



università di ferrara  
DA SEICENTO ANNI GUARDIAMO AVANTI.

## Disinfezione e sterilizzazione

1

## DISINFEZIONE

Distruzione dei microrganismi patogeni presenti su un substrato o in un determinato ambiente

2

## STERILIZZAZIONE

Distruzione di tutte le forme viventi, spore comprese, su un determinato substrato o in un ambiente

3

## ANTI SEPSI

Prevenzione o blocco della crescita o dell'azione dei microrganismi attraverso l'inibizione o la distruzione degli stessi (su tessuti viventi).

4

## ASEPSI

Impedire che su un dato substrato pervengano germi infettanti (su tessuti viventi),

5

## DISINFEZIONE

✓L'agente disinfettante più adatto sarà scelto in rapporto alla resistenza del/dei microrganismo/i che si vuole distruggere e tenendo conto dei fattori ambientali e della natura del substrato che li ospita.

✓La scelta del disinfettante e delle modalità di applicazione è basata sulla conoscenza delle caratteristiche biologiche dei microrganismi e dei singoli disinfettanti.

6

## DISINFEZIONE

Può essere ottenuta mediante:

- agenti fisici:
  - calore (a temperature più basse e per tempi inferiori a quelli necessari per la sterilità)
- agenti chimici:
  - ossidanti (acqua ossigenata)
  - alogeni (cloro, iodio)
  - alcoli (etilico, isopropilico)
  - aldeidi (formica, glutarica)
  - fenoli
  - saponi
  - detergenti
  - clorexidina

7

## CLASSIFICAZIONE DEI DISINFETTANTI

AGENTI FISICI	→	FILTRAZIONE CALORE RADIAZIONI
AGENTI NATURALI	→	LUCE ESSICCAMENTO TEMPERATURA CONCORRENZA VITALE DILUIZIONE
AGENTI CHIMICI	→	INORGANICI ORGANICI

8

## DISINFEZIONE COL CALORE

### LA BOLLITURA

Per 15-20 min:

- efficacia = soddisfacente solo in assenza di batteri sporigeni
- impieghi = potabilizzazione dell'acqua



9

## DISINFEZIONE COL CALORE

### La pastorizzazione

Si impiegano temperature sotto i 100°C

- basso riscaldamento (pastorizzazione prolungata) = 62-65°C x 30 min.
- alto riscaldamento (pastorizzazione breve) = 72-75°C x 15-30 secondi
- alto riscaldamento di breve durata (HTST) = 85°C x 2-4 secondi

10

## DISINFEZIONE COL CALORE

### La Uperizzazione (UHT)

- Riscaldamento indiretto: 6-10 secondi a 135-140°C
- Riscaldamento diretto: 2-4 secondi a 140-150°C

### La Tyndalizzazione (sterilizzazione frazionata)

- Il materiale è riscaldato a 60-100°C per 30 min. e il procedimento è ripetuto 3 volte in 3 giorni consecutivi
- Nell'intervallo tra i trattamenti, l'incubazione a 37°C provoca la germinazione delle spore

11

## FATTORI CHE INFLUENZANO L'ATTIVITÀ DEI DISINFETTANTI

- 1) Fattori inerenti il disinfettante
- 2) Ambiente o materiale da trattare
- 3) Popolazione microbica da distruggere

12

## FATTORI CHE INFLUENZANO L'ATTIVITÀ DEI DISINFETTANTI

### 1) FATTORI INERENTI IL DISINFETTANTE:

- Concentrazione
- Stabilità della preparazione
- Tempo di contatto

13

## FATTORI CHE INFLUENZANO L'ATTIVITÀ DEI DISINFETTANTI

### 2) AMBIENTE O MATERIALE DA TRATTARE:

- Temperatura
- pH
- Caratteristiche del materiale
- Modalità di contatto

14

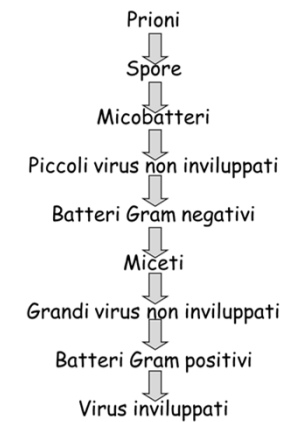
## FATTORI CHE INFLUENZANO L'ATTIVITÀ DEI DISINFETTANTI

