

AZIENDA:

X-Light Illuminazione S.r.L.
Via Montefeltresca, 104B-110
61023 - Pietrarubbia (PU)

OGGETTO:

**VERIFICA DELL'EFFICACIA DI
ABBATTIMENTO MICROBICO DEL
SISTEMA X-PURA LED UV-C**

SOMMARIO

SOMMARIO	2
1 INTRODUZIONE	3
2 MATERIALI E METODI	5
2.1 Materiali	5
2.2 Terreni di coltura e reagenti	5
2.3 Ceppi microbici	5
3 PROCEDURA OPERATIVA	7
4 RISULTATI	10
5 CONCLUSIONI	13

1 INTRODUZIONE

Per la ditta X-Light Illuminazione S.r.l. è stato condotto uno studio per verificare l'efficacia di abbattimento microbico da parte del sistema X-PURA LED UV-C (Fig. 1), la cui destinazione d'uso è l'installazione ad un serbatoio d'acqua di un camper, al fine di ridurre la carica microbica contaminante potenzialmente presente nell'acqua stessa, senza l'utilizzo di prodotti chimici (Fig 2)

Il sistema X-PURA UV-C LED è progettato per distruggere il DNA o RNA di batteri e virus, impedendo loro di svolgere funzioni cellulari vitali, e garantendo così la purificazione dell'acqua. La tecnologia a LED utilizzata offre un risparmio energetico significativo, con un assorbimento di soli 5 Watt, e una lunga durata operativa, superiore a quella delle lampade tradizionali.

