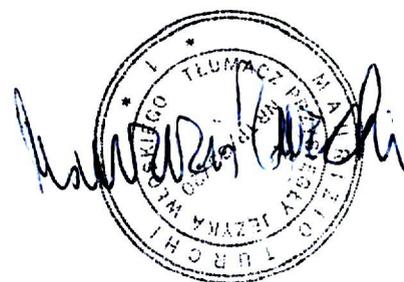


expondo®



The image shows a circular official seal of a sworn translator. The seal contains the text "TŁUMACZ PRZEJĘTY" at the top and "TŁUMACZ PRZEJĘTY" at the bottom. In the center, there is a signature in black ink. The seal is stamped over the signature.

**Stazione sanitaria ed epidemiologica di Voivodato nel laboratorio di  
ricerca epidemiologica e clinica a Olsztyn**

**10-561 Olsztyn, ul. Żołnierska 16**

telefono di contatto: (0-89) 524 83 42

e-mail: m.stempniewska@sanepid.olsztvn.pl

Numero d'ordine 51442/2020/113 / DG del 14-08-2020

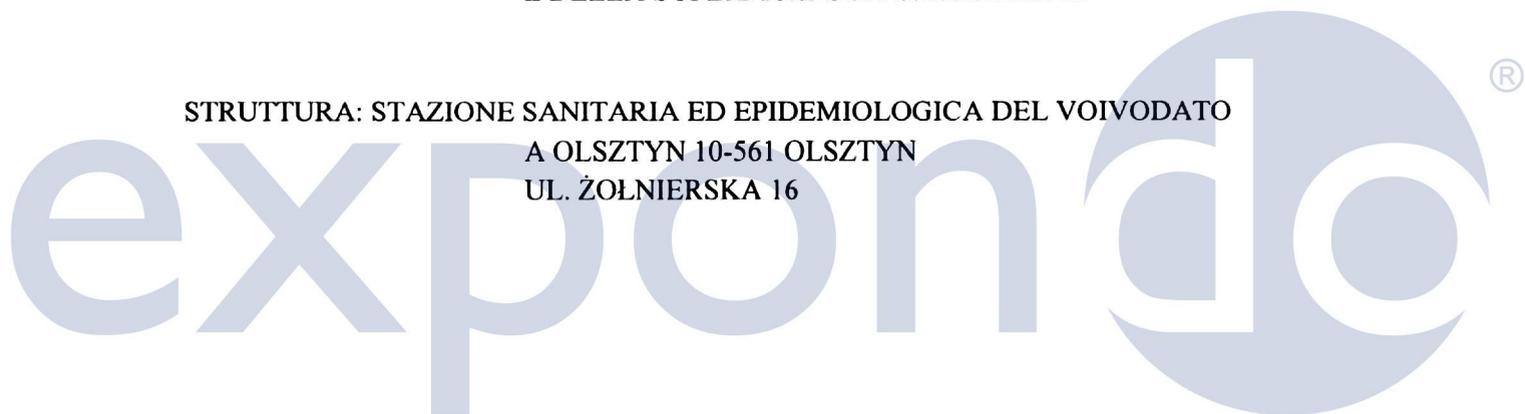
Numero d'ordine 51443/2020/0130 / DMD del 14-08-2020

Numero d'ordine 51444/2020/114 / DG del 14-08-2020

Numero d'ordine 51445/02020/0131 / DMD del 14 agosto 2020

**OGGETTO: VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DELLA DISINFEZIONE DELL'ARIA  
E DELLA SUPERFICIE CON OZONAZIONE**

**STRUTTURA: STAZIONE SANITARIA ED EPIDEMIOLOGICA DEL VOIVODATO  
A OLSZTYN 10-561 OLSZTYN  
UL. ŻOLNIERSKA 16**



	<b>Nome e cognome</b>	<b>Data</b>	<b>Firma</b>
Sviluppato da:	dott. Małgorzata Stempniewska	<i>[Scritto a mano] 28.08.2020</i>	<i>[Timbro con testo]: ASSISTENTE SENIOR dott. Małgorzata Stempniewska/-/ [Firma illeggibile]</i>

