

# **IGIENE E SICUREZZA NELLE SALE OPERATORIE**

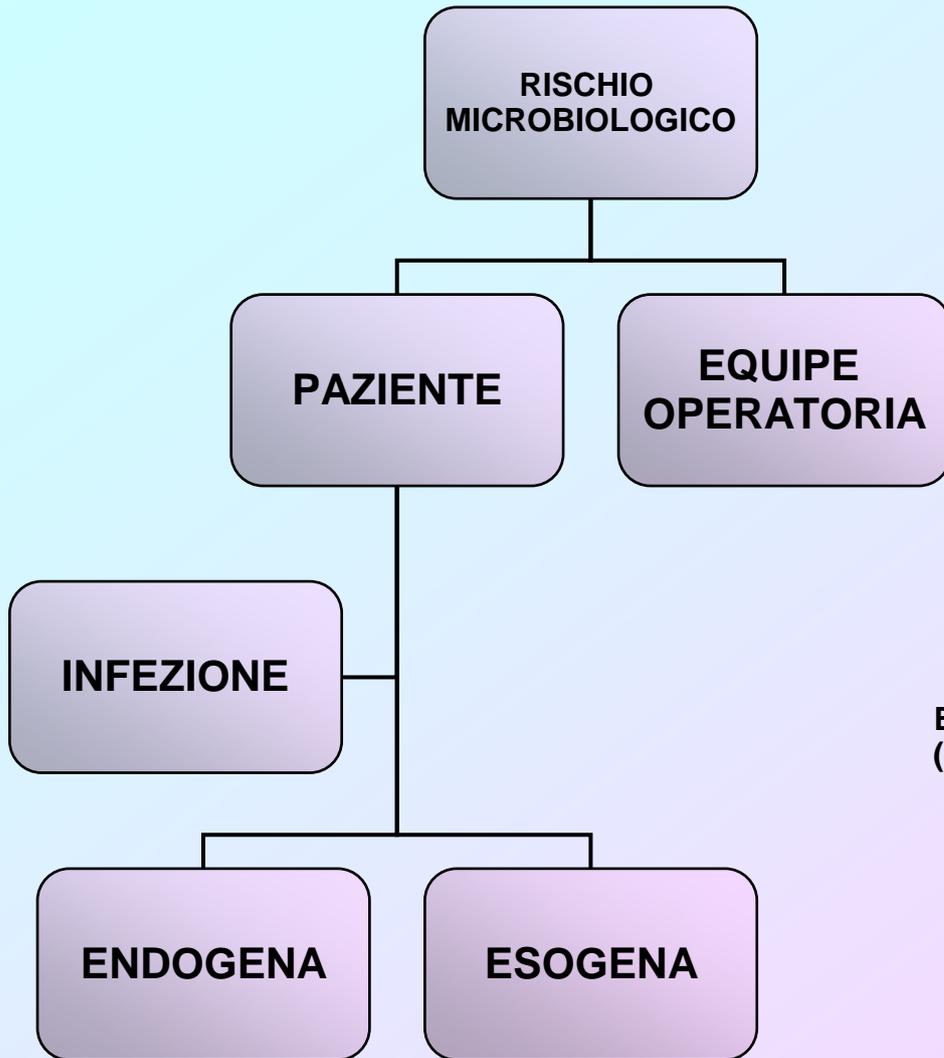
**Aria, superfici, pavimenti,  
controlli dei processi di sterilizzazione**

