

Biohazard in air-conditioning systems installed in health facilities

Rischio biologico negli impianti di climatizzazione installati nelle strutture sanitarie

Antonella Giorgio¹, Marco Guida¹, Michele del Gaudio^{2*}, Carmine Piccolo², Armando Masucci³, Grazia Memmolo⁴, Ernesto Russo⁵

¹ Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Napoli Federico II

² Inail – Unità operativa territoriale di certificazione, verifica e ricerca di Avellino

³ Azienda Ospedaliera San Giuseppe Moscati Avellino

⁴ Inail Direzione Territoriale di Avellino

⁵ Inail Contarp Direzione Regionale per la Campania

*Corresponding author:

Michele del Gaudio, Inail, Via F. Iannaccone 12-14, 83100 Avellino, Italy. Tel: +39 0825294227;

E-mail: m.delgaudio@inail.it

DOI: 10.36125/ijohy.v10i2.331

The project “Biological hazard related to the operation of air-conditioning systems in sanitary environments in the province of Avellino” has had, as its main objective, the microbiological monitoring of the environments hospitals in order to evaluate the microbiological quality of the air, through procedures and criteria for sampling the environmental microbial flora. This procedure aims to assess and manage risks related to the hygiene of air treatment plants (UTA), which must be periodically subjected to checks, maintenance, cleaning and sanitization in order to protect the health of Workers according to technical standards and national guidelines. Most important was the characterization at the level of species and gender of the main microbiological contaminants present within the samples investigated. The entire trial was carried out on a temporal scale taking into account the frequency of the UTA maintenance activities and thus establishing the monitoring plan. In order to assess the effectiveness of the maintenance plan and the efficiency of the actions of sanitizations, withdrawals should be made at three different times or immediately after ordinary maintenance, halfway between the first and second Maintenance and immediately before the second maintenance. This way you can monitor the presence of different bacterial contaminants in time. The quantitative and qualitative analysis of bacteria, pathogens and not, in hospital environments aims to prevent the onset and spread of pathologies. In particular, the monitoring of air handling units is of fundamental importance since such plants can cause the diffusion of many pollutants, coming from outside or inside, resulting from residues of materials from Construction, from remnants of plant and animal origin (pigeons, mice, insects) or moulds and bacteria that can contaminate the water and the surfaces inside the aeraulic plants. The molecular-based taxonomic characterization of the most representative species in the test specimens has as its main purpose the identification of any “sentinel” markers as well as indicators of biohazard.

Key words: Air Quality; microbiology; maintenance.

Il progetto “Rischio biologico relativo al funzionamento di sistemi di climatizzazione in ambienti sanitari nella provincia di Avellino” ha avuto come obiettivo principale il monitoraggio microbiologico degli ambienti ospedalieri al fine di valutare la qualità microbiologica dell’aria, attraverso procedure e criteri per il campionamento della flora microbica ambientale. Questa procedura ha lo scopo di valutare e gestire i rischi relativi all’igiene degli impianti di trattamento dell’aria (UTA), che devono essere periodicamente sottoposti a controlli, manutenzione, pulizia e sanificazione al fine di proteggere la salute dei lavoratori secondo le norme tecniche e le linee guida nazionali. Il più importante è stata la caratterizzazione a livello di specie e genere dei principali contaminanti microbiologici presenti all’interno dei campioni esaminati. L’intero processo è stato condotto su scala temporale tenendo conto della frequenza delle attività di manutenzione dell’UTA e stabilendo così il piano di monitoraggio. Al fine di valutare l’efficacia del piano di manutenzione e l’efficienza delle azioni di sanificazione, i prelievi devono essere effettuati in tre tempi diversi o immediatamente dopo la manutenzione ordinaria, a metà strada tra la prima e la seconda manutenzione e immediatamente prima della seconda manutenzione. In questo modo è possibile monitorare la presenza di diversi contaminanti batterici nel tempo. L’analisi quantitativa e qualitativa di batteri, agenti patogeni e non, in ambienti ospedalieri, mira a prevenire l’insorgenza e la diffusione di patologie.

In particolare, il monitoraggio delle unità di trattamento dell’aria è di fondamentale importanza poiché tali impianti possono causare la diffusione di numerosi inquinanti, provenienti dall’esterno o dall’interno, derivanti da residui di materiali provenienti da Edilizia, da residui di origine vegetale e animale (piccioni, topi, insetti) o muffe e batteri che

possono contaminare l'acqua e le superfici all'interno delle piante aerauliche. La caratterizzazione tassonomica a base molecolare delle specie più rappresentative negli esemplari di prova ha come scopo principale l'identificazione di eventuali marcatori "sentinella" nonché gli indicatori di rischio biologico.

Introduzione

Premessa

Gli ambienti sanitari per antonomasia sono tra i luoghi di lavoro in cui ci si aspetta la massima attenzione alla salute non solo dei lavoratori, ma in generale delle persone che vi accedono. Proprio per questo, oltre al rischio biologico legato alle attività di assistenza ai pazienti è importante valutare il rischio connesso all'utilizzo di impianti per il condizionamento degli ambienti, dove solo una puntuale e accurata manutenzione può fornire la garanzia che questi impianti, da presidi di prevenzione, non diventino veicoli di contagio. Gli stessi addetti alla manutenzione durante le operazioni di manutenzione e sanificazione possono essere esposti a questo rischio, se non adeguatamente formati e protetti.