---

OLSZTYN, 28 AGOSTO 2020



## Sommario

1. Introduzione	3
2. Materiali e metodi	3
2.2. Metodologia di esame delle impronte	4
3. Discussione dei risultati	4
3.1. Contaminazione batterica dell'aria	5
3.2. Contaminazione batterica della superficie	6
3.3. Contaminazione dell'aria da muffe	8
4. Conclusioni	9
5. Letteratura	10

expondo®



## 1. Introduzione

L'ozono è una molecola di ossigeno a tre atomi presente in natura. Come tutte le sostanze chimiche, il suo ruolo è sia positivo che negativo. L'ozono è uno degli ossidanti più forti, il che si traduce in una capacità oltre mille volte maggiore di rimuoverebatteri, funghi, muffe e le loro spore in un tempo più breve e in dosi inferiori rispetto ai composti di cloro o fluoro usati convenzionalmente [1]. Anche se le molecole di ozono sono composte da atomi di ossigeno, sono tossiche per gli organismi viventi. Essendo normalmente un gas, ha anche una buona penetrazione. Grazie alla sua reattività, colpisce molto rapidamente particelle e organismi presenti nell'aria e sulle superfici. L'atomo di ossigeno aggiuntivo si attacca al doppio legame nelle molecole di composti organici insaturi, cambiando la loro struttura chimica per creare molecole non offensive, eliminando l'odore. Di conseguenza, l'ozono viene utilizzato anche per rimuovere gli odori sgradevoli (processo di deodorizzazione). Naturalmente, come qualsiasi altro metodo, anche l'ozonizzazione non è priva di svantaggi. Essendo un composto altamente corrosivo, utilizzato in concentrazioni troppo elevate e per un periodo di tempo più lungo, può portare a reazioni dannose con alcuni elementi in plastica e gomma (scolorimento, opacizzazione, irrigidimento, usura più rapida degli elementi). Durante il suddetto reazioni chimiche, a seconda delle sostanze odorose presenti nell'ambiente, possono formarsi anche sostanze chimiche tossiche (sebbene sia il rischio che la quantità di tossine generate siano inferiori rispetto all'utilizzo di altri metodi).

Per tutti questi fattori l'ozonizzazione deve essere eseguita da aziende specializzate, in grado di selezionare la concentrazione di ozono appropriata e la durata del trattamento a seconda della situazione [2]. Durante l'ultimo secolo l'ozono è stato ampiamente utilizzato nella disinfezione, disinfestazione, deodorizzazione, agricoltura, medicina e industria [3,4]. Un importante vantaggio dell'utilizzo dell'ozono per la disinfezione è il fatto che viene generato in loco. L'ozono sotto forma di gas viene utilizzato per la disinfezione di abitazioni, edifici di pubblica utilità, archivi e ospedali. È efficace nella pulizia di vecchi appartamenti o case abbandonate dove, ad esempio, a causa della scarsa ventilazione e dell'elevata umidità, si sono sviluppate muffe. Nonostante l'innegabile capacità di deodorazione ancora mancano studi che documentano le sue capacità disinfettanti.

Nei locali del Laboratorio di Ricerca Epidemiologica e Clinica della Stazione Sanitaria ed Epidemiologica di Voivodato di Olsztyn è stata valutata l'efficacia della disinfezione dell'aria e delle superfici con il metodo dell'ozono. Gli organismi indicatori svolgono un ruolo importante nella valutazione sanitaria dell'aria e della superficie degli spazi chiusi. Questi includono muffe e lieviti (derivati dal suolo e dalla materia organica – per es. resti vegetali o rifiuti urbani) e batteri che abitano naturalmente la pelle e il sistema respiratorio umano (soprattutto stafilococchi).

