

Sperimentazione di tecniche di biostabilizzazione nelle procedure di sanificazione di degenze ospedaliere

Riassunto

Nella memoria vengono esposti i risultati di una ricerca sperimentale inerente all'impiego di nuove metodologie di pulizia/sanificazione di superfici di diverso tipo appartenenti ad aree ospedaliere (pavimenti, apparecchi sanitari e arredi), basate su "tecniche di biostabilizzazione" della carica potenzialmente patogena, perseguite mediante l'utilizzo di prodotti probiotici (*Bacillus* spp. sotto forma vegetativa e sporigena). Il principio di azione consiste nel fatto che tali microrganismi sono in grado di colonizzare le superfici su cui vengono applicati, contrastando la proliferazione delle altre specie batteriche e/o funginee in accordo con la legge di Gause. Lo studio si poneva l'obiettivo di verificare, sotto il profilo quali quantitativo sia in vitro che in campo, l'azione di tali prodotti rispetto all'impiego di trattamenti tradizionali a base di disinfettanti chimici. I risultati ottenuti dimostrano che con le nuove metodologie si ottiene una riduzione della carica di *Stafilococcus aureus*, *Pseudomonas species*, coliformi (compreso *Escherichia Coli*), *Candida Albicans* e *Acinetobacter spp.* di oltre l'80 % rispetto ai valori ottenibili mediante tecniche tradizionali di disinfezione chimica.

S. Mazzacane*, **P.G. Balboni***, **A. Vandini***, **A. Frabetti***, **P. Antonioli***, **M.C. Manzalini***, **M. Rovigatti***

a. CIAS, Centro studi Inquinamento Ambienti elevata Sterilità, Dipartimento di Architettura, Università di Ferrara

b. CIAS, Centro studi Inquinamento Ambienti elevata Sterilità, Dipartimento di Medicina Sperimentale Sezione di Microbiologia, Università di Ferrara

c. Azienda Ospedaliero Universitaria di Ferrara, Struttura Dipartimentale di Igiene Ospedaliere e Qualità dei Servizi Ambientali, Ferrara

INTRODUZIONE

Le infezioni nosocomiali rappresentano uno degli inconvenienti più frequenti della assistenza sanitaria e determinano in generale il prolungamento dei tempi di degenza, con costi umani ed economici non trascurabili.

Si stima che il numero di simili eventi sia pari a circa l'8% dei degenti ricoverati [1], equivalenti in Italia a circa 700.000 casi/anno, di cui circa il 25% interessano il sito chirurgico ed il restante 75% è relativo alle infezioni nosocomiali insorte durante il ricovero in ospedale. Le percentuali di cui sopra

sono del tutto in linea con quelle europee e nord americane.

Le infezioni sono determinate sempre più spesso da microrganismi opportunisti, ben diffusi nell'ambiente nosocomiale, che possono determinare criticità in gran parte dei pazienti.

Le procedure di sanificazione degli ambienti ospedalieri, unitamente alla profilassi antibiotica cui vengono sottoposti i degenti, vengono condotte proprio con lo scopo di ridurre e contenere la proliferazione dei microrganismi, di qualunque specie essi siano, contrastando quindi la possibilità di insorgenza di infezioni opportunistiche.

Tradizionalmente tali procedure sono effettuate mediante l'impiego di disinfettanti chimici, che tuttavia presentano diversi svantaggi, riconducibili:

- alla limitata efficacia biocida nel tempo, che normalmente si esaurisce nell'arco di 20-30 minuti dopo l'applicazione, con successiva crescita esponenziale degli agenti microbiologici [2, 3, 4, 8];
- alla capacità, da parte dei microrganismi stessi, di sviluppare continue mutazioni genetiche e difese di diverso genere, atte a rendere inefficace l'azione biocida chimica, con i conseguenti fenomeni di biocida resistenza, ben descritti in letteratura [5, 6, 7];
- ai problemi di inquinamento dell'ambiente naturale generati dall'uso massivo di sostanze chimiche che possono accumularsi in modo persistente.

Tutto ciò ha determinato un processo di selezione naturale dei ceppi microbici patogeni, sempre più resistenti alle procedure di disinfezione.

Per questi motivi, sono state attivate a livello internazionale ricerche su nuove metodologie di sanificazione basate sul principio della competizione biologica, che utilizzano prodotti con carica microbica non patogena, in grado di colonizzare le superfici su cui vengono applicati, contrastando la proliferazione delle altre specie batteriche in base al principio della esclusione competitiva (legge di Gause).