Il progetto è stato realizzato presso la Città Ospedaliera della A.O. S. Giuseppe Moscati, di Avellino (Italy), ed è connotato da ampia replicabilità, in quanto le tecniche di analisi utilizzate, altamente innovative, potranno costituire un utile riferimento per quanti in futuro avranno necessità di verificare l'efficacia, sotto il profilo biologico, delle attività di manutenzione condotte su impianti di condizionamento.

Igiene delle unità di trattamento dell'aria

Così come riportato nella "Procedura operativa per la valutazione e gestione dei rischi correlati all'igiene degli impianti di trattamento aria" (Conferenza Permanente 2013) (M. del Gaudio 2013) le Unità Trattamento Aria o UTA sono delle macchine presenti negli impianti di climatizzazione di un locale (per il caso studio in oggetto, un ambiente ospedaliero) il cui scopo è quello di prelevare l'aria dall'esterno e trattarla a seconda delle richieste climatiche degli ambienti interni. I parametri coinvolti nel trattamento dell'aria sono la temperatura, l'umidità, la velocità dell'aria e la purezza. Una scarsa manutenzione e pulizia degli impianti di trattamento dell'aria (impianti aeraulici), possono compromettere notevolmente la qualità dell'aria degli ambienti indoor. Residui organici provenienti dall'esterno, accumuli di polvere, materiale sedimentato, residui plastici o fibrosi, acqua, resti di origine vegetale e animale possono depositarsi lungo l'impianto e fornire un buon substrato per lo sviluppo di biofilm microbici. Per tale ragione, ad intervalli di tempo regolari e prestabiliti si procede ad un'ispezione visiva e tecnica dell'impianto. La prima mira a valutare lo stato igienico e di manutenzione di alcuni punti critici dell'impianto e della loro funzionalità. Sempre secondo Procedura l'ispezione tecnica prevede normalmente campionamenti e/o

controlli tecnici sui componenti dell'impianto al fine di valutarne l'efficienza, lo stato di conservazione e le condizioni igieniche. Essa permette di diagnosticare le criticità manifestate dall'impianto, le misure da intraprendere e la tempistica con la quale intervenire. Secondo quanto riportato nello stesso documento per i controlli visivi è prevista una periodicità massima di un anno da ridurre a 6 mesi in presenza di sistemi di umidificazione adiabatica o in aree con elevati valori di umidità. Per i controlli tecnici la periodicità non è indicata ma rimandata a valutazioni che tengano conto delle valutazioni visive, delle esigenze microbiologiche e delle caratteristiche dell'impianto.

Le attività di manutenzione, così come riportato nel documento "Procedura operativa per la valutazione e gestione dei rischi correlati all'igiene degli impianti di trattamento aria – Conferenza Stato Regioni: procedure per gli impianti trattamento aria", prevedono una serie di attività volte a garantire un buon funzionamento dell'impianto e la sicurezza igienico-sanitaria dello stesso. In particolare su strutture esterne, quali le serrande di presa dell'aria esterna, deve essere valutata la presenza di sporcizia, detriti e di origine vegetale e animale. Passando all'UTA, sui filtri bisogna valutare lo stato di deterioramento, la quantità di polvere depositata, la sporcizia e l'eventuale presenza di muffe. Per la sostituzione dei filtri è necessario tenere comunque conto delle informazioni fornite dal fabbricante circa la durata dei filtri o eventualmente prevedere tempi minori in situazioni di particolare inquinamento. A tal fine è possibile installare dei pressostati per misurare il livello di intasamento. Per quanto riguarda la vasca di recupero dell'acqua di condensa le attività di manutenzione mirano alla valutazione dello stato di pulizia e all'assenza di detriti, calcare, sedimenti o evidenti tracce di biofilm. In corrispondenza del sifone di drenaggio occorre valutare la presenza di incrostazioni, sporcizia o qualsiasi altra possibile causa di intasamento. Sulle pareti di tutte le sezioni dell'UTA, occorre valutare la presenza di sporcizia, ruggine o evidente proliferazione di muffe. In corrispondenze delle batterie di scambio termico occorre analizzare lo stato di conservazione e la presenza di sporcizia, contaminazione microbiologica, incrostazioni o rotture. Infine a livello degli umidificatori è necessario valutare la presenza di eventuali depositi di calcare o di incrostazioni sulle parti a contatto con l'acqua e il deposito di acqua nella camera di umidificazione.

Attività di manutenzione

Le attività di manutenzione e il relativo controllo dell'UTA sono finalizzate a verificare il perfetto funzionamento delle apparecchiature e dei dispositivi di controllo, la cor-

retta taratura delle strumentazioni. Di seguito un elenco delle possibili attività che a frequenza mensile, annuale, bimestrale o semestrale si effettuano a livello dell'UTA:

- lavori di pulizia ed ingrassaggio della sezione ventilante;
- verifica dei supporti antivibranti;
- pulizia esterna mediante soffiatura delle batterie alettate;
- pulizia sezione umidificazione (ad esempio vasca, filtro aspirazione);
- pulizia delle griglie di presa dell'aria esterna;
- controllo sistema di umidificazione;
- verifica dei parametri di funzionamento e regolazione;
- controllo del sistema di scarico delle condense;
- controllo rumori o vibrazioni del ventilatore;
- misura della portata d'aria dell'UTA con la verifica dei numeri di ricambio dell'aria;
- pulizia della vasca di raccolta dell'acqua e condensa;
- pulizia della sezione umidificazione, griglie, alette e separatore gocce;
- pulizia esterna ed eventuale verniciatura.