**Dott. ssa Maria Luisa Verona**

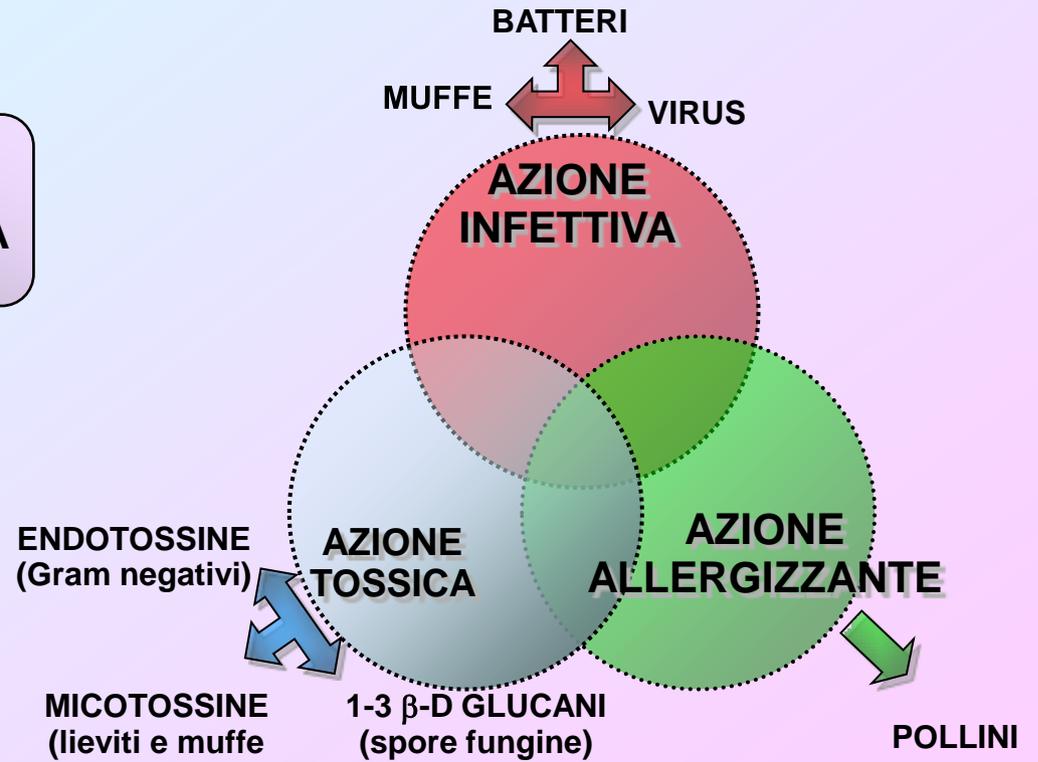
**CAM - sezione di ecologia**

**Monza, 16 maggio 2013**

# LE CAUSE DELLA CONTAMINAZIONE MICROBICA

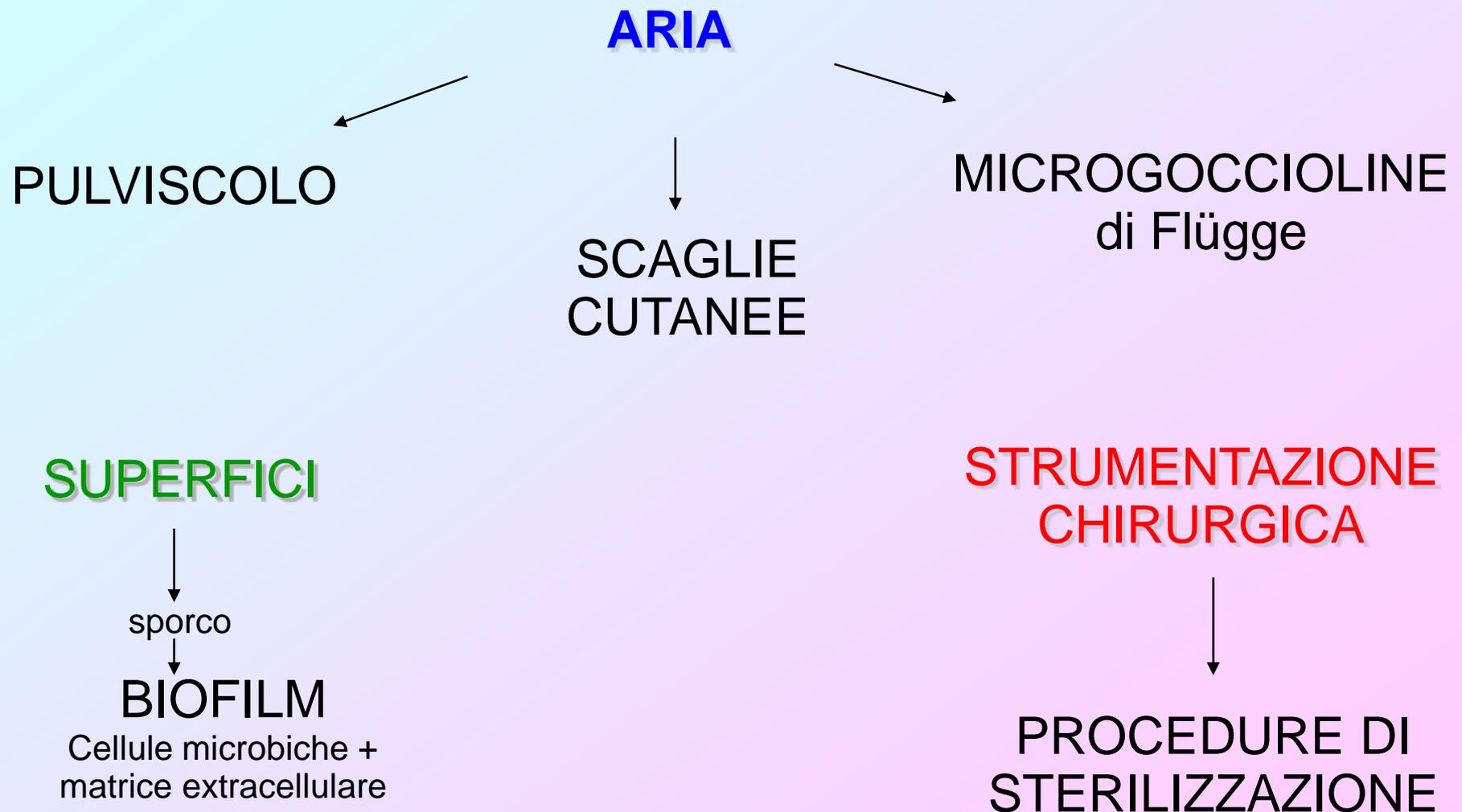


## AZIONE PATOGENA



# LE FONTI DELLA CONTAMINAZIONE MICROBICA

Le FONTI principali della contaminazione microbica sono:



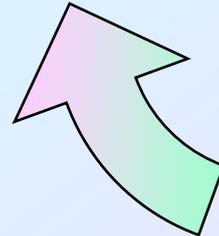
# LE CAUSE DELLA CONTAMINAZIONE MICROBICA

**OBBIETTIVI**

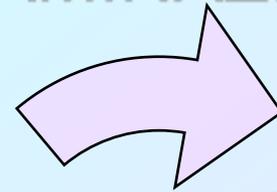
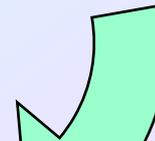


EVIDENZA  
EPIDEMIOLOGICA

EFFICACIA  
PROTOCOLLI  
SANIFICAZIONE



CORRETTA  
APPLICAZIONE



valutazione **LIVELLO SANITARIO GLOBALE**  
della sala operatoria



valutazione **RISCHIO BIOLOGICO**



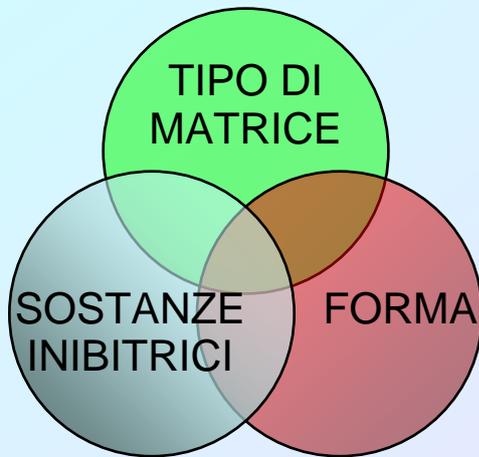


Verranno trattate le metodiche di controllo per evidenziare la presenza di batteri, muffe e lieviti.