## 2. Materiali e metodi

La ricerca è stata svolta presso la Stazione Sanitaria ed Epidemiologica di Voivodato a Olsztyn, nel Laboratorio di Ricerca Epidemiologica e Clinica. Per l'analisi sono state selezionate tre stanze rappresentative dell'oggetto testato: Stanza della nutrizione – Box per versare i nutrienti, Cella frigorifera e stanza del laboratorio - n. 711.



## 2.1. Metodologia dell'esame dell'aria

I campioni d'aria sono stati raccolti in 3 punti prima della disinfezione e 3 ore dopo la fine dell'ozonizzazione. I campioni d'aria sono stati raccolti utilizzando il metodo di collisione utilizzando il campionatore d'aria microbiologico Merck MAS-100 (certificato di calibrazione n. WO-01708493 del 20 novembre 2019). In ogni punto, il campionamento è stato eseguito in cinque ripetizioni al fine di ridurre gli errori legati alla natura casuale della distribuzione dei microrganismi nell'aria. Il volume di aria aspirata (100 litri) è stato adeguato alla contaminazione microbiologica attesa dell'ambiente testato. L'apparecchio ha raccolto automaticamente un certo volume di aria nella testata dell'apparecchio sulla superficie della piastra con un mezzo agar appropriato:

1. Triptone-soia-agar per la conta batterica totale;
2. Sabouraud Dextrose Agar per il numero totale di muffe e lieviti.

I campioni sono stati raccolti in conformità con l'Istruzione I-01 / PO-03 "Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni di prova". Tutte le piastre con terreno sono state incubate a una temperatura e un tempo appropriati per i gruppi di microrganismi testati in conformità con la procedura di ricerca PB-OBP-019 "Raccolta, rilevamento, identificazione ed enumerazione di microrganismi in campioni ambientali". Dopo aver contato le colonie e tenuto conto del volume del campione, è stata determinata la concentrazione di microrganismi nelle unità formanti colonie per un metro cubo di aria (CFU / m<sup>3</sup>). I risultati finali sono il probabile numero statistico totale di unità formanti colonie, tenendo conto delle tabelle di correzione statistica Feder (come raccomandato nel manuale utente del campionatore microbiologico d'aria MAS). Contestualmente al campionamento sono state registrate le condizioni meteorologiche: temperatura, umidità relativa dell'aria.

## 2.2. Metodologia di esame delle impronte

Per determinare il grado di contaminazione superficiale, sono stati impostati 5 punti di misurazione nell'oggetto testato. Le superfici selezionate sono state tamponate utilizzando piastre di contatto commerciali - TSA LAB-AG AR + Tween + Lethen. I campioni sono stati raccolti in conformità con l'Istruzione I-01 / PO-03 "Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni di prova". Tutte le piastre con substrato sono state incubate a una temperatura e un tempo appropriati per i gruppi di microrganismi testati in conformità con la procedura di ricerca PB-OBP-019 "Raccolta, rilevamento, identificazione e determinazione del numero di microrganismi nei campioni ambientali". Dopo aver contato le colonie cresciute, è stata determinata la concentrazione di organismi per 25 cm<sup>2</sup> di superficie.

## 3. Discussione dei risultati

La tabella 1 presenta un riepilogo delle condizioni microclimatiche il giorno del test. I risultati ottenuti indicano un contenuto di umidità moderato di umidità nell'aria. Da un lato previene la formazione di centri di biodeterioramento di batteri e muffe e, dall'altro, l'efficacia del processo di ozonizzazione aumenta assieme con l'umidità relativa dell'aria.



