

HERAtech S.r.L. Laboratori	ALLEGATO PROCEDURA SISTEMA INTEGRATO QSA		
	P 03.01 - A 8	REVISIONE 0	PAG. 1 DI 6
	Modulo "Rapporto di assistenza"		

P03.01A8R5.doc

Sperimentazione condotta presso:

Laboratorio HERAtech sede Sasso Marconi via Setta 4

novembre 2020-gennaio 2021

Cliente: Daniele Zamboni---Emhealia s.r.l.

Tipo di consulenza

	Proposte di tipologia di controllo	X	Interpretazione dati analitici
	Proposte di trattamento impiantistico	X	Protocollo analitico

**CAPACITA' BIOCIDA DEL PEROSSIDO DI IDROGENO NEBULIZZATO IN
CONCENTRAZIONI COMPATIBILI CON ESPOSIZIONE A LUNGO TERMINE**

ABSTRACT

La sperimentazione di seguito descritta è stata effettuata per indagare la relazione tra una specifica concentrazione di perossido di idrogeno nebulizzato misurata in ppm e il tempo di abbattimento di virus e batteri. Lo stato dell'arte delle pubblicazioni scientifiche relative alla capacità biocida del perossido di idrogeno vaporizzato non include infatti tale informazione. Il primo esperimento ha avuto quindi l'obiettivo di individuare una concentrazione di perossido nell'aria sufficiente all'abbattimento della carica virale e batterica che fosse allo stesso tempo compatibile con la soglia di sicurezza per l'esposizione a lungo termine indicata dal regolamento europeo 528 del 2012 ^[1]. L'esito positivo del primo esperimento ha condotto alla ricerca del tempo minimo di esposizione di virus e batteri a tale concentrazione che ne consentisse il totale abbattimento. Nell'intorno delle due ore si è quindi verificata tale condizione, provando l'ipotesi che sia possibile disinfettare completamente gli ambienti mediante la nebulizzazione del perossido di idrogeno alla opportuna concentrazione, in assoluta sicurezza e anche in presenza di persone e animali.

STRUMENTAZIONE UTILIZZATA

Per la nebulizzazione del perossido di idrogeno è stato utilizzato il diffusore Kairòs^[2] di Emhealia S.r.l. Questo diffusore eietta nell'ambiente un aerosol di micro-gocce (2 micron di diametro) di soluzione acquosa di perossido di idrogeno mediante nebulizzazione effettuata da 4 attuatori piezoelettrici completamente indipendenti. I piezoelettrici utilizzati vibrano ad una frequenza di 112 kHz sulla testa di un filtro in acetato di cellulosa il quale è imbevuto del perossido di idrogeno contenuto in una fiala da 100 ml. La portata di ciascun piezoelettrico è di circa 25 ml/h e la soluzione di perossido di idrogeno utilizzata per gli esperimenti è stata ottenuta diluendo 20 volte una soluzione di perossido di idrogeno al 3%. Quindi in ciascuna delle 4 fiale da 100 ml sono stati iniettati 5 ml di perossido al 3% e 95 ml di acqua demineralizzata.

La concentrazione del perossido nebulizzato è stata rilevata mediante sensori specifici H2O2 MEMBRAPOR H2O2-CB-100^[3], i cui segnali sono stati analizzati e registrati dal programma Alma H2O2 sviluppato da Alma Automotive Srl, SpinOff della facoltà di ingegneria dell'Università di Bologna. I sensori MEMBRAPOR sono sensori elettrochimici collegati mediante 4 connettori analogici ad un circuito potenziostatico MEMBRASENS. Hanno un intervallo di funzionamento compreso tra 0 e 200 ppm con una risoluzione di 0.05 ppm e consentono anche la misurazione della temperatura dell'ambiente in un intervallo compreso tra -20° e 50.