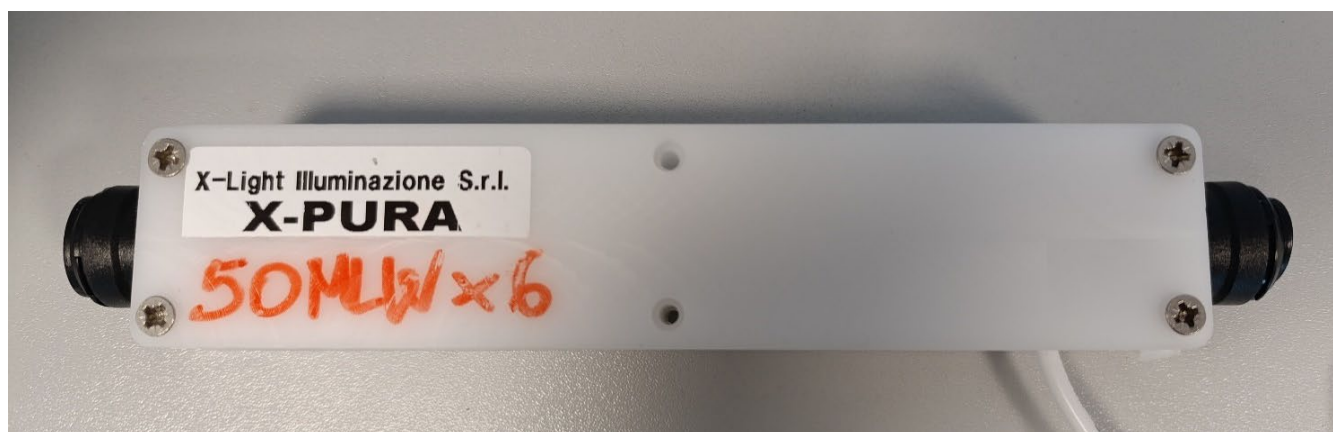


Fig. 1 – Sistema X-PURA UV-C LED

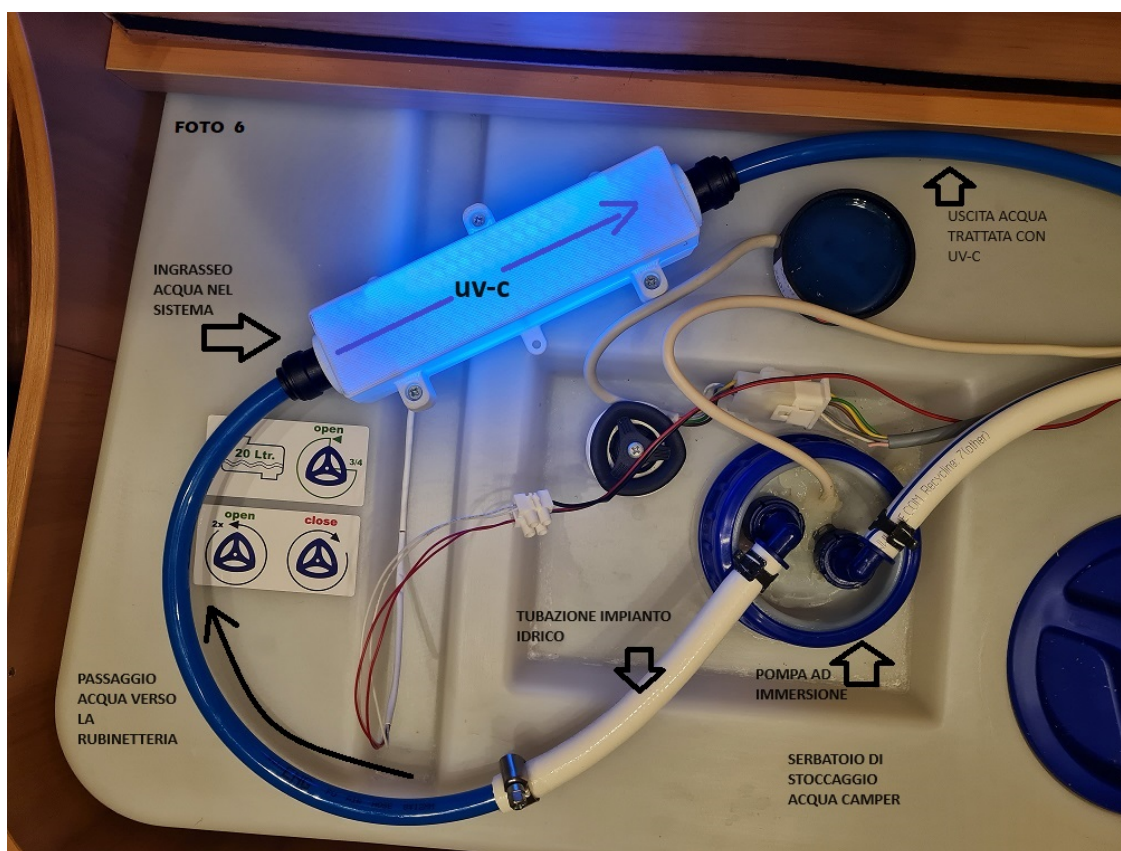


Fig. 2 – Sistema X-PURA UV-C LED installato sul serbatoio d'acqua di un camper

Per lo studio, è stato sviluppato un protocollo che prevede la contaminazione artificiale dell'acqua con vari ceppi batterici, potenziali contaminanti, seguita dal passaggio dell'acqua contaminata attraverso il sistema X-PURA e la successiva analisi post trattamento al fine di valutarne l'abbattimento batterico.

In particolare, per effettuare le prove, è stato allestito un prototipo per simulare le condizioni operative del sistema nell'applicazione finale, replicando la velocità del flusso d'acqua, al fine di valutare l'efficacia del trattamento nella riduzione dei microrganismi vitali presenti.

Chimicambiente Srl è un laboratorio accreditato Accredia con n° 0763 e quindi operante in conformità alla UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018.

Tale qualifica riconosce al laboratorio la competenza tecnica nell'esecuzione delle prove e la qualità del servizio svolto nel rispetto dell'indipendenza di giudizio e nella più completa tutela della riservatezza.

La strumentazione utilizzata viene monitorata e mantenuta secondo una pianificazione annuale e tarata (tarature interne ed esterne) secondo i criteri di riferibilità metrologica conformi ai requisiti della norma.

Il personale interno è qualificato e il mantenimento dell'abilitazione è programmato e definito secondo criteri di accuratezza e ripetibilità come richiesto in ambito di accreditamento.

2 MATERIALI E METODI

2.1 Materiali

- Prototipo allestito con mini pompa ad immersione e relativi tubi di collegamento (come da Fig. 4)
- Materiale per laboratorio microbiologico sterile (pipette graduate e provette, petri, bottiglie in vetro, etc)
- Dilushaker e Dilucup
- Incubatore impostato a 37 ± 1 °C, monitorato con datalogger.