**Tabella 1** imposta la misurazione della copertura delle condizioni microclimatiche nelle posizioni di misurazione prima e dopo l'ozonizzazione

Data di campionamento	Luogo di campionamento	Temperatura (° C)	Umidità (%)
14.08.2020	Stanza della nutrizione - cella frigorifera	24.0	47.7
14 agosto 2020	Nutrienti - Box per versare i nutrienti	24.0	55.1
14 agosto 2020	Stanza n. 711	22.4	46.4
Data di campionamento	Luogo di campionamento	Temperatura (° C)	Umidità (%)
14 agosto 2020	Stanza della nutrizione - cella frigorifera	23.3	54.0
14 agosto 2020	Scatola nutrizionale - Box per versare i nutrienti	22.9	56.8
14 agosto 2020	Stanza n. 711	18.6	64.6

### 3.1. Contaminazione batterica dell'aria

L'aria atmosferica è costituita da vari tipi e specie di microrganismi, tra cui numerosi batteri (circa il 26%, di cui circa il 9% sono batteri *Staphylococcus*). Un aumento della temperatura dell'aria e la mancanza di precipitazioni provoca un aumento del numero di microrganismi nell'aria. Nell'atmosfera sono sospesi principalmente microrganismi saprofiti, resistenti allo stato di essiccazione, ma spesso anche batteri patogeni. La microflora dell'aerosol interno non differisce qualitativamente dalla microflora dell'aria esterna. La tabella 2 presenta i risultati dell'analisi quantitativa e qualitativa dell'aerosol batterico nei campioni testati nei punti di misurazione.

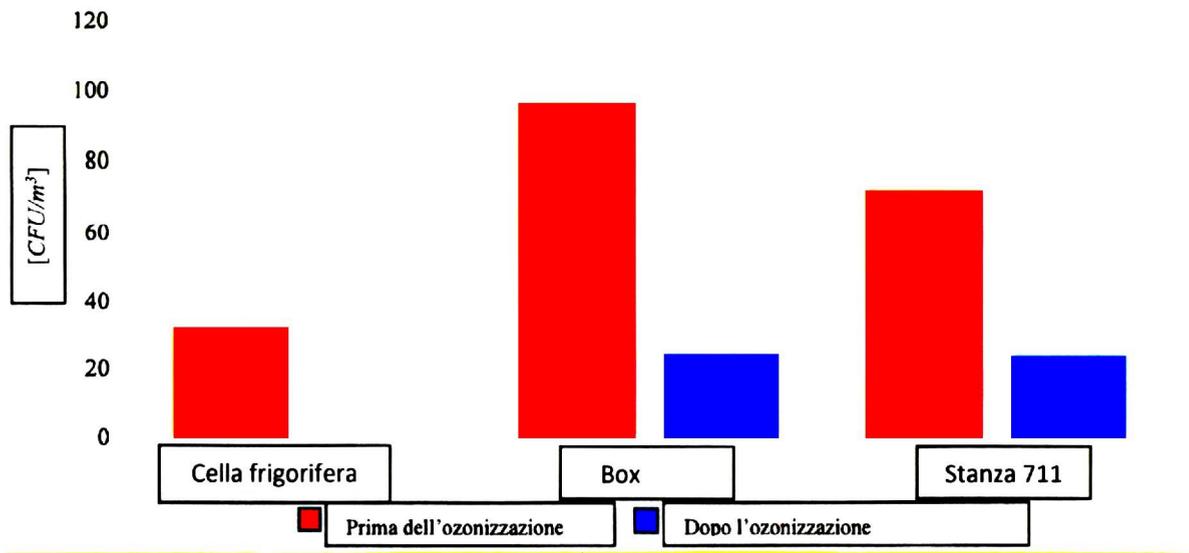
**Tabella 2** Concentrazione e composizione dell'aerosol batterico (CFU / m<sup>3</sup>) nei punti di misurazione

Posto Scarica campioni	Genere / specie		Numero totale di batteri (CFU / m <sup>3</sup> )		Riduzione del numero (%)
	Prima dell'ozonizzazione	Dopo l'ozonizzazione	Prima dell'ozonizzazione	Dopo l'ozonizzazione	
Stanza della nutrizione - cella frigorifera	<i>Acinetobacter johnsonii</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Staphylococcus caprae</i>		32	<1	100
Stanza della nutrizione - Box per versare i nutrienti	<i>Acinetobacter ursingii</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Bacillus spp.</i> , <i>Micrococcus luteus</i>	96	24	75
Stanza n. 711	<i>Bacillus spp.</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Bacillus spp.</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Staphylococcus capitis</i>	72	24	67