^[1] <https://echa.europa.eu/documents/10162/cad256b7-8716-80f4-d091-c7bce0305d89>

^[2] <https://www.emhealia.eu/#prodotti>

^[3] <http://www.membrapor.ch/sheet/Hydrogen-Peroxide-Gas-Sensor-H2O2-CB-100.pdf>

PROTOCOLLO SPERIMENTALE

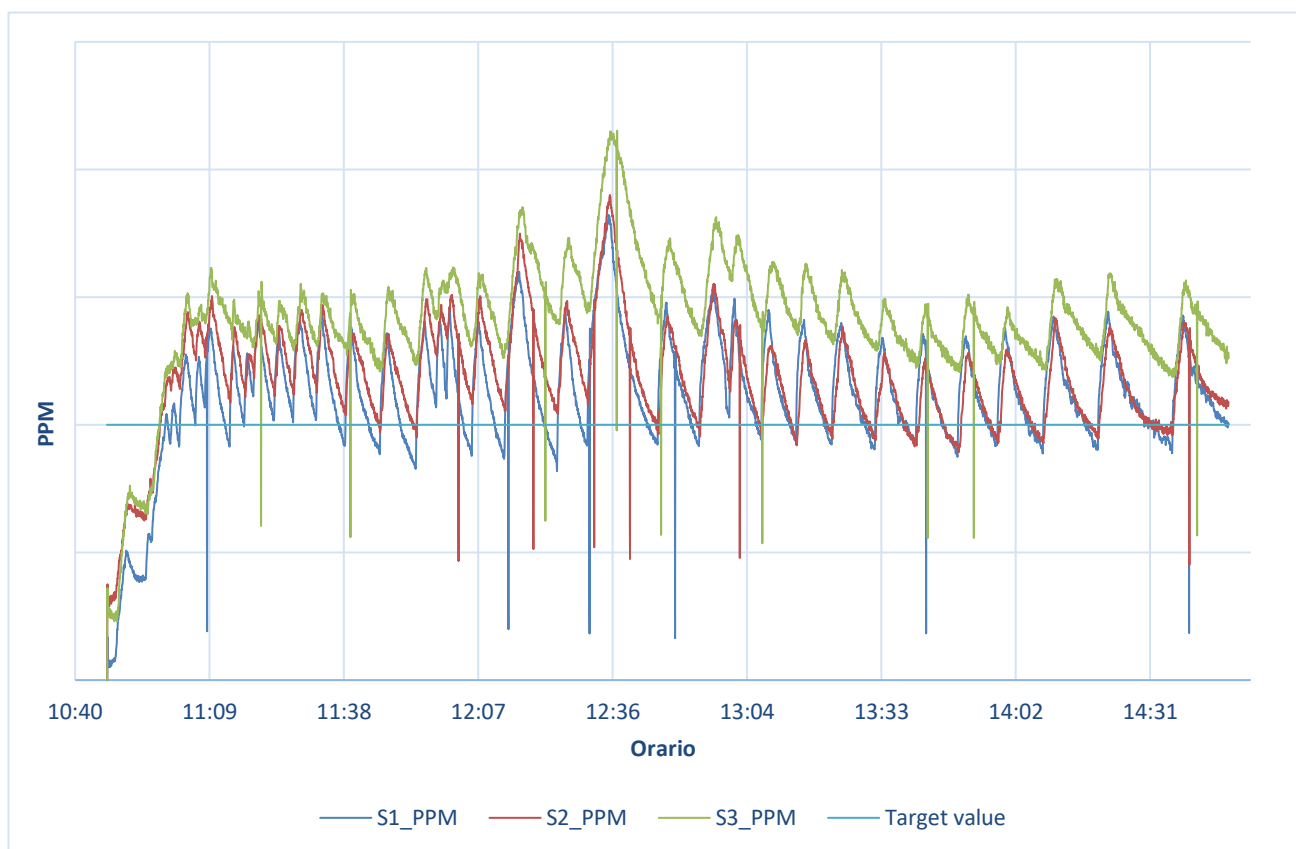
- **ANALISI EFFICACIA ANTIBATTERICA** Campionamento con piastre petri a contatto di una superficie piana in plastica posta sotto cappa biohazard spenta, contaminata in diversi punti di dimensioni note con miscela batterica a titolo noto pari a 6×10^4 UFC/ml di *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 prima e dopo l'utilizzo del sanificatore Kairòs. I risultati dimostrano abbattimento totale pari al 100% della carica batterica già a 2 ore dal raggiungimento dei ppm previsti di H₂O₂ (verificato con sensori posti sotto cappa), mentre l'abbattimento in assenza di H₂O₂, da considerare come controllo sperimentale, dopo 2 ore risulta essere del 60% circa.
- **ANALISI EFFICACIA ANTIVIRALE** Campionamento con tamponi di superficie piana in plastica posta sotto cappa biohazard spenta, contaminata in diversi punti di dimensioni note con soluzione di virus FCV (feline calicivirus) a titolo noto 10^5 UFP/ml, prima e dopo l'utilizzo del sanificatore Kairòs. Anche in tal caso come controllo sperimentale è stato valutato l'abbattimento del RNA virale in assenza di trattamento, e si è verificata persistenza del FCV fino alle 6 ore su superficie in plastica sotto cappa non funzionante. In tal caso l'analisi effettuata è RT-PCR di tipo qualitativo, che permette di evidenziare la presenza/assenza di RNA virale; può essere valutata semi-quantitativa costruendo in parallelo la curva ottenuta con l'RNA virale estratto da FCV tal quale, spatolato sulle superficie medesima, e le sue diluizioni successive in base 10. Confrontando con tale curva, detta "standard", le curve ottenute da diversi campioni si ottiene l'ordine di grandezza dell'abbattimento ottenuto.

