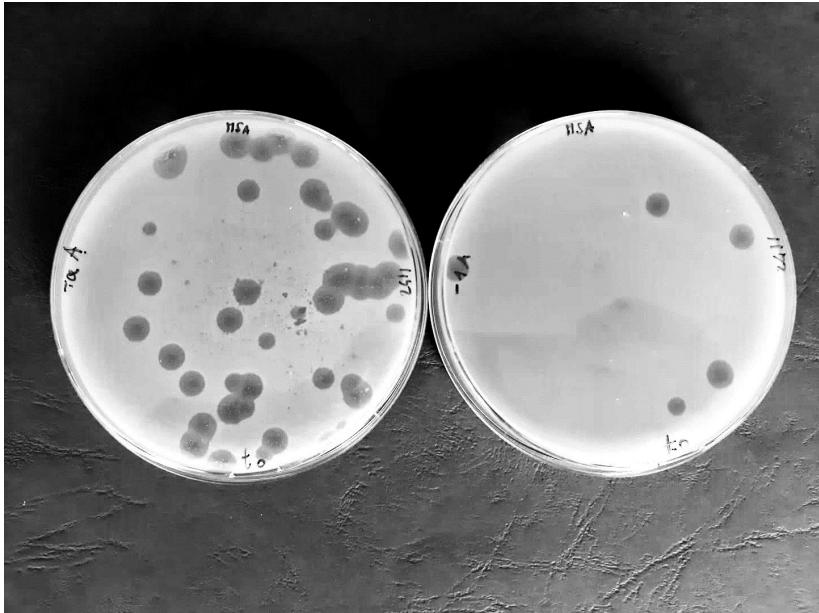


# HEXAFAN



ITA

**VALUTAZIONE DELLA RIDUZIONE DELLA CARICA MICROBICA  
NEGLI AMBIENTI INDOOR CON DISINFEZIONE  
A TECNOLOGIA FOTOCATALITICA**

Data	Revisione	Protocollo
28/04/2023	01	82 rev.01-2022

## **Valutazione della riduzione della carica microbica negli ambienti indoor con disinfezione a tecnologia fotocatalitica**

Introduzione	p. 03
Test 1 - Conaminazione Batterica e Fungina	p. 04
Test 2 - Contaminazione Virale	p. 10
Conclusioni	p. 17

## INTRODUZIONE

Lo studio illustra i risultati osservati in due test condotti per valutare l'efficacia di abbattimento microbiologico nell'aria indoor di un dispositivo a tecnologia fotocatalitica (Hexafan) progettato e sviluppato dall'azienda Fan Motors Italia Srl.

Per valutare l'abbattimento del bioaerosol si è proceduto a contaminare i locali adibiti alla sperimentazione con due diverse soluzioni microbiologiche:

- Test 1: una soluzione contenente un ceppo di *Escherichia coli* e un ceppo di *Saccharomyces cerevisiae*;
- Test 2: una soluzione con un ceppo virale, il batteriofago  $\phi$ X174; Ogni test è stato condotto in maniera indipendente.

L'efficacia sanificante del dispositivo fotocatalitico è stata valutata numerando le cariche batteriche e virali vitali prima e dopo l'accensione dell'Hexafan, restituendo i dati in abbattimento logaritmico. La scelta dei ceppi microbiologici, i materiali, i metodi analitici e di campionamento ed i risultati vengono esposti nei paragrafi che seguono.

## STRUMENTAZIONE UTILIZZATA

ID	Descrizione	Marca	Modello
01	Rilevatore digitale di dati microclima	Temptop	M2000C
02	Umidificatore a vapore caldo	FLAEM	Vaporizer
03	Igrostato	Trotech	BH30
04	Atomizzatore	XPower	F-8 350W
05	Impinger		AGI-30
06	Pompa di aspirazione	Aquaria	CF 20 Alfa

# 1. TEST 1 - CONTAMINAZIONE BATTERICA E FUNGINA

## 1.1 CONDIZIONI SPERIMENTALI

Il test è stato condotto in un locale di 72 m<sup>3</sup> solitamente utilizzato come sala riunioni. Per l'intera durata del test porte e finestre sono rimaste chiuse e gli operatori hanno indossato opportuni dispositivi di protezione individuale, cambiati all'occorrenza per evitare fenomeni di *cross-contamination*.