2.2 Terreni di coltura e reagenti

- Maximum Recovery Diluent (MRD) per la preparazione dell'inoculo batterico
- Plate Count Agar (PCA)

2.3 Ceppi microbici

- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
- *Escherichia coli* ATCC 10536
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442
- *Legionella anisa* ATCC 35292

I ceppi batterici scelti per lo studio sono rappresentativi dei microrganismi che possono essere presenti in acque contaminate. In particolare, *Escherichia coli* ed *Enterococchi* intestinali sono inclusi come parametri microbiologici nel Decreto Legislativo 18/2023 (che recepisce la Direttiva (UE) 2020/2184 del Parlamento europeo e del Consiglio del 16 dicembre 2020), sulla qualità delle acque destinate al consumo umano. Il genere *Pseudomonas* è invece comunemente associato a proliferazioni batteriche nei serbatoi di stoccaggio dell'acqua.

Escherichia coli è un batterio Gram-negativo, normalmente presente nell'intestino degli esseri umani e degli animali a sangue caldo. Alcuni ceppi di *E. coli* possono causare gravi malattie gastrointestinali e altre infezioni. *E. coli* è utilizzato come indicatore di contaminazione fecale perché la sua presenza nell'acqua suggerisce la possibile presenza di altri patogeni di origine fecale.

Enterococcus faecalis è un batterio Gram-positivo, che si trova nell'intestino degli esseri umani e di altri animali. È un indicatore di contaminazione fecale e la sua presenza nell'acqua può segnalare la possibile presenza di altri microrganismi patogeni. *E. faecalis* è resistente a condizioni ambientali avverse e a molti disinfettanti, il che rende la sua presenza particolarmente preoccupante nei sistemi idrici. È spesso utilizzato insieme a *E. coli* per valutare la qualità dell'acqua e l'efficacia dei processi di disinfezione.

Pseudomonas aeruginosa è un batterio Gram-negativo, noto per la sua resistenza a molti antibiotici e per la sua capacità di sopravvivere in ambienti acquatici con nutrienti limitati. Questo batterio è un patogeno opportunista, capace di causare infezioni soprattutto in individui con sistemi immunitari compromessi. La presenza di *P. aeruginosa* nell'acqua può indicare problemi con i processi di disinfezione o la presenza di biofilm nei sistemi di distribuzione dell'acqua. *P. aeruginosa* è anche noto per la sua capacità di formare biofilm, che possono proteggere i batteri dai disinfettanti e rendere più difficile la loro eliminazione.

Staphylococcus aureus è un batterio Gram-positivo, coagulasi-positivo, che può causare una vasta gamma di infezioni, dalle infezioni cutanee a malattie più gravi come la polmonite, la meningite e le infezioni sistemiche. La presenza di *S. aureus* nell'acqua può derivare da contaminazioni umane, poiché questo batterio è comunemente presente sulla pelle e nelle vie respiratorie. Sebbene non sia un indicatore primario della qualità dell'acqua, la sua presenza può indicare una contaminazione secondaria o un'inefficacia nei processi di disinfezione.

Legionella spp. è un gruppo di batteri Gram-negativi, responsabili di malattie come la legionellosi, che può manifestarsi come una forma grave di polmonite (malattia del legionario) o come una sindrome influenzale più lieve (febbre di Pontiac). La legionella si trova principalmente in ambienti acquatici naturali e artificiali, quali laghi, fiumi, bacini idrici e sistemi idrici urbani, ed è particolarmente associata ai sistemi di condizionamento dell'acqua e dell'aria, dove può proliferare in condizioni di acqua stagnante e a temperature comprese tra 25 °C e 45 °C. La presenza della legionella nei sistemi idrici è un segnale importante dei problemi nella gestione della temperatura e della disinfezione dell'acqua. Questo batterio può formare biofilm nei tubi e resistere ai trattamenti di disinfezione, rendendolo più difficile da eradicare.

Questi ceppi sono quindi stati selezionati per valutare l'efficacia del sistema X-PURA UV-C LED nel ridurre la carica microbica in condizioni simili a quelle che si potrebbero riscontrare nell'uso reale.

