Relazione tecnica nell'ambito della convenzione Atenatech srl per indagini volte alla verifica e alla validazione del funzionamento della tecnologia denominata "MESP" del dispositivo Airquality kj300.

Introduzione

Con lo sviluppo dell'industria moderna, il rilascio di sostanze inquinanti nell'ambiente accelera di anno in anno. L'acqua sporca e l'aria nociva sono diventati gravi pericoli ambientali globali che minacciano gravemente lo sviluppo sostenibile dell'ambiente ecologico e la salute umana. In particolare, l'esposizione a lungo termine a particolato inferiore a 2,5 μm (PM2,5) è gravemente pericolosa poiché potrebbe causare problemi come l'asma bronchiale e la bronchite cronica, imputabile alle ridotte dimensioni che gli consentono facilmente di penetrare nei bronchi e nei polmoni (Liu *et al.*, 2020). Inoltre, nella maggior parte dei casi, batteri patogeni coesistono con il PM in ambienti complessi e chiusi (McDonald *et al*., 2018). In quest'ultimi, i sistemi di riscaldamento, ventilazione e condizionamento dell'aria costituiscono le principiali vie di trasmissione delle infezioni aeree (Azimi *et al*., 2013; King et al., 2017; Piekarska *et al*., 2018).
La comunità scientifica identifica come *bioaerosol* un gruppo vagamente definito di particelle sospese nell'aria di origine biologica, generalmente inclusi batteri, funghi e virus, nonché polline, i loro frammenti e vari antigeni. Possono avere molti effetti negativi sulla salute, comprese risposte allergiche, tossiche e infettive (Douwes *et al*., 2003; Fung *et al*., 2003). Poiché le persone trascorrono la maggior parte del tempo in ambienti chiusi, negli ultimi due decenni le concentrazioni di batteri e funghi presenti nell'aria sono state studiate in modo approfondito (Blais-Lecours *et al*., 2015; Bragoszewska *et al*., 2016). Diversi autori (Pastuszka *et al*., 2005) hanno dimostrato che l'esposizione ai bioaerosol può essere particolarmente pericolosa nelle cliniche e negli ospedali, essendo alcuni batteri (come *Streptococcus pyogenes*, *Neisseria meningitides*, *Mycobacterium tuberculosis*) noti per essere trasmessi principalmente da goccioline trasportate dall'aria.
La disinfezione dell'aria, quindi, costituisce l'elemento fondamentale nei processi di trattamento dell'aria che mirano alla rimozione dei microrganismi patogeni. Diverse sono le tecnologie che sono state sviluppate e applicate negli anni. I filtri sono stati a lungo impiegati poiché considerati soluzioni efficienti ed accessibili (Ma *et al*., 2019). Finora, una varietà di filtri dotati di carbone attivo tradizionale (Dupont *et a*l., 1995), zeolite (Leinonen e Lehto, 2001), resina e materiali fibrosi (Liu *et al*., 2015; Zhang *et al*., 2019) sono stati sviluppati per la rimozione dell'inquinamento da PM.
Tuttavia, tecniche appropriate dovrebbero non solo raccogliere le particelle biologiche dall'aria, ma anche inattivarle. Per raggiungere questo scopo sono state utilizzate varie tecnologie, tra cui l'uso di un sistema di filtrazione elettrostatica meccanica. AirQuality ha progettato e immesso sul commercio un sistema di filtrazione alla tecnologia MESP (filtro aria elettrostatico innovativo), con successo testato contro SARS-CoV-2. Tuttavia, maggiori

studi sono necessari al fine di stimare l'efficacia dello stesso verso batteri, funghi, lieviti e particolato. Lo scopo del presente studio riportato è stato stimare la diminuzione di contaminanti della concentrazione di aerosol nell'aria delle stanze ospedaliere e di industrie agroalimentari. Il dispositivo purificante oggetto dello studio è stato fornito da AirQuality, identificato come "AirQuality Portable Air Sterilizing Purifier" KJ300F-02A e testato dal gruppo di ricerca dell'Università di Napoli Federico II. Il lavoro, inoltre, ha lo scopo di valutare la possibile riduzione di particolato nell'aria.