L'umidità relativa è stata mantenuta entro il range di 39-59% per mezzo di umidificatore a vapore caldo collegato ad un igrostatato.

La soluzione microbiologica precedentemente preparata è stata vaporizzata nell'intero volume del locale per mezzo di un atomizzatore. Al termine della vaporizzazione si è proceduto al primo prelievo della matrice aria (t0, Hexafan spento), al quale è seguita l'accensione del dispositivo Hexafan e, a tempi prestabiliti, con il prelievo di progressivi campioni di aria. Il dispositivo Hexafan è rimasto acceso per un totale di 8 ore.

Precedentemente a questo test una prova in bianco è stata condotta nelle medesime condizioni sperimentali senza però attivare il dispositivo tra il tempo 0 e i successivi prelievi. I tempi dei prelievi del bianco e del test coincidono eccetto per i tempi t4, t8, t11. Dal bianco è infatti emerso che risultava necessario intensificare i prelievi.

Tutti i tempi dei prelievi dell'aria sono riportati nella tabella 1.2.

ID campione	Frequenza campionamento (ore)	Aria	
		Bianco	Test
C1	t0	✓	✓
C2	t1	✓	✓
C3	t2	✓	✓
C4	t4	-	✓
C5	t6	✓	✓
C6	t8	-	✓
C7	t11	-	✓
C8	t24	✓	✓

Tabella 1.2 - Frequenze di campionamento del bianco e del test.  
In giallo: Hexafan spento; in azzurro: Hexafan acceso

## 1.2 PARAMETRI ANALITICI ED ELABORAZIONE DEI DATI

I campioni sono stati successivamente portati in laboratorio ed analizzati ricercando i seguenti parametri:

1. CBT- Carica Batterica Totale
2. CMT- Carica Micotica Totale
3. Conta vitale di *Escherichia coli*  
Conta vitale di *Saccharomyces cerevisiae*

L'efficacia di inattivazione microbiologica nella matrice aria è stata espressa come riduzione logaritmica calcolata come rapporto tra le colonie rinvenute prima del trattamento ( $t_0$ ) e le colonie rinvenute in tutti gli altri tempi di prelievo in scala logaritmica.

$$\text{Riduzione logaritmica } R = \log_{10} (A/B)$$

A= n° cellule vitali prima del trattamento ( $t_0$ ) B= n° cellule vitali dopo trattamento

## 1.3 RISULTATI

### 1.3.1 Carica Batterica Totale

Nei grafici sottostanti vengono mostrate le UFC/m<sup>3</sup> rinvenute nel tempo, rispettivamente nel bianco, linea blu, e nel test trattamento linea arancione (Figura 1.3). Nel grafico della figura 1.4 si confrontano i livelli di riduzione logaritmica raggiunti dai due test.

**La riduzione della CBT del test appare superiore rispetto al bianco già dopo un'ora di trattamento.** Il miglior risultato osservato nel test con trattamento si osserva dopo due ore dall'accensione del dispositivo Hexafan, con una **riduzione pari a 6,1 log, corrispondente a un abbattimento percentuale del 99,9999%. Tale riduzione viene mantenuta per tutti i tempi successivi di campionamento, compresi quelli successivi allo spegnimento del dispositivo ad azione fotocatalitica.**

La massima riduzione logaritmica raggiunta nel bianco si attesta a 4,5 log dopo 6 ore. Al tempo  $t_{24}$  la carica batterica sembra crescere nuovamente. Nella tabella 1.3 sono confrontati i valori di riduzione logaritmica della CBT del bianco e del test con trattamento.