**PAROLE CHIAVE:**

Contaminazione, probiotici, sanificazione, degenze ospedaliere

L'approccio al problema della sanificazione viene in questo modo completamente ribaltato: l'oggetto delle procedure non è più rappresentato dalla disinfezione in sé, intesa in termini di minima presenza di microrganismi di qualunque genere sulle superfici degli ambienti nosocomiali, ma nel contrastare lo sviluppo di ceppi potenzialmente patogeni, tollerando al contrario la presenza di microrganismi non dannosi per la salute umana.

Queste procedure possono essere connotate come "tecniche di biostabilizzazione" di una specie rispetto ad un'altra, non implicando pertanto un'azione biocida generalizzata, se non come effetto finale nei confronti di determinate specie microbiche.

Il principio di azione consiste nel fatto che due diverse specie (batteriche e/o fungine), che insistono sullo stesso microcosmo ecologico, non possono coesistere in equilibrio stabile se fanno riferimento agli stessi substrati nutritivi, ma una delle due, normalmente la meno esigente per fattori nutrizionali, diventerà predominante rispetto all'altra, potendone causare anche l'estinzione.

L'impiego di questi prodotti con carica microbica non patogena è anche in grado di inibire le attività di regolazione trascrizionale (*quorum sensing*) tra ceppi batterici patogeni, ovvero quelle attività di scambio di informazioni genetiche grazie alle quali è possibile la diffusione, tra microrganismi anche appartenenti a generi diversi, delle modalità di difesa da eventi di

pressione ambientale (sanificanti, disinfettanti e antibiotici).

La recente disponibilità di questi prodotti biostabilizzanti, destinati quindi alla sanificazione/igienizzazione delle superfici ed al controllo della carica microbica residente, ha suggerito la conduzione di una ricerca sperimentale finalizzata alla verifica quali quantitativa, sia "in vitro" che "su campo", della loro efficacia rispetto all'impiego di trattamenti tradizionali a base di disinfettanti chimici.

I PROBIOTICI

I prodotti utilizzati per la ricerca sono a base di probiotici (PIP) (Fig. 1 e 2) e contengono una miscela di spore del genere *Bacillus* in concentrazione molto elevata, in grado di sviluppare un'azione competitiva nei confronti di tutti gli altri microrganismi, indistintamente Gram positivi, Gram negativi, miceti e ceppi sporigeni (anaerobi).

I *Bacillus* si presentano in natura sotto la forma vegetativa e la spora. La forma vegetativa, con metabolismo aerobio ed anaerobio facoltativo e con poche esigenze nutrizionali, è in

grado di moltiplicarsi e di colonizzare l'ambiente competendo con altri batteri potenzialmente patogeni; la spora permette invece la permanenza del microrganismo nell'ambiente anche in condizioni avverse, mantenendo la capacità di germinare non appena si rinnovano condizioni favorevoli per la forma vegetativa [9].

I batteri del genere *Bacillus*, in quanto considerati sicuri, sono utilizzati in agricoltura, in orticoltura, nell'alimentazione umana e in veterinaria (come integratore alimentare).

Il loro utilizzo risale alla seconda metà dell'800, principalmente nella medicina alternativa, a causa degli effetti immunostimolanti associati, funzione a quel tempo preziosa in assenza di antibiotici. Si è notato infatti che favoriscono la produzione di immunoglobuline secretorie di tipo A, presenti soprattutto sulle mucose dell'apparato digerente, impedendo o rallentando la colonizzazione da parte di altri microrganismi che potrebbero alterarne la funzione.

Diverse specie di *Bacillus* sono state classificate "GRAS" ("Generally Regarded As Safe"), perché usate in processi alimentari o in preparazioni farmaceutiche, e quindi riconosciute dalla FDA (*Food and Drug Administration*) come trattamenti per scopi umani senza effetti collaterali [11].

Inoltre i batteri del genere *Bacillus* sono classificati in classe 1 di biosicurezza dall'*American Type Culture Collection* (ATCC). Studi metabolici e genetici hanno dimostrato che nel