1. Liu, H., Cao, C., Huang, J., Chen, Z., Chen, G., Lai, Y., 2020. Progress on particulate matter fil- tration technology: basic concepts, advanced materials, and performances. Nanoscale 12, 437–453.
2. Azimi P, Stephens B. HVAC filtration for controlling infec- tious airborne disease transmission in indoor environments: Predicting risk reductions and operational costs. Build Environ. 2013;70:150-160.
3. King, M.-F.; Camargo-Valero, M.; Matamoros-Veloza, A.; Sleigh, P.; Noakes, C. An E↵ective surrogate tracer
4. technique for S. aureus bioaerosols in a mechanically ventilated hospital room replica using dilute aqueous
5. lithium chloride. Atmosphere (Basel) 2017, 8, 238.
6. Piekarska K, Trusz A, Szczęśniak S. Bacteria and fungi in two air handling units with air recirculating module. Energy *Build*.2018;178:154-164.
7. Douwes, J.; Thorne, P.; Pearce, N.; Heederik, D. Bioaerosol Health E↵ects and Exposure Assessment: Progress and Prospects. *Ann. Occup. Hyg.* **2003**, *47*, 187–200.
8. Fung, F.; Hughson, W.G. Health e↵ects of indoor fungal bioaerosol exposure. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* **2003**, *18*,535–544.
9. Blais-Lecours, P.; Perrott, P.; Duchaine, C. Non-culturable bioaerosols in indoor settings: Impact on health and molecular approaches for detection. *Atmos. Environ.* **2015**, *110*, 45–53.
10. Bra ̨goszewska, E.; Mainka, A.; Pastuszka, J.S. Bacterial aerosols in an urban nursery school in Gliwice, Poland: A case study. *Aerobiologia (Bologna)* **2016**, *32*, 469–480.
11. Pastuszka,J.S.;Marchwin ́ska-Wyrwał,E.;Wlazło,A.BacterialaerosolinSilesianhospitals:Preliminary results. *Pol. J. Environ. Stud.* **2005**, *14*, 883–890.
12. Ma, X., Chai, Y., Li, P., Wang, B., 2019. Metal-organic framework films and their potential applications in environmental pollution control. Acc. Chem. Res. 52, 1461–1470.
13. Dupont, P., Védrine, J.C., Paumard, E., Hecquet, G., Lefebvre, F., 1995. Heteropolyacids sup- ported on activated carbon as catalysts for the esterification of acrylic acid by butanol. Appl. Catal., A 129, 217–227.
14. Leinonen, H., Lehto, J., 2001. Purification of metal finishing waste waters with zeolites and activated carbons. Waste Manag. Res. 19, 45–57.
15. Liu, C., Hsu, P.C., Lee, H.W., Ye, M., Zheng, G., Liu, N., Li, W., Cui, Y., 2015. Transparent air filter for high-efficiency PM2.5 capture. Nat. Commun. 6, 6205.
16. Zhang, S., Liu, H., Tang, N., Ge, J., Yu, J., Ding, B., 2019. Direct electronetting of high- performance membranes based on self-assembled 2D nanoarchitectured networks. Nat. Commun. 10, 1458.

Materiali e Metodi

Per la prova sperimentale sono state individuate n.2 locali da utilizzare per la validazione del sistema di filtrazione dell'aria. Come da convenzione, le prove sperimentali sono state eseguite in un locale dell'Ospedale Veterinario Universitario Didattico (OVUD) del Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali di Napoli ("Federico II") e in un locale di un'azienda agroalimentare locale (Regione Campania). Nello specifico, le aree sottoposte a studio sono state selezionate in seguito ad un'attenta valutazione del rischio, mirando alle aree ad alto rischio di contaminazione e scarso ricircolo dell'aria. Le prove sono state condotte nel reparto di Prima Visita nell'OVUD e in un locale di imballaggio prodotti della pesca nell'azienda agroalimentare.

Per le due prove sperimentali sono stati pianificati 3 diversi tipi di campionamento, al fine di determinare l'effettiva efficacia del sistema. È stato, infatti eseguito un campionamento attivo, un campionamento passivo ed un campionamento superficiale del filtro MESP. Per ognuno di essi sono stati stabiliti gli intervalli di campionamento e le modalità.