## CARICA BATTERICA TOTALE

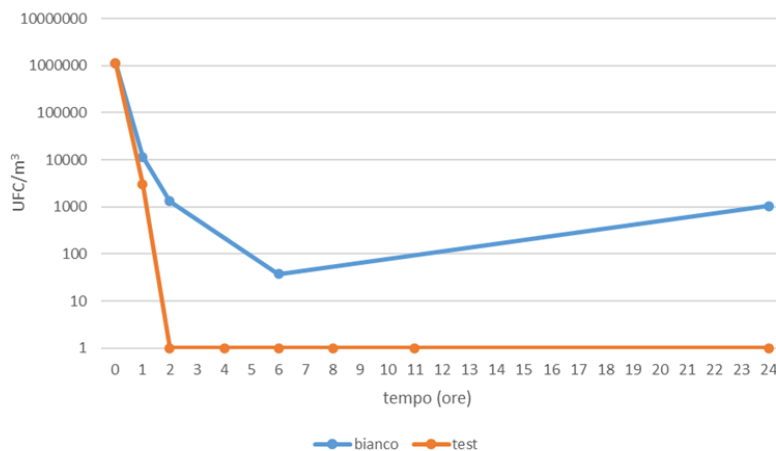


Figura 1.3- Carica Batterica totale per ciascun tempo di campionamento, espressa in UFC/m3.

## RIDUZIONE LOG CBT ARIA

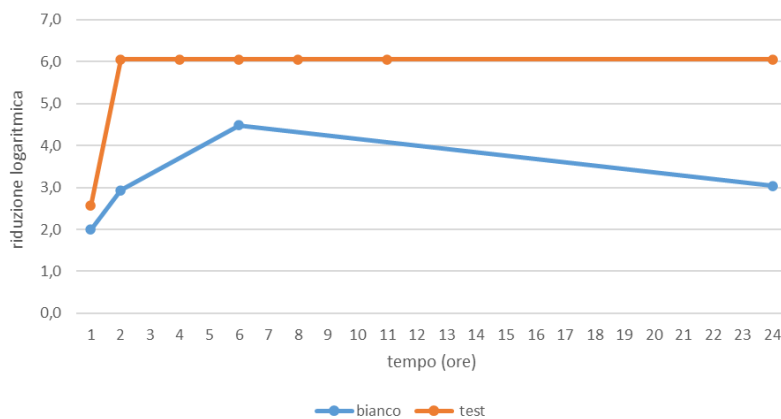


Figura 1.4- Riduzione logaritmica osservata nel tempo nel bianco (linea blu) e nel test (linea arancione).

Tempo (ore)	Riduzione logaritmica Carica Batterica Totale	
	Bianco	Test
t1	2,0	2,6
t2	2,9	6,1
t4	-	6,1
t6	4,5	6,1
t8	-	6,1
t11	-	6,1
t24	3,0	6,1

Tabella 1.3- Valori di riduzione logaritmica della CBT confrontati tra bianco e test con trattamento nei differenti tempi di prelievo.

### 1.3.2 Carica Micotica Totale/ conta vitale *S.cerevisiae*

Le UFC/m<sup>3</sup> rilevate nel bianco e nel test con trattamento sono illustrate nel grafico in figura 1.5.

In figura 1.6 viene mostrata la riduzione logaritmica della CMT osservata nel tempo, sia nel bianco (linea blu) che nel test trattamento (linea arancione). La tabella 1.4 riporta i valori numerici della riduzione logaritmica della CMT.

Dalle analisi condotte non è emersa la presenza di ulteriori specie micotiche diverse da *S.cerevisiae*, ovvero del ceppo iniettato artificialmente nell'aria del locale. Di conseguenza le curve di *S.cerevisiae* e Carica Micotica Totale (CMT) risultano inevitabilmente sovrapponibili.