### 3) POPOLAZIONE MICROBICA DA DISTRUGGERE:

- Caratteristiche delle singole specie
- Entità della flora microbica
- Resistenza ai singoli disinfettanti

15

## RESISTENZA DEI MICROORGANISMI ALLA DISINFESTAZIONE



16

## CRITERI DI SCELTA DEI DISINFETTANTI

- EFFICACIA
- INNOCUITÀ
- NON ALTERAZIONE DEI MATERIALI SU CUI DEVE AGIRE
- AZIONE NON ANNULLATA O RIDOTTA DAL SUBSTRATO SU CUI DEVE AGIRE

Inoltre:

- BASSO COSTO
- NON INFIAMMABILITÀ
- FACILE UTILIZZO
- MANCANZA DI ODORE SGRADIVOLE

17

## CLASSIFICAZIONE DEI DISINFETTANTI CHIMICI

- **Inorganici**
  - Acidi**
  - Alcali**
  - Sali dei metalli pesanti**
  - Ossidanti**
  - Alogeni**
- **Organici**
  - Alcoli**
  - Aldeidi**
  - Derivati del fenolo**
  - Composti tensioattivi**
  - Essenze**

18

## OSSIDANTI

✓ **Acqua ossigenata** ( $H_2O_2$ ) dal 3% al 6% (10-30% attività sporocida).

- Trattamento di ferite ed abrasioni.
- Necessita di catalasi cellulare per formazione di  $O_2$  gassoso ed  $OH^-$ .

✓ **Acido peracetico** ( $CH_3 \cdot COOOH$ )

- A concentrazioni <0,3% è sporocida, battericida, virucida e fungicida.
- Non necessita di catalasi cellulare.

19

## ALOGENI

### Composti del Cloro e dello Iodio

- **Ipoclorito di sodio (NaOCl)** - candeggina - amuchina
  - Disinfettante per acqua e superfici (inattivato dal materiale organico). Cloramina (libera HOCl) meno irritante, utilizzabile anche per antisepsi.
  - Meccanismo d'azione: impedisce la fosforilazione ossidativa, ossida enzimi essenziali.

- **Iodio ( $I_2$ )**

- In soluzione acquosa in ioduro di potassio - collutori;
- in soluzione alcolica - tintura di iodio - antisettico.

- **Iodofori**: sono composti di iodio con un carrier; meno tossici per i tessuti.

- Meccanismo d'azione: precipita le proteine ed enzimi essenziali.

20

## ALCOLI

**Alcool etilico (70%)**  $\text{CH}_3\text{—CHOH}$

**Alcool isopropilico (90%)**  $\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix} \text{CHOH}$

Spiccata attività sui batteri e virus involuppati. Non sporocidi, bassa attività contro funghi e virus nudi.

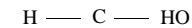
Meccanismo d'azione: determinano danni alle membrane e denaturano le proteine.

21

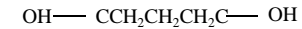
## ALDEIDI

**Agenti alchilanti.** Meccanismo d'azione: alterazione dei gruppi attivi  $\text{COOH}$ ,  $\text{NH}_2$ ,  $\text{SH}_2$ ,  $\text{OH}$  con blocco della attività enzimatiche.

Formaldeide (gas); in soluzione al 34-38%: formalina.

