

## ***Monitoraggi ambientali con dispositivo Sanity-System O<sub>3</sub>***

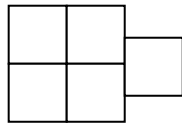
### ***Premessa***

L'attuale procedura di sanitizzazione dei locali di manifattura prevede l'utilizzo di un apparecchio nebulizzatore contenente la sostanza TEGO-FOG. È previsto venga effettuata ogni 3 mesi, di routine, oppure dopo ogni intervento manutentivo che comporti il coinvolgimento dei locali classificati. Visto la natura aggressiva dell'agente sanitizzante (Glutaraldeide), tale attività viene effettuata al termine dell'ultimo turno dell'ultimo giorno lavorativo della settimana, per far sì che non vi sia personale operativo presente che potrebbe venire a contatto e/o respirare tale agente irritante. La procedura di sanitizzazione ha la durata effettiva di 1 ora. Dopo due giorni, viene effettuato il lavaggio ambientale e la rimessa a regime del sistema di condizionamento, in modo tale che ad inizio del primo turno lavorativo della settimana, le condizioni climatiche ambientali siano tali da far operare in sicurezza l'operatore addetto.

Andremo di seguito ad illustrare i risultati delle varie tecnologie studiate per ridurre sia i tempi di utilizzo di tali apparecchi, sia i tempi di ripristino delle attività.

La logica utilizzata nei vari campionamenti e monitoraggi è stata la seguente:

- Identificazione di circa 10 punti di campionamento per stanza (su superficie liscia e su altre parti di arredo presenti all'interno dei locali). I punti sulle superfici lisce sono stati delimitati con nastro di carta adesivo per creare dei quadrati secondo l'esempio sotto:



Tali quadrati sono stati poi segnalati poiché il personale non avesse contatti all'interno. Le pulizie e la produzione nel locale sono state sospese durante i campionamenti.

- Per ogni punto sono quindi stati fatti 4/5 campionamenti (tempo zero prima di accendere lo strumento ed alle ore indicate nei vari grafici)
- Ogni campionamento è stato fatto in doppio (TSA + inattivanti, SA + inattivanti)

### **Descrizione della tecnologia utilizzata**

L'agente sanitizzante di cui andremo a esporre l'efficacia con prove eseguite in diversi locali di produzione e non, è l'ozono. L'ozono è una molecola gassosa dall'alto potere ossidativo, superiore a quello del cloro, che produce a livello cellulare effetti tossici legati alla sua capacità di ossidare le biomolecole. La produzione di molecole reattive dell'ossigeno a livello cellulare induce danni a livello lipidico, proteico e del DNA. Grazie alla sua azione ossidante l'ozono può essere usato come disinfettante in diversi ambiti, che possono andare dal trattamento dell'acqua, a quello dell'aria e dell'ambiente, per indurre una drastica riduzione delle cariche microbiche.

### Sintesi delle prove eseguite con Sanity-System

Sono state seminate piastre con ceppi a titolo noto (ATCC), per verificare l'abbattimento in termini logaritmici della carica microbica. È stata esposta una piastra con il solo terreno, per essere successivamente inoculata, come controllo positivo. Verranno illustrati i grafici e le tabelle dei punti monitorati e le relative discussioni.