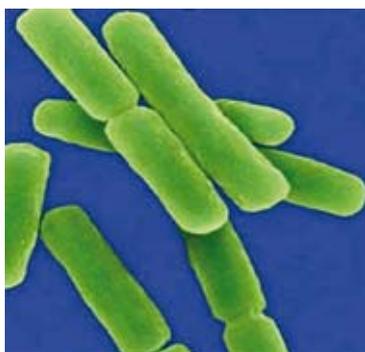


Figura 1 - Bacteria Probiotico PIP

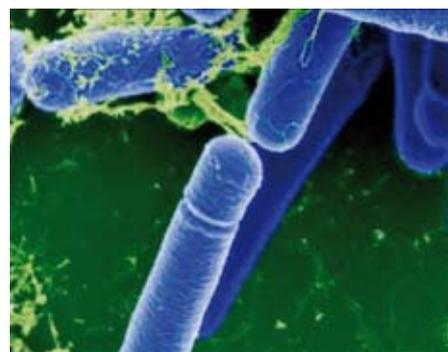


Figura 2 - Bacillus Subtilis

	Degenza Medicina		Poliambulatorio	
	Sala T	Sala S	Cardiologia Oculistica	Ortopedia
1.a Fase 11.03.2011 14.04.11	PIP	Disinfettanti tradizionali	PIP	Disinfettanti tradizionali
2.a Fase 15.04.2011 16.05.2011	Disinfettanti tradizionali	PIP	Disinfettanti tradizionali	PIP
3.a Fase 16.07.2011 23.08.2011	PIP 1	PIP 2		

Tabella 1 – Riassunto sperimentazioni (“in campo”)

cromosoma batterico sono assenti geni deputati alla formazione di tossine patogene per l'uomo e gli animali.

Essendo geneticamente selezionati come “non patogeni”, agiscono anche dopo molte ore dall'applicazione sulle superfici, grazie alla loro capacità sporigena. Non inducono la formazione di batteri patogeni resistenti, sono biodegradabili e sicuri per l'ambiente.

SCOPO DELLA RICERCA

Come si è anticipato, la ricerca si poneva l'obiettivo di verificare, sotto il profilo quali quantitativo, l'azione di tali prodotti sia “*in vitro*” che “*su campo*” rispetto all'impiego di trattamenti tradizionali a base di disinfettanti chimici. L'efficacia delle procedure utilizzate è stata valutata confrontando il valore della carica batterica potenzialmente patogena rilevata sulle superfici di ambienti nosocomiali trattate con prodotti PIP rispetto alla analoga carica ottenuta con prodotti tradizionali e calcolandone la differenza percentuale.

I microrganismi oggetto di indagine sono stati quelli ritenuti più interessanti sotto il profilo delle infezioni ospedaliere: *Stafilococcus aureus*, *Pseudomonas species*, coliformi (compreso *Escherichia Coli*), *Can-*

didia Albicans e *Acinetobacter spp.*. Attualmente sono in corso ulteriori indagini sperimentali per ciò che attiene al *Clostridium spp.*.

MODALITA' DI CONDUZIONE DELLA RICERCA

Lo studio, che si è sviluppato a partire dall'autunno del 2010 fino all'autunno del 2011, è stato condotto sia presso i Laboratori dell'Università di Ferrara, per ciò che attiene alle prove “*in vitro*”, sia in alcune aree assistenziali dello stabilimento ospedaliero Arcispedale S. Anna, per quanto riguarda le prove “*su campo*”.

Lo scopo delle prove “*in vitro*” (UNI ISO 13697:2001) consisteva nel verificare l'efficacia dell'azione competitiva dei prodotti PIP rispetto ad altre specie batteriche in assenza di elementi esterni di disturbo (in laboratorio), ovvero di quei processi di ricontaminazione delle superfici trattate che avvengono naturalmente negli ambienti ad occupazione umana. Le sperimentazioni “*su campo*” si prefiggevano invece l'obiettivo di verificare l'azione esercitata dai PIP in condizioni nosocomiali reali e quindi in presenza di continui fenomeni di ricontaminazione delle superfici trattate. Intenzionalmente si è scelto di condurre lo studio in ambienti ospedalieri di non recente costruzio-

ne e privi di impianto di filtrazione e ventilazione meccanica dell'aria, al fine di rendere maggiormente critici i processi di inquinamento.

Sono state quindi individuate due diverse aree assistenziali dell'Ospedale S. Anna di Ferrara, delle quali la prima costituita da un'area di Degenza di Medicina Generale e la seconda da un'area Poliambulatoriale.

Poichè entrambe risultano articolate in due reparti ciascuna (Sala S e Sala T nel primo caso e Oculistica/Cardiologia e Ortopedia nel secondo caso), è stato possibile condurre una sperimentazione parallela, applicando il protocollo che prevedeva l'impiego di probiotici in uno dei due reparti e il protocollo con prodotti tradizionali nel reparto rimanente della medesima area. In questo modo si sono potuti confrontare i risultati dei diversi metodi di sanificazione in zone (della stessa area) con medesima destinazione d'uso, tipologia di utenza e caratteristiche di contaminazione.

