



Valutazione della procedura di ozonizzazione per la sanificazione delle mascherine FFP2 e tute protettive.

L'Associazione di Pubblica Assistenza Volontaria Croce Verde, della sede di Verona, utilizza come modalità di sanificazione delle ambulanze, dopo averle utilizzate, l'ozono generato dallo strumento Sany-car seguendo il protocollo per sanificazione degli ambienti fino a 25 m³ della durata di 27 min, come da scheda tecnica dello strumento.

Tale strumento, nella scheda tecnica, è riportato essere efficace nella sanificazione di batteri, miceti, muffe e di inattivare i virus dalle superfici del mezzo che viene sottoposto al trattamento.

Nella scala di inattivazione dei microrganismi e delle forme di vita microscopiche, quelli più resistenti in assoluto sono i prioni, seguiti dalle spore, dai micobatteri, batteri gram-negativi, virus nudi, batteri gram-positivi e infine virus provvisti di pericapside.

Tra i virus provvisti di pericapside si annovera anche SARS-CoV-2.

Lo scopo del lavoro era di valutare se questa procedura utilizzata qual tale per la sanificazione dell'ambulanza poteva avere effetto oltre che sulle superfici del mezzo anche su mascherine di tipo FFP2 e tute protettive utilizzate dal personale, in modo da consentirne un riutilizzo.

Non essendo possibile lavorare con il virus SARS-CoV2, in quanto il virus per poter essere replicato in laboratorio deve essere prima isolato e messo in coltura cellulare, si è proceduto a contaminare le mascherine da sottoporre a trattamento con batteri gram-negativi che nella scala si trovano a un livello di resistenza maggiore rispetto ai virus.

Materiali e metodi:

I batteri utilizzati per la contaminazione sono stati un ceppo di *Klebsiella pneumoniae* multi-resistente e un ceppo di *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente.

Si sono utilizzati ritagli di mascherina FFP2 e di tuta protettiva di circa 1 cm² fornite da Croce Verde.

La contaminazione delle mascherine è avvenuta con due modalità: la prima per immersione in una sospensione batterica con diverse concentrazioni, nella seconda modalità la sospensione batterica, sempre a diverse concentrazioni, è stata spruzzata da una distanza di circa 30-40 cm, verso la parte esterna della mascherina, mediante l'utilizzo di uno spruzzino, in modo da riprodurre la modalità di contaminazione mediante droplet originate da starnuto.

Per ogni modalità di contaminazione e per ogni diversa concentrazione batterica sono state utilizzati due ritagli di mascherina e due di tuta protettiva. Per ogni prova un ritaglio di mascherina e uno di tuta protettiva veniva usato come controllo, mentre gli altri due ritagli venivano trattati con ozono, con il trattamento per la sanificazione delle ambulanze, e funzionavano da test.

La sospensione batterica di partenza, sia per *K. pneumoniae* che per *P. aeruginosa* era di 0.5 McFarland corrispondenti a 10^9 microrganismi per ml. La sospensione di partenza veniva poi diluita a fattore 10 fino a 10^4 . Le concentrazioni testate sono state 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 e 10^4 .

Dopo contaminazione e dopo trattamento con ozono i ritagli sono stati lasciati asciugare per alcune ore.

Prima del posizionamento in piastra di agar infuso sono stati immersi in acqua distillata sterile per due minuti e nel caso di contaminazione tramite spruzzo, il posizionamento è avvenuto con la superficie contaminata sulla superficie della piastra.

Le piastre sono state incubate a 37°C per 24 ore dopo le quali si è valutata la crescita di colonie.

Risultati

Di seguito sono riportati i risultati della sperimentazione. In totale l'ambulanza ha effettuato 4 interventi di sanificazione, due su mascherine e tute protettive contaminati per immersione e due su mascherine e tute protettive contaminati mediante spruzzo.

Tabella 1: analisi sanificazione mascherine e tute protettive dopo contaminazione per immersione in sospensioni a varie concentrazioni di *K. pneumoniae*

CFU/ml	<i>K. pneumoniae</i> contaminazione per immersione			
	controllo		Trattamento ozono	
	Tuta protettiva	mascherina	Tuta protettiva	mascherina
10^4	+	+	-	-
10^5	++	+++	-	-
10^6	+++	++++	+	++
10^7	+++	+++++	++	+++
10^8	++++	+++++	+++	++++

Figura 1: mascherine e tute protettive contaminati per immersione in una sospensione batterica di 10^4 CFU/ml senza trattamento con ozono (sinistra) e dopo trattamento con ozono (destra)

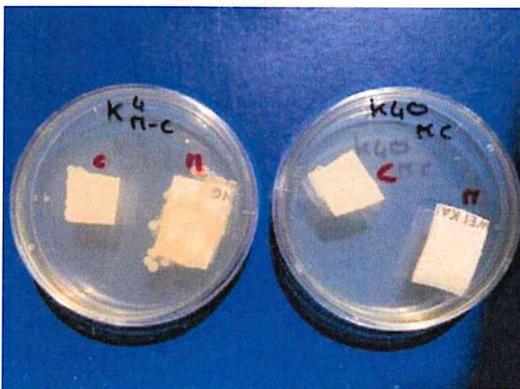


Figura 2: mascherine e tute protettive trattate per immersione in una sospensione di 10^8 CFU/ml di *K. pneumoniae* senza trattamento con ozono 8 (sinistra) e dopo trattamento con ozono (destra)