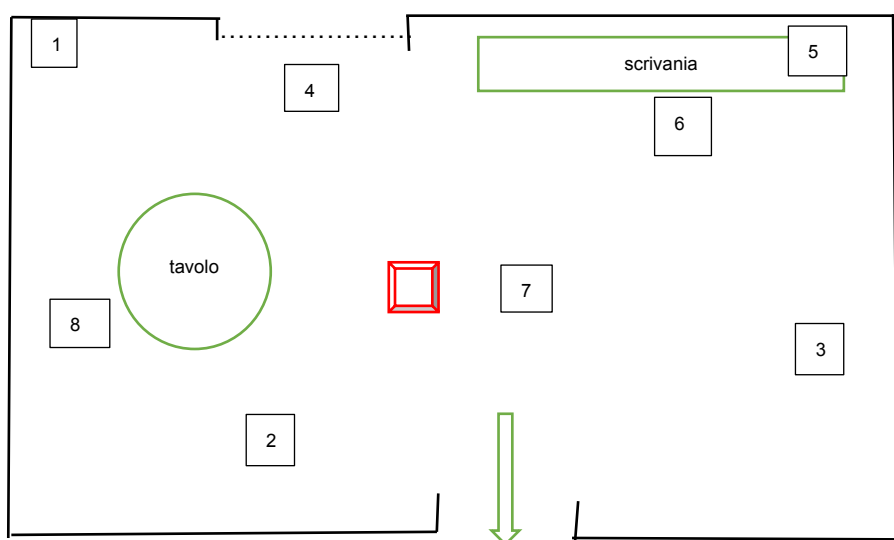


Figura 1 – punti di campionamento e posizione strumento in rosso

### Risultati

Su un totale di 120 piastre Sabouraud agar (SA) e 200 piastre Tryptic soy agar (TSA), sono mostrati le medie dei risultati ottenuti, e i grafici più significativi a supporto della nostra ipotesi.

Di seguito sono riportati i risultati relativi al monitoraggio su ceppi a titolo noto:

	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. brasiliensis</i>
Tempo 0	134	96	166	98	56	22
Dopo 1 h	9	29	0	1	0	7
Dopo 2 h	4	15	0	0	0	9
Dopo 3 h	0	21	0	0	0	8
Controllo	158	92	115	122	45	12

Tabella 2 – Tempo di esposizione e CFU/25cm<sup>2</sup>

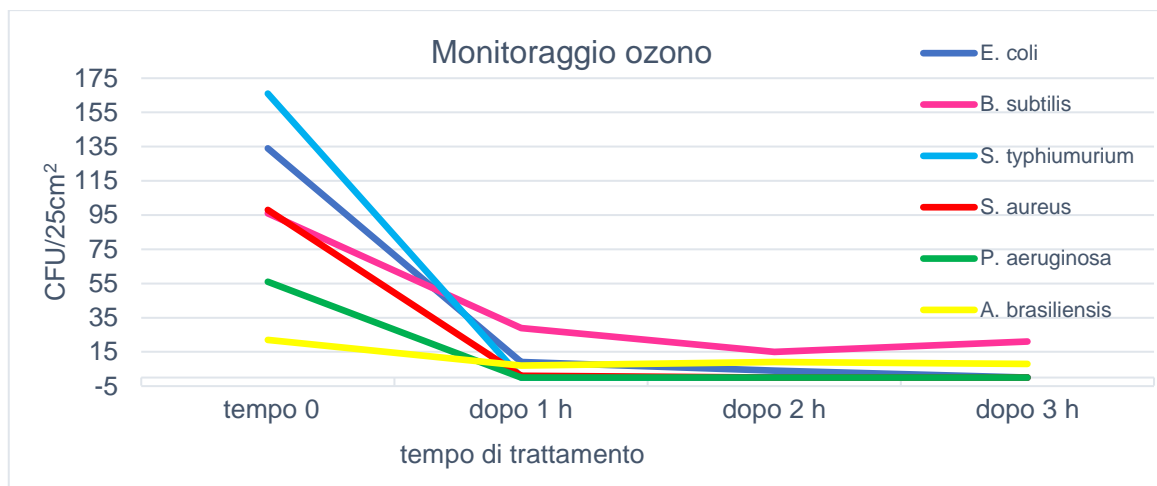


Grafico 3 – tempo di contatto e risultati in CFU/25cm<sup>2</sup> ceppi ATCC

Con l'ozono come agente sanitizzante siamo riusciti a dimostrare un abbattimento, anche se non totale, della carica microbica in esame. Quello che possiamo notare, e che abbiamo notato nella maggior parte delle prove eseguite, è che l'ozono non riesce ad abbattere in modo significativo i batteri sporigeni come il *B. subtilis* o la muffa *A. brasiliensis*. Il possibile piano di utilizzo di questo sanitizzante verrà discusso nella conclusioni di questo capitolo.

Come conferma di quanto affermato, siamo andati a monitorare l'abbattimento, con tempo di contatto maggiore con l'agente sanitizzante, sui ceppi a nostro avviso più resistenti.

	<i>E. coli</i>	<i>Z. rouxii</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>A. brasiliensis</i>
tempo 0	134	400	94	22
dopo 2 h	0	12	36	7
dopo 4h 30	0	0	9	2
Controllo	129	400	96	19

Tabella 4 – tempo di contatto e risultati ceppi ATCC resistenti CFU/25cm<sup>2</sup>

Nonostante non si abbia abbattimento totale o quasi, anche sui ceppi maggiormente resistenti, con un tempo di contatto maggiore, possiamo affermare che c'è stato un calo significativo del titolo.