Rischi per i lavoratori

Il rischio biologico per gli operatori addetti alle attività di manutenzione può configurarsi in varie situazioni. Ad esempio durante le attività di sanificazione dei canali di areazione tale personale può entrare in contatto con sostanze chimiche; di conseguenza è necessario operare

1. utilizzando al minimo sostanze pericolose;
2. avendo a disposizione le schede tecniche e di sicurezza dei prodotti al fine di procedere ad un utilizzo consapevole degli stessi;
3. mettendo in sicurezza l'area da personale e utenza andando a delimitare la zona;
4. utilizzando appositi DPI.

Analogamente durante gli interventi di manutenzione, pulizia e sanificazione dell'UTA il rischio si può concretizzare in seguito all'esposizione con strutture contaminate da materiale biologico. In tal caso è necessario utilizzare correttamente i DPI e far areare correttamente i locali.

Materiali e Metodi

Il progetto di ricerca qui esposto ha previsto un monitoraggio microbiologico degli ambienti ospedalieri ed in modo particolare, una valutazione della qualità microbiologica dell'aria, mediante procedure e criteri di campionamento della flora microbica ambientale. Tale procedura ha come obiettivo la valutazione e la gestione dei rischi cor-

relati all'igiene degli impianti di trattamento aria (UTA), che devono essere periodicamente sottoposti a controlli, manutenzione, pulizia e sanificazione per la tutela della salute dei lavoratori secondo norme tecniche e Linee Guida nazionali. Di grande importanza è stata, inoltre, la caratterizzazione a livello di specie e di genere dei principali contaminanti microbiologici presenti all'interno dei campioni oggetto di indagine. L'intera sperimentazione è stata condotta su scala temporale tenendo conto della frequenza delle attività di manutenzione dell'UTA e stabilendo di conseguenza il piano di monitoraggio (Fig. 1). Infatti, al fine di valutare l'efficacia del piano di manutenzione e l'efficienza delle azioni di sanificazioni, i prelievi andrebbero effettuati in tre momenti differenti:

1. immediatamente dopo la manutenzione ordinaria;
2. a metà tra la prima e seconda manutenzione;
3. immediatamente prima della seconda manutenzione.

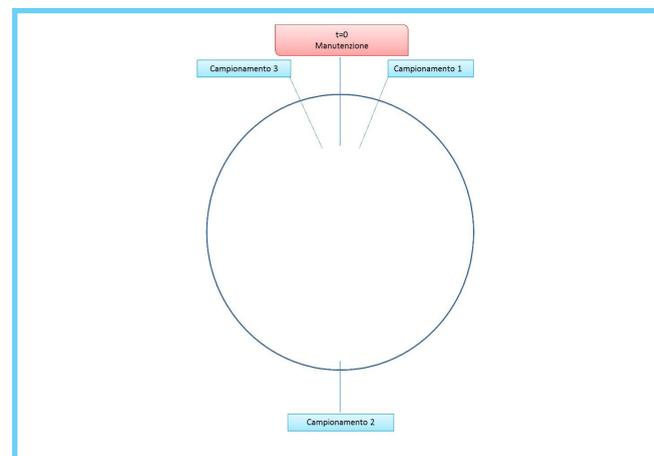


Figura 1: Piano di monitoraggio

In questo modo si può monitorare la presenza nel tempo di contaminanti batterici differenti.

L'analisi quantitativa e qualitativa di batteri, patogeni e non, negli ambienti ospedalieri, mira a prevenire l'insorgenza e la diffusione di patologie (Seyed Hamed Mirhoseini et al. 2015). La caratterizzazione tassonomica su base molecolare delle specie maggiormente rappresentative nei campioni in esame ha quale scopo principale l'individuazione di eventuali marker "sentinella" oltre che indicatori del rischio biologico.

I campionamenti sono stati effettuati in collaborazione con l'Unità Operativa complessa di Medicina preventiva, Igiene Ambientale e radioprotezione dell'Azienda Ospedaliera di Rilievo Nazionale San Giuseppe Moscati.



Figura 2: Azienda Ospedaliera S. Giuseppe Moscati

I prelievi di aria sono stati realizzati in corrispondenza dell'Unità di Trattamento dell'aria (nello specifico UTA 18) (fig. 3) ubicata in un locale tecnico all'ultimo piano dell'edificio, e nella Sala Operatoria "Otorino" ad essa collegata.



Figura 3: UTA n. 18

Il monitoraggio microbiologico ambientale è stato eseguito compiendo, in prima analisi, un controllo dell'aria all'interno del locale tecnico, nelle sezioni dell'UTA e nella sala operatoria e per un ulteriore approfondimento sono stati prelevati dei campioni di superficie all'interno dell'UTA e nella sala operatoria.