**Il massimo abbattimento logaritmico (4,9 log) si osserva già dopo un'ora di trattamento (t<sub>1</sub>) e si mantiene tale per tutta la durata del test, compreso il periodo successivo allo spegnimento del dispositivo fotocatalitico.**

Nel bianco lo stesso valore di abbattimento viene raggiunto dopo due ore e si riduce al t<sub>24</sub>, in corrispondenza del quale il numero di UFC/m<sup>3</sup> torna ad aumentare.

#### CARICA MICOTICA TOTALE

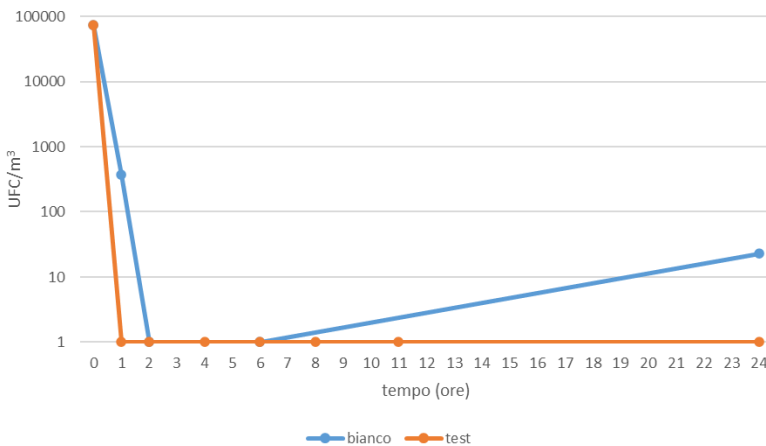


Figura 1.5- Carica Micotica Totale per ciascuna frequenza di campionamento, espressa in UFC/m<sup>3</sup>.



## RIDUZIONE LOG CMT ARIA

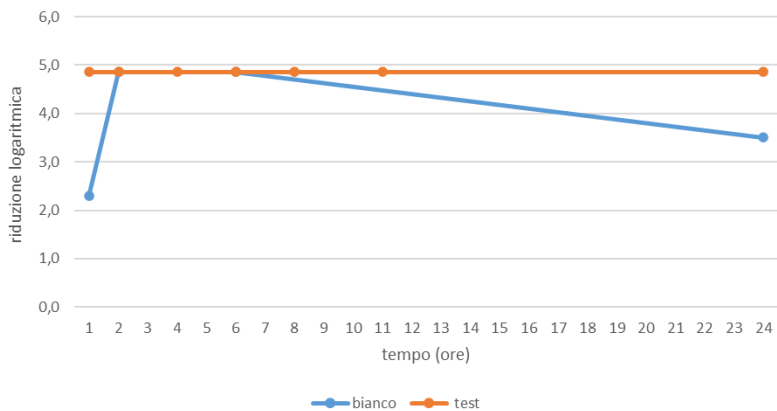


Figura 1.6- Riduzione logaritmica della CMT osservata nel tempo nel bianco (linea blu) e nel test (linea arancione).

Tempo (ore)	Riduzione logaritmica Carica Micotica Totale	
	Bianco	Test
t1	2,3	4,9
t2	4,9	4,9
t4	-	4,9
t6	4,9	4,9
t8	-	4,9
t11	-	4,9
t24	3,5	4,9

Tabella 1.4- Valori di riduzione logaritmica della CMT confrontati tra bianco e test con trattamento nei differenti tempi di prelievo

## 2. TEST 2 - CONTAMINAZIONE VIRALE

### 2.1. SCELTA DEL CEPPLO VIRALE

Per la valutazione dell'abbattimento virale nella matrice aria si è scelto il batteriofago  $\phi$ X174, un virus a DNA a filamento singolo (ssDNA), è stato paragonato ai virus patogeni più resistenti per l'uomo come poliovirus e parvovirus, è stato utilizzato in aerobiologia, ed è stato proposto come modello per lo studio della disinfezione virale. Come microrganismo ospite viene indicato *Escherichia coli* ceppo C, ATCC 13706.