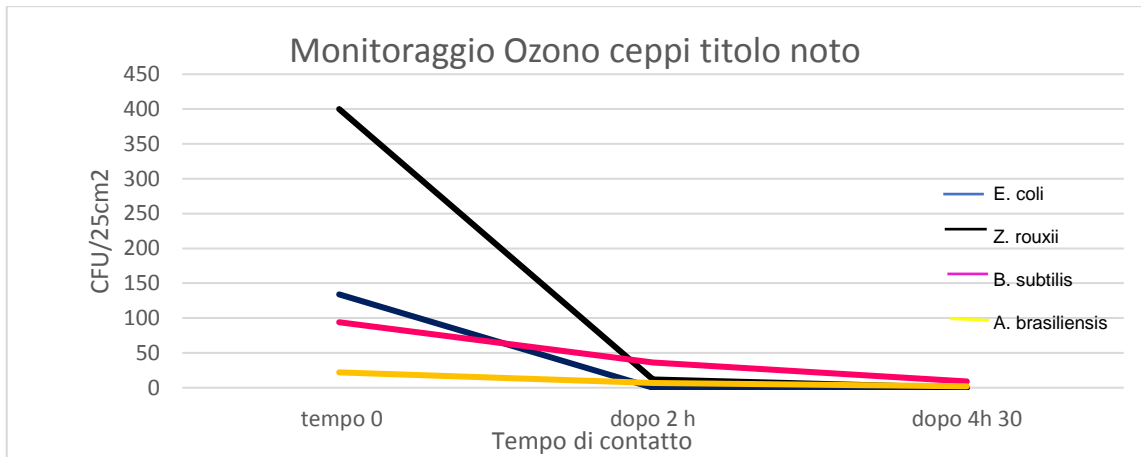


Grafico 5 – tempo di contatto e CFU/25 cm<sup>2</sup> ceppi ATCC

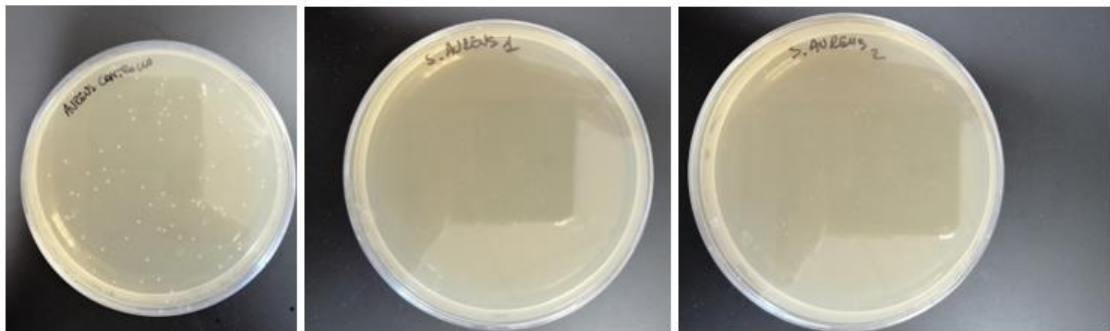


Figura 5 – Illustrazione dell'abbattimento della carica batterica su *S. aureus* dopo 3 ore di trattamento con ozono

### Monitoraggio ozono sulle superfici

Proseguiamo illustrando di seguito l'efficacia dell'ozono sulle superfici. Anche in questo caso, come accennato in precedenza, abbiamo monitorato punti significativi dell'intera superficie della stanza.

	TSA (CFU/25cm <sup>2</sup> )	TSA (CFU/25cm <sup>2</sup> )	TSA (CFU/25cm <sup>2</sup> )	TSA (CFU/25cm <sup>2</sup> )	TSA (CFU/25cm <sup>2</sup> )	TSA (CFU/25cm <sup>2</sup> )	TSA (CFU/25cm <sup>2</sup> )	TSA (CFU/25cm <sup>2</sup> )
Tempo 0	1	3	6	3	1	2	9	5
Dopo 1h 30'	1	0	1	0	0	0	4	2
Dopo 3h 30'	0	0	0	1	0	0	3	0
Dopo 5h 30'	0	0	0	0	0	1	1	0