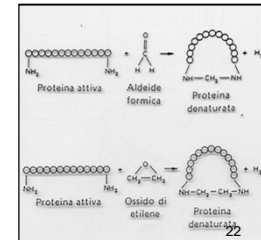


Lisoformio: soluzione saponosa di formalina (7-8%) e saponi.  
Glutaraldeide (0,1% disinfettante; 2% sterilizzante)



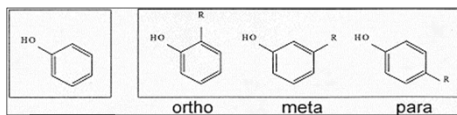
Ossido di etilene: gas sporicida.

- efficacia = ottima (notevole capacità di penetrazione)
- impieghi = strumenti medico/chirurgici che non sopportano elevate temperature (Es. endoscopi).
- Azione irritante: è necessario l'allontanamento prima dell'uso (camere a ventilazione forzata).



## FENOLI

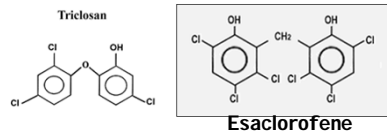
Fenolo a conc. dallo 0,4% al 5%.



**fenolo**

**cresoli**

Bifenoli: triclosan ed esaclorofene



Meccanismo d'azione: determinano danni alle membrane e coagulano le proteine citoplasmatiche.

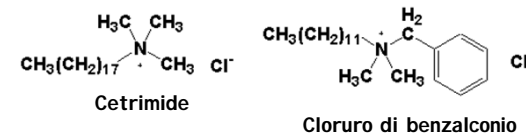
23

## DETERGENTI CATIONICI

### Composti dell'ammonio quaternario

Antisettici. Batteriostatici a basse concentrazioni e battericidi ad alte concentrazioni. *Pseudomonas*, Micobatteri, molti virus e le spore batteriche sono resistenti.

Meccanismo d'azione: penetrano la membrana batterica, ne determinano la disorganizzazione, degradano le proteine.



24

## COMPOSTI DI METALLI PESANTI

Inattivano le proteine interagendo con gruppi -SH

### Mercurio:

#### Uso

Composti inorganici:

Cloruro mercurico sol. acquosa 0,1% o alcolica 70% per la cute

Ossido mercurico pomata 1% per la congiuntivite

Mercurio ammoniato pomata 3% per infez. oculari

Composti organici:

Thimersol (mertiolato) sol. per infez. oculari; tintura o pomata per la cute

Nitromersol (metafene) sol. acquosa o tintura per la cute

Merbromina (mercurocromo) sol. 2% per la cute; sol. 1% per irrigazioni vescicali

### Argento:

#### Uso

Composti inorganici:

Nitrato di argento sol. 1% per le inf. oculari da *N. gonorrhoeae*

Composti organici:

Picrato di argento per il trattamento delle infez. vaginali fungine

Sulfadiazina di argento crema per il trattamento di ustioni

25

## STERILIZZAZIONE

Processo che si prefigge di distruggere su un substrato o in un determinato ambiente tutte le forme di vita, spore comprese.

La sterilizzazione è perseguibile con:

MEZZI FISICI

MEZZI CHIMICI

Filtrazione  
Calore  
Radiazioni

26

## STERILIZZAZIONE CON IL CALORE

Prima di procedere alla sterilizzazione vera e propria, occorre conoscere:

- **Carica di contaminazione**

- **Tempo di morte termica**

- Tempo necessario per uccidere tutti i microrganismi presenti.
- Varia in rapporto alla carica contaminante ed alla conducibilità termica del materiale da trattare.

27

## STERILIZZAZIONE CON IL CALORE

- **Punto di morte termica**
  - Più bassa temperatura capace di uccidere un determinato microrganismo.
  - Varia in base al metodo di sterilizzazione usato.

- **Valore D**

Il **valore di riduzione decimale** è il tempo necessario per ridurre, ad una data temperatura, una popolazione microbica di una unità logaritmica, ovvero del 90%.