### 2.2 PREPARAZIONE DELLA SOLUZIONE VIRALE

Il batteriofago, in sospensione liquida da 1 ml (figura 2.2), pronta all'uso è stata conservata al buio e alla temperatura di 4°C fino al suo utilizzo. Al momento dell'utilizzo la sospensione fagica è stata diluita in acqua sterile demineralizzata, versata nel serbatoio di un atomizzatore e poi vaporizzata nell'intero volume del locale sperimentale (figura 2.2).



Figura 2.2- a sinistra la sospensione liquida con il batteriofago  $\phi$  X174, a destra la fase di vaporizzazione della soluzione virale

## 2.3 PREPARAZIONE DELLA CULTURA DEL CEPPO OSPITE

Per l'allestimento della coltura del ceppo ospite è stato utilizzato il terreno di coltura Modified Scholten's Broth (M.S.B.) come richiesto dalla ISO 10705.

## 2.4 CONDIZIONI SPERIMENTALI

Il test si è svolto in un locale solitamente utilizzato come ufficio con volume pari a 52 m<sup>3</sup>. Porta e finestre sono rimaste chiuse durante tutta la sperimentazione e i tecnici campionatori hanno indossato opportuni dispositivi di protezione individuale, cambiati all'occorrenza per evitare fenomeni di *cross-contamination*.

Il dispositivo sanificante Hexafan è stato posizionato mantenendo quindi la stessa distanza scelta nel primo test condotto su ceppi batterici e fungini.

L'umidità relativa è stata mantenuta entro il range di 39-45% per mezzo di umidificatore a vapore caldo collegato a igrostatato.

I prelievi dell'aria sono stati effettuati al tempo 0, ovvero dopo la vaporizzazione della sospensione fagica, con Hexafan spento, e a diverse frequenze di campionamento dopo aver acceso l'Hexafan (tabella 2.1). L'Hexafan è rimasto acceso per tutta la durata del test.

Contestualmente ai prelievi di aria sono stati effettuati i campionamenti delle superfici al fine di comprendere se l'eventuale riduzione dei colifagi nella matrice aria fosse imputabile a un *fall out* gravitazionale.

Una prova in bianco è stata condotta nelle medesime condizioni sperimentali senza però attivare il dispositivo tra il tempo 0 e i successivi prelievi.

ID campione	Frequenza campionamento (minuti)	Matrici campionate	
		Aria	Superfici
		Inpinger	Tampone
C1	t0	✓	✓
C2	t10	✓	✓
C3	t20	✓	✓
C4	t30	✓	✓
C5	t40	✓	✓
C6	t50	✓	✓
C7	t60	✓	✓
C8	t90	✓	✓
C9	t120	✓	✓
C10	t150	✓	✓
C11	t180	✓	✓

Tabella 2.1- Matrici campionate e frequenze di campionamento del test con contaminazione virale.  
 In giallo: Hexafan spento; in azzurro: Hexafan acceso

## 2.2 TEST 2 - RISULTATI

### 2.2.1 MATRICE ARIA

I risultati relativi alla matrice aria sono riportati nel grafico della figura 2.5 e nella tabella 2.3. Si nota una maggior riduzione del numero di PFU/m<sup>3</sup> nel trattamento rispetto al bianco in corrispondenza di tutti i tempi di campionamento. In particolare, nel test con trattamento fotocatalitico il numero di PFU/m<sup>3</sup> viene azzerato in corrispondenza del t50 mentre nel bianco questo si verifica al t120.

Tempo (minuti)	PFU/m <sup>3</sup> φ X174	
	Bianco	Test
t0	116.500	109.500
t10	41.500	20.000
t20	11.468	8.458
t30	4.286	3.000
t40	5.473	2.000
t50	913	0
t60	1.500	0
t90	500	0
t120	0	0
t150	0	0
t180	0	0

Tabella 2.3- PFU/m<sup>3</sup> rilevate nei differenti tempi di prelievo, nel bianco e nel test con trattamento.