I batteri saprofiti sono stati coltivati nell'aria interna delle stanze testate. Tra questi: *Bacillus spp.*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis* e batteri del genere *Acinetobacter*, che sono comuni nell'aria degli edifici di servizio. Una delle fonti di generazione di questi organismi nell'ambiente è l'uomo. Non sono stati trovati organismi patogeni (batteri) per l'uomo nell'aria interna dei locali esaminati secondo il Regolamento del Ministero della Salute del 22 aprile 2005 sui fattori biologici nocivi per la salute nell'ambiente di lavoro e sulla tutela della salute dei lavoratori professionalmente esposti a questi fattori (Gazzetta Ufficiale 81 pos. 716, con succ. mod.). Il riepilogo del numero totale di batteri nei campioni testati prima e dopo il processo di ozonizzazione è presentato ne Grafico 1.



**Grafico 1** Numero totale di batteri (CFU / m<sup>3</sup>) nei punti di misurazione



In entrambi i casi analizzati, il processo di ozonizzazione ha portato ad una riduzione del contenuto di microrganismi batterici nell'aria rispettivamente del 100, 75 e 66%. È significativo che tutti i tipi di batteri isolati siano stati ridotti in misura simile. Nei metodi di disinfezione tradizionali, alcuni microrganismi sono caratterizzati da caratteristiche che aumentano la loro resistenza all'agente eziologico. Ad esempio, i batteri del genere *Micrococcus* hanno sviluppato pigmenti che li proteggono dalle radiazioni ultraviolette dannose e i microrganismi del genere *Bacillus*, nel processo di sporulazione, producono forme sopravvissute che consentono loro di sopravvivere in condizioni ambientali avverse dopo la disinfezione chimica. L'ampia gamma di efficienza di disinfezione può essere spiegata dal diverso grado iniziale di inquinamento atmosferico.

### 3.2. Contaminazione batterica della superficie

Un'efficienza di ozonizzazione ancora maggiore può essere vista in caso di contaminazione superficiale. Tra i dieci campioni prelevati, la riduzione più bassa del numero di microrganismi ammontava al 71% e in tre casi è stata raggiunta un'efficienza di disinfezione del 100%. In media, l'ozonizzazione ha portato ad una riduzione dei microrganismi dell'89,8%. I risultati dell'analisi qualitativa e quantitativa sono presentati nella tabella 3.