Figura 4: Campionamenti dell'aria

È stato utilizzato un campionatore attivo, predisposto all'aspirazione di un volume determinato di aria a sua volta convogliata su un terreno di coltura solido. Tale metodica consente ai microorganismi eventualmente presenti nell'aria di aderire al terreno di coltura e, dopo adeguato periodo di incubazione, di dar origine a colonie visibili ad occhio nudo. Le colonie possono essere conteggiate e dopo isolamento identificate. Il livello di contaminazione microbica si esprime come Unità Formanti Colonie (UFC) per m³ di aria.

Per gli scopi della ricerca è stato utilizzato un campionatore ad impatto ortogonale, DUO SAS Super 360 (Surface

Air System), con testata adattabile a piastre Petri di diametro 55-60 mm (Fig.5)



Figura 5: Campionatore DUO SAS 360 – Surface Air System

In corrispondenza dell'UTA stato prelevato un volume

Tabella 1: Parametri biologici ricercati

Parametro	Terreno	Temperatura di incubazione	Tempo di incubazione
Conta batterica totale psicrofila	Plate Count Agar (PCA)	22°C	72 h
Conta batterica totale mesofila	Plate Count Agar (PCA)	37°C	24-48 h
Conta fungina totale	Sabouraud (SAB)	25°C	5-7 gg
Stafilococchi coagulasi positivi	Mannitol Salt Agar (MSA)	37°C	24-48 h
Escherichia coli	Tryptone Bile X-Gluc Agar (TBX)	44°C	24-48 h

Dopo l'incubazione delle piastre, si è proceduto all'isolamento colturale delle principali colonie batteriche e fungine rinvenute nei campioni presi in esame.

Da subcultura le colonie sono state sottoposte ad indagine molecolare basata sui seguenti "step" analitici:

- Estrazione del DNA (metodo Fenolo-Cloroformio),
- Elettroforesi su gel di agarosio per analisi dell'integrità e qualità dell'estratto,
- Quantificazione del DNA (Nanodrop),
- Amplificazione PCR del 16rDNA (Regione V3-V6) e Purificazione dei prodotti di amplificazione,
- Elettroforesi su gel di agarosio, per analisi della positività della reazione,
- Quantificazione dei prodotti di amplificazione (Nanodrop),
- Reazione di sequenza,
- Sequenziamento genico,
- Editing delle sequenze e Analisi BLAST.

pari a 100 litri di aria (0,1 m³); in sala operatoria è stato, invece, campionato un volume di aria pari a 500 litri (0,5 m³).

I campioni sono stati confezionati in modo da resistere ad urti o sollecitazioni, evitando che le piastre si roveschino o si aprano durante il trasporto; inoltre, in quanto potenzialmente infetti e per evitare alterazioni del risultato, i campioni sono stati conservati ad una temperatura standard pari a +4°C ± 0,5. Una volta pervenuti in laboratorio, i campioni sono stati trasferiti immediatamente negli incubatori alle temperature di crescita idonee per ogni singola specie.

L'analisi quantitativa è stata condotta al fine di valutare i livelli generali di contaminazione microbica attraverso misure di sintesi e, quindi, di ottenere una stima del grado di salubrità ambientale. In tabella 1 sono riportati i parametri microbiologici base ricercati.

RISULTATI

Al fine di valutare la riduzione di contaminazione tra l'esterno (punto di aspirazione dell'aria esterna da parte dell'UTA) e l'interno dell'UTA (Ultima sezione dell'UTA prima che l'aria venga immessa nelle tubazioni di collegamento alla sala operatoria) e di conseguenza gli effetti delle varie sezioni dell'UTA (in particolare delle sezioni di: filtrazione, di trattamento termico ed igrometrico) nel tempo, è stata calcolata la riduzione percentuale del numero di colonie (mesofili, psicrofili e funghi) per ciascuna fase di campionamento.