A intervalli temporali prefissati sono stati rilevati i valori della carica batterica per patogeno di interesse, ottenibili mediante i due diversi sistemi di pulizia. Per verificare la replicabilità dei risultati, si è poi pensato di invertire, dopo 1 mese, il tipo di procedura di pulizia tra i reparti di ciascuna area, come mostrato nella Tabella 1, continuando le sperimentazioni per un altro mese. Le campagne di monitoraggio sono state condotte ad intervalli di tempo regolari (circa ogni 2-3 giorni), sia alle ore 07:00, immediatamente dopo gli interventi di sanificazione, che alle ore 14:00.

Ogni campionamento è stato effettuato in triplo, utilizzando piastre Rodac a contatto. I campionamenti sono stati condotti in diversi punti dei reparti interessati, così schematizzabili:

- inizio pavimento del corridoio di accesso al reparto;
- fine pavimento del corridoio;
- pavimento servizio igienico;
- lavello servizio igienico.

	Degenza Medicina		Poliambulatorio	
	Sala T	Sala S	Cardiologia Oculistica	Ortopedia
inizio corridoio	gres grigio	gomma	gres rosso	gomma
fine corridoio	gres grigio	gomma	gres rosso	gomma
Pavimento servizio igienico	gres	gres	gres grigio	gres
Lavello servizio igienico	vetrochina	vetrochina	vetrochina	vetrochina
Comodino stanze degenza	plastica dura	plastica dura	=	=

Tabella 2 –Elencazione della tipologia delle superfici di finitura degli ambienti trattati

I primi due punti sono rimasti fissi durante l'intera sperimentazione, mentre quelli riguardanti il pavimento e il lavello del Servizio Igienico sono stati scelti in modo casuale (random) volta per volta, al fine di rappresentarne fedelmente lo stato medio di contaminazione sull'intero reparto. Preventivamente sono stati svolti prelievi microbiologici per la valutazione non solo della carica microbica totale iniziale esistente ma anche della carica microbica dei potenziali patogeni. Questo momento è stato denominato come Tempo zero (T_0 ore 14,00). La sperimentazione è poi proseguita con una terza Fase, iniziata in data 22.07.2011, e cioè a distanza di circa 1 mese dal termine della seconda Fase. In quest'ultimo periodo, protrattosi fino al 23.08.2011, si sono impiegati i prodotti probiotici PIP in entrambi i reparti della Degenza di Medicina, con lo scopo di verificare un eventuale ulteriore contenimento della carica patogena dopo periodi prolungati di applicazione dei PIP. In totale sono stati effettuati complessivamente 12.528 prelievi. La procedura di campionamento delle superfici e le analisi microbiologiche sono stati eseguiti in base alle "Linee Guida CONTARP-INAIL" 2005, alla "UNI EN ISO 19698:2004" e secondo le consuetudini codificate in letteratura [12]. I prodotti utilizzati nel protocollo tradizionale erano a base di cloro.

RIFERIMENTI NORMATIVI

I valori di riferimento internazionali per la classificazione della contaminazione delle superfici sono alquanto frammentari. In letteratura è consolidato l'utilizzo dell'indice I.M.S. di Pitzurra (indice microbico di superficie), che rappresenta il valore della contaminazione totale (TVC) accettabile nelle sale operatorie per cm^2 di superficie [12]. Tale indice è rappresentativo tuttavia dello stato di contaminazione di una superficie negli istanti immediatamente successivi ad un trattamento di sanificazione, inteso questo come disinfezione (chimica) delle superfici di interesse, ovvero come abbattimento della carica microbiologica indistinta tra carica patogena e non. E' evidente che tale indice mal si presta alla valutazione dei risultati emersi da questo studio, per diversi motivi: In primo luogo, poiché mentre le sale operatorie sono da considerarsi ambienti ad elevato rischio infettivo, non altrettanto si può dire per un reparto di degenza o per un Poliambulatorio. In secondo luogo, una volta sanificate le superfici di una sala operatoria, l'ambiente viene compartimentato e climatizzato con filtrazione assoluta e tassi di ventilazione pari ad almeno 15 vol/h . I processi di ricontaminazione che avvengono sono quindi unicamente imputabili alla crescita naturale dei microrganismi sopravvissuti alla disinfezione. Al contrario, negli