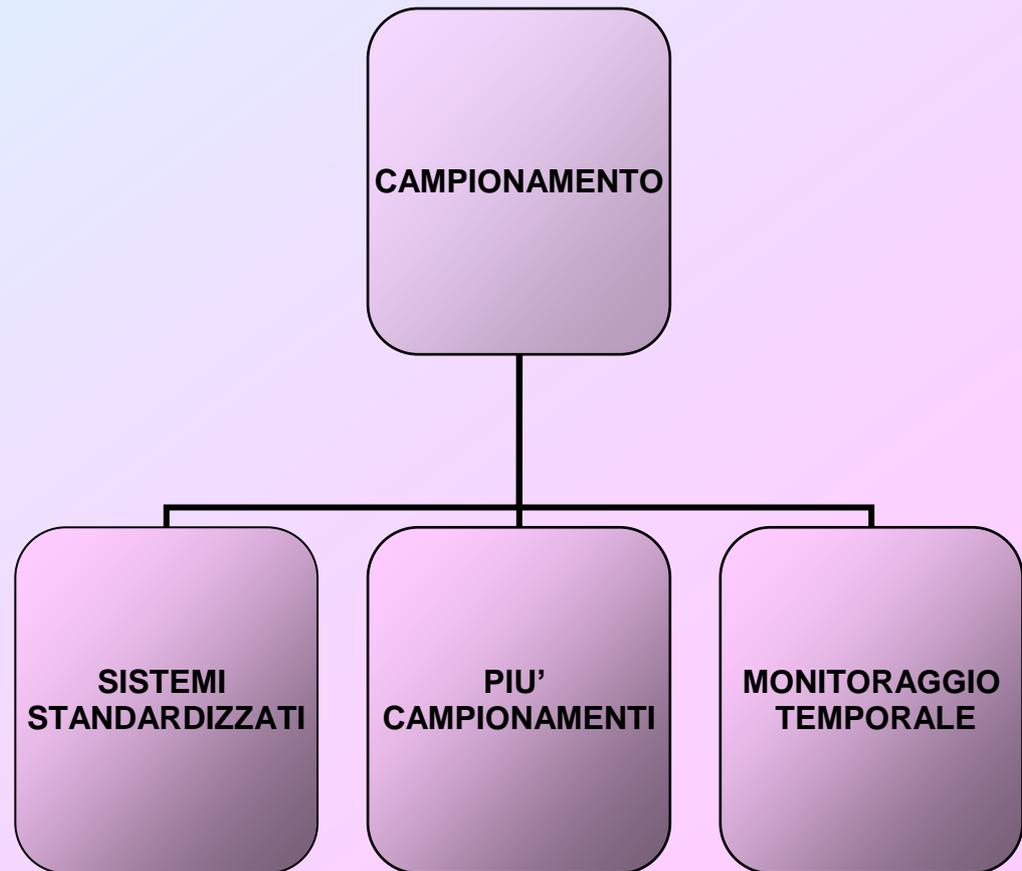
Non si farà riferimento ad altre specie biologiche quali virus o prioni.

Scopo del monitoraggio è quello di recuperare  
**QUANTITATIVAMENTE e QUALITATIVAMENTE**  
i microrganismi presenti nel punto di campionamento

**PROBLEMI ...**



**SOLUZIONE !**



# LINEE GUIDA DI RIFERIMENTO

- ✓ Linee guida regione Lombardia:  
Approvazione delle linee guida sulla prevenzione e sicurezza nelle sale operatorie  
(DGR 17/12/1999 – n° 6/47077)
- ✓ Istituto superiore per la prevenzione e la sicurezza sul lavoro:  
Linee guida sugli standard di sicurezza e di igiene del lavoro nel reparto operatorio  
versione dicembre 2009
- ✓ WHO: Guidelines for Safe Surgery 2009
- ✓ Farmacopea Europea 5.0

# LE SUPERFICI

metodologie di campionamento

**PIASTRE RODAC**

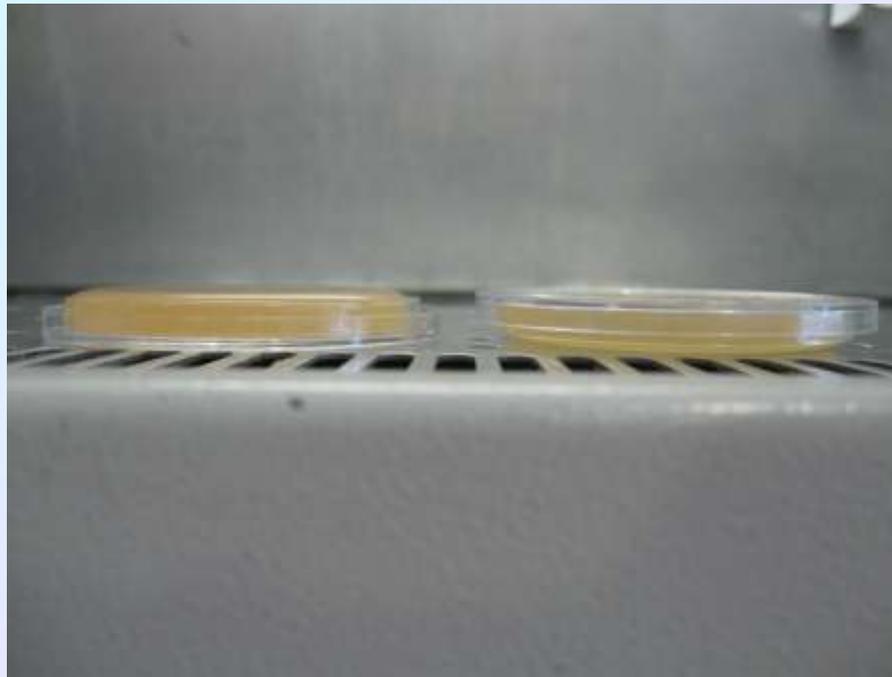
Metodo di riferimento standard:  
UNI EN ISO 14698-1  
Cleanrooms and associated controlled environments –  
Biocontamination control

**TAMPONI**

**SPUGNETTE**

# PIASTRE RODAC (REPLICATE ORGANISM DIRECT AGAR CONTACT)

Piastre caricate con un terreno agarizzato formante una superficie convessa



- Superficie campionata: 55 mm – 24 cm<sup>2</sup>
- Valutazione di : superfici piane (pareti, pavimenti, materiale di servizio)
- Metodo di campionamento : utilizzo di campionatori standardizzati

# LE SUPERFICI

## metodologie di campionamento: PIASTRE RODAC

Lo strumento campionatore eserciterà una pressione costante in un intervallo di tempo prestabilito (10 secondi).



Si ottiene un' **IMPRONTA MICROBIOLOGICA** della carica batterica contaminante ponendo a contatto della superficie lo strato di agar sporgente dalla piastra.



### Vantaggi

- ✓ Campionamento standardizzato (riproducibile)
- ✓ Semplice e veloce



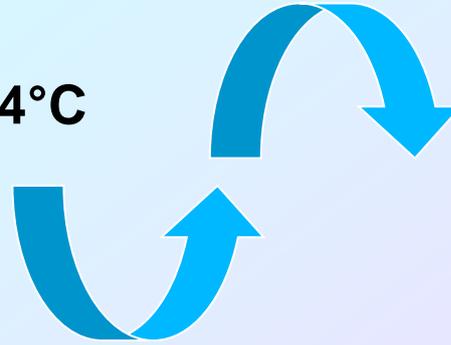
### Svantaggi:

- ✓ Non si raggiungono punti critici (esempio angoli, curvature)
- ✓ Non si può evitare la disgregazione dei raggruppamenti batterici: se la carica batterica è troppo elevata rischio di avere colonie confluenti

# PARAMETRI MICROBIOLOGICI

## COLTURA ed INCUBAZIONE

Conservare i campioni a 4°C



Entro 24 ore dal campionamento

Parametro microbiologico	Terreno di incubazione	Temperatura di incubazione	Tempo di incubazione
Batteri mesofili	Gel tripicase soja	37°C	48 ore
Lieviti e muffe	Sabouraud dextrose agar	22°C	5 giorni

Effettuare controlli giornalieri delle piastre.