28

## STERILIZZAZIONE CON IL CALORE

### VALORE D

$$D = \frac{t}{\log n^{\circ} - \log n^t}$$

t = tempo rilevato

n<sup>°</sup> = numero di germi presenti prima della sterilizzazione

n<sup>t</sup> = numero di germi presenti al momento t

29

## STERILIZZAZIONE CON IL CALORE

Il calore è considerato il mezzo più sicuro, rapido ed economico per qualsiasi materiale che non sia termolabile.

Il tempo di sterilizzazione decresce con l'aumentare della temperatura.

Il calore può essere usato essenzialmente in due modi:

✓ **SECCO**

✓ **UMIDO**

**In entrambi i casi l'azione biocida del calore deriva dall'ossidazione dei costituenti cellulari con denaturazione irreversibile degli enzimi e delle strutture proteiche.**

La sensibilità del calore varia in rapporto al loro contenuto in H<sub>2</sub>O: più questa è alta, più sensibili sono i microrganismi al calore.

30

## STERILIZZAZIONE CON IL CALORE

In genere:

❑ I batteri in fase vegetativa non sopravvivono se esposti 10' a 80°C oppure 15' a 75°C (Calore umido)

❑ Le spore resistono a temperature pari a 110 - 120°C ed il tempo della loro morte varia a seconda della saturazione in vapore acqueo dell'ambiente in cui sono esposti.

❑ Protozoi e miceti si comportano come batteri allo stato vegetativo; i virus sono altamente sensibili al calore.

31

## STERILIZZAZIONE CON IL CALORE

❑ Gomma e plastica si deteriorano alle alte temperature

❑ Le macchie di sostanze albuminoidi (sangue, pus, ecc.) si fissano stabilmente sui tessuti sterilizzati con vapore.

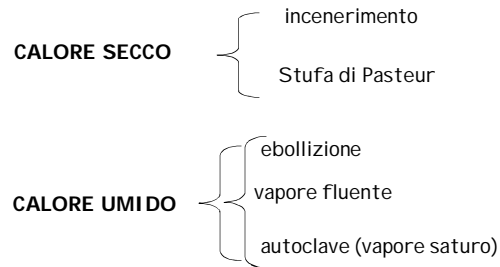
❑ Nella sterilizzazione può essere previsto l'imballaggio degli oggetti con materiale permeabile all'aria ed al vapore, impermeabile alla penetrazione di microbi, resistente alle lacerazioni, non in grado di cedere fibre o particelle al materiale che avvolge.

32



## STERILIZZAZIONE CON IL CALORE

La sterilizzazione con il calore può essere ottenuta usando:



Il principio fisico che sta alla base dei due diversi metodi è che il vapore è un migliore conduttore termico rispetto al calore secco, cioè: a parità di temperatura, la sterilizzazione è raggiunta in un tempo minore.

33

## STERILIZZAZIONE A SECCO

### • L'INCENERIMENTO

Sulla fiamma o in bruciatori

- efficacia = ottima

- impieghi = molto limitati

Strumenti di laboratorio metallici (anse, aghi),  
distruzione di tessuti, materiale cartaceo o carogne  
contaminati



### • IL CALORE SECCO

Richiede un tempo ed una temperatura  
maggiori di quelle impiegate col calore  
umido, non essendo l'aria un buon  
conduttore del calore.

- efficacia = ottima

- impieghi = vetreria, materiali anidri

che possono essere alterati dal  
contatto col vapore.

Parametri per la sterilizzazione a secco		
Temperatura	Tempo	
°C	min	
140	180	
150	150	
160	120	
170	60	

34

## STERILIZZAZIONE A SECCO

### • ARIA RISCALDATA

- Si usano le **Stufe Pasteur** o a secco in cui il calore si trasmette per convezione o irraggiamento dalle pareti della stessa.

- Utile per materiale termoresistente, non corrode.

- Il tempo di morte termica nella stufa a secco è il seguente:

- 30'	a 180°C
- 50'	a 170°C
- 120'	a 160°C
- 150'	a 150°C

I parametri di funzionamento sono 2:

TEMPERATURA  
TEMPO DI ESPOSIZIONE<sup>35</sup>



## STERILIZZAZIONE IN AMBIENTE UMIDO

### Ebollizione

- E' il metodo più semplice per la sterilizzazione dell'acqua e di oggetti in essa immersi o dei recipienti stessi.