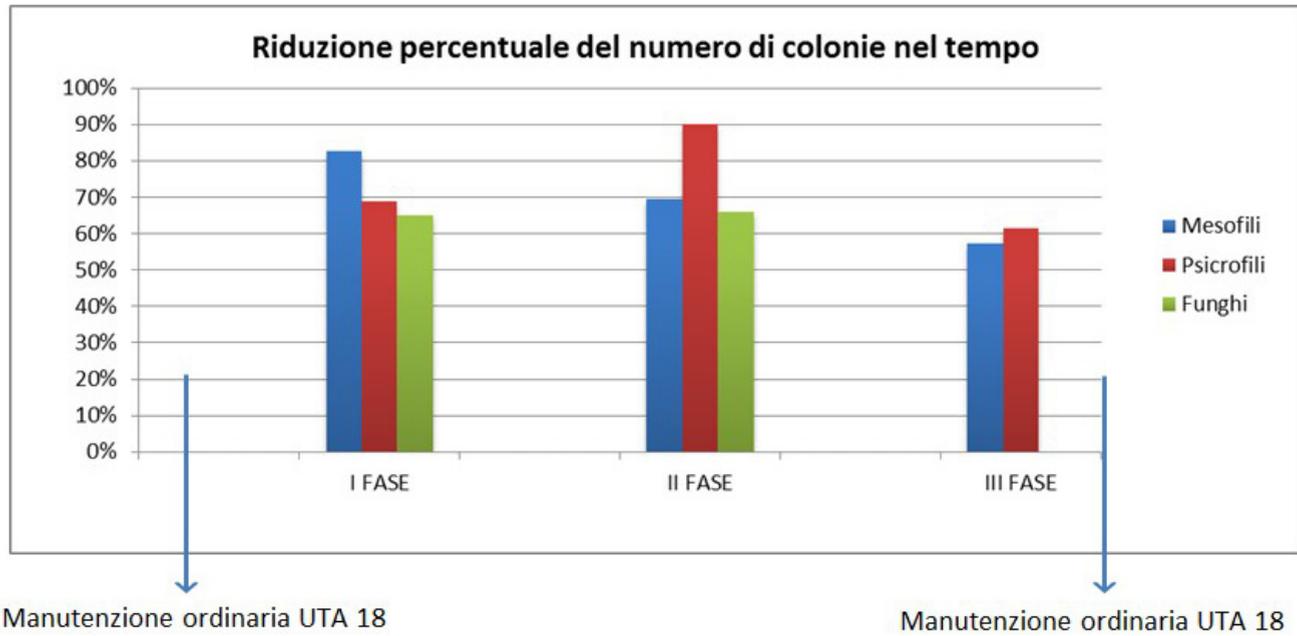


Figura 6: Riduzione percentuale del numero di colonie nel tempo tra interno ed esterno dell'UTA.

Dal grafico si possono trarre le seguenti conclusioni:

- Nella I Fase di campionamento si osserva una riduzione percentuale del numero di UFC/m³ di aria pari al 83%, 69% e 65% per la conta batterica totale mesofila, psicrofila e fungina. Il campionamento si è avuto dopo 2 giorni dall'attività di manutenzione ordinaria.
- Nella II Fase di campionamento si osserva una riduzione percentuale del numero di UFC/m³ di aria pari al 69%, 90% e 66% per la conta batterica totale mesofila, psicrofila e fungina. Il campionamento si è avuto dopo

- 2 mesi e mezzo dall'attività di manutenzione ordinaria.
- Nella III Fase di campionamento si osserva una riduzione percentuale del numero di UFC/m³ di aria pari al 57%, 61% e 0% per la conta batterica totale mesofila, psicrofila e fungina. Il campionamento si è avuto dopo circa 4 mesi dall'attività di manutenzione ordinaria e immediatamente prima della successiva manutenzione. In tabella 2 si riporta un elenco delle specie più comunemente individuate sia nei campioni esterni che in quelli interni all'UTA 18, sulla base delle analisi molecolari.

Tabella 2: Specie individuate con l'analisi molecolare.

LE SPECIE ISOLATE	
UTA 18 Esterna	UTA 18 Interna
- <i>Alternaria alternata</i>	- <i>Aerococcus viridans</i>
- <i>Arthrobacter humicola</i>	- <i>Bacillus licheniformis</i>
- <i>Aspergillus fumigatus</i>	- <i>Bacillus simplex</i>
- <i>Bacillus cereus</i>	- <i>Bacillus thuringiensis</i>
- <i>Bacillus licheniformis</i>	- <i>Cladosporium herbarum</i>
- <i>Bacillus thuringiensis</i>	- <i>Cladosporium oxysporum</i>
- <i>Pseudarthrobacter equi</i>	- <i>Cladosporium uredinicola</i>
- <i>Staphylococcus pasteurii</i>	- <i>Davidiella macrospora</i>
- <i>Staphylococcus warneri</i>	- <i>Epicoccum nigrum</i>
- <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	- <i>Penicillium crustosum</i>

Nella tabella 3 sono riportati i risultati dei campionamenti sull'acqua di condensa presente sempre in piccole quantità nell'UTA grazie ad un efficiente sistema di scarico si-

fonato, in cui il numero di colonie è crescente a partire dall'ultima attività di sanificazione.

Tabella 3: Risultati microbiologici delle analisi eseguite sui campioni dalla vaschetta delle acque di condensa dell'UTA18

Rilievo	COD CAMPIONE	LOCALE	PCA MESOFILI (UFC/100cm ²)	PCA PSICROFILI (UFC/100cm ²)	SAB (UFC/100cm ²)	MSA (UFC/100cm ²)	TBX (UFC/100cm ²)
I fase	3S Sup UTA 18	Vaschetta di condensa	180	70	80	0	0
II fase	3S Sup UTA 18	Vaschetta di condensa	N.D	144	8	0	0
III fase	3S Sup UTA 18	Vaschetta di condensa	1500	1500	1500	0	0

I campionamenti in aria e sulle superfici della sala operatoria sono risultati tutti negativi.

Discussione e conclusioni

I principali risultati delle ricerche condotta possono essere così riassunti:

1. La presenza di microorganismi patogeni o opportunisti in ambiente ospedaliero riveste particolare interesse data la presenza, in questi ambienti, di pazienti immunocompromessi. Soprattutto in sala operatoria l'attenzione è rivolta ai numerosi fattori di rischio che possono compromettere notevolmente la salute umana. In particolare inefficienze del sistema di ventilazione e/o manutenzioni non efficaci possono contribuire alla diffusione di patogeni e all'insorgenza di patologie. Da ciò emerge la necessità di un piano di monitoraggio di sorveglianza attivo e continuo delle superfici e dell'aria al fine di individuare patogeni in tempi rapidi, abbattendo notevolmente il rischio per la salute umana oltre che mortalità nei pazienti. Tale esigenza è ancora più pressante vista la necessità di combattere il fenomeno della farmacoresistenza limitando l'uso massivo di antibiotici.
2. Le infezioni nosocomiali, sono quelle infezioni associate all'ambiente ospedaliero e che sono risultanti dal contatto diretto o indiretto con oggetti, persone o atmosfere contaminate da patogeni. Da questo punto di vista la contaminazione microbica degli ambienti è strettamente correlata alle dimensioni degli ambienti, al numero di persone che occupano un dato ambiente, dalle loro attività, dall'aerosol da essi generato e dal grado di ventilazione. Il particolato e le polveri costituiscono un buon veicolo per la trasmissione di contaminanti aereo dispersi e possono derivare da attività umane. È stato inoltre dimostrato che circa il 10-20% delle infezioni nosocomiali post-operatorie sono causate da patogeni presenti nell'aria indoor. In gene-