3 PROCEDURA OPERATIVA

Il protocollo operativo allestito per l'esecuzione della prova prevedeva i seguenti step operativi.

- Preparazione di 3 Litri di acqua contaminata con il ceppo target ad una concentrazione di circa 10^6 UFC/L e relativa quantificazione, tramite metodo della conta in piastra, al fine di determinare il titolo batterico esatto dell'acqua contaminata
- Immersione di una mini pompa collegata ad un tubo in silicone al fine di aspirare l'acqua contaminata e farla passare attraverso il sistema X-PURA in funzione (Fig.3). La lunghezza del tubo in silicone è stata valutata al fine di simulare lo stesso flusso d'acqua (in termini di velocità e portata) che si ha nell'apparato finale in destinazione d'uso (Fig.4 e 5).
- Prelievo di un volume minimo di 200 ml di acqua dal punto di uscita post sistema X-PURA, con contenitore sterile.
- Quantificazione dei microrganismi vitali dell'acqua in uscita dal sistema. Tali microrganismi sono quantificati tramite metodo della conta in piastra, con semina per inclusione con terreno PCA, eseguendo opportune diluizioni seriali tramite utilizzo di un Diluskhaker e opportune Dilucup da 9 ml (Fig. 6).
- Incubazione delle piastre a 37°C per 24-48 h e trascorso il tempo di incubazione è stato effettuato il conteggio del numero di colonie (UFC) cresciute su ogni piastra, al fine di quantificare i microrganismi vitali

Per ogni ceppo batterico la prova è stata condotta in triplicato, contaminando ad ogni replica un nuovo volume d'acqua e ripetendo il procedimento sopra descritto, al fine di ottenere un dato robusto e riproducibile