- L'ebollizione va prolungata per almeno 20'



36

## STERILIZZAZIONE IN AMBIENTE UMIDO

### Esposizione al vapore fluente

- Si può usare una autoclave non chiusa o meglio la pentola di Kock o la pentola di Merke.
- Si applica per la Tindalizzazione (30' 1 volta /die per 3-4 gg.)



37

## STERILIZZAZIONE IN AMBIENTE UMIDO

### Vapore sotto pressione: l'autoclave

- ✓ Si usa vapore saturo, secco, sotto pressione.
- ✓ Il ciclo di base è 121° C per 15' ad 1 atmosfera.

Parametri di funzionamento dell'autoclave:

- **Temperatura**
- **Tempo**
- **Pressione**



38

## STERILIZZAZIONE A SECCO

### IL VAPORE SOTTO PRESSIONE: L'AUTOCLAVE

- Permette di raggiungere temperature >100°C.
- Alla pressione di 1 atmosfera il vapore raggiunge una temperatura di 121°C alla quale le spore più resistenti vengono distrutte.

- efficacia : ottima, è la tecnica di sterilizzazione più utilizzata  
 - impieghi : oggetti in gomma, garze, terreni di coltura in brodo o agarizzati, purché privi di sostanze deperibili alle alte temperature (siero)

TEMPI DI STERILIZZAZIONE A DIVERSE TEMPERATURE

Temperatura °C	Tempo min	Pressione atm
115	30	+ 0.5
121	15	+1
134	10	+2



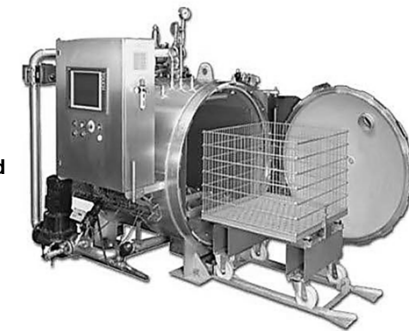
39

## STERILIZZAZIONE IN AMBIENTE UMIDO

### IL VAPORE SOTTO PRESSIONE: L'AUTOCLAVE

Di autoclavi ne esistono 3 tipi fondamentali:

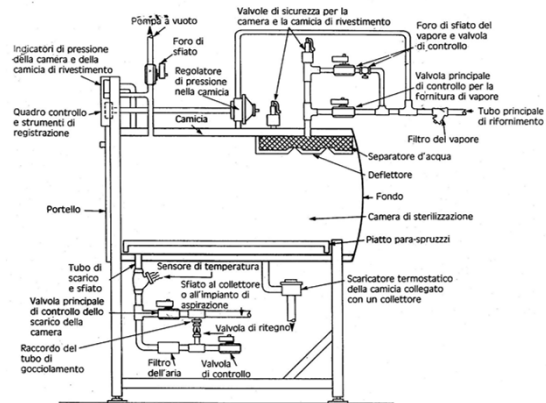
- **Verticali da laboratorio**
- **Orizzontali per ospedali od uso industriale**
- **Orizzontali per materiali porosi**



40

## STERILIZZAZIONE IN AMBIENTE UMIDO

### SCHEMA LONGITUDINALE DI UNO STERILIZZATORE A VAPORE



41

## STERILIZZAZIONE CON LE RADIAZIONI

### RADIAZIONI IONIZZANTI

- ✓ I raggi  $\gamma$  (gamma) sono fotoni ad elevata energia emessi da un nucleo in transizione tra due livelli energetici; pertanto si generano nel nucleo atomico di elementi radioattivi.
- ✓ Le radiazioni ionizzanti agiscono trasferendo la loro energia all'interno della cellula colpita, la cui sensibilità è proporzionale alla quantità di DNA presente, che viene alterato.
- ✓ I batteri GRAM + sono più sensibili alle radiazioni ionizzanti di quelli GRAM -; le spore sono più resistenti delle forme vegetative; miceti e protozoi hanno la stessa sensibilità dei batteri mentre i virus sono molto più resistenti.

