

RELAZIONE DI CONVALIDA

CONVALIDA PROCESSO DI LAVAGGIO

COMMITTENTE: **NUOVA LAVANDERIA PINO SRL VIA
CANCELLO DEI MONACI, 16
S. MARIA LA BRUNA (NA)**

LUOGO DELLA CONVALIDA: **NUOVA LAVANDERIA PINO SRL VIA
CANCELLO DEI MONACI, 16
S. MARIA LA BRUNA (NA)**

PROCESSO IN ESAME: **LAVAGGIO TESSILI OSPEDALIERI**



C.Pirrò
(Coordinatore della Convalida)

DATA: 21/02/2007

INDICE

-SOMMARIO	pag. 3
-INTRODUZIONE	pag. 4
-PROCEDURA SPERIMENTALE	pag. 5
-Materiale in esame	pag. 5
-Sistema di saggio	pag. 5
-Terreni colturali e reagente	pag. 7
-Apparecchiatura e vetreria	pag. 7
-Esecuzione del saggio	pag. 8
-INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI	pag. 9
-RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI	pag. 9
-LUOGO DI CONSERVAZIONE DEI DATI GREZZI	pag. 9
-PROCEDURE	pag. 9
-RISULTATI	pag.10
-CONCLUSIONI	pag.11
-APPENDICI	pag.12
-Appendice N° 1A: Determinazione di microrganismi residui sulle pezze di cotone dopo programma di lavaggio su biancheria ospedaliera	pag. 13
-Appendice N° 2A: Determinazione di microrganismi residui sulle pezze di cotone non sottoposte a programma di lavaggio (controllo positivo)	pag. 16
-Appendice N° 3A: Studio delle infezioni in ambito ospedaliero	pag. 17
-Appendice N° 4A: Certificati di origine ceppi microbici indicatori	pag. 37

SOMMARIO

E' stato effettuato uno studio per verificare l'efficacia battericida e fungicida dei processi di lavaggio in lavacontinua con tessili ospedalieri, presso la **NUOVA LAVANDERIA PINO SRL** Via Cancelli dei Monaci, 16 S. Maria La Bruna (Na)
A tale scopo pezzi di cotone sono state contaminate con 5 differenti tipi di microrganismi.

I microrganismi utilizzati sono stati i seguenti:

<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	ATCC 15442
<u>Staphylococcus aureus</u>	ATCC 6538
<u>Escherichia coli</u>	ATCC 10536
<u>Candida albicans</u>	ATCC 10231
<u>Aspergillus niger</u>	ATCC 16404

I microrganismi sono stati utilizzati in pool in rapporto 1: 1

Sono state utilizzate 5 pezze per ogni ciclo di lavaggio e 5 pezze non sottoposte a lavaggio.

Una volta contaminate le pezze sono state sottoposte, ai normali cicli di lavaggio. Al termine di ogni processo di lavaggio le pezze sono state prelevate inviate al centro di saggio e sottoposte a un conteggio microbiologico, per valutare quantitativamente la presenza di microrganismi su ogni singola pezza.

Sulla base dei risultati ottenuti, nelle condizioni sperimentali adottate, si può affermare che i cicli di lavaggio relativi ai tessili ospedalieri, effettuati presso la **NUOVA LAVANDERIA PINO SRL** sono risultati **EFFICACI** nel ridurre la contaminazione a carico dei batteri, e nel ridurre la contaminazione a carico di lieviti e muffe.

INTRODUZIONE

Per incarico della Società **NUOVA LAVANDERIA PINO SRL**, e' stato eseguito uno studio al fine di verificare l'efficacia igienizzante dei diversi processi di lavaggio effettuati presso la stabilimento di Via Canello dei Monaci, 16 S. Maria La Bruna (NA) . I programmi di lavaggio, impostati secondo le linee guida del committente allegati alla presente relazione, sono stati effettuati presso la lavanderia stessa; la preparazione dei carrier e il successivo controllo microbiologico e' stato effettuato presso il centro di analisi TESTING POINT 5 - ROMA, Italia.