- *Campionamento attivo (campionamento volumetrico dell'aria):*

Per il campionamento attivo, il sistema di filtrazione ha funto da campionatore attivo che aspirando volumi predeterminati di aria li ha convogliati su un terreno di coltura solido (Plate Count Agar, OXOID), posizionato sul foro di uscita dell'aria post filtrazione per 3 minuti. I microrganismi presenti nell'aria hanno così aderito al terreno che per la lettura delle colonie è stato incubato per 48-72 h di incubazione a 30°C. Il livello di contaminazione microbica è stato espresso come Unità Formanti Colonie (UFC) per m3 di aria. Per il campionamento attivo sono stati selezionati i seguenti intervalli campionari:

- T0: TEST ARIA "PRIMA": SU UNITA' KJ SENZA FILTRO;
- T1: TEST ARIA DOPO 5 MIN;
- T2: TEST ARIA DOPO 20 MIN;
- T3: TEST ARIA DOPO 1 ORA;
- T4: TEST ARIA DOPO 2 ORE.

- *Campionamento passivo* (l'Indice Microbico Aria - IMA):

Nel campionamento passivo le piastre (Plate Count Agar, OXOID) sono state esposte nell'ambiente in esame per un intervallo di tempo pari ad un'ora, allo scopo di raccogliere su di esse per sedimentazione i microrganismi veicolati da particelle solide o liquide sospese nell'aria. Dopo esposizione, le piastre sono state incubate per 48-72 h a 30°C. poiché è noto che l'efficienza di raccolta dipende dalle caratteristiche aerodinamiche delle particelle e dal grado di ventilazione dell'ambiente, sono stati selezionati punto di appoggio per le piaste ad un metro da terra e ad 1-2 e 4-5 metri dal sistema.

Per il campionamento passivo sono stati selezionati i seguenti intervalli campionari:

- T0: TEST ARIA "PRIMA" dell'accensione del sistema;
- T1: TEST ARIA DOPO 20 MIN;
- T2: TEST ARIA DOPO 1 ORA e 20 MIN.

- *Campionamento superficiale FILTRO MES*:

il campionamento superficiale è stato eseguito con sponge inumidite su ambo i lati del filtro (10 cm2) al fine di valutare la presenza e il numero di microrganismi vitali al termine del periodo di filtrazione.

Al termine dei tempi di incubazione, su ogni piastra si è proceduto effettuando la conta delle colonie batteriche visibili e le popolazioni microbiche dominati isolate da campionamento attivo, passivo e superficiale sono state identificate tramite sistema innovativo di spettrofotometria di massa (MALDI TOF).

Risultati

OSPEDALE VETERINARIO UNIVERSITARIO DIDATTICO

Reparto prima visita

Le immagini che seguono mostrano la disposizione del sistema nei locali (Foto 1), il punto di posizionamento delle piastre per il campionamento attivo (Foto 2A e Foto 2B per 1m e 4m, rispettivamente) e la modalità di esecuzione del campionamento attivo (Foto 3).

Foto 1

A B

Foto 2 (A-B)

Foto 3

La tabella che segue riporta i valori derivanti dalle letture delle piastre al termine dell'incubazione, espressi sia come CFU (Unità Formanti Colonia) sia come Log. Ciò che appare evidente è l'efficacia antibatterica del sistema già a 5 minuti dall'accensione. Il campionamento attivo al tempo 1, infatti, descrive un abbattimento di circa di 2 Log della concentrazione di microrganismi mesofili presenti nell'aria. Quanto riportato, inoltre viene confermato da una continua e significativa depurazione dell'aria dei locali, misurata a metri di distanza dal sistema. Dopo venti minuti dall'accensione (T1) la concentrazione dei microrganismi mesofili dell'aria è stata abbattuta di circa 2.5 e 1 Log nelle aree distanti 1 e 4 metri dal sistema, rispettivamente.
Per un'immediata interpretazione del dato, sono state inserite le foto delle piastre in seguito incubazione, allineate per tipologia e tempo di campionamento (Foto 4 e 5).
Per quanto riguarda, infine, il campionamento superficiale, le analisi microbiologiche hanno permesso di affermare che sulla faccia esterna del filtro una contaminazione, anche se blanda, è presente; al contrario, sulla faccia esterna non è stato possibile isolare alcuna colonia.