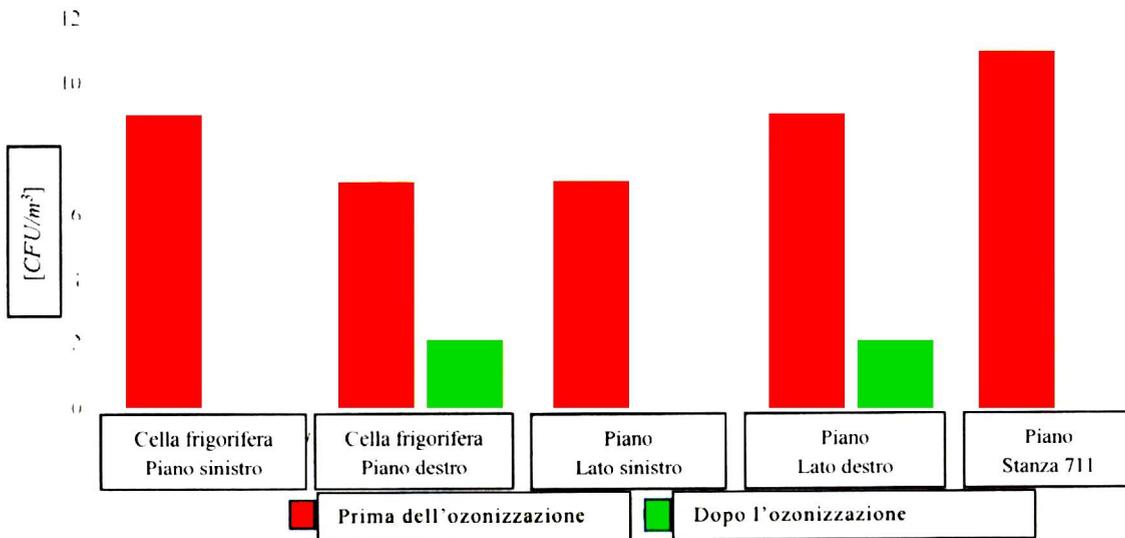


**Tabella 3** Analisi qualitativa e quantitativa delle impronte prelevate dalle stanze esaminate

La stanza in cui sono stati prelevati i campioni	Posto di prelievo dei campioni	Microbi in coltura		Numero totale di batteri (CFU / 25 cm <sup>2</sup> )		Riduzione del numero (%)
		Prima dell'ozonizzazione	Dopo l'ozonizzazione	Prima dell'ozonizzazione	Dopo l'ozonizzazione	
Stanza della Nutrizione - cella frigorifera	Ripiano centrale, lato sinistro -piano del tavolo	<i>Species Bacillus, Micrococcus luteus, Rhizobium radiobacter, Staphylococcus cohnii ssp. Urealyticus</i>		9	0	100
Stanza della Nutrizione - cella frigorifera	Ripiano centrale lato destro - piano del tavolo	<i>Species Bacillus, Micrococcus luteus, Rhizobium radiobacter, Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Specie Bacillus, Micrococcus luteus</i>	7	2	71
Stanza della Nutrizione - Box per versare i nutrienti	Tavolo per versare i nutrienti lato sinistro	<i>Species Bacillus, batteri della difterite, Micrococcus luteus, Staphylococcus haemolyticus</i>		7	0	100
Stanza della Nutrizione - Box per versare i nutrienti	Tavolo per versare i nutrienti lato destro	<i>Specie Bacillus, batteri della difterite, Micrococcus luteus</i>	<i>Specie Bacillus, Micrococcus luteus</i>	9	2	78
Stanza n. 711	Piano d'appoggio del laboratorio lungo	<i>Aerococcus viridans, Bacillus spp., Micrococcus luteus</i>		11	0	100

Il riepilogo del numero totale di batteri nei campioni testati prima e dopo il processo di ozonizzazione è presentato nel Grafico 2.

**Grafico 2** Numero totale di batteri (CFU / 25 cm<sup>2</sup>) nei punti di misurazione



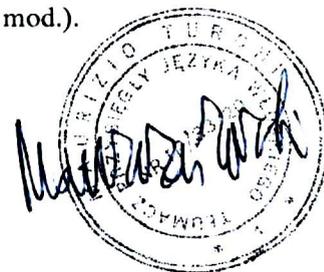
### 3.3. Contaminazione dell'aria con funghi di muffa