Tabella 6 – Tempo di contatto e CFU/25cm<sup>2</sup> piastre TSA

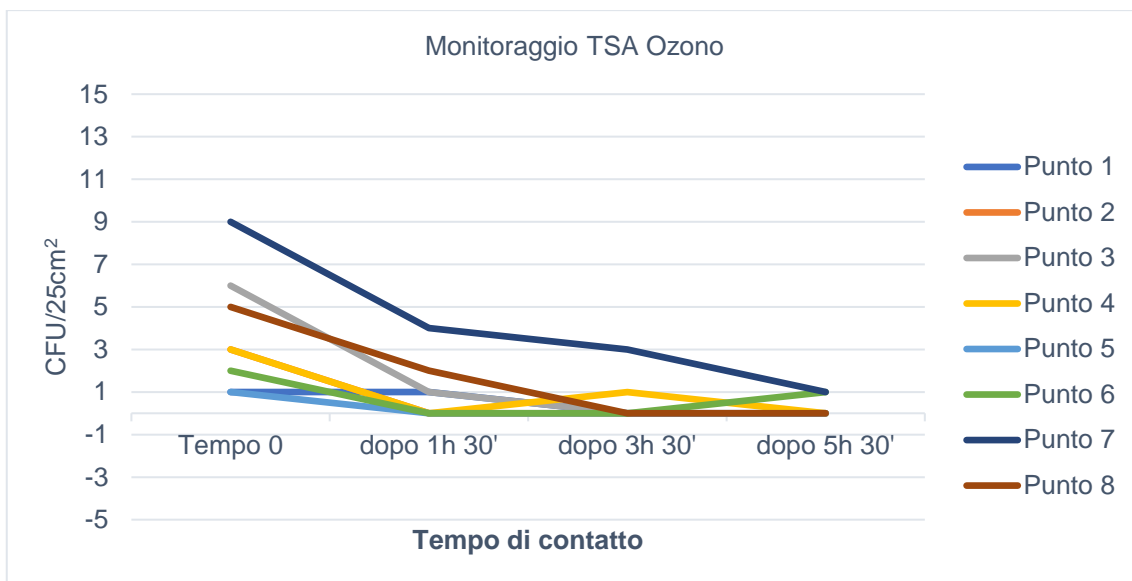


Grafico 7 – punti monitorati e risultati in CFU/25cm<sup>2</sup> su TSA

	SA (CFU/25cm <sup>2</sup> )	SA (CFU/25cm <sup>2</sup> )	SA (CFU/25cm <sup>2</sup> )	SA (CFU/25cm <sup>2</sup> )	SA (CFU/25cm <sup>2</sup> )	SA (CFU/25cm <sup>2</sup> )	SA (CFU/25cm <sup>2</sup> )	SA (CFU/25cm <sup>2</sup> )
Tempo 0	3	0	0	0	0	0	7	7
Dopo 1h 30'	1	0	0	0	0	0	1	6
Dopo 3h 30'	0	0	0	0	0	0	0	1
Dopo 5h 30'	0	0	0	0	0	0	1	1