# PUNTI DI CAMPIONAMENTO: QUALI ?

punti ritenuti **più critici**

(possono generare con più facilità delle contaminazioni batteriche)

E' necessaria un' **ispezione preliminare** dell'ambiente da monitorare.

LOCALI	ESEMPI PUNTI PRELIEVO
Sala operatoria	letto operatorio, scialtica,
Altri ambienti critici (sale per esami in cavità sterilità, ecc.)	tavolo servitore, pavimento, carrelli, attrezzature, maniglia delle porte, interfoni superfici verticali, bocchette di immissione ed estrazione dell'aria

Monitorare gli stessi punti prelievo per poter ottenere risultati comparabili e riproducibili.

# LA TEMPISTICA DEL CAMPIONAMENTO

Consigliato il campionamento con periodicità semestrale.

Questa frequenza potrà essere confermata o modificata a seconda delle necessità:

- quando i limiti di riferimento sono superati in modo consecutivo
- dopo un'interruzione prolungata delle attività;
- dopo lavori di manutenzione significativi sul sistema di ventilazione;
- dopo modificazioni alle procedure di pulizia, sanificazione e disinfezione;
- dopo incidenti che potrebbero contribuire alla biocontaminazione.

*Da: ISPESL – LINEE GUIDA SUGLI STANDARD DI SICUREZZA E DI IGIENE DEL LAVORO NEL REPARTO OPERATORIO versione 2009*

Effettuare campionamenti anche per valutare l'EFFICACIA dei sistemi di sanificazione:

## ❖ **PRIMA DELLA PULIZIA**

Il campionamento effettuato dopo la sessione di lavoro e prima della procedura di pulizia e sanificazione.

Rappresenta la carica batterica presente al termine della sessione di lavoro.

## ❖ **DOPO LA PULIZIA:**

Il campionamento è effettuato dopo le procedure di pulizia, chiusa e vuota per 30-60 minuti..

Rappresenta la carica residua dopo la pulizia ed è un indicatore della qualità ed efficienza delle procedure stesse.

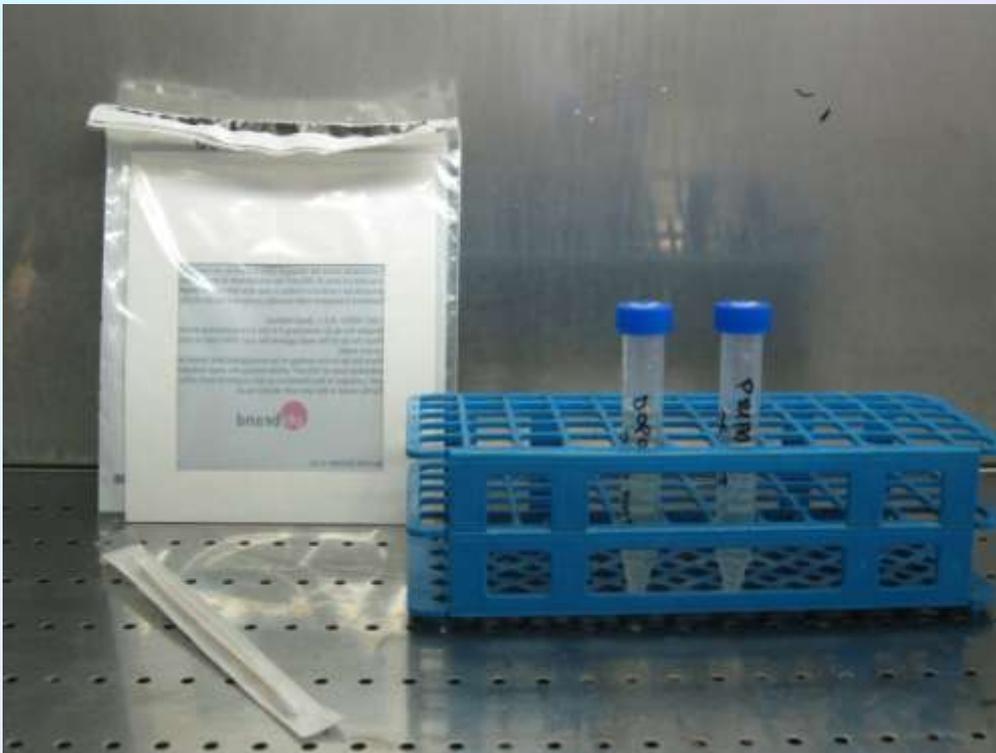
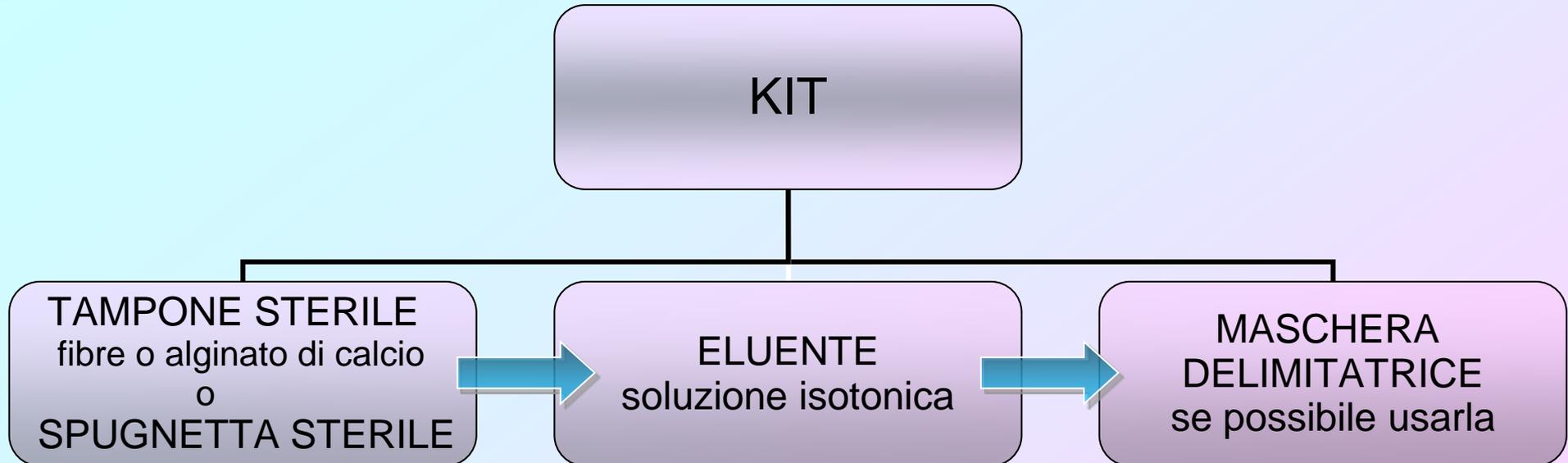
# VALORI LIMITI DELLE SUPERFICI

