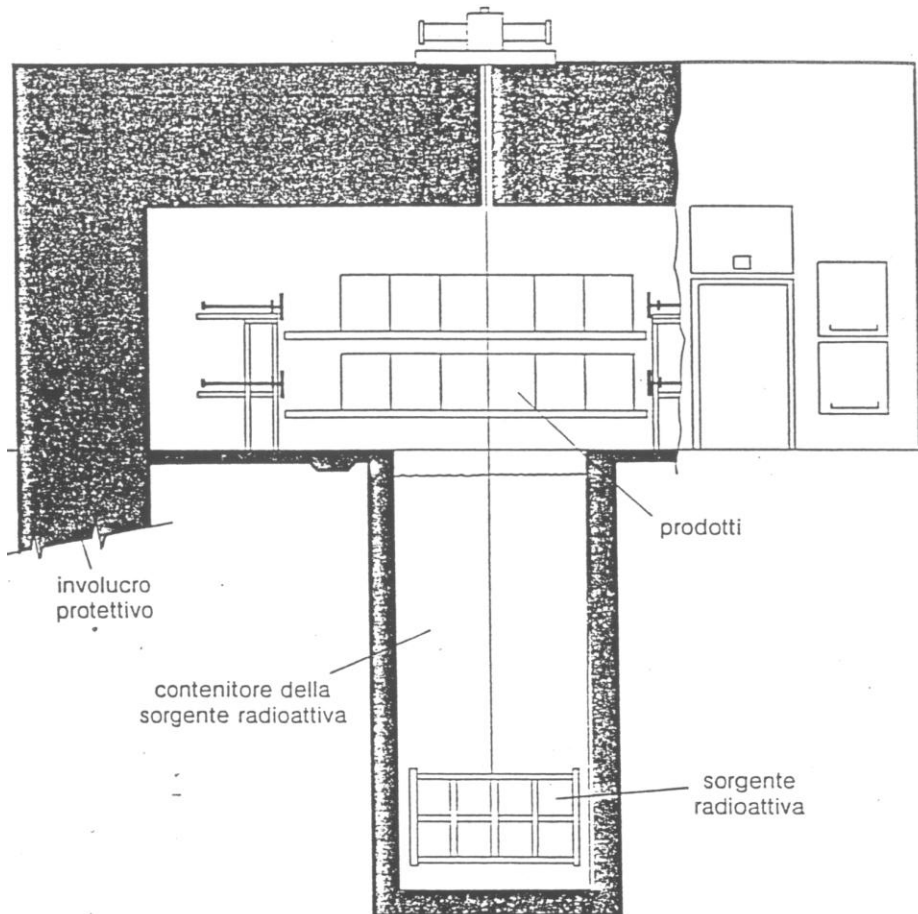
Le caratteristiche fondamentali del processo con raggi gamma sono:

- **La sorgente radioattiva è sempre presente nel sistema e deve essere periodicamente sostituita.**
- **Il sistema è tecnicamente molto semplice fatta eccezione per il sistema di sicurezza.**
- **L'omogeneità e la ripetibilità delle dosi sono difficili da ottenere a causa della non uniforme distribuzione del materiale all'interno delle scatole.**
- **La durata dell'irraggiamento è molto lunga (alcune ore) per cui i fenomeni ossidativi sono maggiori rispetto ad un trattamento più breve.**
- **La dose non è prevedibile a priori perché dipende da tutto il carico presente nella cella; ciò implica che per consentire certamente una dose minima di radiazioni , a volte si hanno sovradosi che danneggiano il materiale.**
- **L'elevata penetrazione dei raggi gamma permette il trattamento di spessori elevati di materiale.**

Interazione di raggi gamma e elettroni con la materia



Processo industriale di sterilizzazione con raggi gamma



Il prodotto, imballato nella scatola di spedizione, è convogliato automaticamente, da un trasportatore a motore, nella camera schermata di sterilizzazione. La sorgente radiattiva, ^{60}Co , è sollevata automaticamente dal suo contenitore e collocata in prossimità del materiale imballato. Temporizzatori controllano il tempo di esposizione del prodotto alla radiazione gamma.

(Atomic Energy of Canada, Ltd.)

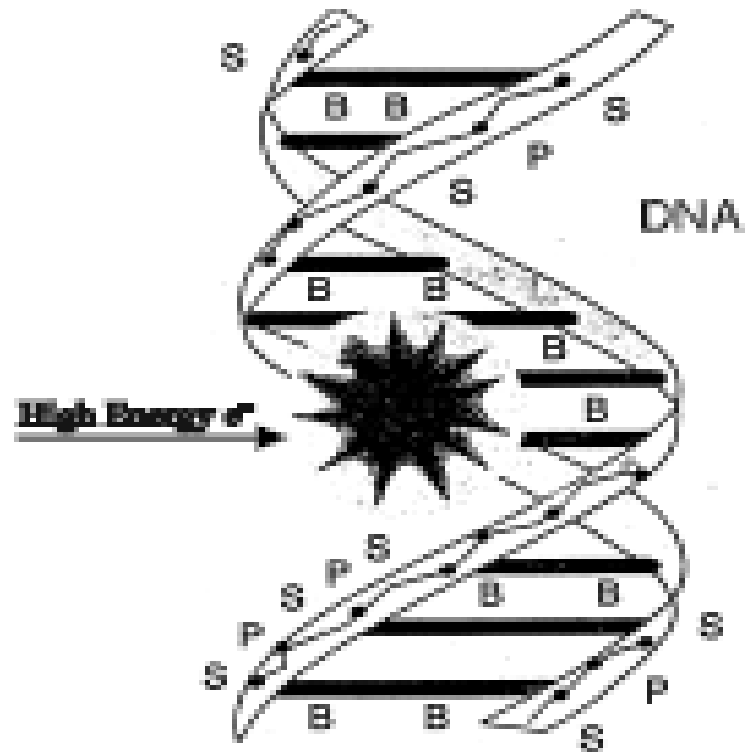
Impianto a raggi gamma



Uccisione dei microrganismi

Microbial kill

**Ionizing radiation
break down DNA
bond of
microorganisms
into fragments
and prevent their
reproduction.**



Irradiazione

Utilizzata per la prima volta negli USA nel 1943 per sterilizzare gli hamburger, è una delle più recenti tecniche di conservazione introdotte.

Vengono utilizzate radiazioni elettromagnetiche (emissione e propagazione di energia sotto forma di onde) come ultravioletti (UV), raggi X e raggi γ .

Tecnica discussa perché si teme che renda gli alimenti radioattivi.

Le radiazioni ionizzanti non vengono trattenute. La dose utilizzata è medio-bassa e comunque tale da non determinare la formazione di residui radioattivi nei prodotti trattati.

Vi è l'obbligo di dichiarare se gli alimenti sono stati irradiati .

IRRADIAZIONE DI FRUTTA E VERDURE

- Frutta e verdura vengono irradiate per aumentare la loro conservazione fino al 500%

Etichetta per alimenti irradiati



Su patate, cipolle, aglio per bloccarne la germinazione.

Su alcuni frutti tropicali (es. ananas e banane) per ritardarne la maturazione.

Su cereali, riso, alcuni frutti e alcune verdure per eliminare insetti ed altri parassiti.

Su fragole per ritardarne la marcescenza;

Su carne bovina, pollame, pesce per eliminarne i microrganismi patogeni.

In molti casi gli alimenti irradiati sono indistinguibili alla vista e al gusto da quelli freschi non trattati.

In Italia il DM 30/08/1973 permette l'uso delle radiazioni gamma solo per bloccare la germinazione e il DL_{gs} 94/01 per il trattamento di erbe aromatiche essiccate, spezie e condimenti vegetali.

Elettroni accelerati (1)

Rappresentano un sistema industriale alternativo, sicuro, efficiente, economico, amico dell'ambiente, in grado di sostituire e migliorare gli attuali sistemi di sterilizzazione utilizzati.

I motivi che possono favorire lo sviluppo di questo tipo di sistema sono:

- il sistema *non usa una sorgente radioattiva sempre presente*: basta “staccare la spina” e il fascio di elettroni accelerati viene eliminato;
- il sistema *non richiede materiale di difficile reperimento*, non facendo uso di isotopi radioattivi per realizzare la radioattività necessaria;
- il *controllo qualitativo è elevato* in quanto è possibile utilizzare un sistema di calorimetria (a differenza di sistema utilizzanti raggi gamma) per la misura di dose indiretta (distribuzione della dose nel prodotto);
- il trattamento avviene a temperatura ambiente *senza quindi compromettere le caratteristiche del prodotto*;

Elettroni accelerati (2)