ambienti considerati in questo studio l'aumento della carica microbica è riconducibile soprattutto ai fenomeni di ricontaminazione per il passaggio di persone e materiali ed ai fenomeni di sedimentazione gravitazionale del pulviscolo atmosferico, che si manifesta a maggior ragione negli ambienti in esame non esistendo un impianto di ventilazione meccanica controllata. In terzo luogo, non è utile fissare un valore di soglia massima di contaminazione negli intervalli temporali immediatamente successivi all'atto della pulizia, poiché i processi di crescita dei microrganismi hanno natura dinamica e comportano un aumento della conta batterica di 10-30 volte nell'arco di alcune ore [1]. Infine, la popolazione microbica che si consolida sulle superfici sanificate con i trattamenti con PIP è in massima parte costituita da *Bacillus spp.*, innocuo per la salute umana, e solo in minima percentuale è costituita da altre specie batteriche; la valutazione della contaminazione superficiale mediante l'impiego del metodo della conta totale (TVC) non è quindi per nulla descrittiva dell'effettivo rischio di contrarre infezioni da parte del paziente. E' evidente che allo stato attuale in letteratura e in normativa non è ancora presente una metodologia esaustiva di valutazione del livello accettabile di contaminazione delle superfici nosocomiali per ambienti di diverso tipo.

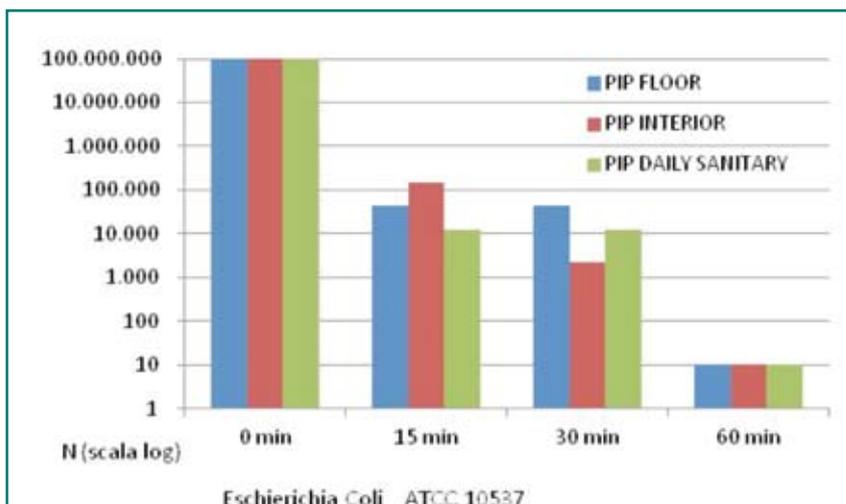


Figura 3 – Abbattimento della carica iniziale di Escherichia Coli “in vitro” mediante applicazione di 3 diversi prodotti PIP in diversi istanti temporali

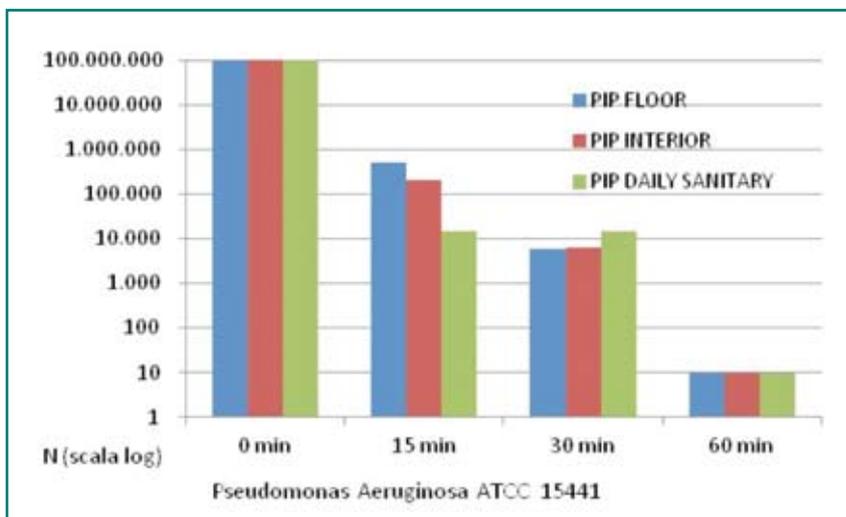


Figura 4 – Abbattimento della carica iniziale di Pseudomonas Aeruginosa “in vitro” mediante applicazione di 3 diversi prodotti PIP in diversi istanti temporali