## CARICA VIRALE $\phi$ X174 ARIA

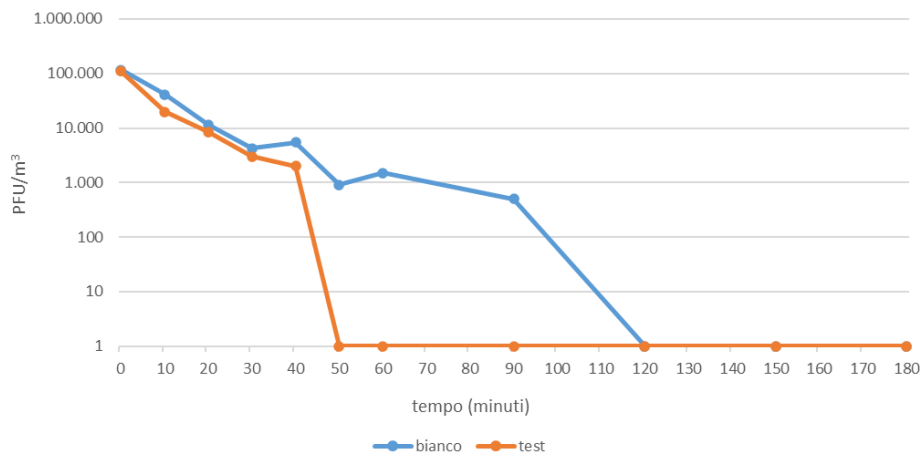


Figura 2.5- Unità Formanti Placca al metro cubo d'aria del batteriofago  $\phi$ X174 nei differenti tempi di prelievo

Tempo (minuti)	Riduzione logaritmica $\phi$ X174	
	Bianco	Test
t10	0,4	0,7
t20	1,0	1,1
t30	1,4	1,6
t40	1,3	1,7
t50	2,1	5,0
t60	1,9	5,0
t90	2,4	5,0
t120	5,1	5,0
t150	5,1	5,0
t180	5,1	5,0

Tabella 2.4- Riduzione logaritmica del batteriofago  $\phi$  X174 nei differenti tempi di prelievo, nel bianco e nel test con trattamento.

## RIDUZIONE LOGARITMICA $\phi$ X174 ARIA

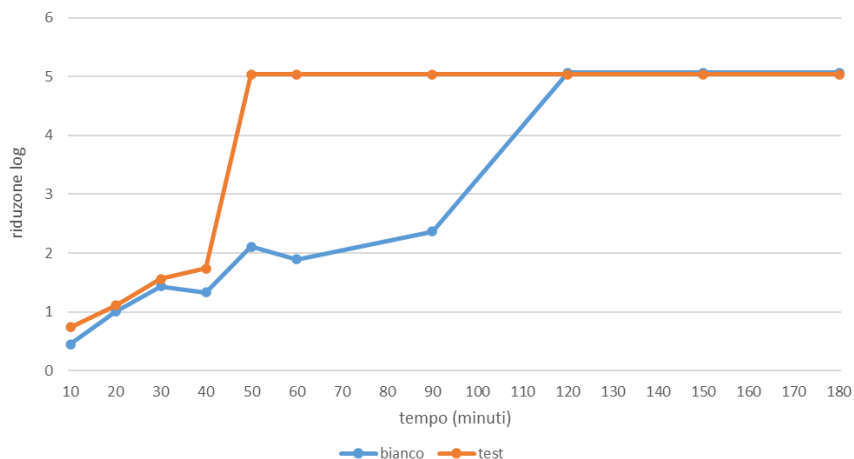


Figura 2.6- Riduzione logaritmica nel tempo del batteriofago  $\phi$ X174 nei differenti tempi di prelievo, nel bianco e nel test con trattamento.