		n. colonie	n. colonie	*mean*	CFU	LOG
CAMP PASSIVO 1M	T0	83	4664	2373.5	2157.73	3.33
	T1	2	12	7	6.36	0.80
	T2	3	11	7	6.36	0.80
CAMP PASSIVO 4M	T0	58	17	37.5	34.09	1.53
	T1	6	7	6.5	5.91	0.77
	T2	5	3	4	3.64	0.56
CAMP ATTIVO	T0	126	536	331	300.91	2.48
	T1	4	3	3.5	3.18	0.50
	T2	0	0	0	0.00	0.00
	T3	1	2	1.5	1.36	0.13
	T4	0	2	1	0.91	0.04
MERS FILTRO	faccia esterna	1			90.91	1.96
	faccia interna	0			<100	<2

Tabella 1. Risultati microbiologici della prova sperimentale condotta in OVUD

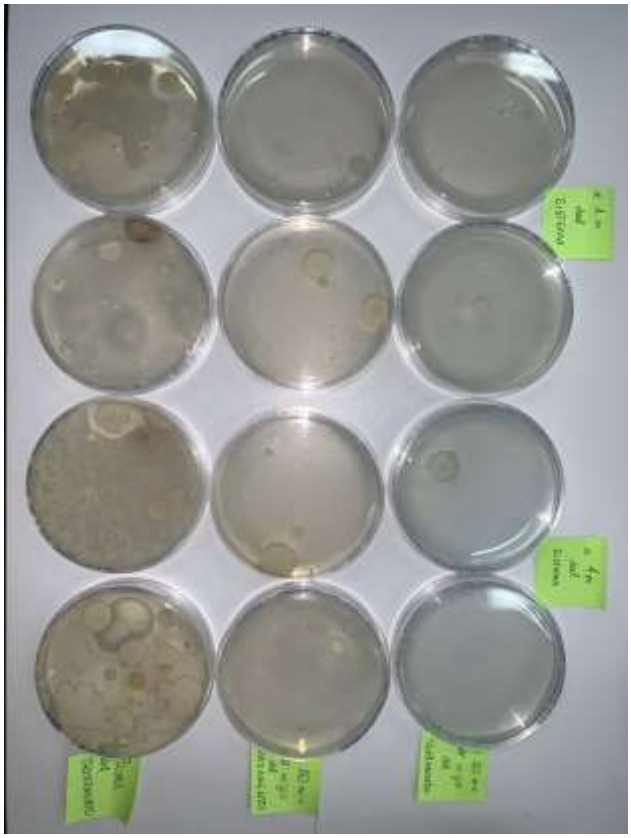


Foto 4. Piastre post campionamento passivo

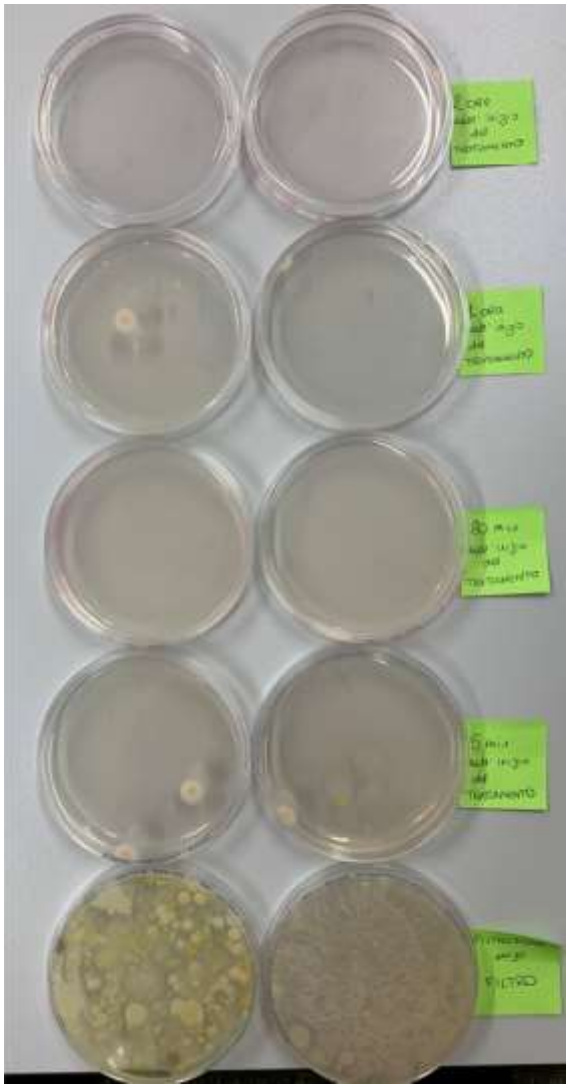


Foto 5. Piastre post campionamento attivo

AZIENDA AGROALIMENTARE

Settore imballaggio

La foto che segue mostra la disposizione del sistema nel locale (Foto 6).

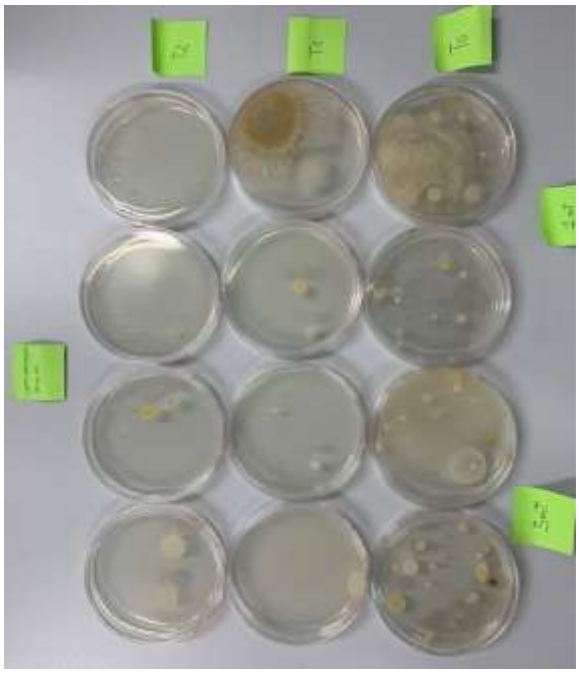
Foto 6. Piastre post campionamento attivo

Come si può osservare dalla Tabella 2, i valori derivanti dalle letture delle piastre al termine dell'incubazione, espressi sia come CFU (Unità Formanti Colonia) sia come Log, confermano quanto già descritto nella prova sperimentale precedente. La prova sperimentale condotta in locali diversi e in tempi diversi avvalora i dati collezionati precedentemente e valida il sistema. Evidente è, infatti, l'efficacia antibatterica del sistema già a pochissimi