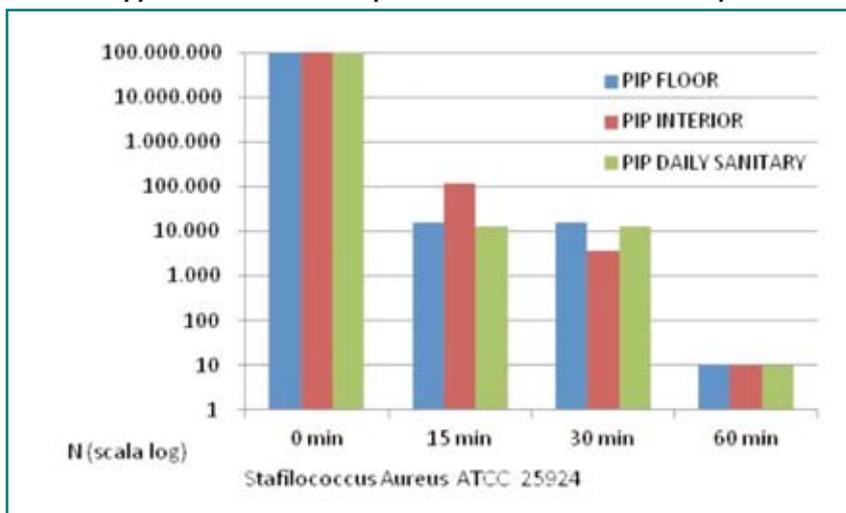


Figura 5 – Abbattimento della carica iniziale di Staphylococcus Aureus “in vitro” mediante applicazione di 3 diversi prodotti PIP in diversi istanti temporali

RISULTATI DELLA SPERIMENTAZIONE IN VITRO

Le sperimentazioni in vitro hanno permesso di verificare, in condizioni indisturbate, l'abbattimento della carica dei patogeni testati (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas spp.* e *Escherichia Coli*) su campioni delle superfici presenti nei reparti una volta trattati con prodotti probiotici (Figure 3, 4 e 5).

A distanza di 1 ora dalla applicazione dei prodotti PIP sulle superfici campione, preventivamente inquinate con i vari ceppi microbici, la riduzione della concentrazione dei patogeni è di 6 logaritmi (pari al 99,999%) rispetto alla conta iniziale.

RISULTATI SPERIMENTALI OTTENUTI SUL CAMPO

Effettuando campionamenti microbiologici in reparti ospedalieri omogenei per destinazione d'uso e attività sanitarie, ma trattati con i due differenti protocolli, è stato possibile valutare per 5 patogeni l'efficacia dei prodotti probiotici rispetto ai disinfettanti tradizionali. A titolo di esempio nelle Figure 6, 7 ed 8 viene mostrato l'andamento della carica dei vari patogeni, rilevata alle ore 14:00, durante le tre Fasi in cui si è articolata la ricerca.

Con una linea a tratto pieno è stato riportato il trend del valore di CFU/m² dei singoli specifici microrganismi di interesse nei reparti trattati con disinfettanti tradizionali; al contrario, l'andamento della carica delle medesime specie batteriche nei reparti trattati con prodotti PIP è descritto con una linea tratteggiata.

Gli stessi andamenti vengono poi distinti graficamente in termine di colore della linea, che è sempre il medesimo per lo stesso reparto, indipendentemente dal periodo di osservazione. L'impiego dei protocolli a base di probiotici ha determinato

una generalizzata compressione e stabilizzazione della carica patogena rispetto al caso delle procedure tradizionali. Una volta ottenuti i valori di carica microbica per ogni campionamento e per ogni patogeno, è stato possibile calcolarne il valore medio per ciascuna fase e per ciascun protocollo di sanificazione e quindi la riduzione percentuale della carica medesima nel caso di impiego del protocollo con probiotici rispetto all'impiego di prodotti a base di cloro (Tabella 3). Per la terza fase, caratterizzata dall'impiego di soli probiotici, si è calcolato il valore medio della carica di ciascun patogeno e la si è confrontata con quello risultante nella prima e seconda fase relativo all'impiego di prodotti tradizionali (ultima colonna Tabella 3).

Gli stessi valori sono visualizzati in Figura 9 per tutte e tre le Fasi in cui si è articolata la ricerca. Sperimentalmente si è constatato che un'azione prolungata dei protocolli probiotici (oltre 2 mesi) permette un sostanziale decremento/contenimento/stabilizzazione della carica microbica potenzialmente patogena rispetto al caso in cui gli ambienti siano trattati con prodotti tradizionali. In numerosi casi i valori di abbattimento dei microrganismi di interesse sono prossimi al 90 %, come nel caso del lavello, che rappresenta una superficie critica per il paziente, per la possibilità di contatto con le mani e altre parti del corpo.