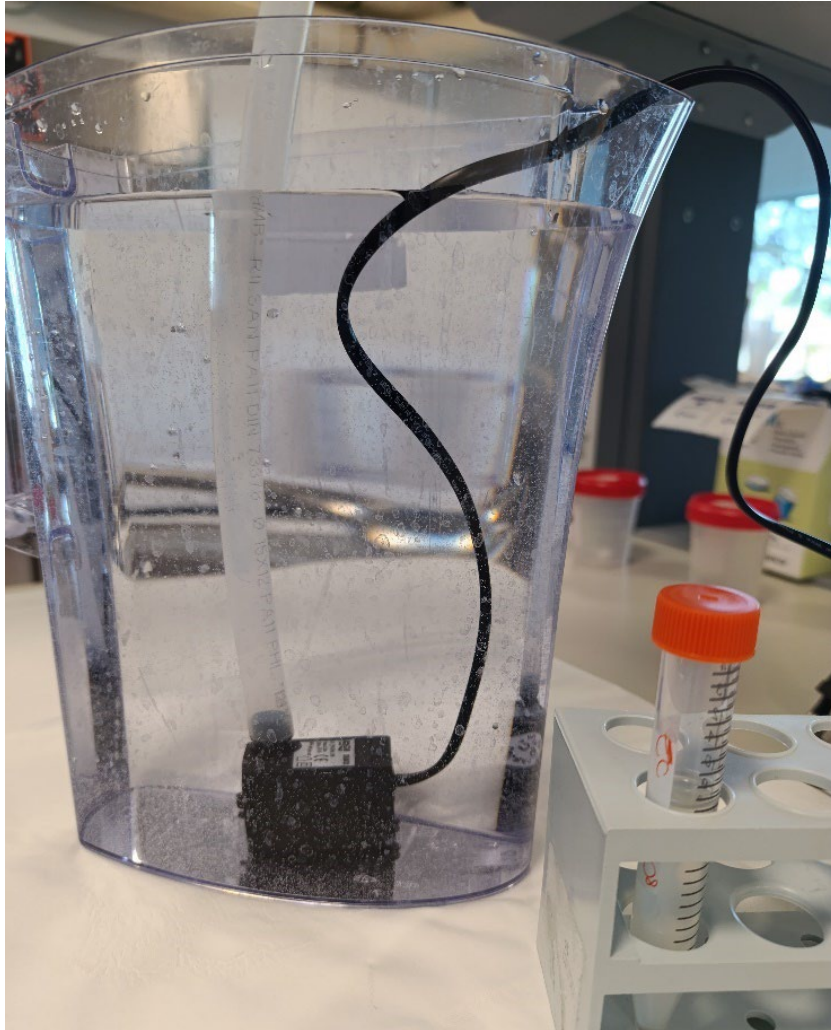


Fig. 3 – Acqua inoculata con il ceppo batterico con pompa ad immersione

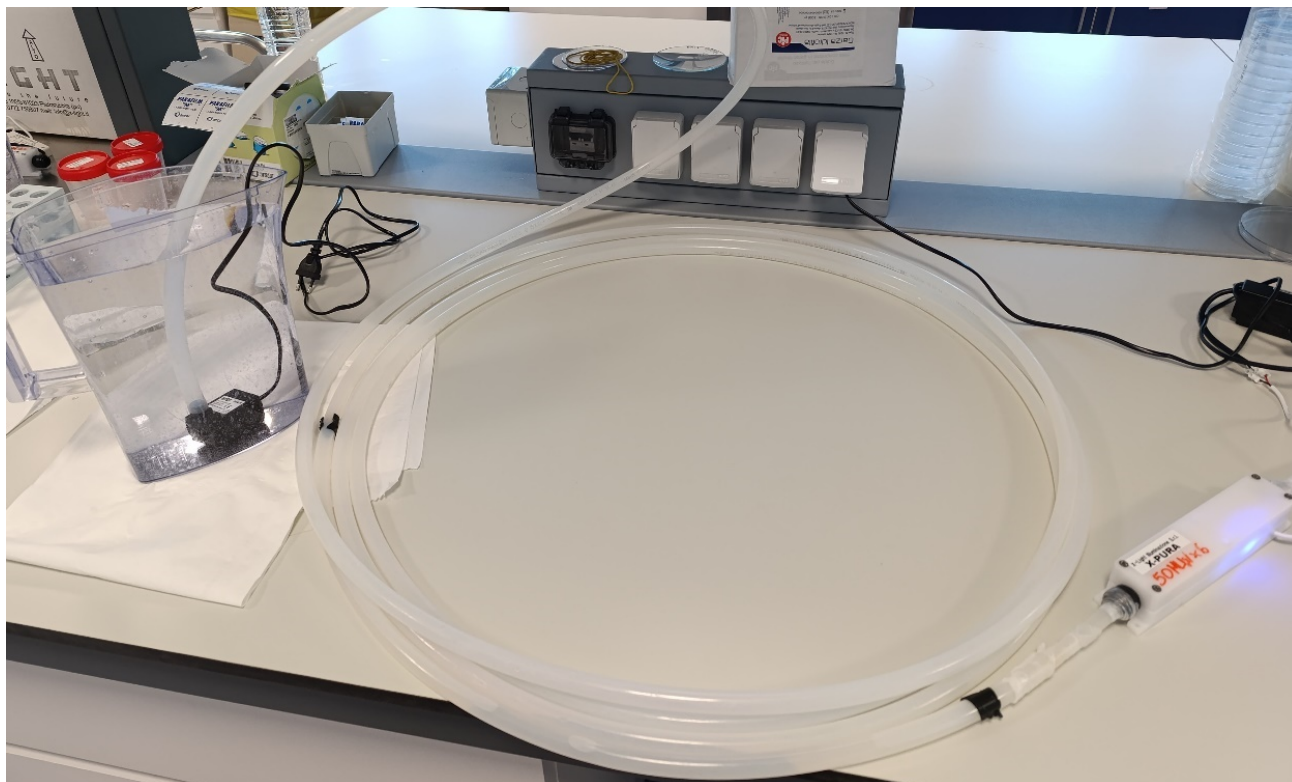


Fig. 4 – Allestimento del sistema di flusso dell'acqua contaminata attraverso X-PURA