rale le sorgenti di infezione possono essere endogene (flora batterica dello stesso paziente) o esogene (altri pazienti, personale, attrezzature mediche, ambiente). La fonte di infezione nella maggior parte dei casi è costituita da una persona sana che fa parte del personale di assistenza; nel caso sia un altro paziente si parla di infezioni crociate. Nel caso di infezioni endogene il paziente è fonte e oggetto di infezione. Veicoli di infezione sono le mani, lo strumentario, le infusioni di sostanze e farmaci, l'ambiente (negli ultimi anni l'aria è stata molto ridimensionata come veicolo di infezione ospedaliera: resta comunque l'evidenza di infezioni nosocomiali aerodiffuse come l'influenza, il morbillo, la parotite, la tbc, etc.), arredi, mobili, pavimenti (la loro importanza deriva dal fatto che il personale può toccare arredi e mobili contaminati e trasferire i microorganismi, tramite le mani, al paziente; per quanto riguarda i pavimenti la loro importanza è relativa al risollevarsi di polveri con microorganismi spesso multiresistenti per l'uso estensivo e spesso ingiustificato di soluzioni disinfettanti nella pulizia). Gli effetti lettereschi sono altre possibili fonti e veicoli di infezione, così come i cibi. Altra possibile fonte di infezione sono gli umidificatori, i nebulizzatori e gli impianti di ventilazione (Cesira Pasquarella et Al. 2012).

3. I microorganismi spesso associati ad infezioni nosocomiali sono: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* sp., *Escherichia coli*, *Enterobacter* sp., *Bacillus cereus*, *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Neisseria meningitidis*, *Corynebacterium diphtheriae* e *Mycobacterium tuberculosis*. In molti casi la pericolosità di tali agenti è determinata dall'intrinseca resistenza agli antibiotici e quindi alla capacità di sopravvivenza a differenti condizioni ambientali e pratiche di disinfezione. Il monitoraggio delle unità ospedaliere, dei pazienti e dei materiali ospedalieri mira alla riduzione di tali infezioni nosocomiali.

Numerose sono le patologie ad essi associate; di seguito degli esempi:

- *Escherichia coli* provoca infezioni urinarie e intestinali nei bambini.
- *Klebsiella* sp. è responsabile dell'insorgenza di infezioni respiratorie nelle rianimazioni.
- *Pseudomonas* sp., ubiquitario, saprofito, resistente ai comuni disinfettanti è responsabile di tutte le possibili gamme di infezioni nosocomiali.
- *Staphylococcus* sp. è presente nella flora naturale di cute e mucose. Si distinguono due specie: *S. aureus* e *S. epidermidis*. Il primo è spesso implicato nelle infezioni delle ferite chirurgiche, per eliminazione in sala operatoria da parte di soggetti portatori di infezioni cutanee, mentre *S. epidermidis*, molto poco aggressivo, può essere responsabile di endocarditi batteriche subacute e croniche a seguito di interventi cardiocirurgici. Può causare anche osteomieliti a seguito di interventi ortopedici. Entrambi sono i principali agenti responsabili di setticemie associate a cateteri venosi centrali e periferici. Alcuni organismi appartenenti ai sopraccitati taxa sono stati individuati anche nei campioni analizzati. Si tratta principalmente di batteri di origine ambientale, tra cui *Exiguobacterium indicum*, *Bacillus* sp., *Cladosporium* sp., alcuni dei quali non patogeni per l'uomo. In questa categoria rientrano le specie *Botryotinia fuckeliana*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus aryabhattai* e i membri del genere *Arthrobacter* sp (Pailan S et Al. 2015).

Per altre specie, ad esempio *Aureobasidium pullulans* è necessaria particolare attenzione, proprio per lo specifico contesto in cui è stata rinvenuta. Infatti, precedenti studi, ne hanno dimostrato la possibile diffusione proprio tramite gli impianti di condizionamento dell'aria e la correlazione con particolari disturbi (tosse, febbre) dovuti ad esposizione cronica.

Da tenere sotto osservazione è la presenza di ulteriori specie tra cui:

- *Aspergillus fumigatus*, capace di causare infezioni e allergie respiratorie,
- *Bacillus licheniformis*, responsabile di infezioni oculari, peritoniti o batteremie in pazienti immunocompromessi,
- *Cladosporium macrocarpum* associato ad infezioni e patologie a carico del SNC, 4- *Epicoccum nigrum*, causa di patologie allergiche quali asma e riniti.