Tabella 8 – Tempo di contatto e CFU/25cm<sup>2</sup> su piastra SA

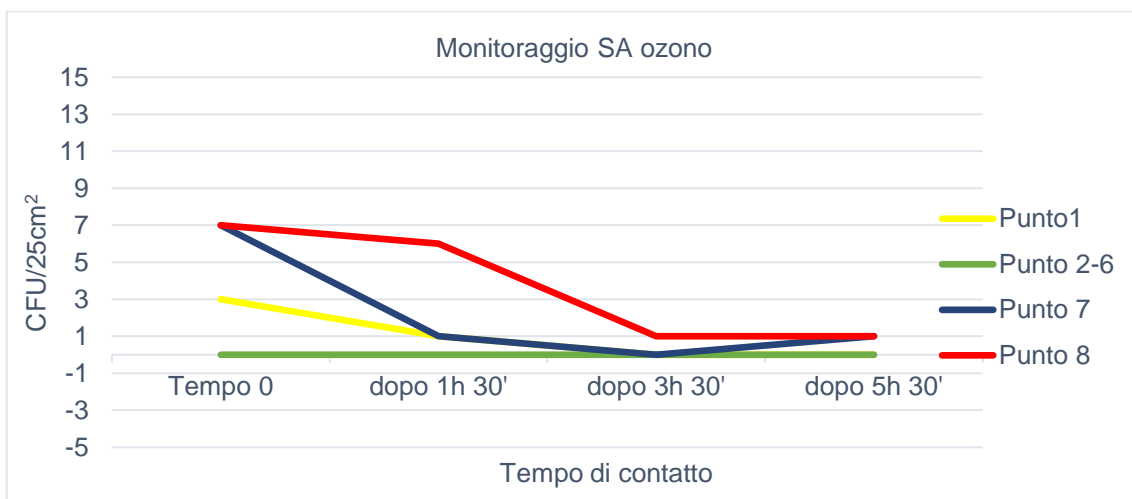


Grafico 9 – punti monitorati e risultati in CFU/25cm<sup>2</sup> su SA

### Note

Il numero iniziale di colonie su entrambi i tipi di terreno, TSA e SA, è molto basso quindi una loro riduzione dopo il trattamento con l'ozono non può essere definita significativa al fine di dimostrarne l'efficacia. Tuttavia, notiamo una riduzione delle colonie microbiche in tempi relativamente brevi.

Andremmo di seguito a mostrare come allungando il tempo di contatto fra sanizzante e superficie, è stato possibile avere un calo più significativo per quanto riguarda il numero di unità formanti colonie o CFU. Verrà illustrato per primo il grafico con i 5 valori più alti evidenziati su TSA e SA, mostrando l'andamento della diminuzione su tali punti. I dati sono poi stati mediati su tutti i 200 punti di campionamento (vedi grafici 57 e 58).

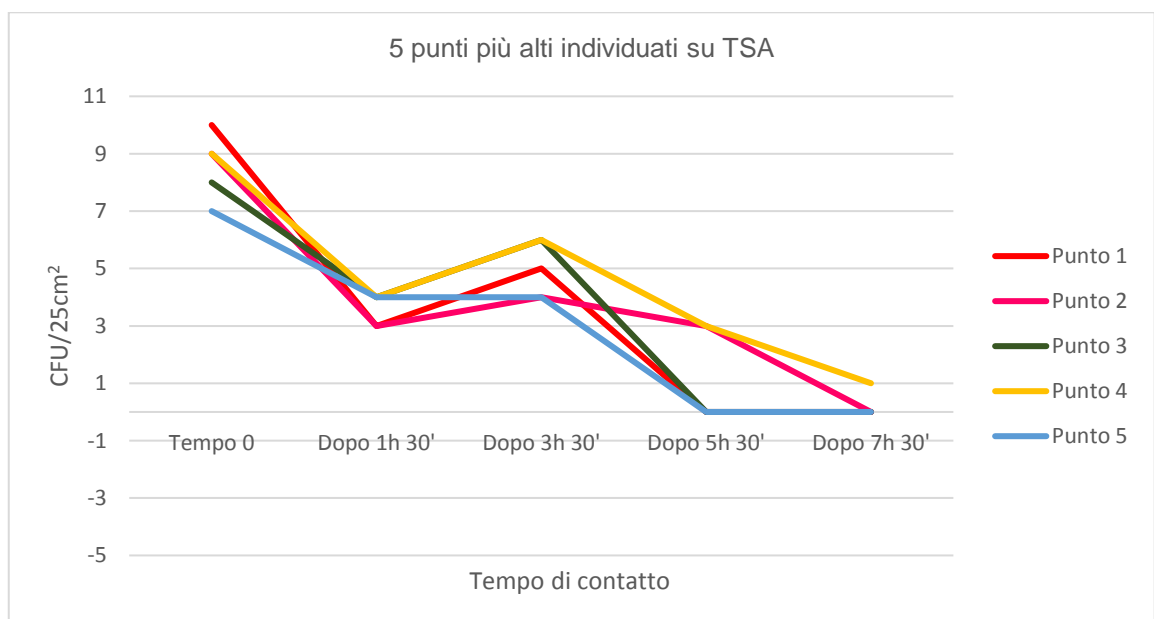


Grafico 10 – Tempo di contatto e diminuzione di cinque punti più alti individuati su TSA, calcolati come CFU/25cm<sup>2</sup>