minuti dall'accensione. Dal campionamento attivo è emersa la medesima capacità antibatterica, con un abbattimento della carica mesofila totale di circa 1.5 Log. Il dato, anche in corso della seconda prova sperimentale, viene confermato da un'importante ed evidente depurazione di tutta l'aria circolante nello spazio, misurata a metri di distanza dal sistema. Dopo venti minuti dall'accensione (T1) la concentrazione di microrganismi mesofili nell'aria è stata abbattuta di circa 1 Log in entrambe le aree distanti 2 e 5 metri dal sistema.

Le foto 7 e 8 mostrano un'evidente differenza per numero di colonie tra le piastre in seguito incubazione, allineate per tipologia e tempo di campionamento.
Per quanto riguarda, infine, il campionamento superficiale, le analisi microbiologiche hanno confermato quanto visto nella prova precedente e sulla faccia interna non è stata apprezzata contaminazione batterica.

		n. colonie	n. colonie	*mean*	CFU	LOG
CAMP PASSIVO 2M	T0	29	30	29.5	26.82	1.43
	T1	2	4	3	2.73	0.44
	T2	7	14	10.5	9.55	0.98
CAMP PASSIVO 5M	T0	50	19	34.5	31.36	1.50
	T1	3	4	3.5	3.18	0.50
	T2	2	9	5.5	5.00	0.70
CAMP ATTIVO	T0	113	101	107	97.27	1.99
	T1	5	2	3.5	3.18	0.50
	T2	1	0	0.5	0.45	0.00
	T3	0	0	0	0.00	0.00
	T4	1	0	0.5	0.45	0.34
MERS FILTRO	faccia esterna	3			272.73	2.44
	faccia interna	0			<100	<2