Fig. 5 – Sistema X-PURA in funzione durante il passaggio d'acqua contaminata



Fig. 6 - Diluizioni e piastratura per inclusione

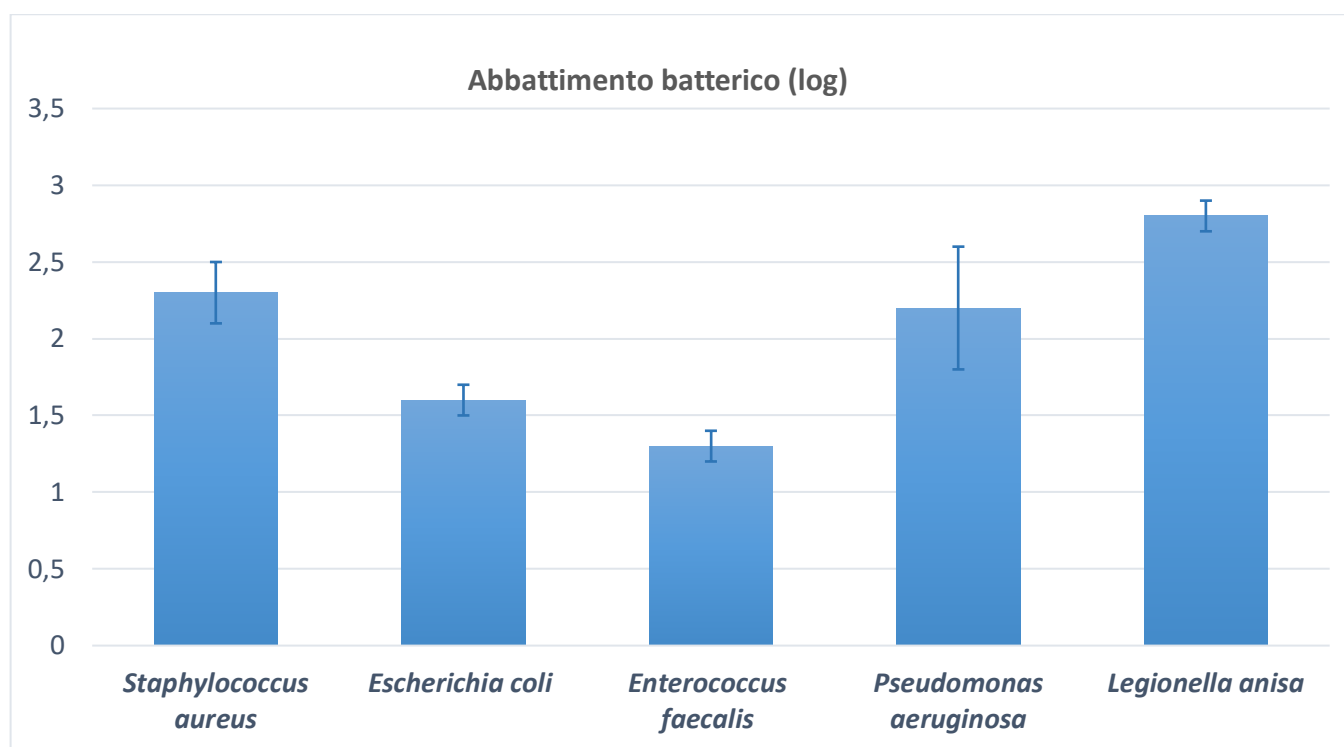
4 RISULTATI

Nelle tabelle che seguono sono riportati i dati ottenuti dalle conte batteriche effettuate sia prima che dopo il trattamento. Vengono inoltre calcolate e riportate le riduzioni microbiche conseguenti, espresse sia in termini di riduzione logaritmica che percentuale