Di seguito si riportano i risultati tabellati di tre sperimentazioni effettuate con FCV:

PRIMA PROVA del 01/12/2020

Trattamento sotto cappa con H₂O₂ x ppm e y ppm, diversi minuti di trattamento, su "griglia" di plastica, 8 posizioni

TAMPONE SUPERFICIE	ppm H2O2	TEMPO contatto	Ct curva PCR per FCV
T01 (primo bianco)	/	/	32.19
T02 (secondo bianco)	/	/	31.30
T01 1:10 (prima diluizione del primo bianco)	/	/	34.05
T01 1:100(seconda diluizione del primo bianco)	/	/	38.78
T01 1:1000 (terza diluizione del primo bianco)	/	/	assente
T02 1:10 (prima diluizione del secondo bianco)	/	/	33.95
T02 1:100(seconda diluizione del secondo bianco)	/	/	36.06
T1 prima superficie contaminata con FCV	x	30 min	34.35
T2 seconda superficie contaminata con FCV	x	60 min	37.98
T3 terza superficie contaminata con FCV	x	2h	assente
T4 quarta superficie contaminata con FCV	x	4h	assente
T5 quinta superficie contaminata con FCV	y	5 min	37.61
T6 sesta superficie contaminata con FCV	y	15 min	37.74
T7 settima superficie contaminata con FCV	y	30 min	36.66
T8 ottava superficie contaminata con FCV	y	60 min	37.27
FCV controllo tal quale	/	/	28.10