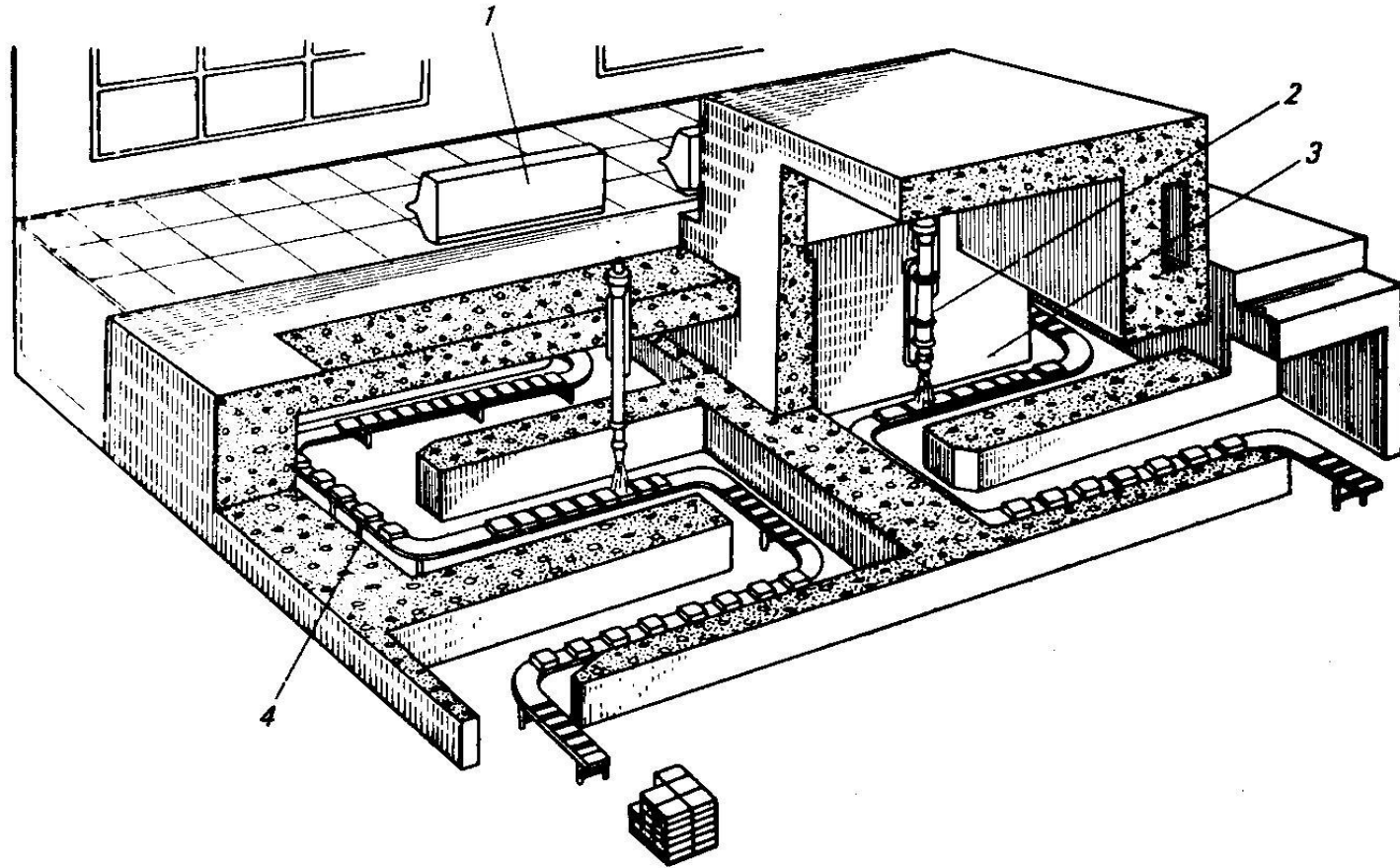
- *non fa uso di sostanze dannose o nocive per l'ambiente* non utilizzando gas tossici nelle fasi di trattamento;
- *il rilascio è parametrico*: non viene richiesto alcun tipo di monitoraggio sul prodotto in routine, dosimetrico o microbiologico. I parametri macchina attestano le caratteristiche dell'avvenuto trattamento e vengono archiviati, scatola per scatola, in automatico dal sistema di documentazione computerizzato.
- permette un *grado di flessibilità di produzione elevato*, permettendo il trattamento di un numero elevato di lotti senza richiedere periodi di quarantena del prodotto trattato. La produzione di fatto è in linea: il prodotto entra confezionato e alla fine del trattamento (qualche minuto) è già pronto al consumo.

Elettroni accelerati (3)

Questa tecnologia potrà acquistare sempre maggior peso favorendo la l'approfondimento e la proposta di soluzioni alle seguenti problematiche:

- *risparmio energetico;*
- *maggiore flessibilità dell'impianto per il trattamento di materiali e prodotti diversi;*
- *ulteriore riduzione dei rischi per i lavoratori, per la popolazione e per l'ambiente;*
- *miglioramento delle caratteristiche di Qualità del Trattamento, compatibilmente con le caratteristiche dei diversi materiali*

Impianto E-beam



1: pannello di controllo **2:** acceleratore
3: camera di irraggiamento **4:** nastro trasportatore

OGGETTI STERILIZZATI PER IRRAGGIAMENTO

La sterilizzazione per irraggiamento è utilizzata attualmente in scala commerciale per trattare siringhe, kit per trasfusioni di sangue, ossigenatori di sangue utilizzati nelle operazioni chirurgiche, unità per la dialisi, attrezzi chirurgici, guanti di gomma, cateteri, indumenti ospedalieri, contenitori per sostanze medicinali. Sono sterilizzati con questo metodo anche **alcuni** antibiotici, ormoni e vitamine per i quali le radiazioni non modificano i principi attivi.

Un campo d'applicazione separato è il trattamento degli organi espianati che sono prima congelati e quindi irradiati per essere conservati sterili. Interessante in prospettiva futura è il trattamento dei **rifiuti ospedalieri**.

L'irraggiamento è impiegato anche al di fuori dell'ambiente medicale: sono trattati tappi di sughero per l'imbottigliamento per eliminare i funghi ed i batteri così da ridurre il deterioramento dovuto al tempo; nel **campo cosmetico** si possono utilizzare le radiazioni ionizzanti per controllare la carica batterica nel preparato.

Sterilizzazione per filtrazione

La sterilizzazione per filtrazione viene usata per:

- **SOLUZIONI DI SOSTANZE TERMOLABILI**
- **DISINFEZIONE DELL'ARIA**

Esistono vari tipi di filtro (per i liquidi):

- **filtro Seitz dischi di amianto**
 - **candela di Berkefeld farina fossile Ø pori non uniforme**
 - **candela di Chamberland porcellana**

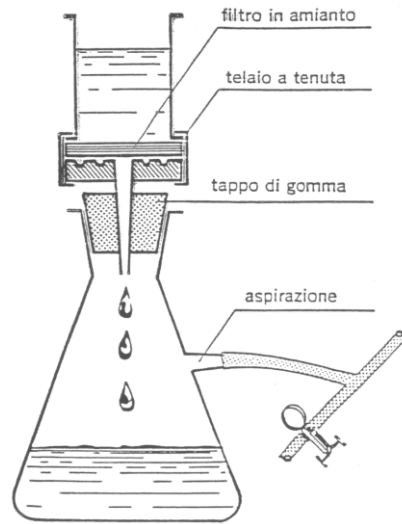
 - **filtri a membrana esteri di cellulosa Ø pori uniforme**
[Millipore] (0,01-10 µm)
-

- Effetto di**
- ⇒ **setaccio meccanico**
 - ⇒ **carica elettrica dei pori del filtro**
 - ⇒ **carica elettrica del filtrato**
- Filtrazione**
- ⇒ **in pressione**
 - ⇒ **forzata**

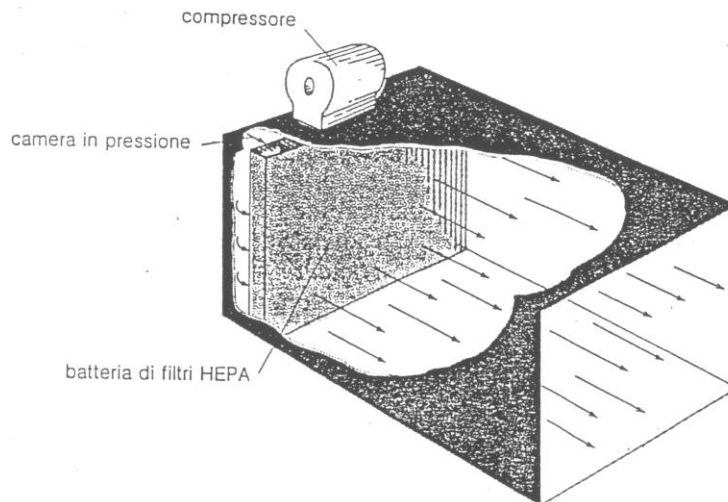
Porosità dei filtri

0,10 μm	eliminazione micoplasma
0,20 μm	eliminazione virus (sterilizzazione)
0,45 μm	eliminazione batteri
0,65 μm	eliminazione lieviti e muffe
0,8 μm	prefiltrazione

Sistemi di sterilizzazione per filtrazione



Sistema con filtro di Seitz



Sistema a corrente d'aria laminare orizzontale. Le frecce nella galleria indicano che le linee di flusso dell'aria sono parallele

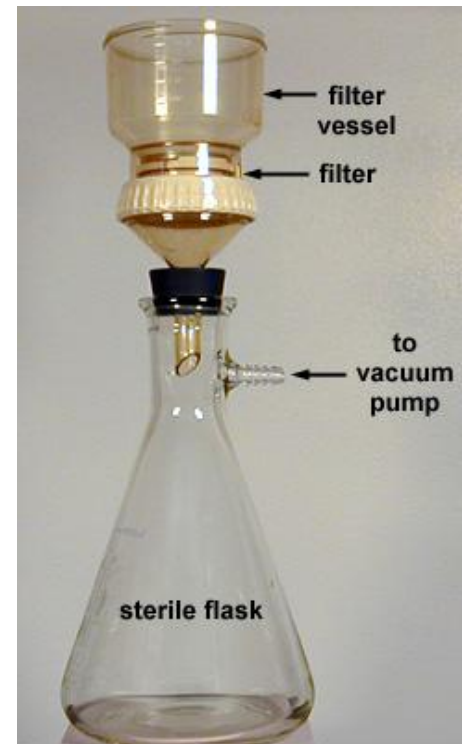
Filtration

-involves the physical removal (exclusion) of all cells in a liquid or gas especially

- important to sterilize solutions which would be denatured by heat (e.g. antibiotics, injectable drugs, amino acids, vitamins, etc.)