Le **linee guida francesi** indicano limiti di accettabilità per le delle superfici.

(C.Clin-Ouest: recommandations pour les controles d'environnement dans les etablissements de santé. Ottobre 1999")

Locali	Obbiettivi	Tecniche	Risultati attesi (UFC/piastra)	Provvedimenti se risultati non conformi
Sale operatorie Altri ambienti critici	Conformità della disinfezione e del trattamento dell'aria	contatto	$\leq 5$ UFC/piastra	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>5 \leq X \leq 15</math>: accettabile</li> <li>• Se <math>&gt; 15</math>:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- In 1 punto : segnalazione</li> <li>- 2-4 punti: rivedere il protocollo di pulizia e sua attivazione</li> <li>- 5 o più punti: inaccettabile, ripetere il controllo</li> </ul> </li> <li>• Se presenti <i>S. aureus</i>, enterobatteri, <i>Aspergillus</i> spp, <i>Pseudomonas</i> spp: rivedere integralmente il protocollo di pulizia e programmare nuovi controlli</li> </ul>
Degenza pre-post intervento Rianimazione Neonatologia	Conformità della disinfezione e del trattamento dell'aria	contatto	$\leq 50$ UFC/piastra Assenza di agentipatogeni: <i>S. aureus</i> , Enterobatteri, <i>Aspergillus</i> spp,	$> 50$ : rivedere il protocollo

# TAMPONI e SPUGNETTE



Superficie campionata:  
10 cm \* 10 cm - 100 cm<sup>2</sup>

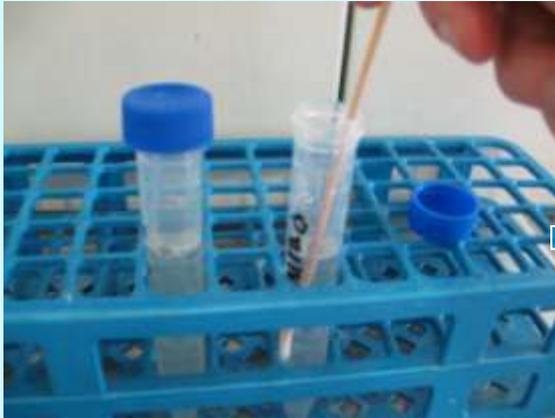
Metodo di campionamento: manuale

Valutazione di:  
superfici irregolari, difficilmente  
accessibili (angoli), tubi,  
giunture, cavità.

E' prevalentemente una analisi di tipo  
qualitativo o semiquantitativo.

# TAMPONI e SPUGNETTE

**Tampone inumidito nella  
soluzione eluente**



**Prelievo  
entro maschera sterile**



**Trasporto in  
provetta sterile**



## Vantaggi

- ✓ Un campionamento = più parametri microbiologici
- ✓ Disgregamento di eventuali cluster batterici (migliore conteggio)
- ✓ Diluizioni in caso elevata carica batterica
- ✓ Si raggiungono anche superfici poco accessibili

Con i tamponi di alginato di calcio si può ottenere un recupero prossimo al 100% : si sciolgono nell'eluente cedendo tutto il loro carico microbico

## Svantaggi

- ✓ Metodo non standardizzabile

# Determinazione quantitativa UFC/cm<sup>2</sup>

Al termine del periodo di incubazione contare le colonie cresciute in piastra.

- Per le **piastre RODAC** calcolare il dato come:

$$\text{UFC/cm}^2 = \frac{\text{UFC}}{24 \text{ cm}^2}$$

UFC: unità formanti colonie, numero di colonie conteggiate sulla piastra  
24 cm<sup>2</sup>: area campionata con la piastra RODAC

- Per i **TAMPONI** calcolare il dato come:

$$\text{UFC/cm}^2 = \frac{\text{UFC in 1 ml} * F * V_e}{100 \text{ cm}^2}$$

UFC: unità formanti colonie, numero di colonie conteggiate sulla piastra

F: fattore di diluizione.

V<sub>e</sub>: volume della soluzione eluente di campionamento e trasporto

100: cm<sup>2</sup> di superficie campionata

# ARIA

Questi controlli vengono realizzati in varie situazioni e fondamentalmente:

- ✓ per il controllo periodico del funzionamento dell'VCCC e/o la valutazione dell'attività di manutenzione;
- ✓ per un programma di assicurazione della qualità;
- ✓ per la valutazione dell'osservanza delle procedure comportamentali;
- ✓ in casi di epidemia (ricerche specifiche);
- ✓ durante interventi edili di manutenzione o di ristrutturazione.

I campionamenti dovrebbero essere effettuati con periodicità semestrale.

## PRELIEVI

### ➤ **At rest**

sala operatoria VUOTA, pronta ad essere utilizzata per gli interventi.

- Si valuta il funzionamento dell'impianto VCCC (ventilazione e condizionamento a contaminazione controllata).

### ➤ **Operational**

sala operatoria IN ATTIVITA'.

- Si valuta il buon funzionamento dell'impianto VCCC
- L'osservanza delle procedure comportamentali.

# ARIA

Metodologie di  
campionamento

```
graph TD; A[Metodologie di campionamento] --- B[CAMPIONATORE AD IMPATTO ORTOGONALE]; A -.- C[GORGOGLITORI (IMPINGERS)];
```

**CAMPIONATORE AD  
IMPATTO ORTOGONALE**

**GORGOGLITORI  
(IMPINGERS)**

Il sistema **attivo** ci dà informazioni sulla  
**carica microbica media** per  $m^3$

# CAMPIONATORE AD IMPATTO ORTOGONALE



**Svitare la testata e caricare la piastra**



**Avviare il campionamento**

Volume campionato: 1000 litri.