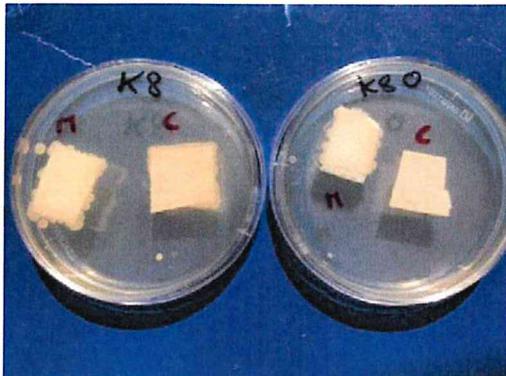


Tabella 2: analisi sanificazione mascherine e tute protettive dopo contaminazione per immersione in sospensioni a varie concentrazioni di *P. aeruginosa*

CFU/ml	<i>P. aeruginosa</i> contaminazione per immersione			
	controllo		Trattamento ozono	
	Tuta protettiva	mascherina	Tuta protettiva	mascherina
10^4	+	+	-	-
10^5	++	+++	-	-
10^6	+++	++++	+	++
10^7	+++	+++++	++	+++
10^8	++++	+++++	+++	++++

Tabella3: analisi sanificazione mascherine e tute protettive dopo contaminazione con aerosol di sospensioni a varie concentrazioni di *K. pneumoniae*:

CFU/ml	<i>K. pneumoniae</i> contaminazione per aerosol			
	controllo		Trattamento ozono	
	Tuta protettiva	mascherina	Tuta protettiva	mascherina
10^4	+	+	-	-
10^5	+	++	-	-
10^6	++	+++	-	-
10^7	+++	++++	+	++
10^8	+++	++++	+	++

Figura 3: Mascherine e tuta protettiva contaminati mediante aerosol di una sospensione con 10^4 CFU/ml di *Klebsiella pneumoniae* e trattato con ozono a destra e non trattato a sinistra

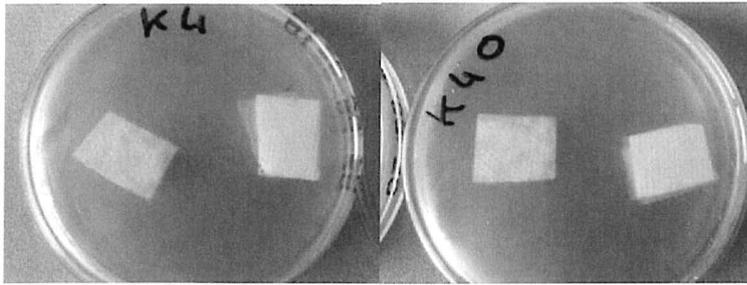
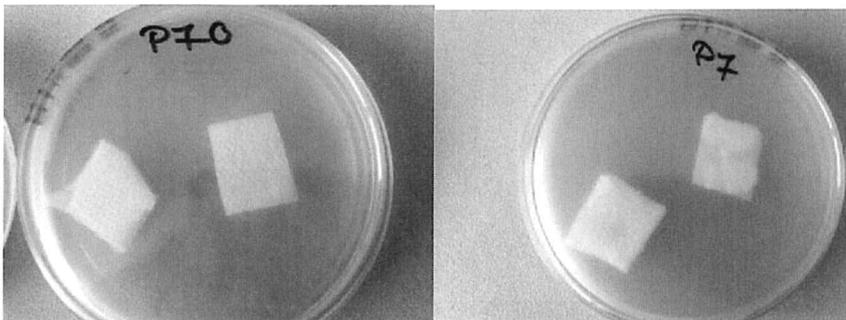


Tabella 4: analisi sanificazione mascherine e tuta protettiva dopo contaminazione con aerosol in sospensioni a varie concentrazioni di *P. aeruginosa*

CFU/ml	<i>P. aeruginosa</i> contaminazione per aerosol			
	controllo		Trattamento ozono	
	Tuta protettiva	mascherina	Tuta protettiva	mascherina
10 ⁴	+	+	-	-
10 ⁵	+	++	-	-
10 ⁶	++	+++	-	-
10 ⁷	+++	++++	-	+
10 ⁸	+++	++++	+	++

Figura 4: Mascherine e tuta protettiva contaminati con una sospensione di aerosol con 10⁷ CFU/ml di *Pseudomonas aeruginosa* e trattato con ozono a sinistra e non trattato a destra



Conclusioni:

Mascherine FFP2 e tute protettive sono costituiti da materiali diversi e la contaminazione risulta più facile per le mascherine rispetto ai camici, i quali sono idrorepellenti.

La contaminazione per immersione in una sospensione batterica risulta comunque sempre con una carica maggiore rispetto alla contaminazione mediante aerosol ottenuto spruzzando la sospensione batterica in esame alla distanza di 30-40 cm in modo da mimare la contaminazione mediante starnuto.

Quando si è lavorato per immersione il trattamento con ozono effettuato in ambulanza è riuscito a eliminare i microrganismi utilizzati alle concentrazioni più basse utilizzate, ovvero 10⁴ e 10⁵ CFU/ml, quindi con una efficacia del 100%%

Quando si è lavorato per aerosol il trattamento con ozono effettuato in ambulanza è risultato più efficace, arrivando ad eliminare anche cariche di partenza più elevate, che comunque in partenza risultavano più

basse anche nel controllo. In questo caso si è raggiunto soprattutto per le tute protettive livelli di decontaminazione fino a 10^7 CFU/ml, con un abbattimento della carica alla concentrazione più elevata di 10^8 CFU/ml di circa l'80%.

In fede, Verona 30 giugno 2020

Prof.ssa Annarita Mazzariol



Università degli Studi di Verona
Dipartimento di Diagnostica e Sanità Pubblic.
Sezione di Microbiologia