Millipore
Filtration
setup



La creazione di un ambiente sterile: cappe a flusso laminare

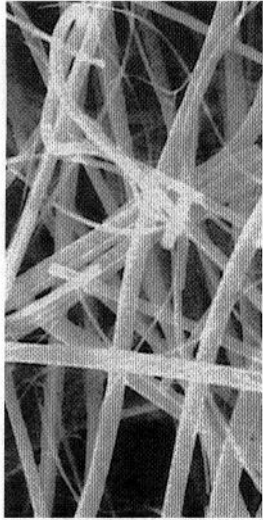


Cappe sterili

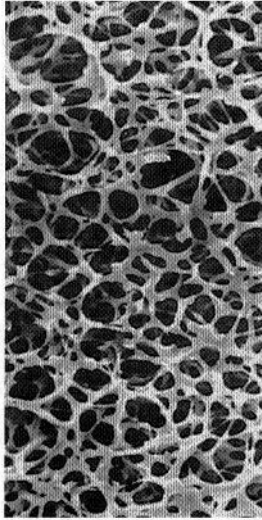




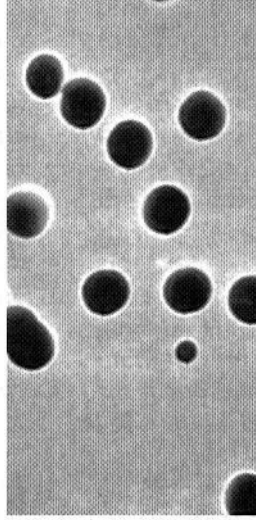
La sterilizzazione per filtrazione



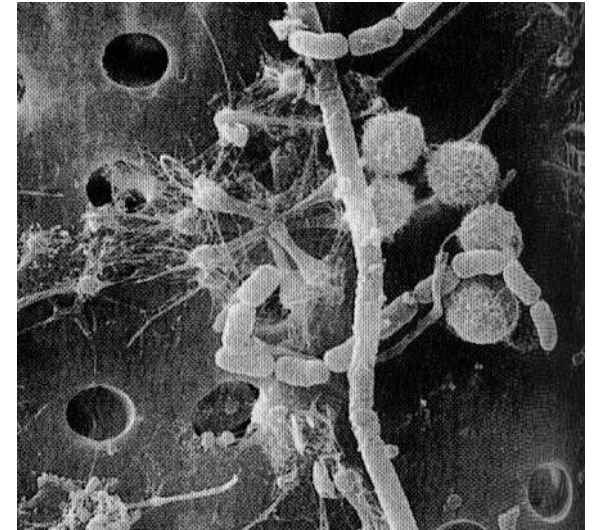
(a)



(b)



(c)



Un filtro di profondità (a), un filtro in acetato di cellulosa tradizionale (b) e un filtro Nucleopore

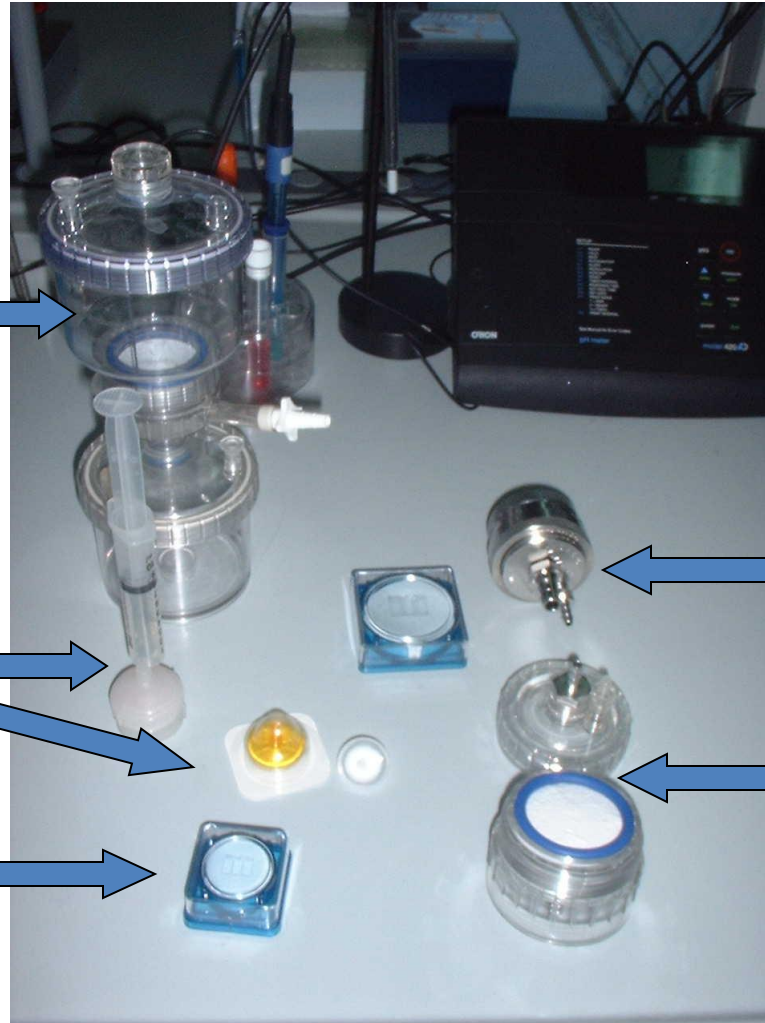
Microrganismi immobilizzati sulla superficie di un filtro

La sterilizzazione per filtrazione

Supporto di filtrazione riutilizzabile in policarbonato

Filtri da siringa

Membrane in acetato di cellulosa



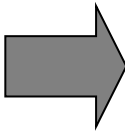
Unità di filtrazione in linea in acciaio

Unità di filtrazione in linea in policarbonato



Tipologie di latte in commercio

**Latti
tradizionali**



- **Crudo**
- **Trattato Termicamente**
 - Pastorizzato
 - Fresco pastorizzato
 - Fresco pastorizzato di alta qualità
 - Pastorizzato ad alta temperatura
 - Sterilizzato con metodo classico
 - UHT
- **Microfiltrato**

Latte pastorizzato

Ottenuto mediante un trattamento che comporti un'elevata temperatura per un breve periodo di tempo **(almeno 71,7 °C per 15 secondi)** o qualsiasi altra combinazione equivalente.

La **data di scadenza** è fissata nel **sesto giorno** successivo a quello del trattamento termico.



Latte Pastorizzato Microfiltrato

E' prodotto da latte crudo sottoposto ad un processo di **microfiltrazione abbinato al trattamento termico**

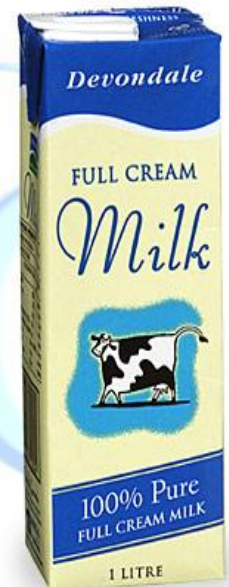
A regime refrigerato è garantito un **tempo di conservazione più lungo** rispetto al normale latte pastorizzato in quanto la microfiltrazione allontana cellule e parti cellulari responsabili di processi degradativi.

La **data di scadenza** è fissata al **10 giorno successivo alla produzione.**



Latte U.H.T (Ultra High Temperature)

- Sottoposto ad un procedimento di riscaldamento a flusso continuo che richieda l'impiego di una **temperatura elevata** per un **breve periodo di tempo (ca. 135 °C per almeno un secondo)**
- Dopo il trattamento subisce un **confezionamento asettico**
- **E' un latte sterile.**
- **Può essere conservato a temperatura ambiente**
- Consumato **preferibilmente entro 90 giorni dal confezionamento.**



Latte sterilizzato in bottiglia



- Il latte viene riscaldato, in **contenitori ermeticamente chiusi, a 118-120°C per 15-20 minuti.**
- Tempo di conservazione fissato **preferibilmente al 180° giorno dal confezionamento**
- Notevole scadimento delle qualità organolettiche e delle vitamine idrosolubili

Data di scadenza e termine minimo di conservazione

- **Latte fresco pastorizzato e fresco pastorizzato di alta qualità:** da consumarsi entro **6 gg** dalla data di confezionamento (Decreto MIPA luglio 2003).
- **Latte pastorizzato microfiltrato:** da consumarsi entro **10 gg** dalla data di confezionamento (Decreto MIPA luglio 2003).
- **Latte a pastorizzazione elevata:** a cura del produttore (in genere **30 gg** dal confezionamento).
- **Latte U.H.T:** da consumarsi preferibilmente entro **90 gg** dalla data di confezionamento (Legge 169 del 1989)
- **Latte sterilizzato:** da consumarsi preferibilmente entro **180 gg** dalla data di confezionamento (Legge 169 del 1989)

Sterilizzazione nell'industria farmaceutica

La sterilizzazione per mezzo del calore non è generalmente applicabile agli antibiotici ed alle sospensioni, siano esse finite o polveri da sciogliere al momento dell'uso, in quanto si rischierebbe di alterarne la stabilità. Per questo si adotta la preparazione asettica: ogni costituente della preparazione durante la suddivisione in fiale o l'inflaconamento, viene trattato asetticamente operando in ambienti sterili. A tale scopo, i locali di lavorazione, in cui l'aria è condizionata e filtrata, sono sottoposti ad una leggera sovrappressione rispetto all'esterno e si irradiano con raggi ultravioletti (lunghezza d'onda 10-6 - 10-8), dotati di un potente effetto battericida e quindi molto utili per sterilizzare l'aria e le superfici lisce. Questi raggi penetrano pochissimo nei tessuti organici e sono quasi completamente assorbiti dal vetro, per cui possono essere utilmente impiegati senza danneggiare le persone con cui vengono a contatto. In tal modo, nell'ambiente mantenuto il più possibile sterile, possono continuare a lavorare le persone addette (indossando occhiali di protezione).