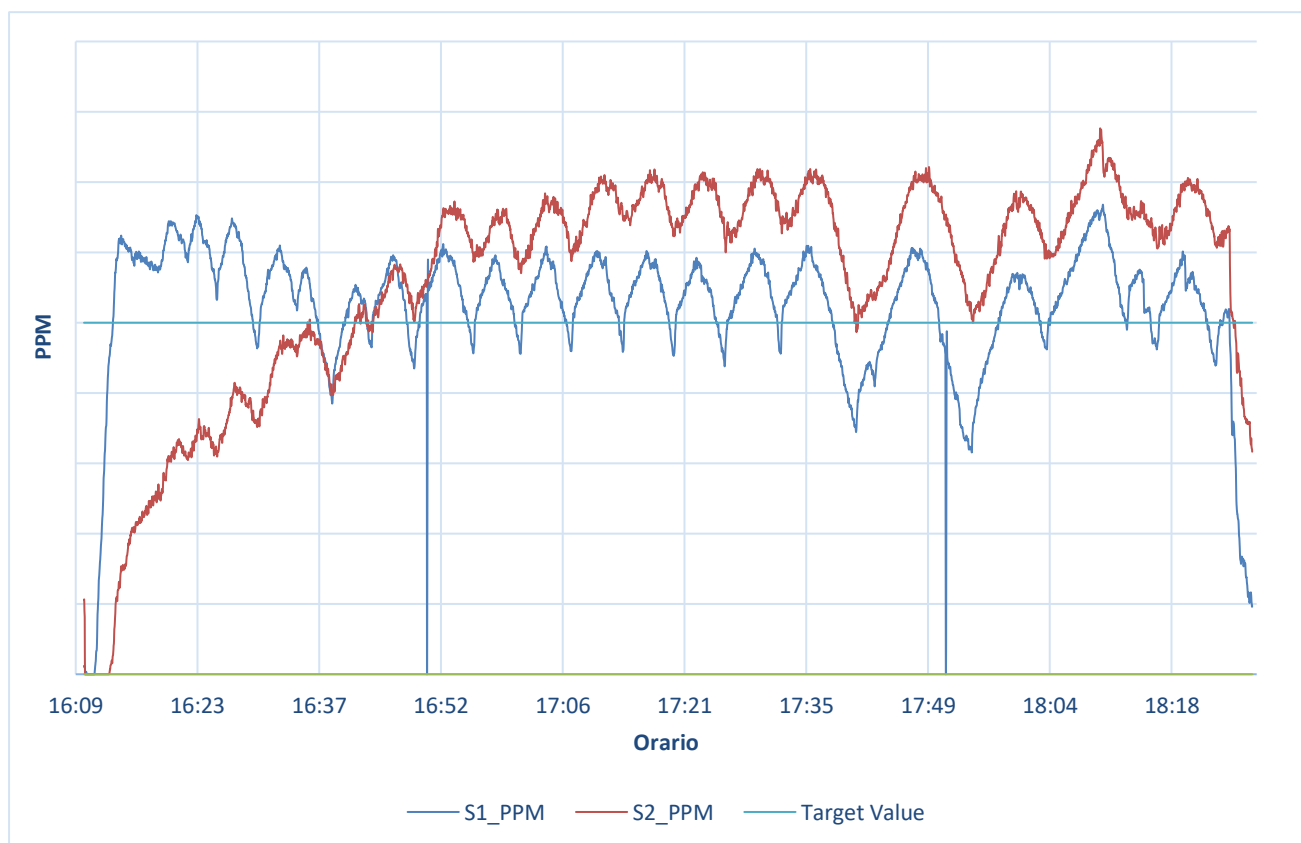


Descrizione ambiente di Test					
Inserire Schizzo pianta	Pianta/CAD	L1	L2	H	Volume
	SI/NO	1.19	0.571	0.713	0.5
Posizione sensori					
Sensore 1 [397]	Posizione	0.469	0.485	0	
Sensore 2 [389]	Posizione	0.931	0.359	0	
Sensore 3 [386]	Posizione	0.635	0	0.721	
KAIROS	Posizione	0.15	0.28	0.37	

SECONDA PROVA 15/12/2020

Trattamento sotto cappa con H₂O₂ x ppm, 105 minuti di trattamento, su "griglia" di plastica, 10 posizioni

TAMPONE SUPERFICIE	TEMPO CONTATTO	Ct curva PCR per FCV
QUADRATO 10 X 10 N°1	105 min	>40 ---assente
QUADRATO 10 X 10 N°2	105 min	assente
QUADRATO 10 X 10 N°3	105 min	assente
QUADRATO 10 X 10 N°4	105 min	37
QUADRATO 10 X 10 N°5	105 min	36
QUADRATO 10 X 10 N°6	105 min	34
QUADRATO 10 X 10 N°7	105 min	38
QUADRATO 10 X 10 N°8	105 min	>40--assente
QUADRATO 10 X 10 N°9	105 min	35
QUADRATO 10 X 10 N°10	105 min	assente
CONTROLLO FCV	TEMPO zero	32