CONCLUSIONI

Confrontando i valori esposti nella Tabella 3 e nella Figura 9 si può notare che il valore medio complessivo di riduzione percentuale dei potenziali patogeni in esame nel caso di utilizzo del protocollo PIP (*denominato PCHS Probiotic Cleaning Hygien System*) rispetto al caso di impiego di disinfettanti tradizionali si attesta tendenzialmente (Fase 3) a oltre il

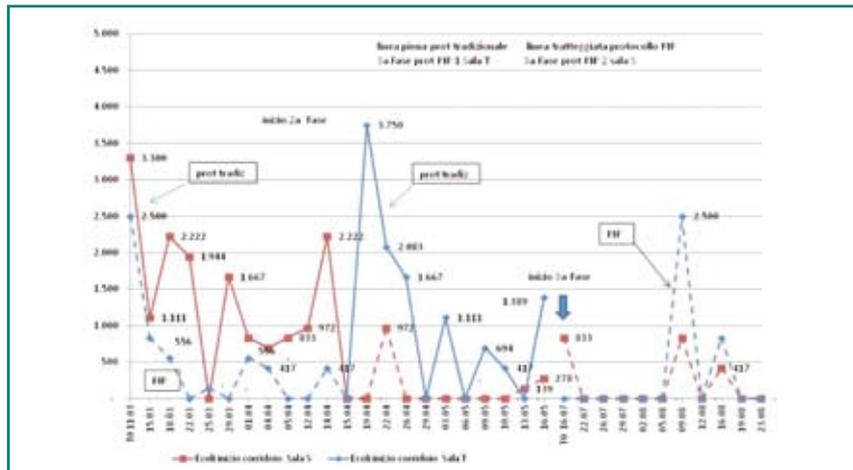


Figura 6 – Andamento della carica di Escherichia Coli in CFU/m² alle ore 14:00 per le aree di degenza S e T (inizio corridoio); riduzione percentuale PIP 1^a Fase -76,67%; PIP 2^a Fase - 87,5%; PIP 3^a Fase - 79,72 %

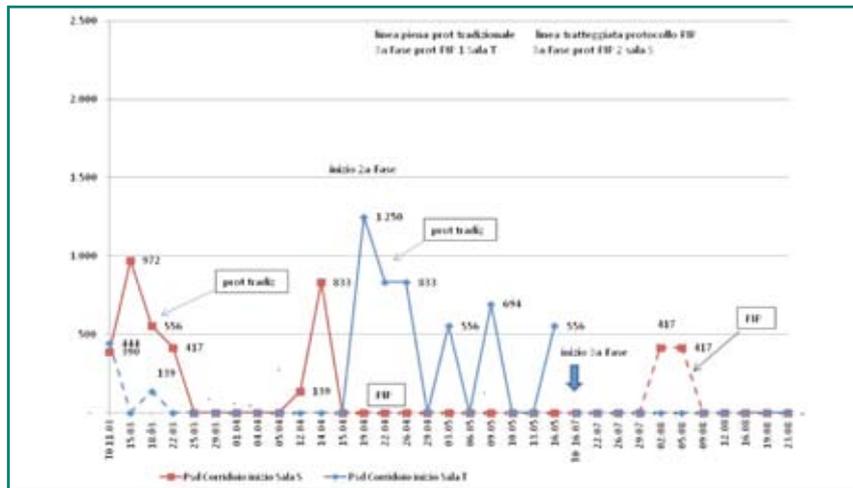


Figura 7 – Andamento della carica di Pseudomonas spp in CFU/m² alle ore 14:00 per le aree di degenza S e T (inizio corridoio); rid perc PIP 1^a Fase -95,2%; PIP 2^a Fase - 100,0%; PIP 3^a Fase - 88,4 %

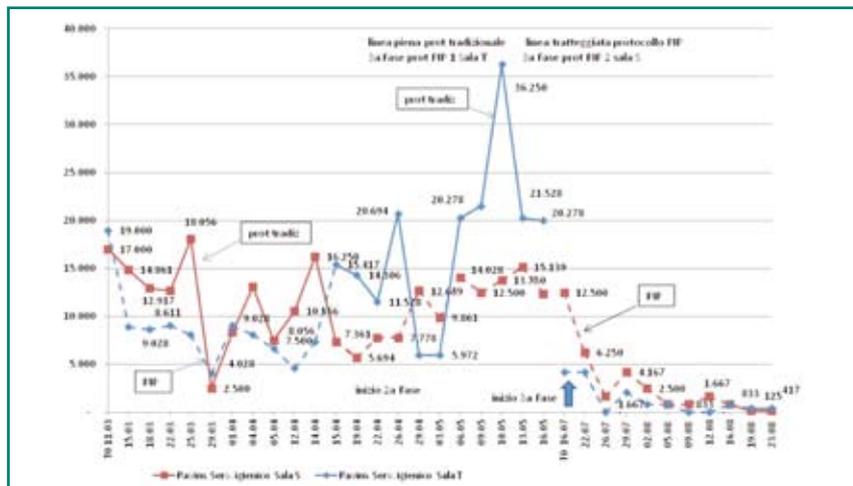


Figura 8 – Andamento della carica di Staphylococcus aureus in CFU/m² alle ore 14:00 per il pavimento del servizio igienico delle Sale S e T; rid perc PIP 1^a Fase -36,3%; PIP 2^a Fase - 38,1%; PIP 3^a Fase - 85,8 %