I funghi microscopici sono funghi le cui caratteristiche morfologiche sono determinate mediante un microscopio. Includiamo funghi muffa e funghi simili a lieviti. I funghi filamentosi sono funghi la cui parte principale sono le ife. L'aria atmosferica contiene spore o frammenti di ife fungine (rappresentano circa il 70% della composizione dell'aria atmosferica). I funghi della muffa sono comuni nell'ambiente naturale. Uno dei loro serbatoi permanenti è il suolo e la polvere. Durante il loro sviluppo producono enormi quantità di spore leggere, secche, del diametro di pochi micrometri, perfettamente adatte a diffondersi con i movimenti d'aria su lunghe distanze, il che fa sì che molte specie di muffe si depositino sulle superfici di vari materiali. La capacità della muffa di crescere e svilupparsi è determinata da tre fattori principali: umidità ambientale, temperatura e disponibilità di nutrienti. A causa dei bassi requisiti e di un ampio apparato enzimatico che consente la decomposizione e l'uso di vari composti chimici, l'unico parametro che limita fortemente lo sviluppo di muffe e funghi simili a lieviti è l'umidità. Le muffe appartenenti alle classi di *Deuteromycota*, *Asco mycota* e *Zygomycota* sono il gruppo più numeroso tra le muffe che fanno parte della microflora dell'aria. Richiedono piccole quantità di nutrienti organici per crescere e possono quindi prosperare su legno, materiali da costruzione, lattice e gomma e materiali in aree con elevata umidità. Il nutriente per i funghi può essere la contaminazione sotto forma di polvere organica. Spesso in luoghi ad alta umidità, i batteri si presentano anche insieme ai funghi della muffa. Riducono l'estetica dei materiali infetti, distruggono i prodotti immagazzinati e hanno un impatto negativo sul benessere e sulla salute delle persone. La tabella 4 mostra i risultati dell'analisi quantitativa e qualitativa del bioaerosol fungino.

**Tabella 4** Concentrazione e composizione dell'aerosol fungino (CFU / m<sup>3</sup>) nei punti di misurazione

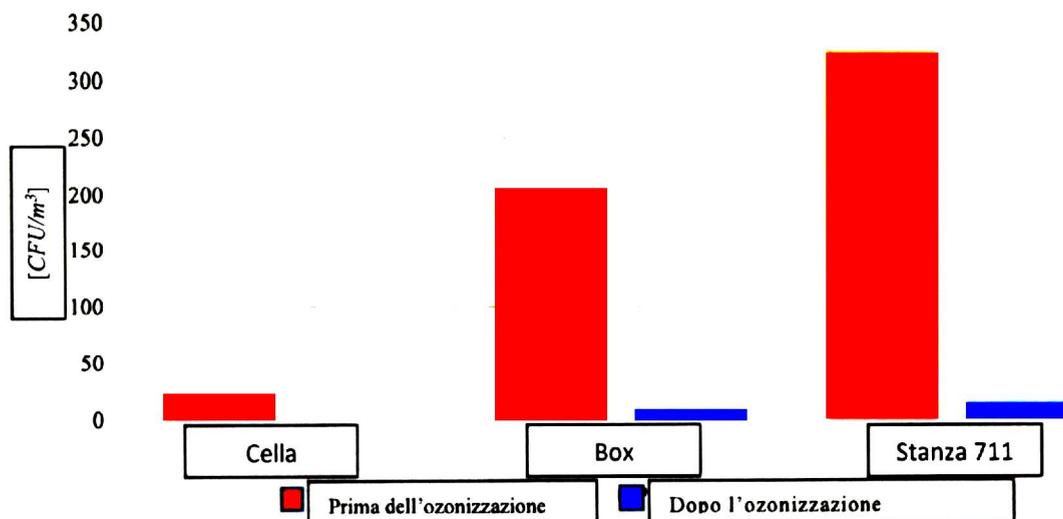
Luogo di campionamento	Genere / specie		Numero totale di funghi (CFU / m <sup>3</sup> )		Riduzione del numero (%)
	Prima dell'ozonizzazione	Dopo l'ozonizzazione	Prima dell'ozonizzazione	Dopo l'ozonizzazione	
Stanza della nutrizione - cella frigorifera	<i>Alternaria tenuissima</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	venti	4	80
Stanza della nutrizione - Box per versare i nutrienti	<i>Alternaria tenuissima</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Talaromyces macrosporus</i>	<i>Alternaria tenuissima</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i>	204	8	96
Stanza n. 711	<i>Alternaria tenuissima</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Epicoccum nigrum</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Alternaria tenuissima</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i>	324	16	95

Nel caso di muffe e funghi di lievito, il processo di ozonizzazione ha portato un risultato positivo. Il valore di riduzione del numero più basso è stato l'80%, il 96% più alto e il 90,3% in media. Non sono stati trovati organismi patogeni (funghi) per l'uomo nell'aria interna dei locali esaminati secondo il Regolamento del Ministero della Salute del 22 aprile 2005 sui fattori biologici nocivi per la salute nell'ambiente di lavoro e sulla tutela della salute dei lavoratori professionalmente esposti a tali fattori (Gazzetta Ufficiale 81, pos.716, con succ. mod.).