L'identificazione dei microrganismi può essere realizzata tramite tecniche microbiologiche e molecolari. Le tecniche microbiologiche sono applicabili solo alla frazione microbica vitale e coltivabile. Per facilitare l'identificazione, riducendone i tempi e aumentando nel contempo il numero di campioni analizzabili, sono ormai ampiamente diffuse metodiche molecolari basate su estrazione del

DNA, PCR con primer specie-specifici, sequenziamento genico e elettroforesi. Le tecniche di biologia molecolare ed i saggi immunoenzimatici, invece, possono essere applicati sia alla frazione vitale che a quella non vitale dei microrganismi, pur non consentendone una distinzione. Si tratta infatti di saggi qualitativi, anche se sono in fase di studio metodi per ottenere risultati quantitativi. In particolare, la scoperta della reazione a catena della polimerasi (PCR) ha determinato un approccio del tutto nuovo ai metodi di identificazione dei diversi organismi, precedentemente basati solo su osservazioni di carattere morfologico o, nel caso dei microrganismi, su evidenze sperimentali dipendenti dal comportamento biochimico. La tecnologia della PCR e del successivo sequenziamento si basa fondamentalmente sui seguenti punti:

- la selezione di regioni target di DNA specifiche;
- l'amplificazione di questa/e regione/i all'interno di una popolazione di sequenze campionate all'organismo in esame;
- il sequenziamento nucleotidico dei frammenti di DNA precedentemente amplificati;
- l'identificazione dell'organismo tramite confronto con banche dati di sequenze omologhe.

Le tecniche di biologia molecolare si sono rivelate particolarmente utili nell'identificazione del genere *Aerococcus* sp. all'interno di alcuni campioni analizzati (Guilarte Y.N 2014). I membri del genere sono morfologicamente simili agli streptococchi, stafilococchi ed enterococchi con i quali si possono, di conseguenza, facilmente confondere. Le caratteristiche biochimiche tra gli appartenenti al genere sono simili e di conseguenza i kit presenti in commercio e basati su tali caratteristiche possono fornire un risultato errato.

L'analisi molecolare, basata su caratteristiche specifiche del DNA ribosomiale risultano estremamente sensibili e specifiche nell'identificazione e discriminazione delle varie specie.

La IV e la V fase di campionamento risultano le più significative al fine di valutare l'efficacia dei trattamenti di manutenzione. La IV fase ricade a metà tra due successive manutenzioni. Si osserva che la riduzione della microflora mesofila è più bassa con il passare del tempo dalle attività di manutenzione ma la riduzione degli psicrofili è nettamente superiore (dal 69% al 90% dopo 2 mesi circa). Invariata resta la riduzione percentuale per la microflora fungina. I risultati della V fase di campionamento circa la riduzione percentuale della carica mesofila, psicrofila e fungina evidenziano che tra l'esterno e l'interno dell'unità di trattamento dell'aria la riduzione del numero di colonie è molto più contenuta rispetto a quella avutasi nella terza fase di campionamento e quindi subito dopo la manutenzione. Infatti se subito dopo la manutenzione la carica batterica mesofila si riduce del 83%, dopo 4

mesi si riduce del 57%. Analogamente la carica psicrofila si riduce del 69% dopo la manutenzione del 23-03-2017 e del 61% dopo 4 mesi. Addirittura la percentuale di riduzione della conta fungina è praticamente pari a 0 e di conseguenza questo potrebbe indicare una saturazione dei filtri o un ristagno dell'aria all'interno dell'UTA.

A dimostrazione delle buone capacità depurative delle apparecchiature e dei sistemi di filtrazione In sala operatoria, in nessuna circostanza, è stato evidenziato qualche fenomeno di contaminazione batterica sia dopo la manutenzione che con il passare del tempo.

Evidentemente le condizioni igieniche delle condotte e soprattutto la corretta gestione dei filtri assoluti, che costituiscono l'ultimo elemento dell'impianto, riescono ad isolare efficacemente la sala operatoria dalle contaminazioni.

Anche le analisi sulle superfici sono risultate negative a dimostrazione che le operazioni di sanificazione post intervento non vengono modificate dall'effetto dell'aria immessa dall'impianto.

Lo studio condotto presso il Presidio Ospedaliero di rilievo Nazionale "Moscato" di Avellino ha consentito di valutare nel tempo il potenziale rischio per la salute dei pazienti e dei lavoratori in sala operatoria e degli operatori addetti alle attività di manutenzione.

Al fine di ridurre e/o eliminare tale rischio tutte le attività devono prevenire la colonizzazione e proliferazione microbica e fungina, sia a livello dell'UTA che delle varie condotte della stessa. Le attività, da svolgersi in sicurezza, prevedono ispezioni visive, tecniche e manutentive sull'impianto per l'individuazione di eventuali ristagni di acqua, ed incrostazioni che favoriscono la formazione di biofilm pluristratificati e multispecie. È necessario un controllo periodico dello stato dei filtri, eliminando eventuali gocce di acqua e provvedendo alla sostituzione di materiali e strutture danneggiate. In caso di contaminazione accertata è indispensabile procedere a sanificare gli impianti ed eliminare meccanicamente e chimicamente eventuali biofilm.

zione accertata è indispensabile procedere a sanificare gli impianti ed eliminare meccanicamente e chimicamente eventuali biofilm.