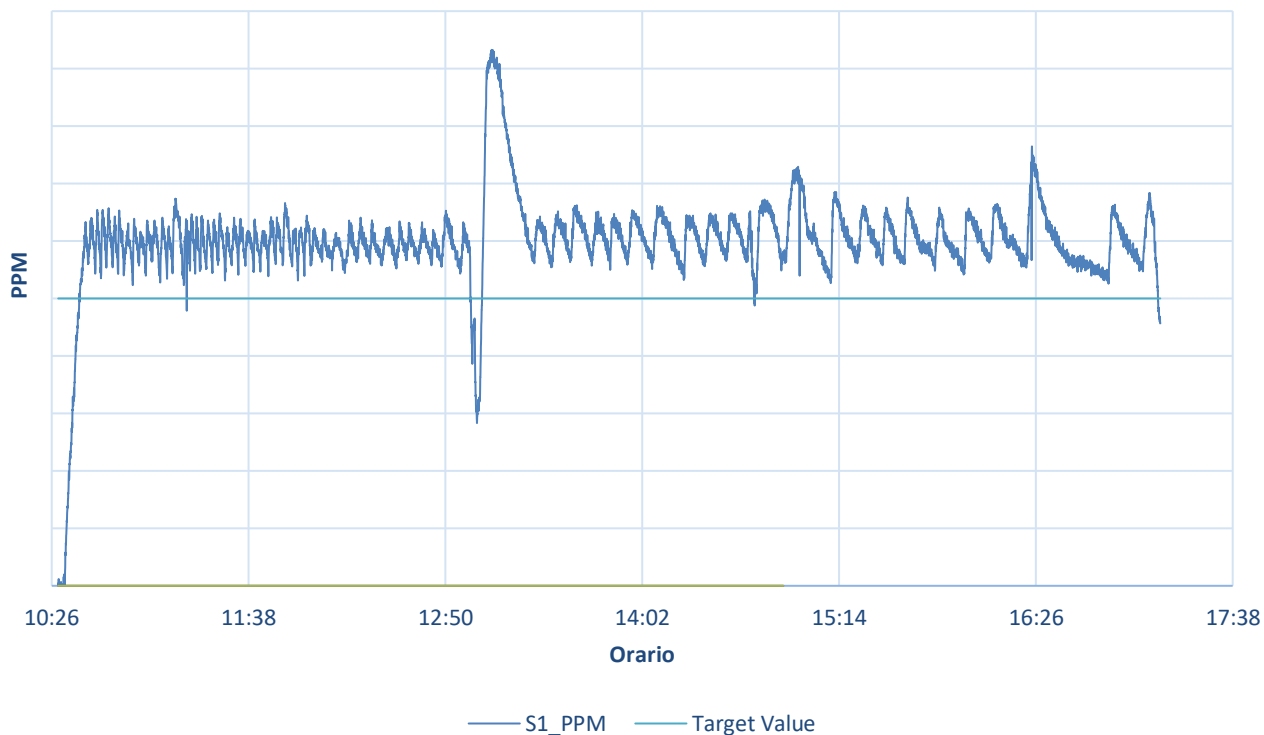
Descrizione ambiente di Test					
Inserire Schizzo pianta	Pianta/CAD	L1	L2	H	Volume
	SI/NO	1.19	0.571	0.713	0.5
Posizione sensori					
Sensore 1 [397]	Posizione	NA	NA	NA	
Sensore 2 [389]	Posizione	0.15	0.447	0	
Sensore 3 [386]	Posizione	0.741	0.227	0	
KAIROS	Posizione	0.15	0.28	0.37	

TERZA PROVA 18/01/2021

Trattamento sotto cappa con H₂O₂ x ppm, 125 minuti di trattamento, su "griglia" di plastica, 7 posizioni

TAMPONE SUPERFICIE	TEMPO	Ct curva PCR
100 ul FCV spatolati su superficie 10x10 cm circa con H2O2 sotto cappa chiusa		
QUADRATO 10 X 10 N°1	125 min	38
QUADRATO 10 X 10 N°2	125 min	Non rilevabile--assente
QUADRATO 10 X 10 N°3	125 min	Non rilevabile--assente
QUADRATO 10 X 10 N°4	125 min	Non rilevabile--assente
QUADRATO 10 X 10 N°5	125 min	Non rilevabile--assente
QUADRATO 10 X 10 N°6	125 min	Non rilevabile--assente
QUADRATO 10 X 10 N°7	125 min	38
CONTROLLO FCV	TEMPO zero	34

Test Hera Tech 18_01_21



Descrizione ambiente di Test					
Inserire Schizzo pianta	Pianta/CAD	L1	L2	H	Volume
	SI/NO	1.19	0.571	0.713	0.5
Posizione sensori					
Sensore 1 [397]	Posizione	NA	NA	NA	
Sensore 2 [389]	Posizione	NA	NA	NA	
Sensore 3 [386]	Posizione	0.05	0.68	0	
KAIROS	Posizione	0.15	0.28	0.37	

FIRMA: firmato digitalmente da Dott.ssa Laura de Lellis

Responsabile
Settore Biologico