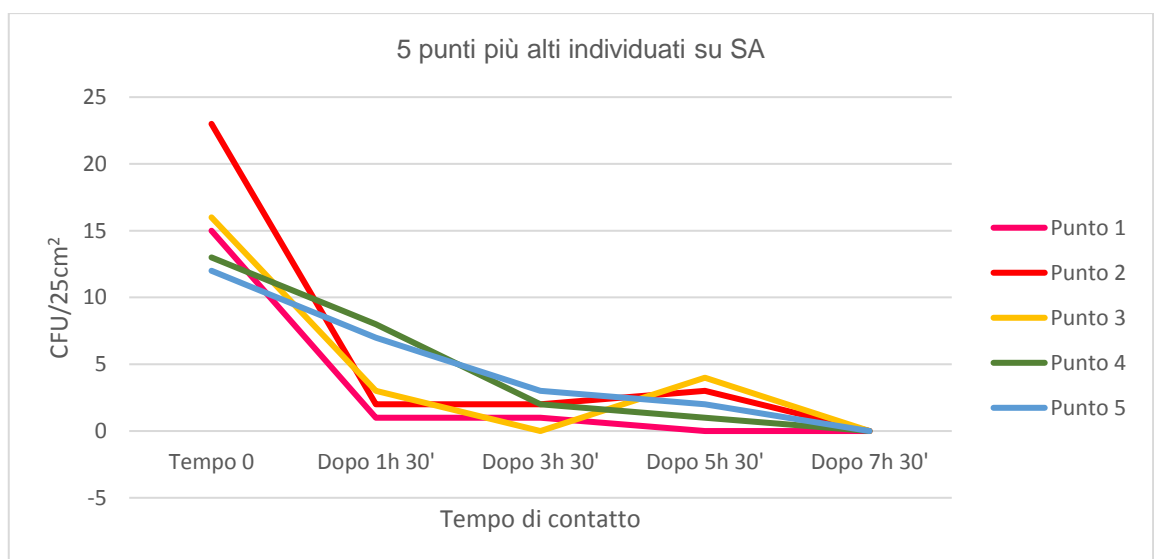


Grafico 11 – Tempo di contatto e diminuzione di cinque punti più alti individuati su SA, calcolati come CFU/25cm<sup>2</sup>



Figura 12 – Tempo di esposizione e media valori più alti calcolati in CFU/25cm<sup>2</sup> piastra TSA

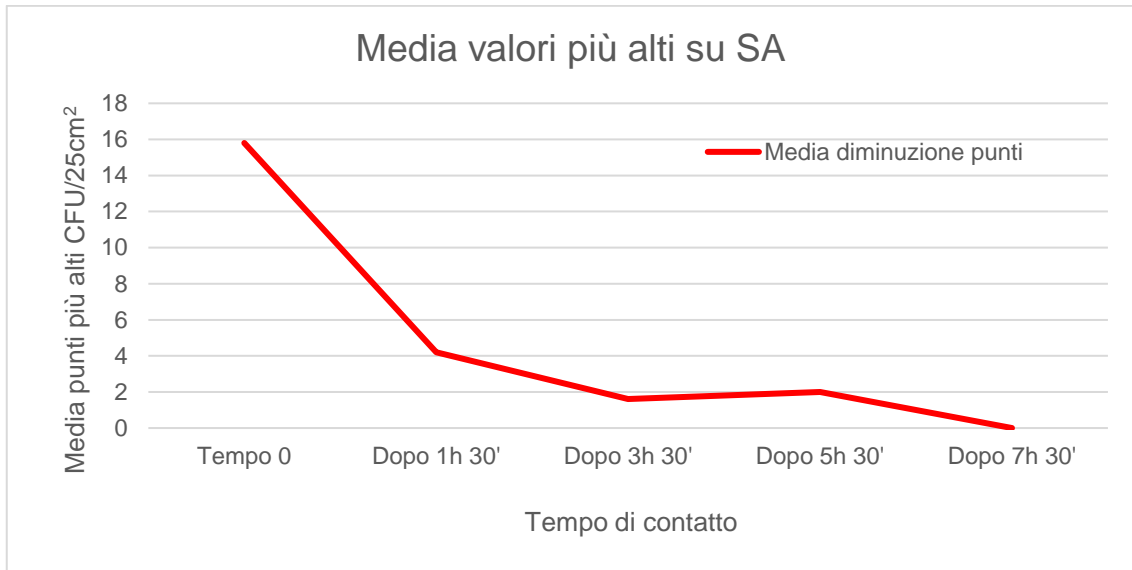


Figura 13 – Tempo di esposizione e media valori più alti calcolati in CFU/25cm<sup>2</sup> piastra SA