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538								
	Conte PRE passaggio X-PURA			Conte POST passaggio X-PURA			Riduzione log media	dev st.
	UFC/ml	UFC/L	log (UFC/L)	UFC/ml	UFC/L	log (UFC/L)		
Prova A	3800	3,8E+06	6,58	28	2,8E+04	4,45	2,13	
Prova B	4600	4,6E+06	6,66	24	2,4E+04	4,38	2,28	
Prova C	4600	4,6E+06	6,66	15	1,5E+04	4,18	2,49	
	media	4,3E+06	6,64	media	2,2E+04	4,33	2,3	0,2
	dev st.	4,6E+05	0,05	dev st.	6,7E+03	0,14	99,499%	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536								
	Conte PRE passaggio X-PURA			Conte POST passaggio X-PURA			Riduzione log media	dev st.
	UFC/ml	UFC/L	log (UFC/L)	UFC/ml	UFC/L	log (UFC/L)		
Prova A	5800	5,8E+06	6,76	150	1,5E+05	5,18	1,59	
Prova B	6480	6,5E+06	6,81	200	2,0E+05	5,30	1,51	
Prova C	6080	6,1E+06	6,78	116	1,2E+05	5,06	1,72	
	media	6,1E+06	6,79	media	1,6E+05	5,18	1,6	0,1
	dev st.	3,4E+05	0,02	dev st.	4,2E+04	0,12	97,488%	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212								
	Conte PRE passaggio X-PURA			Conte POST passaggio X-PURA			Riduzione log media	dev st.
	UFC/ml	UFC/L	log (UFC/L)	UFC/ml	UFC/L	log (UFC/L)		
Prova A	4100	4,1E+06	6,61	253	2,5E+05	5,40	1,21	
Prova B	3750	3,8E+06	6,57	160	1,6E+05	5,20	1,37	
Prova C	3490	3,5E+06	6,54	200	2,0E+05	5,30	1,24	
	media	3,8E+06	6,58	media	2,0E+05	5,30	1,3	0,1
	dev st.	3,1E+05	0,04	dev st.	4,7E+04	0,10	94,988%	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15422								
	Conte PRE passaggio X-PURA			Conte POST passaggio X-PURA			Riduzione log media	dev st.
	UFC/ml	UFC/L	log (UFC/L)	UFC/ml	UFC/L	log (UFC/L)		
Prova A	65000	6,5E+07	7,81	564	5,6E+05	5,75	2,06	
Prova B	52000	5,2E+07	7,72	600	6,0E+05	5,78	1,94	
Prova C	57000	5,7E+07	7,76	109	1,1E+05	5,04	2,72	
	media	5,8E+07	7,76	media	4,2E+05	5,52	2,2	0,4
	dev st.	6,6E+06	0,05	dev st.	2,7E+05	0,42	99,369%	

<i>Legionella anisa</i> ATCC 35292								
	Conte PRE passaggio X-PURA			Conte POST passaggio X-PURA			Riduzione log media	dev st.
	UFC/ml	UFC/L	log (UFC/L)	UFC/10ml	UFC/L	log (UFC/L)		
Prova A	800	8,0E+05	5,90	10	1,0E+03	3,00	2,90	
Prova B	500	5,0E+05	5,70	9	9,0E+02	2,95	2,74	
Prova C	550	5,5E+05	5,74	8	8,0E+02	2,90	2,84	
	media	6,2E+05	5,78	media	9,0E+02	2,95	2,8	0,1
	dev st.	1,6E+05	0,11	dev st.	1,0E+02	0,05	99,369%	

I dati ottenuti sono stati riportati graficamente al fine di comparare visivamente i risultati ottenuti



5 CONCLUSIONI

Lo studio condotto ha permesso di verificare l'efficacia di abbattimento batterico da parte del sistema X-PURA LED UV-C, la cui destinazione d'uso è l'installazione ad un serbatoio d'acqua di un camper, al fine di ridurre la carica microbica contaminante potenzialmente presente nell'acqua stessa, senza l'utilizzo di prodotti chimici.

Il protocollo sviluppato ha permesso di simulare le condizioni di utilizzo nella destinazione di uso finale, testando ceppi batterici rappresentativi di quelli che possono essere presenti in acque contaminate.

I risultati ottenuti per tutti i ceppi batterici hanno dimostrato una riduzione batterica superiore a un logaritmo, pari al 90% di riduzione della potenziale contaminazione microbica iniziale dell'acqua.

Per i ceppi di Pseudomonas e Legionella, la riduzione è stata superiore a 2 logaritmi, corrispondente a una diminuzione percentuale superiore al 99%. Si tratta di un ottimo risultato, considerando che questi batteri sono particolarmente noti per la capacità di formare biofilm resistenti, complicando ulteriormente la loro rimozione e rappresentando un rischio significativo negli impianti idrici e/o serbatoi di stoccaggio.

Vicenza, 18/10/2024

Dott.ssa Giulia Giaretta, Responsabile Reparto Biologico