La convalida è stata effettuata il giorno 14 Febbraio 2007.

I controlli microbiologici sono iniziati il giorno successivo e sono terminati in data 21 Febbraio 2007.

TERMINI E DEFINIZIONI:

- CARRIER* : Pezze in cotone
- MICROORGANISMO TEST* : Microrganismi di saggio
- INDICATORI BIOLOGICI* : Carrier con i Microrganismi

PROCEDURA SPERIMENTALE

1. MATERIALE IN ESAME

I programmi di lavaggio effettuati sono stati forniti dal Committente

N. di ricevimento :

Data ricevimento 14/02/2007

2. SISTEMA DI SAGGIO

2.1 Carrier

I carrier erano rappresentati da pezze quadrate di cotone bianco della superficie di 100 cm² (10 cm x 10 cm di lato).

2.1.1 Preparazione dei carrier

I carrier sono stati sterilizzati in autoclave a 121 °C per 20 minuti, e quindi asciugati sotto cappa a flusso laminare.

2.2 Microrganismi test

2.2.1 Identificazione

Sono stati utilizzati i seguenti ceppi test:

<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	ATCC 15442
<u>Staphylococcus aureus</u>	ATCC 6538
<u>Escherichia coli</u>	ATCC 10536
<u>Candida albicans</u>	ATCC 10231
<u>Aspergillus niger</u>	ATCC 16404

I ceppi sono stati utilizzati in pool in rapporto di 1:1

2.2.2 Scelta del sistema di saggio

I ceppi in questione sono stati scelti secondo le norme europee consigliate per quel che concerne lo studio dell'efficacia di preparazioni antimicrobiche e di disinfettanti in genere.

2.2.3 Centro di provenienza

I ceppi sono stati acquistati presso Istituto Pasteur di Parigi

2.2.4 Preparazione delle sospensioni batteriche

I ceppi batterici sono stati trapiantati per tre volte di seguito su slant di TSA e incubati a 37°C per 18 ore.

La coltura finale è stata risospesa in diluente usando palline di vetro; la sospensione è stata diluita fino ad ottenere una concentrazione di circa 10^8 - 10^9 cfu/ml.

E' stato effettuato un conteggio per inclusione in agar.

2.2.5 Preparazione delle sospensioni di spore fungine

Dagli slants di mantenimento con l'aiuto di palline di vetro, e' stata ottenuta una sospensione di conidiospore con diluente contenente 0.05% di polisorbato 80.

Dopo accurata agitazione, la sospensione è stata trasferita in una provetta sterile e filtrata in modo da allontanare eventuali miceli.

Le spore sono state diluite fino ad ottenere una concentrazione di circa 10^7 - 10^8 cfu/ml.

E' stato effettuato un conteggio per inclusione in agar.

2.2.6 Preparazione degli indicatori biologici

I carrier stati contaminati immergendo completamente la pezza nella sospensione microbica per 3 giorni; le pezze sono stati successivamente asciugate in stufa a 37°C.

Per per ogni ciclo di lavaggio sono stati utilizzati cinque carrier ; cinque carrier sono stati utilizzati in laboratorio come controllo positivo al fine di avere un'esatta stima del numero di microrganismi/carrier.

3. TERRENI CULTURALI E REAGENTI

Tryptic Soya Agar Merck

3.1 Neutralizzante

Tween 80	30 ml
Lecitina di soia	5 g
Sodio tiosolfato	5 g
Istidina cloridrata	1 g
Peptone	1 g
Cloruro di sodio	8.5 g
Fosfato di sodio	14.28 g
Fosfato monopotassico	3.64 g
Acqua distillata q.b. a	1000 ml

4. APPARECCHIATURA E VETRERIA

Stufa per la sterilizzazione a secco	MEMMERT
Autoclave a vapore	PBI
Termostato	GALLI
pHmetro	XS INSTRUMENTS
Agitatore Vortex	VELP
Stomacker	ITALSCIENTIFICA

5. ESECUZIONE DEL SAGGIO

5.1 Esecuzione delle prove di lavaggio

Gli indicatori biologici sono stati trasportati presso la lavanderia mediante frigorifero portatile alla temperatura di 4 °C.