Il riepilogo del numero totale di funghi nei campioni testati prima e dopo il processo di ozonizzazione è presentato nella Figura 3.

**Grafico 3** Numero totale di funghi (CFU / m<sup>3</sup>) nei punti di misurazione



Come nel caso dei batteri, anche nel caso di muffe e lieviti, la riduzione del numero di organismi avviene in modo uniforme, indipendentemente dalla capacità di produrre coloranti (muffe dematiaceous moulds) e strutture persistenti sotto forma di clamidospore (per es. genere *Fusarium*, *Paecilomyces*).

#### 4. Conclusioni

La ricerca condotta ha dimostrato che il processo di ozonizzazione può essere un perfetto complemento ai tradizionali metodi di disinfezione. Grazie alla capacità di diffondere liberamente il gas, un trattamento efficacemente eseguito permette di rimuovere contaminazioni biologiche da luoghi di difficile accesso e facilmente trascurati. La valutazione dell'efficienza della disinfezione dopo ozonizzazione ha evidenziato una riduzione molto elevata della contaminazione microbiologica, con un grado medio di riduzione dell'86%. Il trattamento con ozono si è anche dimostrato efficace contro i microrganismi che sono più difficili da controllare con altri metodi, come gli organismi che producono pigmenti, resistono all'essiccazione o producono spore. Il trattamento eseguito ha migliorato notevolmente la qualità microbiologica dell'aria e della superficie. I risultati ottenuti erano coerenti con i risultati dello studio che valutava l'utilità del processo di ozonizzazione nell'eliminazione della crescita fungina durante l'alluvione [5]. Un ulteriore vantaggio è la proprietà di deodorare, compresi gli odori putrefattivi.



## 5. Letteratura

[1] S TRYCZEWSKA HD, *Technologie plazmowe w energetyce i inżynierii środowiska*[*Tecnologie al plasma nell'energetica e nell'ingegneria ambientale*]. Casa editrice del Politecnico di Lublino. Lublino 2009

[2] FRĄCKOWIAK W., SŁAWIK K., SŁAWIK P., *Czy ozonowanie jest dobrą metodą w likwidacji i korzji biologicznej? Ochrona budynków prze wilgocia i korozją biologiczną. [L' ozonizzazione è un buon metodo per eliminare la corrosione biologica? Protezione degli edifici dall'umidità e dalla corrosione biologica]* . Associazione polacca dei micologi dell'edilizia. Breslavia 2013, 12, pagg. 95-99

[3] JURGOWIAK M., *Ozon w medycynie – tak czy nie?*[*Ozono in medicina - sì o no?*] TPS, 2003, 3, pagg. 16-20

[4] LONCAR B. *Ozone application in dentistry, [Applicazione dell'ozono in odontoiatria]*. Archives of Medical Research, 2009.40, pp. 136-137

[5] NOWAKOWICZ-DĘBEK B., KRUKOWSKI H., WLAZŁO L., BOJARCZYK M., *Ocena mikologiczna powietrza w domach zalanych w czasie powodzi na przykładzie gminy Wilkow. [Valutazione micologica dell'aria nelle case allagate sull'esempio del comune di Wilkow]*. Mikologia Lekarska 2011, 18, n. 2, pagg. 87-89

expondo®



---

*Repertorio n. 135/2020*

*Con la presente confermo la corrispondenza del testo redatto nella lingua polacca con la sua traduzione nella lingua italiana.*

*Interprete giurato presso il Ministero della Giustizia iscritto con il nr TP/33/20.*

*Częstochowa, 2020-11-03*

expondo®