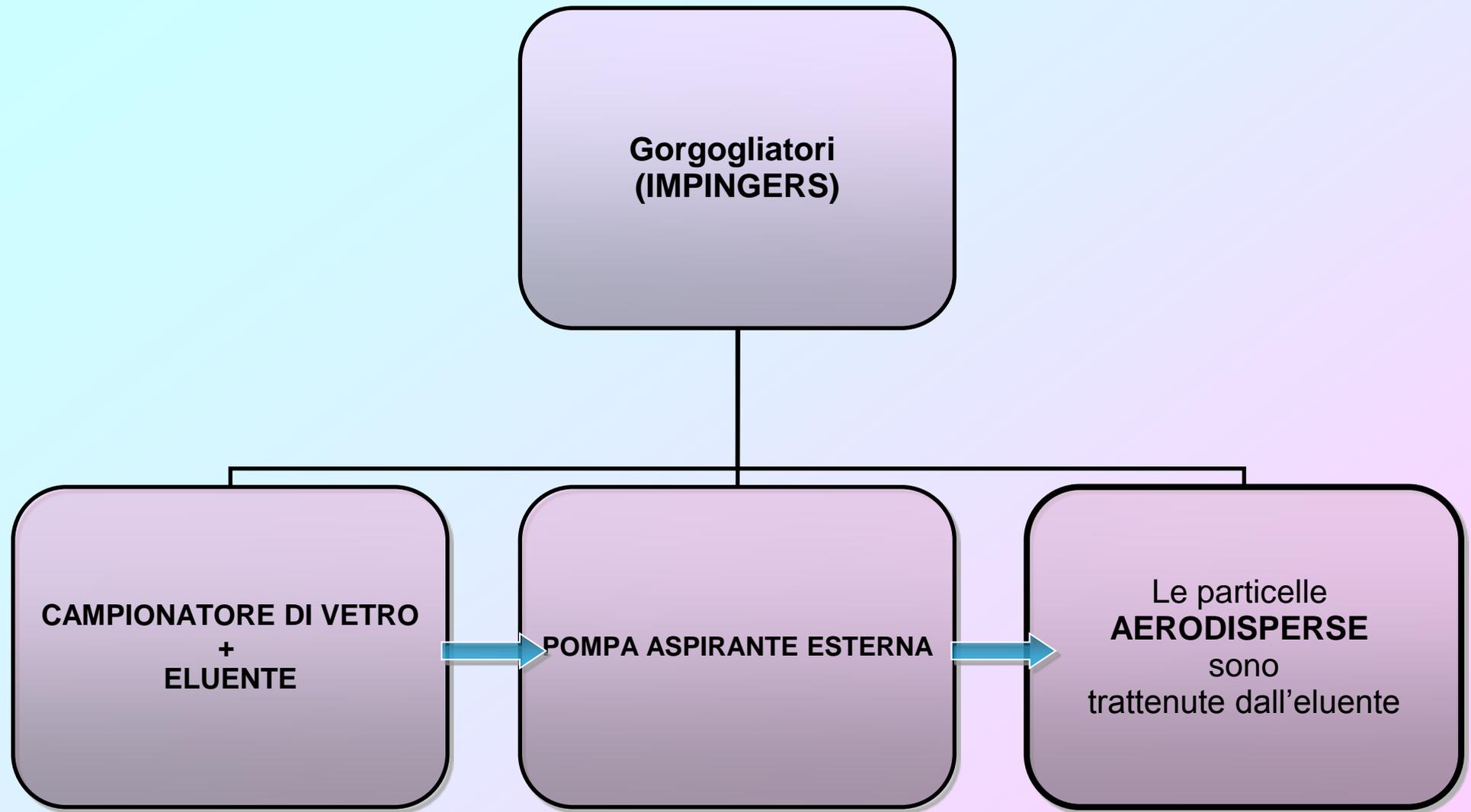
Metodo di campionamento: utilizzo di un campionatore automatico caricato con piastre RODAC da 55 mm – 24 cm<sup>2</sup>

## Vantaggi

- ✓ Metodo standardizzato
- ✓ Velocità di campionamento
- ✓ Più parametri utilizzando piastre dedicate
- ✓ Variazione del volume di campionamento

## Svantaggi

- ✓ Non si può evitare la disgregazione dei raggruppamenti batterici: se la carica batterica è troppo elevata rischio di avere colonie confluenti



### Vantaggi

- ✓ Un campionamento = più parametri microbiologici
- ✓ Disgregamento di eventuali cluster batterici (migliore conteggio)
- ✓ Diluizioni in caso elevata carica batterica

### Svantaggi

- ✓ Metodo non standardizzabile
- ✓ Pochi litri di campionamento

# PARAMETRI MICROBIOLOGICI

## COLTURA ed INCUBAZIONE

**CARICA  
BATTERICA  
MESOFILA**



**MICETI**  
Lieviti e muffe

Conservare i campioni a 4°C



Entro 24 ore dal campionamento

Parametro microbiologico	Terreno di incubazione	Temperatura di incubazione	Tempo di incubazione
Batteri mesofili	Gel tripicase soja	37°C	48 ore
Lieviti e muffe	Sabouraud dextrose agar	22°C	5 giorni

# Determinazione quantitativa UFC/m<sup>3</sup>

Contare le colonie cresciute in piastra.

✓ Per le **piastre RODAC** riferire il dato come:

$$\text{UFC/m}^3 = \frac{\text{UFC}}{L} * 1000$$

UFC: unità formanti colonie, numero di colonie conteggiate sulla piastra

L: litri di aria campionati, in genere 1000 litri

1000 : fattore di conversione per riportare il risultato finale a 1 m<sup>3</sup>

✓ Per i **GORGOLIATI** riferire il dato come:

$$\text{UFC/m}^3 = \frac{\text{UFC in 1 ml} * F * V_e}{L} * 1000$$

UFC: unità formanti colonie, numero di colonie conteggiate sulla piastra

F: fattore di diluizione.