Gli stessi operatori devono tenersi in sicurezza durante le attività di manutenzione utilizzando un vestiario idoneo, differente da quello personale, provvedendo a lavare e sanificare eventuali parti del corpo entrate in contatto con possibili strutture contaminate e utilizzando in maniera corretta i DPI (guanti, tuta e scarpe, mascherina facciale con filtro o maschera con autorespiratore, occhiali). Considerando la possibile contaminazione biologica dell'aria e di alcune strutture dell'UTA durante le attività di manutenzione, sugli operatori potrebbero esserci ripercussioni di differente entità dovuti ad esposizione ad agenti biologici patogeni. È questo il caso di presenza nell'aria di batteri appartenenti ad alcune specie del genere *Bacillus* (Es. *B. licheniformis*) che può provocare infezioni oculari, oppure dei membri della specie *Aureobasidium pullulans* che può provocare tosse e stati febbrili.

Il rischio biologico per gli operatori addetti alle attività di manutenzione può configurarsi in varie situazioni.

Ad esempio durante le attività di sanificazione dei canali di areazione possono entrare in contatto con sostanze chimiche; di conseguenza è necessario operare 1- utilizzando al minimo sostanze pericolose, 2- avendo a disposizione le schede tecniche e di sicurezza dei prodotti al fine di procedere ad un utilizzo consapevole degli stessi, 3- mettendo in sicurezza l'area da personale e utenza andando a delimitare la zona, 4- utilizzando appositi DPI.

Analogamente durante gli interventi di manutenzione, pulizia e sanificazione dell'UTA il rischio si può concretizzare in seguito all'esposizione con strutture contaminate da materiale biologico. In tal caso è necessario utilizzare correttamente i DPI e far areare correttamente i locali.

Bibliografia

Conferenza Permanente per i Rapporti tra lo Stato, le Regioni e le Province Autonome di Trento e di Bolzano – Procedura operativa per la valutazione e gestione dei rischi correlati all'igiene degli impianti di trattamento aria. Accordo del 7 febbraio 2013.

M. del Gaudio. "Trattamento dell'aria negli ambienti di lavoro: definita la nuova procedura per l'igiene. Ambiente & Sicurezza Il Sole 24 ore. 2013; (7) 27-28.

Agodi A, Auxilia F, Barchitta M, Cristina ML, D'Alessandro D, Mura I, Nobile M, Pasquarella C, Italian Study Group of Hospital Hygiene. Operating theatre ventilation systems and microbial air contamination in total

joint replacement surgery: results of the GISIO-ISCHIA study. J Hosp Infect. 2015 Jul;90(3):213-9. doi: 10.1016/j.jhin.2015.02.014. Epub 2015 Mar 27.

Caggiano G., Napoli C., Coretti C., Lovero G., Scarafile G., De Giglio O., Montagna M.T. Mold contamination in a controlled hospital environment: a 3-year surveillance in southern Italy. BMC Infectious Diseases 2014, 14:595 <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/14/595>.

Pasquarella C., Veronesi L., Napoli C., Castiglia P., Liguori G., Rizzetto R., Torre I., Righi E, Farruggia P., Tesauro M., Torregrossa M. V., Montagna M.T., Colucci M.E., Gallè F., Masia M.D., Strohmenger L., Bergomi M.,

- Tinteri C., Panico M., Pennino F., Cannova L., Tanzi M. and SItI Working Group Hygiene in Dentistry. Microbial environmental contamination in Italian dental clinics: A multicenter study yielding recommendations for standardized sampling methods and threshold values. *Science of the Total Environment* 420 (2012) 289–299.
- Coroneo V, Marras L, Desogus A, Orano MT, Cocco ME, Schintu M. Microbiological environmental monitoring in high-risk departments during building activities in a hospital site. *Ann Ig.* 2016 Nov-Dec;28(6):432-440. doi: 10.7416/ai.2016.2125.
- Guilarte Y.N., R. Tinguely, A. Lupo, A. Endimiani Prevalence and characteristics of fluoroquinolone-resistant *Aerococcus urinae* isolates detected in Switzerland *Int J Antimicrob Agents*, 43 (2014), pp. 474-475
- Linee guida INAIL Ed. 2010. Il monitoraggio microbiologico negli ambienti di lavoro. Campionamento e analisi.
- Pailan S, Gupta D, Apte S, Krishnamurthi S, Saha P. Degradation of organophosphate insecticide by a novel *Bacillus aryabhatai* strain SanPS1, isolated from soil of agricultural field in Burdwan, West Bengal, India. *Int Biodeterior Biodegrad.* 2015;103:191–5.
- Mirhoseini S.H., Nikaeen M., Khanahmad H., Hatamzadeh M., Hassanzadeh A.. Monitoring of airborne bacteria and aerosols in different wards of hospitals – Particle counting usefulness in investigation of airborne bacteria. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 2015, Vol 22, No 4, 670–673.
- Yan Y, Zhang L, Yu MY, Wang J, Tang H, Yang ZW, et al. The genome of *Bacillus aryabhatai* T61 reveals its adaptation to Tibetan Plateau environment. *Genes Genom.* 2016;38(3):293–301.
- Yasukawa K., Z. Afzal, P. Mbang, C.E. Stager, D.M. Musher *Aerococcal* infection at three US Tertiary Care Hospitals *South Med J*, 107 (2014), pp. 642-647.