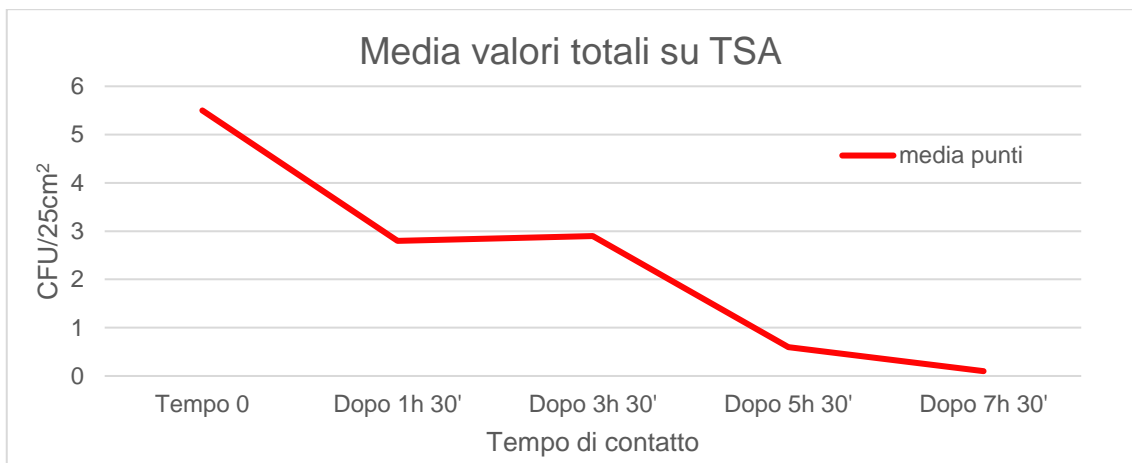


Grafico 14 – media valori totali e abbattimento carica microbica su piastre TSA espressi in CFU/25cm<sup>2</sup>

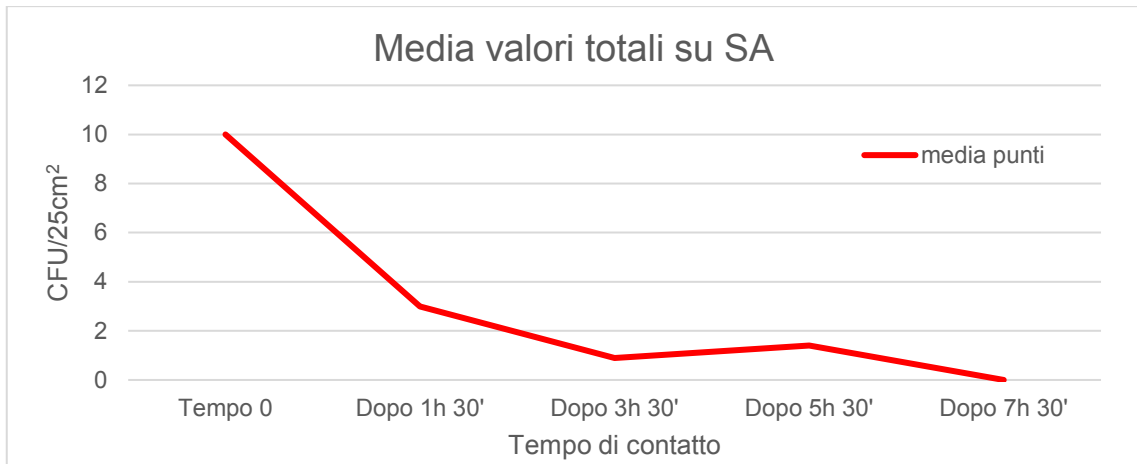


Grafico 15 – media valori totali e abbattimento carica microbica su piastra SA espressi in CFU/25cm<sup>2</sup>

### Conclusioni

La tecnologia Sanity-System che utilizza l'agente sanitizzante ozono, ha dimostrato un'ottima efficacia nella riduzione della carica microbica nei locali trattati; il processo di sanificazione con l'ozono risponde perfettamente alle nostre richieste e ai limiti di contaminazione stabiliti GMP nonché meno tossico e con possibilità di ripresa del ciclo lavorativo quasi se non immediata, senza danneggiamento di alcun oggetto presente all'interno del locale trattato.