V<sub>e</sub>: volume della soluzione eluente di campionamento e trasporto

L: litri di aria campionati

1000 : fattore di conversione per riportare il risultato finale a 1 m<sup>3</sup>

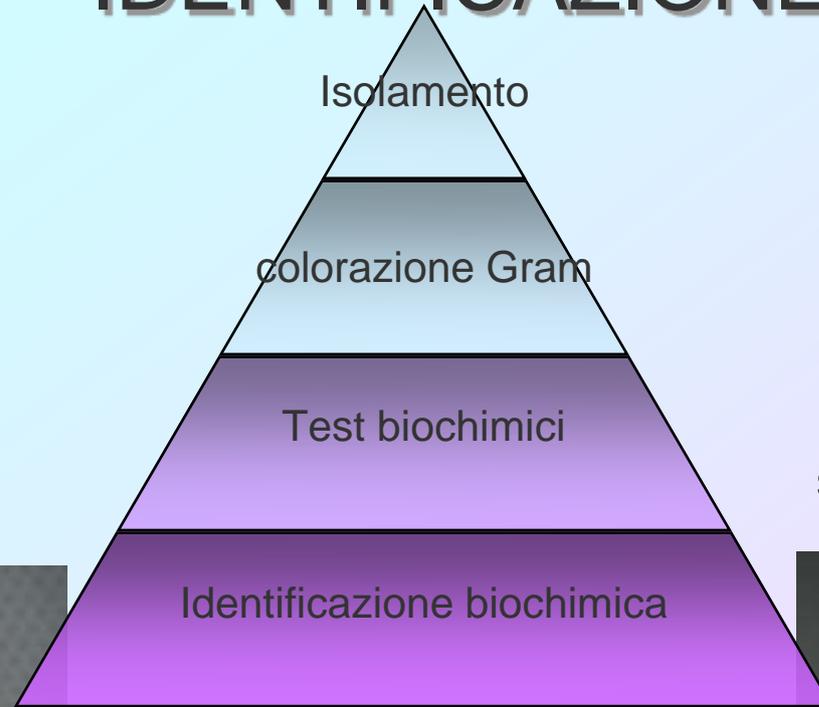
# VALORI LIMITE ARIA

Italia **non** esistono attualmente delle normative su tale problematica.

Si ritiene tuttavia valido utilizzare le indicazioni contenute nello specifico standard inglese National Health Service - Health Technical Memorandum 2025

Punto di campionamento	Limite (CFU/m <sup>3</sup> )	Flusso aria
Sala operatoria “at rest”	≤ 35 CFU/m <sup>3</sup>	Flusso turbolento
Sala operatoria “operational”	≤ 180 CFU/m <sup>3</sup>	Flusso turbolento
Sala operatoria “operational”	≤ 20 CFU/m <sup>3</sup>	Flusso laminare

# IDENTIFICAZIONE



metodo manuale



strumentazione automatizzata



Altri sistemi identificativi

- ✓ Identificazione tramite biologia molecolare (PCR)
- ✓ Identificazione genotipica di RNA ribosomiale
- ✓ Identificazione di proteine ribosomiali con spettrometri di massa.

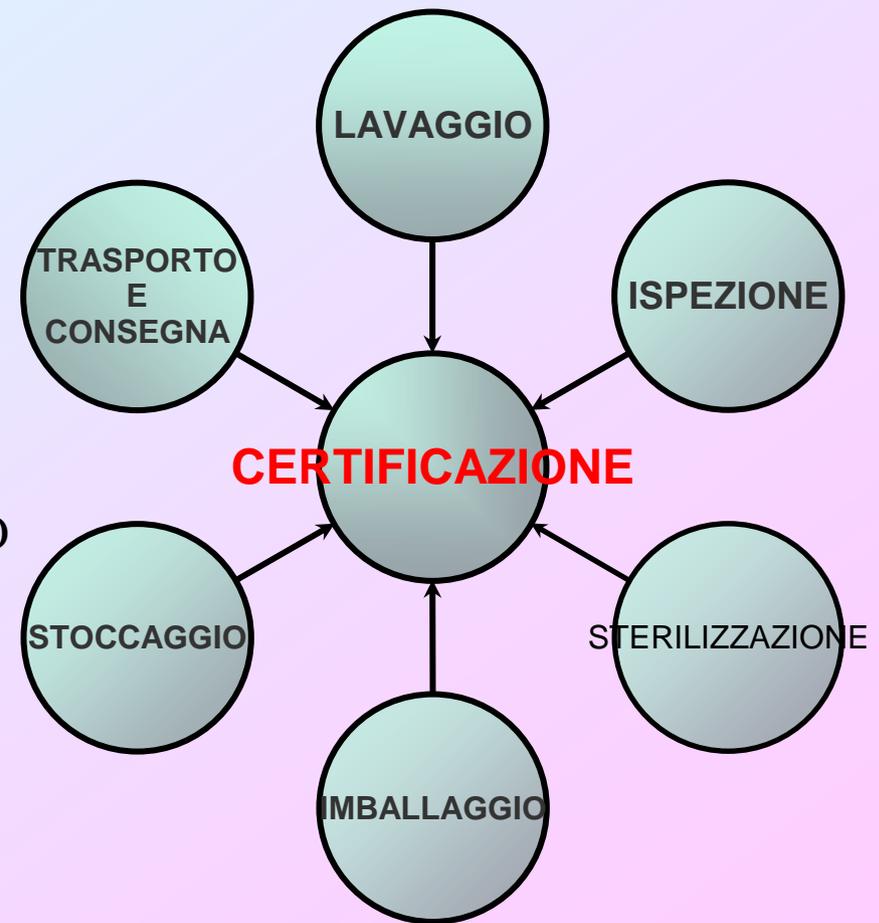
Si possono identificare: Pseudomonacee, Enterococchi, Enterobatteri, *Salmonella*, Stafilococchi, Clostridi, muffe (tra cui *Aspergillus*) o *Legionella pneumophila*

# STRUMENTAZIONE CHIRURGICA

## CONTROLLO DELLE AUTOCLAVI e PROVE DI STERILITA'

### Linee guida

- ✓ I termini e le finalità del processo di sterilizzazione:  
ISO 11139:2006
- ✓ Sterilizzazione dei dispositivi medici:  
EN 556 e ISO 14937:2000
  - ossido di etilene EN 550 e ISO 11135
  - vapore saturo (autoclave) EN 554, ISO 11134 e ISO 13683
  - irraggiamento EN 552 e ISO 11137
- ✓ Risterilizzazione dei dispositivi medici:  
EN ISO 17664:2004
- ✓ I processi di lavaggio e confezionamento :  
EN 866 e ISO 11607



# AUTOCLAVI

## controllo fisico del ciclo di sterilizzazione

I parametri **fisici** della sterilizzazione

(temperatura, pressione, tempo di esposizione)