**Nel trattamento l'abbattimento della carica virale risulta maggiore rispetto al bianco fin dal primo tempo di campionamento, ovvero già dopo 10 minuti dall'accensione del dispositivo.**

La riduzione logaritmica più elevata (5,0 log) si riscontra in corrispondenza del t50, quando la carica virale risulta azzerata. Nel bianco, l'azzeramento della carica virale viene invece raggiunto al t120 (tabella 2.4 e figura 2.6).

## 2.2.2 SUPERFICI

Tale matrice non è stata oggetto di valutazione dal punto di vista dell'efficacia dell'apparecchio, in quanto il dispositivo è stato progettato per il solo trattamento dell'aria. L'analisi dei campioni delle superfici è stata inserita per valutare la deposizione delle particelle virali dovuta alla forza di gravità, al fine di escluderne una perdita significativa dalla matrice aria per sedimentazione.

In figura 2.7 si illustra il grafico che confronta i dati osservati tra il bianco e il test con trattamento: la sovrapposibilità delle due curve conferma una perdita per sedimentazione pressoché equivalente nelle due prove.

### φ X174 SUPERFICI

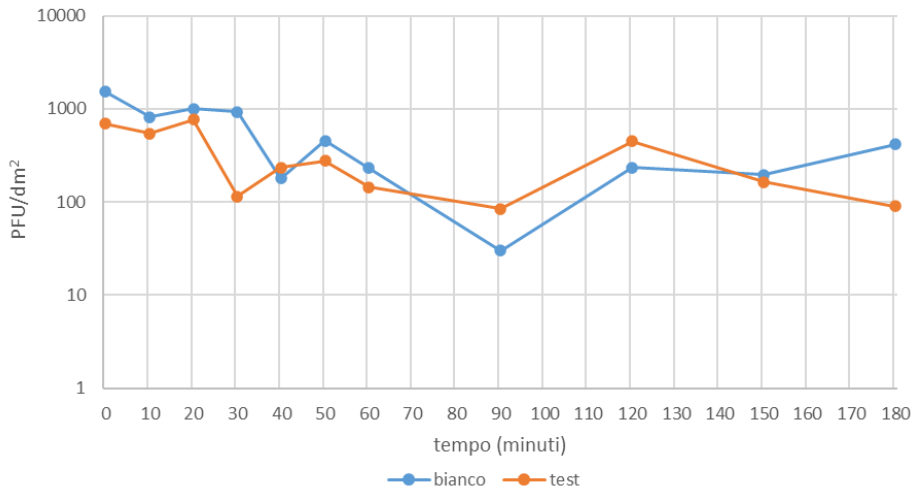


Figura 2.7- PFU/dm² superfici, confronto tra bianco e test con trattamento



### 3. CONCLUSIONI

Da quanto ottenuto nei due test sperimentali emerge un'efficacia del dispositivo in esame nei confronti sia delle specie batteriche che fungine e virali.

L'abbattimento microbiologico appare evidente già nella prima ora di trattamento in tutti i test, fatta eccezione per la Carica Batterica Totale in cui la riduzione massima si registra dopo due ore di trattamento. L'azione sanificante inoltre permane anche dopo lo spegnimento del dispositivo.

Questi risultati appaiono in accordo con le caratteristiche che contraddistinguono i trattamenti fotocatalitici, quali la rapidità d'azione e la persistenza nel tempo dell'effetto derivante dal trattamento stesso.

I prelievi effettuati sulle superfici, nel test sullo stipite virale  $\phi$  X174, sono stati di fondamentale supporto all'esperimento condotto, in quanto hanno permesso di dimostrare che la perdita di particelle virali per sedimentazione non rappresenta una variabile in grado di influire sull'interpretazione dei risultati relativi all'efficacia del trattamento sul mezzo aereo.



**We Care, We Take Care!**

**Fai un bel *respiro* e goditi un ambiente in cui vivere, sempre protetto!**

Follow us on Instagram @hexa\_\_fan  
Or @ Hexa-fan.com

[hexa-fan.com](http://hexa-fan.com)