Lavorazione aseptica



- Molti prodotti liquidi farmaceutici e biologici non possono resistere ad alcuna forma di sterilizzazione termica, quindi vengono **filtrati in condizioni asettiche e versati in contenitori pre-sterilizzati, in camera bianca.**
- La filtrazione aseptica consiste nel far passare la soluzione attraverso un *filtro microbiologico sterile* di 0,1-0,22 millimetri e catturare il filtrato in un grande contenitore pre-sterilizzato.
- Il liquido deve essere poi dispensato in modo aseptico in contenitori presterilizzati più piccoli, come bottiglie, flaconi, fiale o siringhe.
- Molti prodotti per uso parenterale (non orale) e di diagnostica sono filtrati asetticamente, comprese le soluzioni di farmaci per via intravenosa, soluzioni oftalmiche, soluzioni antibiotiche.

Modalità di sterilizzazione con alcuni sterilizzanti chimici

AGENTI ALCHILANTI

- Ossido di etilene (C_2H_4O)
(ETO)
- Formaldeide
- Glutaraldeide
- Orto-Ftalaldeide

- Beta-propiolattone ($H_4C_3O_2$)

AGENTI OSSIDANTI

- Acqua ossigenata (H_2O_2)

- Acido peracetico (CH_3COOOH)

- Biossido di cloro (ClO_2)

- Ozono (O_3)

Ossido di etilene (EtO)

Gas, solubile in acqua e solventi

infiammabile in aria (dal 3 all'80%) \Rightarrow 10% in CO₂

Spettro d'azione \Rightarrow tutti i microrganismi

Meccanismo \Rightarrow alchilazione

Fattori che influenzano l'azione:

concentrazione: es 150 mg/l a 1 bar

500 mg/l 3 bar

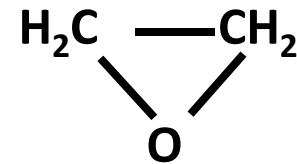
700 mg/l a 4.2 bar

temperatura : 40-60°C

umidità : 40-70 RH%

durata esposizione : 3-4 ore

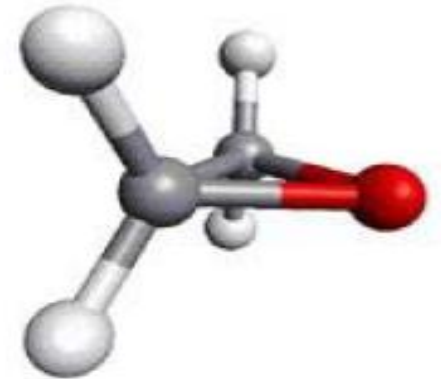
Utilizzo: presidi medico chirurgici, NO PVC, polveri termolabili.



Autoclave ad EtO

GUIDANT

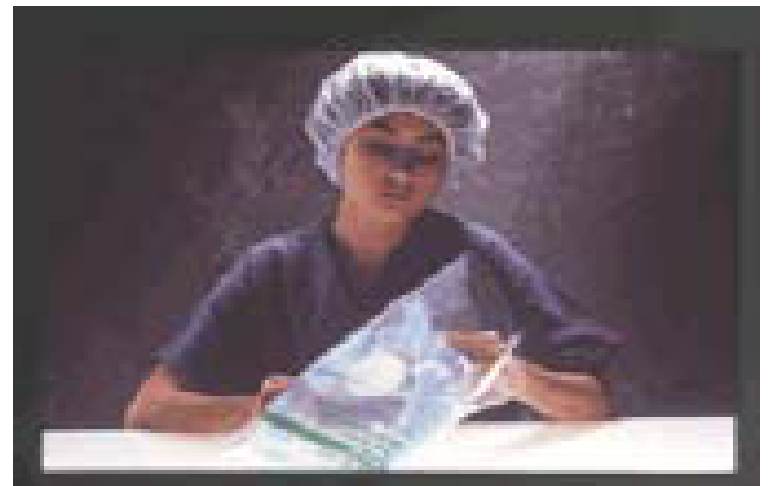
Ethylene Oxide (EtO, EO) Chamber



EtO Sterilization

- Ethylene oxide kills microorganisms by denaturing their proteins & afterwards modifying their molecular structure
- This activity allows ethylene oxide to be effective as a sterilant

For heat sensitive & moisture sensitive devices





INSUPEN®

Aghi sterili per penna da insulina



Definizione:

Aghi sterili per penna da insulina.

Monouso, apirogeni, atossici. In confezione singola autoprotetta.

Caratteristiche generali:

- Ago Ultrafine a triplice affilatura totalmente robotizzata.
- Siliconatura dell'ago per agevolare la penetrazione nella cute e ridurre la sensazione di dolore per il paziente.
- Trattamento anti-attrito della punta cartuccia per facilitare la foratura del tappo della cartuccia di insulina.
- Sterilizzazione a gas Ossido di Etilene.
- COMPATIBILI con tutte le penne e i dispositivi per la somministrazione di insulina attualmente in commercio (Eli Lilly, Novo Nordisk, Owen Mumford, Aventis).
- Astuccio da 100 aghi dotato di fustella ottica removibile.

Indicazioni d'uso:

- Terapia insulinica mediante iniezioni sottocutanee.
- Ago corto (6 mm) ideale per pazienti magri o per uso pediatrico.
- Ago 8 mm ideale per pazienti di costituzione normale.
- Ago lungo (12 mm) ideale per pazienti dal tessuto sottocutaneo spesso.

Assortimento:

CODICE	AGO	SCATOLA	IMBALLO
000000000000000000	31Gx6	100 pz.	1.200 pz.
000000000000000000	31Gx8	100 pz.	1.200 pz.
000000000000000000	30Gx8	100 pz.	1.200 pz.
000000000000000000	30Gx12	100 pz.	1.200 pz.

Problemi sanitari

EtO Concerns

- The safety of using EtO sterilizers is in question

- EtO is associated with cancer in humans

- EtO is explosive

Facilities have had to take expensive measures to use EtO safely such as:

- installing engineering controls, using ventilators, training staff



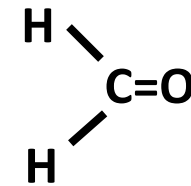
FORMALDEIDE

E' un gas solubile in acqua (soluzione acquosa: formalina). È stata per anni la principale sostanza disinfettante utilizzata in ambiente ospedaliero: come gas nella disinfezione terminale degli ambienti (nebulizzazione ambientale); come FORMALINA, addizionata di detergenti anionici, nella disinfezione energica di tutte le superfici lavabili, pareti, servizi igienici, vasellame, oggetti di plastica e gomma, ecc.

Per l'elevata tossicità e, soprattutto, per la cancerogenicità, da tempo il suo uso è regolamentato dal Ministero della Sanità (circolare 57/83), dove di fatto viene sconsigliato.

Formaldeide

Gas o liquido (paraformaldeide),
solubile in acqua (40% in acqua = formalina)
Spettro d'azione \Rightarrow tutti i microrganismi
Meccanismo \Rightarrow alchilazione, riducente



Fattori che influenzano l'azione:

concentrazione: 5 g/m³

temperatura - durata esposizione: 72h a 22°C; 14h a 35°C;
5h a 60°C; 1h a 125°C

umidità: (70-95 RH%)

Utilizzo: presidi medico chirurgici, condizionatori, ambienti; NO per Polietilene e vernici sintetiche

Applicazione: in ambiente aperto, in camere di sterilizzazione (con vapore a pressione negativa)

Svantaggi: tempi lunghi, abbattimento

Chemiclave

Sistema di sterilizzazione utilizzato soprattutto per sterilizzare strumentazione odontoiatrica, non corrosivo per la bassa concentrazione di acqua presente.

Agente sterilizzante: FORMALDEIDE-ALCOL, a 121°C per 20 min.

Chemiclave :Harvey 4000/Chemiclave

- Pulizia ultrasonica, 5 min in un detergente generico ultrasonico
- Asciugare accuratamente il giunto con aria compressa o con panno, assicurandosi che non vi sia umidità residua
- Collocare gli strumenti sul vassoio della Chemiclave, ponendo uno strato di salviette di carta fra uno strumento e l'altro. Lasciare le pinze in posizione aperta. Utilizzare acqua distillata nella sterilizzazione
- Sottoporre gli strumenti a un ciclo di sterilizzazione di 20 min a 121°C e 25 psi. Alla fine del ciclo di sterilizzazione, depressurizzare l'apparecchiatura. Attendere finché gli strumenti non siano sufficientemente raffreddati e quindi lubrificarli.

N.B. se lasciati nella Chemiclave, gli strumenti possono mostrare segni di corrosione se non vengono rimossi dopo il ciclo di sterilizzazione.

Chemiclave Chemical Vapor



EC5500



There's No Better Way to Extend the Life of Your Instruments!

- No drying cycle required
- No rust or corrosion of instruments
- ☆ 24 Month Warranty

Product Description

- Automatic system starts sterilization cycle when unit reaches proper sterilization conditions.
- Electronic display times the 20-minute exposure phase and the purge phase.
- Automatic purge for removal of vapor from chamber before door is opened.
- No drying phase required.
- Easy to fill system for sterilant; prevents spillage.
- Built in chemipurge and chemifilter to slash emissions.
- Dry packs and instruments at end of cycle.
- Preheated chamber reduces overall cycle time.
- ASME coded chamber ETL, CSA approved.
- Operates at 132°C and 20-40 psi.
- Sterilization cycle of 20 minutes.
- Easy-to-remove rack for quick cleaning.
- Proprietary solutions ensure consistent quality results.



Control Panel



Vapo-Steril



Built-in Chemifilter

GLUTARALDEIDE

L'attività di una soluzione alcalina di glutaraldeide si degrada con il tempo e si esaurisce in 14 gg.