I singoli carrier sono stati introdotti nel ciclo di lavaggio prescelto di volta in volta, insieme al carico completo in modo da rispettare in pieno le condizioni reali di lavaggio.

Una volta terminato il ciclo di lavaggio, gli indicatori biologici sono stati prelevati dalla lavatrice ed introdotti in sacchetti da stomacker sterili, riposti nel frigorifero e trasportati al centro di saggio.

5.2 Conteggio dei microrganismi sui carrier dopo il lavaggio

Per effettuare il controllo microbiologico le pezze di cotone sono state immerse singolarmente in 50 ml di neutralizzante.

Le pezze sono state mantenute in agitazione allo stomacker per 3 minuti.

1 ml di diluente e' stato piastrato ed il rimanente e' stato tutto filtrato attraverso una membrana da filtro 0.45 µm.

La membrana e' stata posta su piastra di terreno solido specifico ed incubata a 30-35°C per 2 giorni per permettere lo sviluppo dei batteri e successivamente e a 20-25°C per 3 giorni per permettere lo sviluppo dei miceti

5.3 Calcolo dei risultati

Per ogni indicatore biologico è stato calcolato il logaritmo del numero di microrganismi.

E' stata poi calcolata la riduzione logaritmica fra il numero di batteri presenti sull'indicatore biologico non sottoposto al ciclo di lavaggio (controllo positivo) e ogni indicatore sottoposto al ciclo di lavaggio.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il lavaggio viene considerato efficace quando si ottiene una riduzione di 5 log. tra il numero di batteri presenti sull'indicatore biologico non sottoposto al lavaggio (K+) e del numero dei batteri presenti sull'indicatore biologico sottoposto al lavaggio e di 4 log tra il numero di miceti presenti sull'indicatore biologico non sottoposto al lavaggio (K+) e del numero dei miceti presenti sull'indicatore biologico sottoposto al lavaggio

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

Normalisation Francaise, G 07-172 ,Juillet 1992 , Textiles Articles textiles traites en blanchisserie "*Methode de controle et d'essai de la qualite hygienique du linge-Propete hygienique*"

UNI EN 14065, gennaio 2004 Tessili trattati in lavanderie "Sistema di controllo della biocontaminazione"

UNI EN ISO 14698-1 ottobre 2004 Camere bianche ed ambienti associati controllati "Controllo della biocontaminazione"

LUOGO DI CONSERVAZIONE DEI DATI GREZZI

Tutti i dati grezzi, e gli altri documenti generati nel corso dello studio, sono conservati negli archivi TESTING POINT 5 insieme ad una copia del rapporto finale.

PROCEDURE

Le procedure utilizzate nello studio sono documentate nel manuale di procedure di Biolab S.p.A.

RISULTATI

Di seguito e' riportata la riduzione logaritmica media delle 5 pezze in cotone per ogni programma di lavaggio

Attrezzatura di lavaggio	Programma	Inoculo Batteri	Riduzione logaritmica dopo ciclo di lavaggio	Inoculo Miceti	Riduzione logaritmica dopo ciclo di lavaggio
LAVACONTINUA SENKING 18	Ciclo per spugna	8,69	6,32	8,49	7,27
LAVACONTINUA SENKING 18	Ciclo per biancheria bianca piana		7,18		6,11
LAVACONTINUA MILNOR 9	Ciclo per biancheria colorata piana		5,36		5,23

In Appendice 1 sono riportati i risultati relativi ai lavaggi dei microrganismi presenti sulle pezze di cotone.