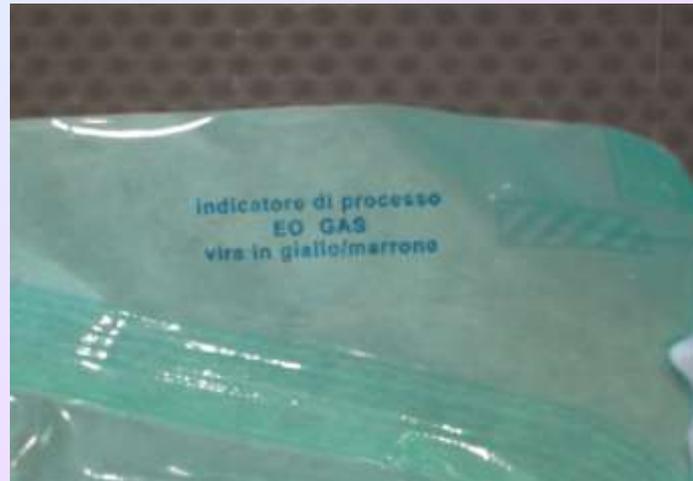
devono essere **MONITORATI** ad ogni ciclo di sterilizzazione.

Sono disponibili degli indicatori di processo costituiti da inchiostri dedicati che virano quando esposti all'agente sterilizzante.

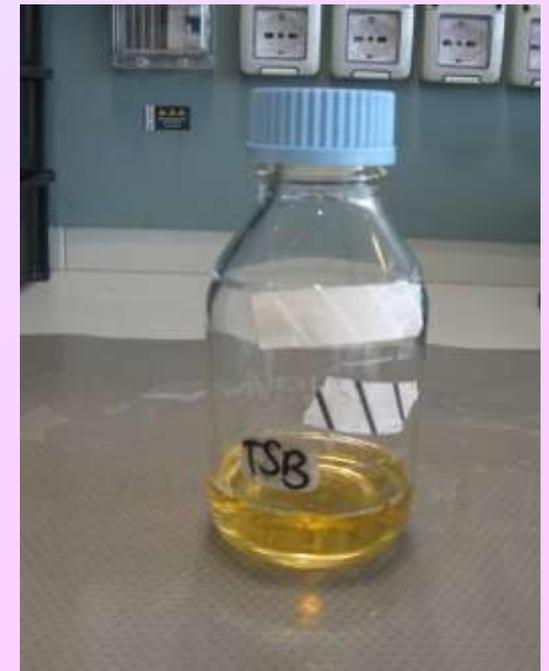
**Carte termiche:** virano di colore quando sono esposte all'agente sterilizzante



**Indicatore TEMPERATURA**  
su una busta per sterilizzazione



**Indicatore AGENTE CHIMICO**  
su una busta per sterilizzazione



**Nastro adesivo termico**

# Indicatore biologico del ciclo di sterilizzazione (autoclave a vapore saturo) SPORE STRIPS

CARICO  
DELL'AUTOCLAVE

STERILIZZAZIONE

INCUBAZIONE A  
55°C/60°C

VALUAZIONE DEL  
DATO



Indicatore termico

Brodo di coltura

Spore di  
*Bacillus*  
(*Geobacillus*)  
*stearothermophilus*  
Inoculo  $10^5 - 10^6$

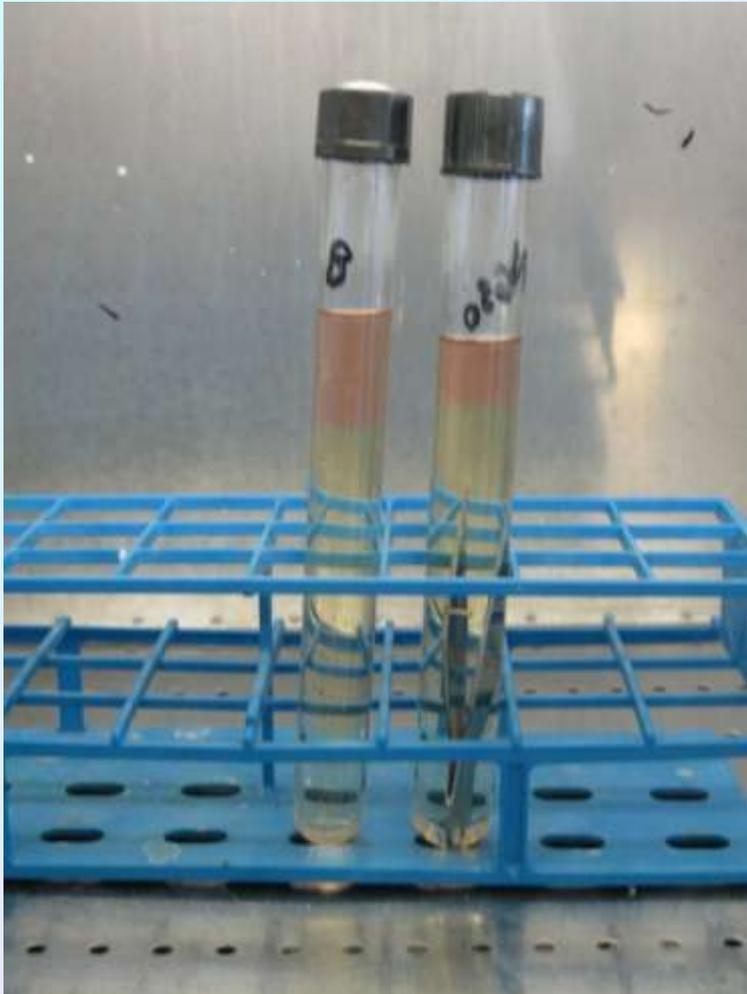


non idoneo  
il brodo vira  
(giallo)

idoneo  
il brodo non vira  
(viola)

# PROVE DI STERILITA' NEI PRODOTTI UTILIZZATI NELL'INTERVENTO

Il **test di sterilità** è una operazione tecnica definita nella Farmacopea che consente di determinare la **presenza** o l'**assenza** di microrganismi vitali sul prodotto o sue porzioni.



METODI ANALITICI



rimozione  
dei microrganismi



immersione diretta  
nel brodo di coltura

Incubazione per 14 giorni a 37°C

LINEE GUIDA

- FARMACOPE EUROPEA 5.0, 2.6 biological tests, 01/2005:20601
- FARMACOPE EUROPEA 5.0, 2.6.13, 01/2005:20612  
Microbiological examination of non-sterile products (test for specified micro-organism), recommended solution and culture media
- UNI EN ISO 11737-2 gennaio 2010
- UNI EN ISO 11737-1 luglio 2006



**GRAZIE PER LA  
VOSTRA ATTENZIONE**