Uccide le forme vegetative in 30'- 60' e le spore in 3 h di contatto. La **sterilizzazione è garantita dopo 10-12 ore.**

È indicata per la sterilizzazione del materiale termolabile. Presenta i seguenti vantaggi:

- ❖ Largo spettro di attività (ALTO LIVELLO)
- ❖ Attività in presenza di sostanza organica
- ❖ Non corrosivo
- ❖ Odore pungente

Attenzione: irritante e allergizzante

Glutaraldeide



VANTAGGI

Efficacia dimostrata da moltissimi studi

Procedura meno costosa

Eccellente compatibilità con i materiali

SVANTAGGI

Irritante per cute e mucose

Attività biocida lenta

Ridotta stabilità

ORTOFTALALDEIDE

Composto alternativo alla glutaraldeide, con alcuni vantaggi tra cui un'azione microbica più rapida: allo 0,55%, a temperatura ambiente, in 10' uccide batteri, virus, miceti e micobatteri.

Attività sporicida: 10 ore a 25°C.

Non richiede attivazione, poco volatile, odore poco accentuato.

Se non utilizzata, la soluzione mantiene il principio attivo intatto nel tempo.

Le precauzioni d'uso sono le stesse della glutaraldeide.

Sterilizzazione con H₂O₂

Sterilization using gases other than EtO

- **Vaporized Hydrogen Peroxide**
 - Main application is barrier isolators
 - Protein oxidation
 - No toxic residues
 - Severe on materials

Sterilizzazione con ClO₂ o O₃

Sterilization using gases other than EtO

- **Chlorine dioxide**
 - Non-flammable and non-ozone depleting
 - Generated at time of use
 - Oxidation of materials
- **Ozone**
 - Generated from air at time of use
 - No toxic residues
 - Oxidation of materials

Gas-Plasma

Definizione

Il plasma è il quarto stato della materia; è definito come un flusso reattivo di ioni, elettroni e particelle neutre. Esso può essere prodotto esponendo la materia allo stato gassoso ad un campo elettrico o magnetico in grado di strappare elettroni agli atomi del gas. Tale evento produce una nuvola di particelle prevalentemente sotto forma di radicali liberi con coppie di elettroni spaiate e dotate di spiccata reattività. Il calore prodotto da tale procedimento, peraltro simile a quello delle lampade al neon, é quello impiegato per l'applicazione della sterilizzazione a gas plasma.

Meccanismo della sterilizzazione gas-plasma:

I radicali liberi prodotti dagli atomi del plasma sono infatti in grado di interagire con le membrane cellulari, gli enzimi e gli acidi nucleici dei microrganismi provocandone la distruzione.

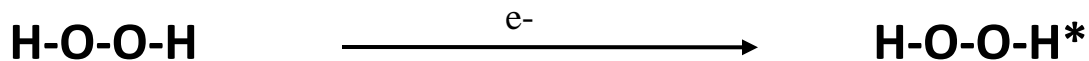
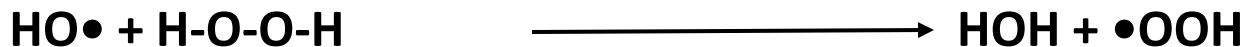
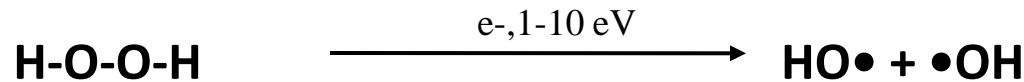
Gas-Plasma

Esistono due tipi di plasma:

- ad alta temperatura
- a bassa temperatura (si crea a pressioni molto basse)

Attività del sistema di H₂O₂/plasma utilizza temperature <50°C per un tempo di circa 55 min.

si riassume come segue:

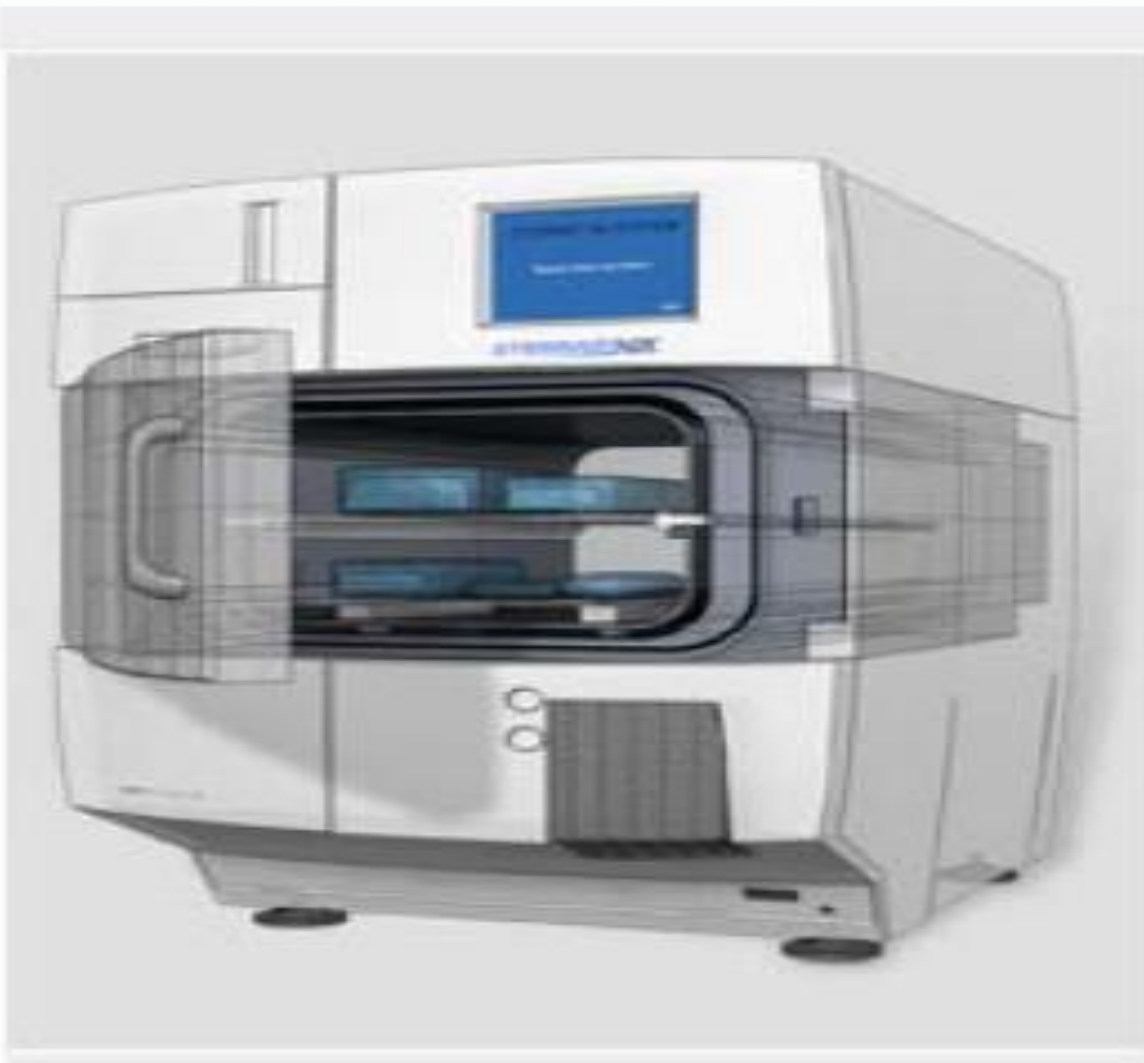


Gas-Plasma

Attività sporicida del sistema di H₂O₂/plasma comparato con altri sistemi gas/plasma

GAS	Attività sporicida (riduzione log)
O₂	0,39
N₂O	1,10
Glutaraldeide	0,53
H₂O₂	5,53

Gas Plasma Sterilizer (ASP)



Vantaggi e svantaggi della sterilizzazione a gas plasma

Vantaggi	Svantaggi
Nessun residuo pericoloso sui materiali e l'ambiente (H₂O e O₂).	Alto costo del dispositivo e del materiale di consumo.
Materiale disponibile immediatamente a fine ciclo.	Impossibilità a sterilizzare materiali assorbenti come cellulosa e derivati, teleria o garze.
Temperatura operativa circa 50°.	Carico limitato – sul mercato macchine di max 300 litri di capienza.
Durata del ciclo contenuta (50 -76 min).	Impossibilità a sterilizzare olii, liquidi in generale e polveri.
Possibilità di esporre materiale termolabile (tubi,plastiche,ottiche laparoscopiche).	
Ammortamento dei costi del materiale LPS (maggiore durata).	
Agente sterilizzante Non corrosivo.	

Il metodo a gas plasma in ambito Ospedaliero

- Il metodo a gas plasma completa i limiti della sterilizzazione a vapore e viceversa.
- In un blocco operatorio che oltre alla chirurgia tradizionale, pratica quella **laparoscopica**, è determinante avere a disposizione entrambi i dispositivi.