CONCLUSIONI

Sulla base dei risultati ottenuti, nelle condizioni sperimentali adottate, si può affermare che i cicli di lavaggio, effettuati presso la **NUOVA LAVANDERIA PINO SRL**, relativi ai tessili ospedalieri :

- Ciclo per spugna
- Ciclo per biancheria piana bianca
- Ciclo per biancheria piana colorata

Sono risultati **EFFICACI** nel ridurre la contaminazione a carico dei batteri e della *Candida albicans*.

CONVALIDA PROCESSO DI DI LAVAGGIO

- APPENDICI -

APPENDICE N. 1a: Determinazione di microrganismi residui sulle pezze di cotone dopo programma di lavaggio SPUGNA in LAVACONTINUA SENKING 18. 18 camere.

BATTERI

PEZZA N°	Cfu/pezza	LOG/pezza
1	2,2 x10 ²	2,34
2	2,4 x10 ²	2,38
3	2,5 x10 ²	2,40
4	2,8 x10 ²	2,45
5	1,9 x10 ²	2,28
Media	2,4 x10²	2,37

LIEVITI + MUFFE

PEZZA N°	Cfu/pezza	LOG/pezza
1	2,4 x10 ¹	1,38
2	2,8 x10 ¹	1,45
3	3,2 x10 ¹	1,51
4	1,9 x10 ¹	1,28
5	3,3 x10 ¹	1,52
Media	2,7 x10¹	1,43

APPENDICE N. 1b: Determinazione di microrganismi residui sulle pezze di cotone dopo programma di lavaggio BIANCHERIA BIANCA PIANA in LAVACONTINUA SENKING 18 – 18 camere.

BATTERI

PEZZA N°	Cfu/pezza	LOG/pezza
1	4,3 x10 ¹	1,63
2	2,8 x10 ¹	1,45
3	3,5 x10 ¹	1,54
4	3,0 x10 ¹	1,48
5	2,6 x10 ¹	1,41
Media	1,5 x10¹	1,51

LIEVITI + MUFFE

PEZZA N°	Cfu/pezza	LOG/pezza
1	3,1 x10 ²	2,49
2	2,5 x10 ²	2,40
3	1,8 x10 ²	2,26
4	1,7 x10 ²	2,23
5	3,0 x10 ²	2,48
Media	2,4 x10²	2,38

APPENDICE N. 1c: Determinazione di microrganismi residui sulle pezze di cotone dopo programma di lavaggio BIANCHERIA PIANA COLORATA in LAVACONTINUA MILNOR 9 camere.

BATTERI

PEZZA N°	Cfu/pezza	LOG/pezza
1	1,5 x10 ³	3,18
2	2,3 x10 ³	3,36
3	2,0 x10 ³	3,30
4	1,8 x10 ³	3,26
5	3,2 x10 ³	3,51
Media	2,2 x10³	3,33

LIEVITI + MUFFE

PEZZA N°	Cfu/pezza	LOG/pezza
1	2,7 x10 ³	3,43
2	2,2 x10 ³	3,34
3	1,4 x10 ³	3,15
4	1,5 x10 ³	3,18
5	1,3 x10 ³	3,11
Media	1,8 x10³	3,26

APPENDICE N. 2a

Determinazione di microrganismi presenti sulle pezze di cotone non sottoposte al programma di lavaggio (**controllo positivo**)

BATTERI

PEZZA N°	Cfu/pezza	LOG/pezza
1	5,1 x10 ⁸	8,71
2	5,5 x10 ⁸	8,74
3	4,6 x10 ⁸	8,66
4	5,1 x10 ⁸	8,71
5	4,4 x10 ⁸	8,64
Media	4,9 x10⁸	8,69

LIEVITI + MUFFE

PEZZA N°	Cfu/pezza	LOG/pezza
1	2,3 x10 ⁸	8,36
2	3,3 x10 ⁸	8,52
3	4,1 x10 ⁸	8,61
4	2,2 x10 ⁸	8,34
5	3,5 x10 ⁸	8,54
Media	3,1 x10⁸	8,49