Tabella 2. Risultai microbiologici della prova sperimentale condotta in azienda agroalimentare



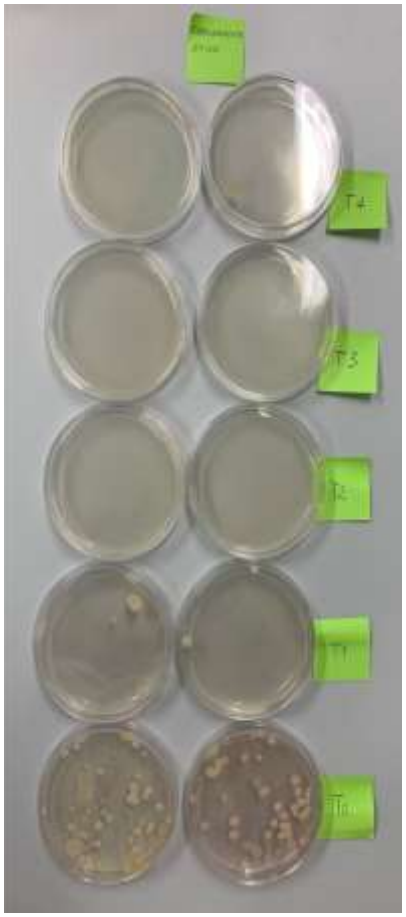


Foto 7 e 8. Piastre post campionamento passivo (sn) ed attivo (dx)