Effetti sui materiali

Material Effects - Summary

Steam	Heat resistant materials only <ul style="list-style-type: none">-Corrosion concerns with metals-Not compatible with biologics
Radiation	Many polymers compatible up to 50 kGy <ul style="list-style-type: none">-Careful: PTFE, polyacetal, unstabilized PP-Not compatible with active electronics
EtO	Most polymers compatible <ul style="list-style-type: none">-Humidity effects hydrophilic coatings-Some temperature effects with sensitive materials-Residues may be toxic; requires degassing process
Plasma	Materials of concern: Hydrophilic materials, Cellulosics, proteins, Butyl acetate, Collagens, Natural rubber, Copper / brass
Other Gases	Strong oxidizing agents impact many materials

CONTROLLI DI STERILIZZAZIONE

Agente	Fisici*	Chimici **	Batterologici****
Calore secco	Registrazione di: Temperatura Tempo	Sostanze sensibili al calore (inchiostro o cere)	<u>Spore di <i>Bacillus stearothermophilus</i> e <i>B. subtilis</i></u>
Calore umido	Registrazione di: Temperatura Tempo Pressione Umidità	Sostanze sensibili al calore, pressione e umidità	<u>Spore di <i>Bacillus stearothermophilus</i> e <i>B. subtilis</i></u>
Ossido di etilene	Registrazione di: Temperatura Tempo Umidità relativa Concentrazione del gas	Sostanze sensibili alla concentrazione del gas	<u>Spore di <i>Bacillus pumilus</i> o <i>Bacillus subtilis</i></u>
Raggi gamma	Contatore	Coloranti radiosensibili	<u><i>Streptococcus faecalis.</i></u> <u>Tests statistici</u>
Gas Plasma (Sterrad®)	Controllo elettronico, il ciclo si interrompe se uno dei parametri non è rispettato		

*) Per ogni programma **) Giornalmente ***) Mensilmente e dopo ogni revisione o riparazione

Sterilizzazione con agenti chimici: efficacia

A) GAS O VAPORI

COMPOSTO CHIMICO	Concentrazione	Temperatura °C	Umidità %	Tempo	Note
Ossido di etilene	700-1000 mg/l	30-60	30-60	1,5-24 ore	
Perossido di idrogeno	4 mg/l	35	> 80	1 min	Valore D
Gas plasma 10%	10%	< 50	> 80	1 min	Totale
Formaldeide	300 µg/l	20	100	1,5 ore	Riduzione di 6 log.
Biossido di cloro	20 mg/l	27-50	80-90	23,6 ore	Valore D
Ozono	8%	25 ± 2	85 ± 5	4 min	Valore D

B) SOLUZIONE ACQUOSA

	Concentrazione	Temperatura °C	pH	Tempo	Note
Glutaraldeide	2%	20	7,9	10-12 ore	
Acqua ossigenata	3%	37	4,3	1440 min	
	25,6%	24	3,8	7,3 min	
Ac. Peracetico	0,2%	50-56	c.a. 6,5	12 min	

Sterilizzazione con agenti chimici: limitazioni

Effetti biologici (rischio)

Effetti non biologici

Composto	Mutageni	Cancerogeni	Teratogeni	Irritativi	Corrosione	Infiammabilità	Instabilità
Ossido di etilene	+	+	+	±	-	+	+
Ozono	-	-	-	+	±	-	-
Perossido di idrogeno	-	-	-	±	±	-	±
Acido peracetico	-	-	-	+	+	+	+
Glutaraldeide	-	-	-	+	-	-	±
Formaldeide	+	+	-	+	-	-	-
Biossido di cloro	-	-	-	+	+	-	+

Pregi e difetti

Methods	Mechanism	Merits	Demerits	Applications
Heat sterilization	Destroys bacterial endotoxins	Most widely used and reliable method of sterilization, involving destruction of enzymes and other essential cell constituents.	Can be applied only to the thermostable products	Dry heat is applicable for sterilizing glasswares and metal surgical instruments and moist heat is the most dependable method for decontamination of laboratory waste and the sterilization of laboratory glassware, media, and reagents.
Gaseous sterilization	Alkylating	Penetrating ability of gases	Gases being alkylating agents are potentially mutagenic and carcinogenic	Ethylene oxide gas has been used widely to process heat-sensitive devices.
Radiation sterilization	Ionization of nucleic acids	It is a useful method for the industrial sterilization of heat sensitive products.	Undesirable changes occur in irradiated products, an example is aqueous solution where radiolysis of water occurs.	Radiation sterilization is generally applied to articles in the dry state; including surgical instruments, sutures, prostheses, unit dose ointments, plastics
Filtration sterilization	Does not destroy but removes the microorganisms	It is used for both the clarification and sterilization of liquids and gases as it is capable of preventing the passage of both viable and non viable particles.	Does not differentiate between viable and non viable particles	This method is Sterilizing grade filters are used in the treatment of heat sensitive injections and ophthalmic solutions, biological products and air and other gases for supply to aseptic areas.

ASPETTI MICROBIOLOGICI DEI PREPARATI.

11.1. PREPARATI OBBLIGATORIAMENTE STERILI.

- **11.1.1. I preparati parenterali, oftalmici e altri dichiarati sterili, devono soddisfare ai requisiti di sterilità. I materiali e i metodi utilizzati devono garantire la sterilità ed evitare l'introduzione e la crescita dei microrganismi. L'assicurazione della sterilità è garantita solamente dalla stretta osservanza delle norme di buona preparazione, da ambienti dedicati, da appropriate attrezzature, da personale qualificato, dalle procedure di pulizia e di disinfezione, dal ciclo di sterilizzazione utilizzato, dalle tecniche asettiche impiegate, dai monitoraggi microbiologici ambientali. I preparati magistrali ed officinali, devono soddisfare al saggio di sterilità (2.6.1) e al saggio delle endotossine batteriche (2.6.14).**

•

Pharmacopoeia

✦ EU 2005

- ✦ Steam sterilization of terminal sterilization the reference condition for aqueous preparations are heating at a minimum of 121 °C for 15 minutes
- ✦ Sterility Assurance Level (SAL) 10^{-6} or better

✦ USP 29

- ✦ Terminally sterilized products(TSP) must have a probability of nonsterility (PNS) of not more than one in a million units produced. This is often stated as a PNS of 10^{-6} or the probability of product bioburden surviving the sterilization process in any single unit of product is less than one in one million.

Produzione di prodotti farmaceutici sterili

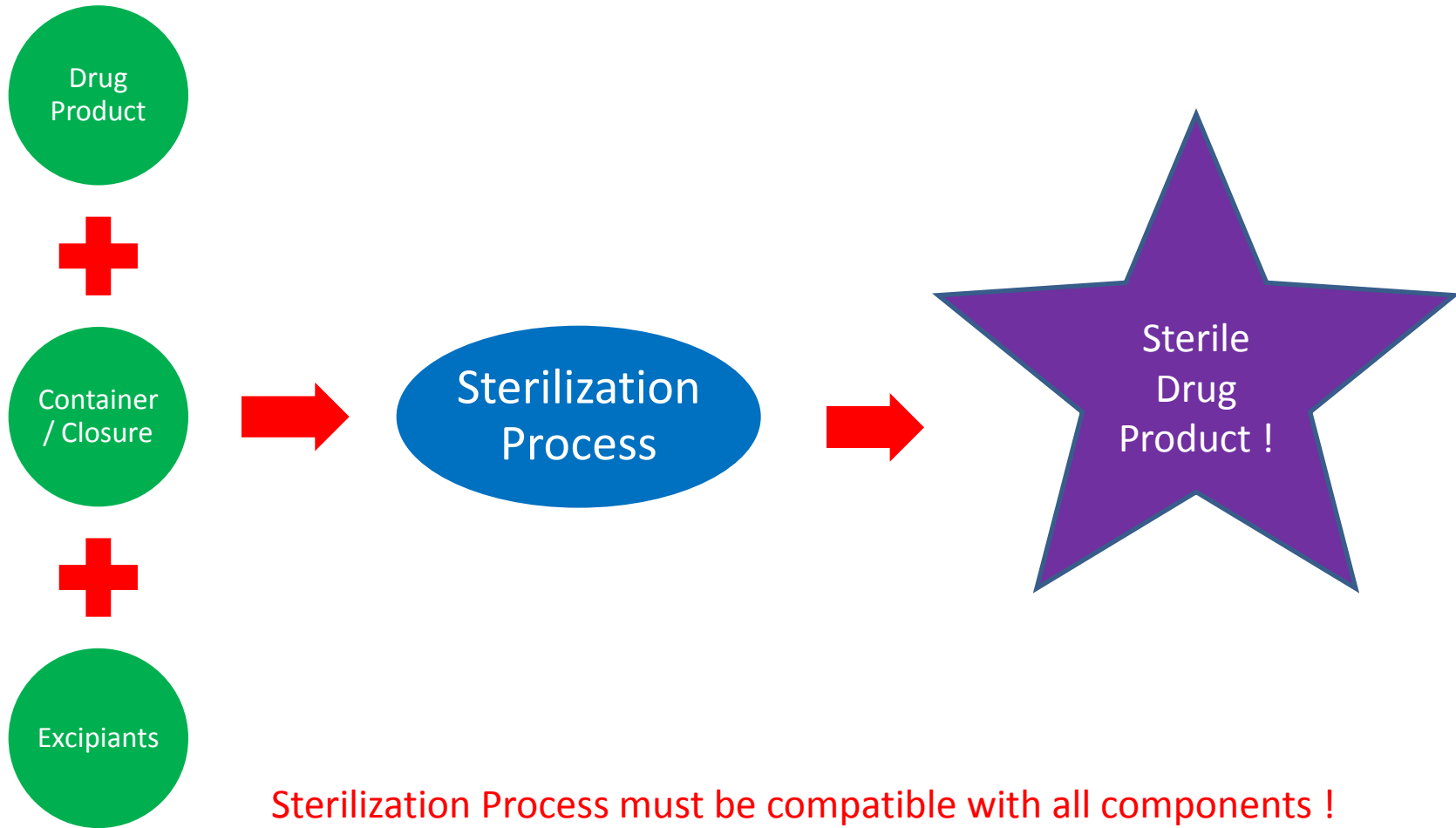
Sterilizzazione terminale

- I contenitori contenenti il farmaco vengono riempiti, sigillati in condizioni igieniche per evitare contaminazione, ma non mantengono la sterilità.
- Il prodotto nel suo contenitore finale è sottoposto a sterilizzazione mediante calore o irradiazione.