42

## STERILIZZAZIONE CON LE RADIAZIONI



43

## STERILIZZAZIONE CON LE RADIAZIONI

### RADIAZIONI IONIZZANTI

Una dose di 2,5 Megarad corrisponde ad una sterilizzazione ottenuta:

- in vapore saturo a 121°C per 2 h;
- in stufa a secco a 160°C per 2 h.

I raggi  $\gamma$  sono di solito adoperati per sterilizzare presidi medico - chirurgici.

In questo caso ogni oggetto deve essere avvolto in materiale impermeabile ai microrganismi ma non alle radiazioni.

Possono essere trattati anche prodotti biologici quali protesi, ossa, ecc.

44

## STERILIZZAZIONE CON LE RADIAZIONI

### 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



45

## STERILIZZAZIONE CON LE RADIAZIONI



- Lampade germicide a lunghezza d'onda di 250-260 nm.
- Meccanismo d'azione: rotture e mutazioni negli acidi nucleici.
  - efficacia = ottima ma limitata alle superfici esposte (radiazioni non penetranti)
  - impieghi = potabilizzazione dell'acqua, sterilizzazione dell'aria e delle superfici (laboratori, sale operatorie).

46

## STERILIZZAZIONE CON LE RADIAZIONI

### RADIAZIONI ULTRAVIOLETTE (UV)

✓Risultano poco penetranti (ancora meno dei raggi g) ed agiscono per trasformazione fotochimica delle basi pirimidiniche del DNA cellulare.

✓La sterilizzazione con i raggi UV è adoperata soprattutto nei laboratori scientifici per trattare l'aria.

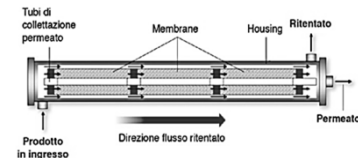
✓Le lampade germicide esplicano la loro massima azione se l'aria ha una temperatura di circa 27°C.

✓Il tempo di esposizione può essere permanente e l'esposizione deve avvenire quando i locali trattati non sono utilizzati. Questo perché i raggi UV sono molto irritanti per le mucose (occhi in particolare).

47

## FILTRAZIONE

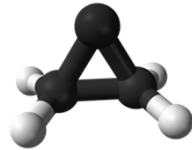
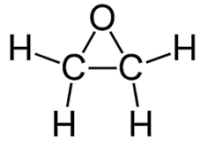
- Certi terreni di coltura o sieri o farmaci non sopportano l'esposizione ad alte temperature.
- Essi possono essere sterilizzati facendoli passare attraverso filtri con pori di diametro inferiore a quello dei più piccoli batteri.
- I filtri possono avere diversa natura:
  - porcellana porosa;
  - amianto;
  - cellulosa;
  - polimeri sintetici.



- La sospensione viene inviata contro un mezzo filtrante (la membrana); il fluido passa attraverso essa e viene raccolto a valle, mentre i solidi sospesi vengono trattenuti, sulla superficie della membrana.
- La forza spingente del processo è rappresentata dalla differenza di pressione applicata a monte e a valle del mezzo filtrante per ottenere il passaggio del fluido.