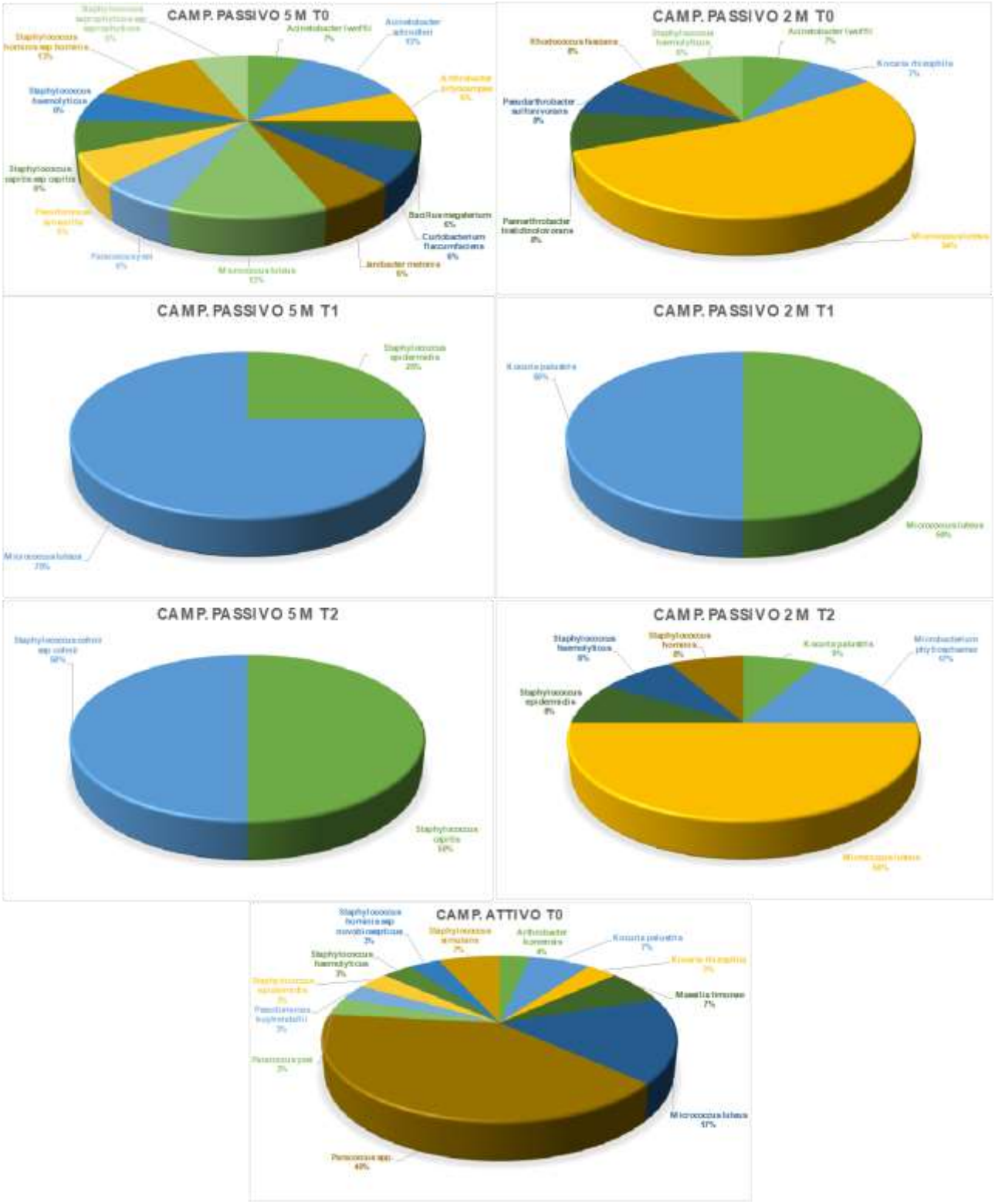


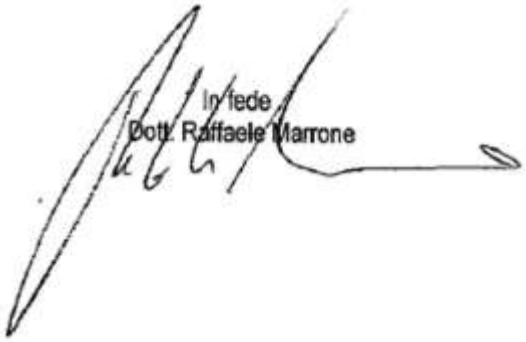
Grafico 1. **A**: popolazioni batteriche del camp. passivo T0 a 5m; **B**: popolazioni batteriche del camp. passivo T1 a 5m; **C**: popolazioni batteriche del camp. passivo T2 a 5m; **D**: popolazioni batteriche del camp. passivo T0 a 2m; **E**: popolazioni batteriche del camp. passivo T1 a 2m; **F**: popolazioni batteriche del camp. passivo T2 a 2m; **G**: popolazioni batteriche del camp. attivo T0.

In seguito alla lettura delle piastre, inoltre, è stata effettuata l'identificazione delle colonie isolate attraverso spettrofotometria di massa (MALDI TOF). Dai grafici a torta si evince una chiara azione del filtro verso microrganismi appartenenti a diverse famiglie e specie, inclusi *Staphylococcus* spp. e *Pseudomonas* spp., notoriamente responsabili di alterazioni a carico dei prodotti agroalimentari. È contemplata, infatti, la contaminazione di tali matrici da parte di batteri veicolati dall'aria e un importante abbattimento della loro concentrazione nell'ambiente sicuramente può influire positivamente sulla conservabilità di tali prodotti.

Conclusioni

In questo lavoro, il dispositivo AirQuality Portable Air Sterilizing Purifier" KJ300F-02A, è stato testato in un ambiente ospedaliero ed in un locale di industria agroalimentare.
Le metriche delle prestazioni impiegate in questo studio per confrontare l'efficacia del sistema nel ridurre i bioaerosol indoor sono state la riduzione logaritmica per m^3 e l'Indice Microbico Aria - IMA.

Complessivamente, i risultati dimostrano chiaramente l'efficacia del sistema rispetto alla decontaminazione dell'aria. I filtri hanno mostrato una buona attività antimicrobica quando esposti in ambienti indoor con concentrazioni di sospensione batterica differenti (ambiente ospedaliero/industria agroalimentare).

Dato interessante è rappresentato inoltre dalla capacità del dispositivo di sequestrare e inattivare i microorganismi, il che conferisce al sistema ulteriori prestazioni di decontaminazione e grande importanza tecnologica in ambito di filtrazione dell'aria.

Il responsabile scientifico