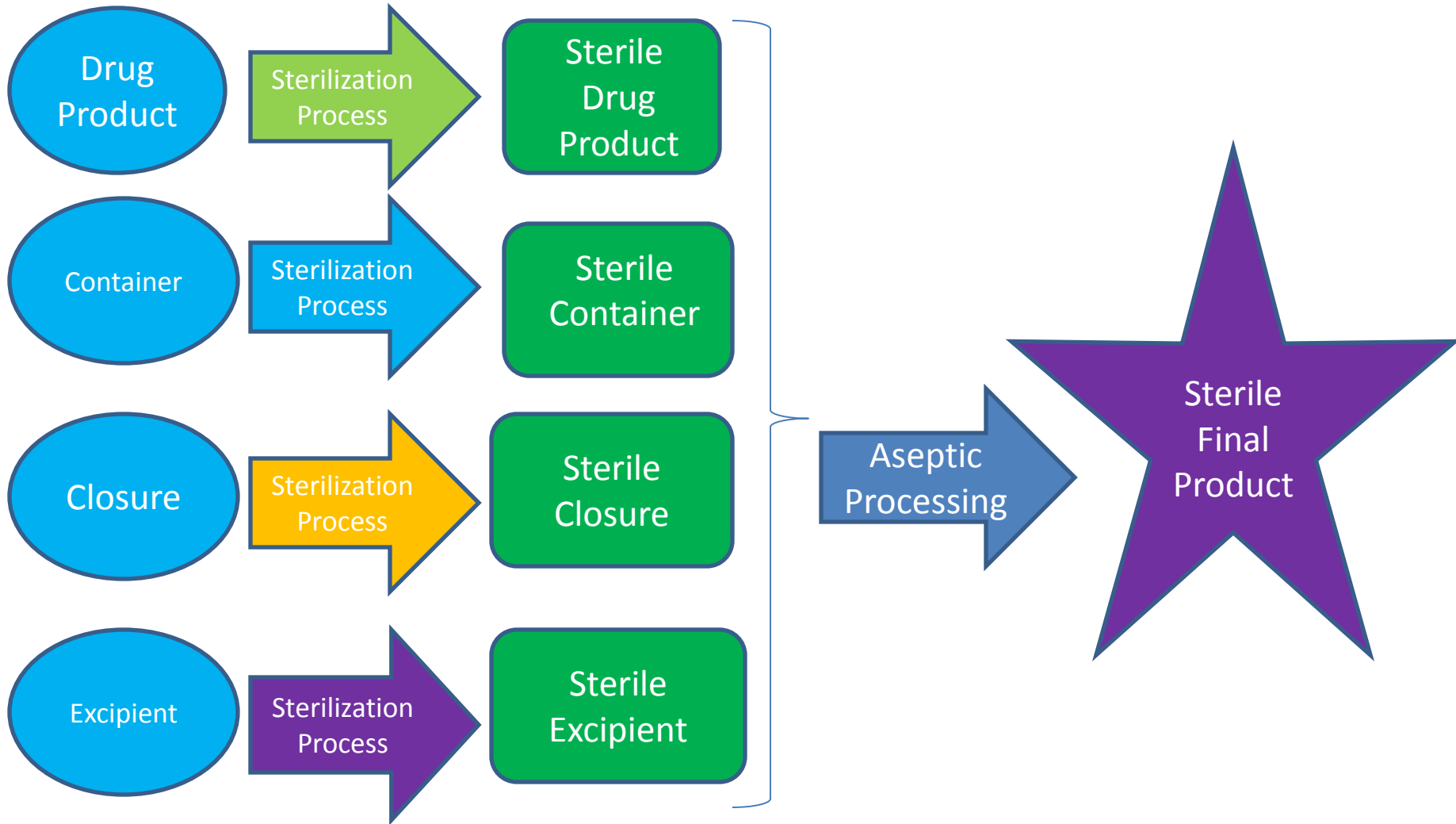
Processo di asepsi

- Il farmaco, il contenitore ed il sigillo vengono sottoposti a sterilizzazione separata e quindi messi insieme.
- In assenza di sterilizzazione finale è necessario che le norme di asepsi siano rigorose.

Sterilizzazione terminale



Asepsi



Can use multiple sterilization processes each optimized for the individual component

Pharmaceutical Importance of Sterilization

- Moist heat sterilization is the most efficient biocidal agent. In the pharmaceutical industry it is used for: Surgical dressings, Sheets, Surgical and diagnostic equipment, Containers, Closures, Aqueous injections, Ophthalmic preparations etc. ..
- Dry heat sterilization can only be used for thermo stable, moisture sensitive or moisture impermeable pharmaceutical and medicinal. These include products like; Dry powdered drugs, Suspensions of drug in non aqueous solvents, Oils, fats waxes, soft hard paraffin silicone, Oily injections, implants, ophthalmic ointments and ointment bases etc.

■ Gaseous sterilization is used for sterilizing thermolabile substances like; hormones, proteins, various heat sensitive drugs etc.

■ U.V light is perhaps the most lethal component in ordinary sunlight used in sanitation of garments or utensils.

■ Gamma-rays from Cobalt 60 are used to sterilize antibiotic, hormones, sutures, plastics and catheters etc.

■ Filtration sterilizations are used in the treatment of heat sensitive injections and ophthalmic solutions, biological products, air and other gases for supply to aseptic areas. They are also used in industry as part of the venting systems on fermentors, centrifuges, autoclaves and freeze driers.

Decision tree

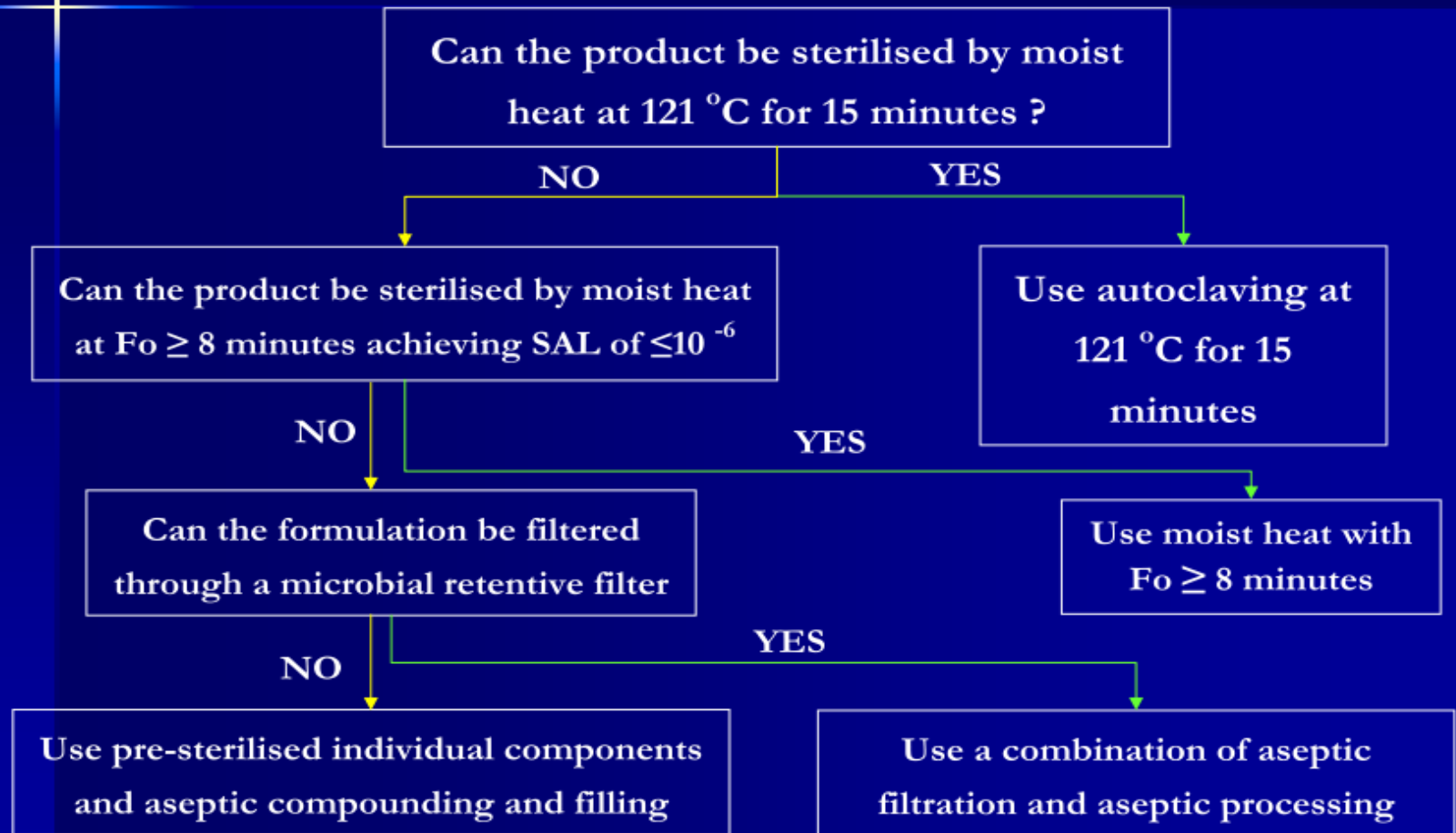
for selection of the sterilisation methods