48

## STERILIZZAZIONE CON OSSIDO DI ETILENE



- L'ossido di etilene è un gas incolore, che liquefa a 10,7°C e solidifica a - 111,3°C; solubile in acqua e nella maggior parte dei solventi organici (alcooli, esteri, olii, ecc.).
- Agisce su tutti i microrganismi, comprese le spore, per alchilazione e la sua azione dipende da:
  - concentrazione (700 - 1200 mg/l)
  - temperatura (55 - 60°C)
  - tasso di umidità (70%)
  - durata dell'esposizione (2 - 4 h)

49

## STERILIZZAZIONE CON OSSIDO DI ETILENE

- Si usa un apparecchio simile all'autoclave in cui l'ossido di etilene viene mescolato con la CO<sub>2</sub> per renderlo ininflammabile ed inesplosivo.
- Non altera il substrato e può essere usato anche su materiale termolabile.
- Dopo il trattamento, per la sua tossicità ed in rapporto alla capacità di assorbire il gas da parte dei diversi materiali, occorre procedere al DESORBIMENTO.



50

## STERILIZZAZIONE CON GAS-PLASMA

- Il sistema di sterilizzazione utilizza l'azione sinergica del perossido d'idrogeno e del *gas plasma* a bassa temperatura per distruggere rapidamente i microrganismi.
- Al termine del processo di sterilizzazione, nessun residuo tossico rimane nei materiali trattati.



## STERILIZZAZIONE CON GAS-PLASMA

- Questa nuova metodologia è particolarmente adatta per la **sterilizzazione di strumenti sensibili al calore e all'umidità** poiché la temperatura di processo non supera i 50°C e la sterilizzazione avviene in ambiente praticamente secco (in poco più di 1 ora).
- Il gas plasma a bassa temperatura consiste di una nube reattiva di ioni, elettroni e particelle atomiche neutre che può essere prodotta attraverso l'azione di un forte campo elettrico o magnetico.
- Nel plasma, il perossido di idrogeno si dissocia in specie reattive le quali collidono/reagiscono ed uccidono i microrganismi; dopo aver reagito con gli organismi e fra loro, i componenti attivati perdono la loro energia e si ricombinano per formare O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, ed altri prodotti secondari non tossici.

52

## INDICATORI DI STERILIZZAZIONE

✓ Per il controllo dei cicli di sterilizzazione si utilizzano degli appositi indicatori, che si possono dividere in tre gruppi:

- Indicatori biologici
- Indicatori chimici
- Indicatori fisici

✓ Gli indicatori fisici servono a determinare temperatura, pressione, tempo, radioattività a seconda della metodica usata.

✓ Gli indicatori chimici sono dati da **sostanze che virano di colore** in rapporto alla temperatura raggiunta e/o al tempo per il quale è stata mantenuta.

✓ Gli indicatori biologici utilizzano **spore di germi apatogeni**.

53

## INDICATORI DI STERILIZZAZIONE



### INDICATORI BIOLOGICI

✓ Sono indicatori che permettono di valutare l'efficacia della sterilizzazione, quindi l'avvenuta uccisione dei microrganismi in fase vegetativa o di spora.

✓ Si tratta infatti di **spore batteriche** inoculate su diversi tipi di supporto che, oltre a consentirne l'uso appropriato, emulano al meglio il processo che porta all'abbattimento della carica microbica.

✓ Le spore di *Geobacillus stearothermophilus*, *Bacillus atrophaeus* o *Bacillus pumilus* sono selezionate per resistenza a specifici agenti sterilizzanti, quali vapore, calore secco, ossido di etilene, radiazioni ecc.

54

## INDICATORI DI STERILIZZAZIONE



### INDICATORI CHIMICI

✓ Si tratta di un'ampia varietà di indicatori basati sulla reattività di **inchiostri a viraggio di colore**; una parte si limita ad avere la funzione di indicare l'avvenuta esposizione al processo di sterilizzazione, servono in sostanza a distinguere i prodotti che sono stati sottoposti al ciclo da quelli che non lo sono stati.

✓ Un esempio è il nastro indicatore che viene applicato ai cestelli o alle confezioni di materiale da sterilizzare.

✓ Altri sistemi invece mostrano una maggiore sensibilità, reagendo con il viraggio di colore solo in presenza di determinate condizioni minime relative ai parametri critici del ciclo, ad esempio specifiche combinazioni di tempo-temperatura-qualità del vapore nel caso della sterilizzazione con vapore.

55