European Medicines Agency

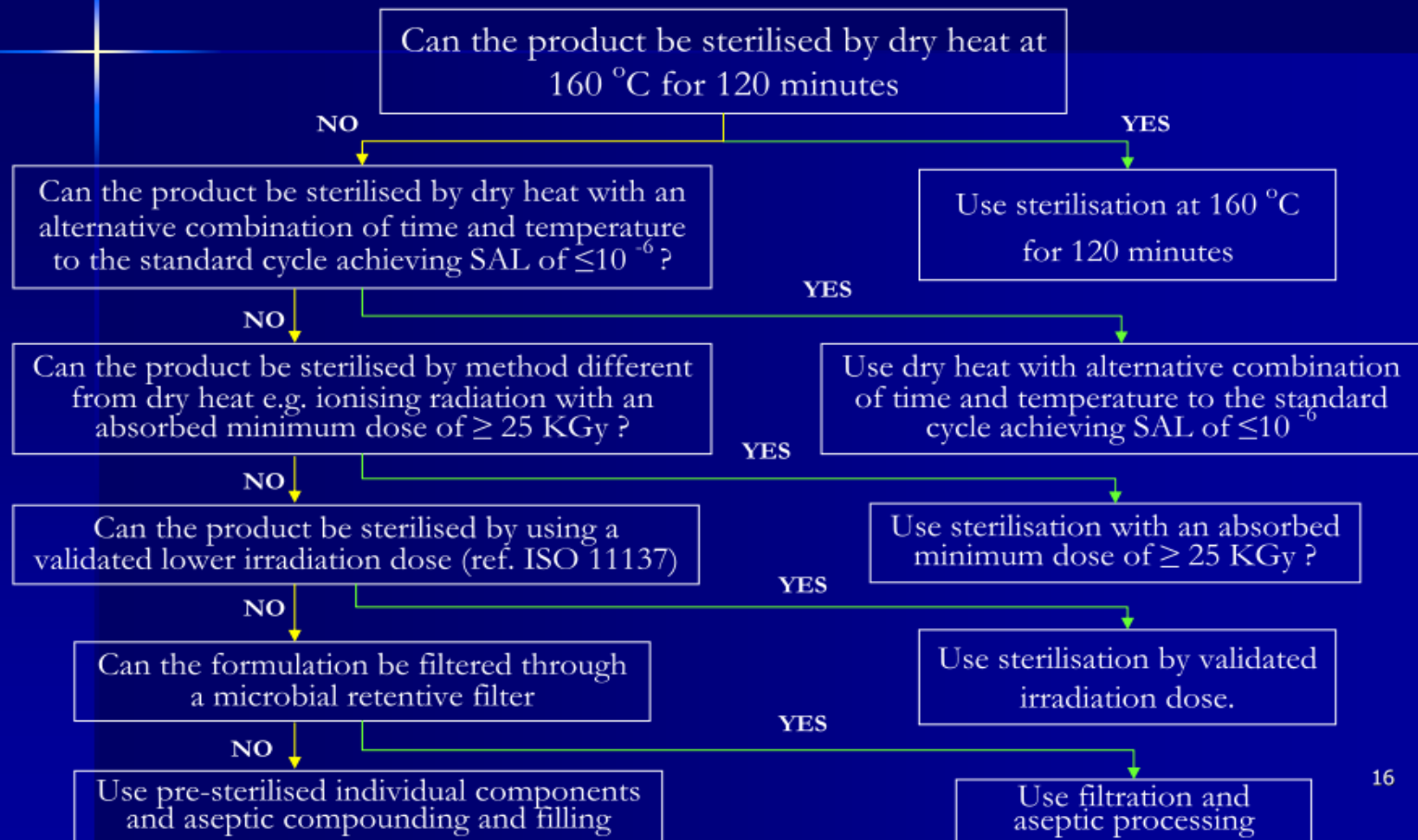
Metodi per prodotti acquosi

Decision tree for the sterilisation choices for aqueous products



Metodi per prodotti non acquosi

Decision tree for sterilisation choices for non-aqueous liquid, semi-solid or dry powder products



Il prodotto finito

- Una volta prodotto, confezionato e, se del caso, sterilizzato, vengono prelevati dei campioni per ogni lotto di produzione e gli stessi vengono sottoposti a tutti i test finali, sia chimici che fisici. Si verifica così che il prodotto risponda effettivamente a tutte le caratteristiche volute in fase di progettazione. Per i prodotti sterili si verifica l'avvenuta sterilizzazione e contestualmente la non tossicità (residuo ETO etc).

Produzioni in asespì

Controlli:

CONTAMINAZIONE MICROBICA DELL'ARIA

Metodo: valutazione del n0 di UFC/m3 mediante campionamento dell'aria con apparecchio idoneo.

CONTAMINAZIONE MICROBICA DELLE SUPERFICI

Valutazione mediante piastre a contatto del numero delle UFC per unità di superficie. Il controllo viene effettuato su pavimenti, pareti, superfici, attrezzature, macchinari e abiti sterili del personale.

Per pavimenti, superfici attrezzature/macchinari e abiti sterili del personale devono essere stabiliti degli standard interni.

L'area asettica deve essere pulita e disinfettata frequentemente, secondo procedure scritte, utilizzando più di un tipo di disinfettante in modo da evitare lo sviluppo di microrganismi resistenti

Condizioni di contaminazione ambientale per la preparazione di prodotti sterili

classe	N° max consentito uguale o superiore		N° max consentito microrganismi viventi per m ³
	>0.5 µm	>5 µm	
A (flusso laminare)	3500	0	Inferiori a 1
B	3500	0	5
C	350000	2000	100
D	3.500.000	20000	500

Sterilizzazione in ospedale

I rischi di infezione derivanti da procedure invasive possono essere contenuti con la realizzazione di condizioni di asepsi e l'impiego di materiale sicuramente sterile.

Il processo di sterilizzazione costituisce un momento fondamentale per la prevenzione e il controllo delle infezioni ospedaliere.

La Direttiva Europea 93/42, responsabilizza l'azienda ospedaliera che svolge autonomamente tutte le fasi del processo di sterilizzazione del materiale, utilizzato in attività di prevenzione diagnosi e cura.

Il processo di sterilizzazione deve essere convalidato (controlli fisici, chimici, biologici) e registrato nell'apposito registro disponibile in tutte le sale operatorie e alcuni servizi.

Tutta la documentazione relativa alla convalida deve essere conservata per 5 anni.

1 Decontaminazione

La procedura finalizzata a ridurre la carica microbica, prevista dal DPR 28 settembre 1990 (A TUTELA DELL'OPERATORE

DALL' HIV) limita il rischio di contagio e stabilisce che TUTTI I presidi riutilizzabili venuti a contatto con materiale potenzialmente infetto, devono, dopo l'uso, essere immediatamente immersi in una soluzione di Fenoli per 30 minuti (vedi prontuario disinfettanti).



2 Pulizia manuale

Tutto il materiale riutilizzabile dopo la decontaminazione e prima del processo di sterilizzazione deve essere accuratamente

lavato in tutte le sue parti, indossando mezzi protettivi: camici, grembiule impermeabile, guanti di tipo domestico, mascherina monouso, occhiali o visiera di protezione. Dopo aver disciolto la busta da 25 ml di detergente proteolitico in 5 lt d'acqua a temperatura di 50° C immergere lo strumentario aperto e smontato per 10-20 minuti. Rimuovere il materiale ponendo massima attenzione ad eventuali residui. Risciacquare abbondantemente con acqua corrente.



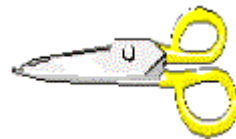


3 Asciugatura [Top](#)

Il materiale lavato deve essere accuratamente asciugato perchè la presenza di acqua residua nello stesso può compromettere il processo di sterilizzazione a vapore.

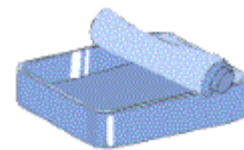
Per la sterilizzazione ad Ossido di Etilene può determinare la formazione di una sostanza tossica (glicole etilenico).

Per i materiali cavi utilizzare aria compressa o lasciare lo stesso in posizione verticale



4 Manutenzione dello strumentario [Top](#)

Provvedere frequentemente alla lubrificazione dei ferri chirurgici con olio spray. Si sconsiglia l'olio al silicone perché forma una pellicola impermeabile al vapore.



5 Confezionamento [Top](#)

TEMPI DI MANTENIMENTO DELLA STERILITA'

Materiale sterilizzato conservato in armadi chiusi in un ambiente pulito ad umidità e temperatura controllate.

Cestelli con ghiera	1 giorno
Containers con filtro senza guarnizione	1-2 giorni
Containers con filtro con guarnizione	28/30 giorni
Containers con valvole	28/30 giorni
Carta medical grade in singolo strato	1-2 giorni
Carta medical grade in doppio strato ortogonale	30 giorni
Accoppiato carta poliestere polipropilene confezione singola	5 settimane
Accoppiato carta poliestere polipropilene confezione doppia	2 mesi
Tyvek	2 anni

Requisiti essenziali per allestimento di miscele galeniche in ambito ospedaliero

• Asepsi

- Locali adeguati (camere bianche – cappe a flusso laminare orizzontale)
- Apparecchiature idonee
- Abbigliamento idoneo
- Preparazione degli operatori
- Corretta sequenza di miscelazione !!
- Controllo qualità
- Conservazione adeguata delle miscele in sacca

Preparazione in asepsi di sacche per la nutrizione parenterale



Galenici ospedalieri

- Sacche personalizzate di **immunoglobuline** umane ad alte dosi da somministrare ev.
- **Collirio (F.U.):** soluzione o sospensione in veicolo acquoso od oleoso destinata ad essere applicata nel sacco congiuntivale o sulla cornea.

Requisiti F.U. XI ed:

- sterili
- apirogeni
- isotonici con il sangue

*“Sterile drug manufacturers should have a keen awareness of the public health implications of distributing a nonsterile product. **Poor CGMP* conditions** at a manufacturing facility can ultimately pose a **life-threatening health risk to a patient.**”*

FDA Guidance “Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing-Current Good Manufacturing Practice*” 2004.

FAQ

- Quali sono le differenze tra disinfezione e sterilizzazione?
- Per quali oggetti è necessaria la sterilizzazione?
- Quali sono i metodi fisici di sterilizzazione?
- Che cosa sono i sistemi di monitoraggio della sterilizzazione?
- Quali sono i metodi chimici di sterilizzazione?