Punto di campionamento	Agente patogeno	Degenza Medicina Fase 1 e 2	Poliambulatorio Fase 1 e 2	Valore Medio Finale Degenza 3a Fase
Corridoio inizio e fine	<i>Stafilococcus aureus</i>	29,56%	36,64%	81,03%
	<i>Coliformi spp</i>	72,38%	46,62%	79,72%
	<i>Pseudomonas spp</i>	93,09%	64,49%	88,44%
	<i>Candida spp.</i>	68,88%	56,21%	68,47%
	<i>Acinetobacter</i>		44,74%	
Pavimento servizio igienico	<i>Stafilococcus aureus</i>	58,75%	51,33%	85,88%
	<i>Coliformi spp</i>	89,15%	78,13%	78,31%
	<i>Pseudomonas spp</i>	55,28%	75,94%	78,57%
	<i>Candida spp.</i>	82,90%	67,80%	71,78%
	<i>Acinetobacter spp.</i>	74,25%		
Lavello servizio igienico	<i>Stafilococcus aureus</i>	55,74%	52,50%	95,59%
	<i>Coliformi spp</i>	81,56%	75,83%	85,12%
	<i>Pseudomonas spp</i>	67,53%	50,41%	95,16%
	<i>Candida spp.</i>	50,38%	27,93%	94,86%
	<i>Acinetobacter</i>	16,39%	31,25%	75,99%

Tabella 3 - Riduzione percentuale complessiva dei patogeni con le procedure PIP rispetto alle procedure tradizionali espressa in valore assoluto

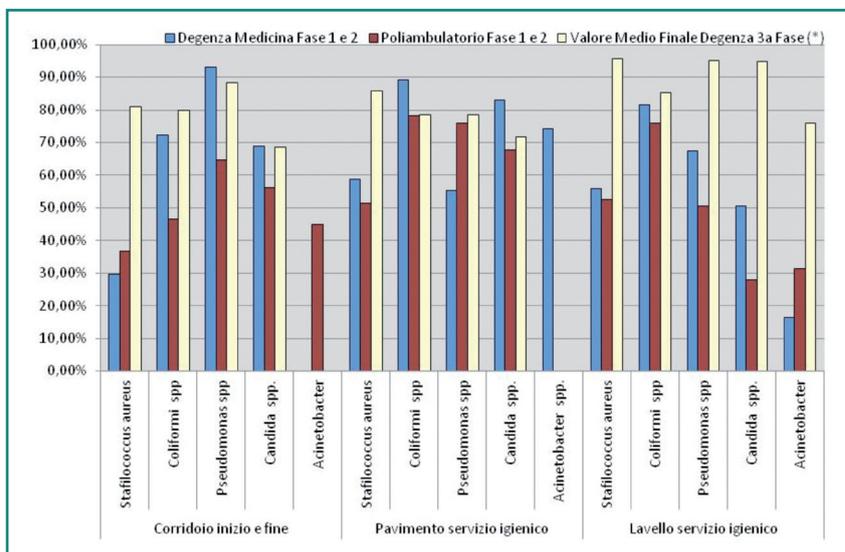


FIGURA 9 – Riduzione percentuale dei vari patogeni per punto di campionamento e per le Fasi 1, 2 e 3 nel caso di utilizzo di prodotti probiotici rispetto al caso di impiego di disinfettanti tradizionali a base di cloro (i valori del corridoio sono stati calcolati come media aritmetica tra quelli relativi all'inizio e quelli inerenti alla fine del corridoio)

70-80 %. Il risultato è statisticamente significativo, essendo stato ottenuto con oltre 12.000 campionamenti microbiologici, condotti in aree ospedaliere diverse per destinazione d'uso, e soggette a fenomeni quotidiani di ricontaminazione.

La ricerca sta proseguendo con ulteriori sperimentazioni inerenti alla diminuzione degli eventi infettivi nosocomiali nel caso di impiego di prodotti probiotici.

BIBLIOGRAFIA

1. G. Cattamo, G. Di Bonaventura, F.M. Lattanzio, D. Lattanzio, R. Piccolomini - Monitoraggio microbiologico di aria e superfici in ambiente di prime cure chirurgiche di ambulatorio Inail - *Giornale Italiano di Microbiologia Medica Odontoiatrica e Clinica*, Vol III, n. 2, 1999
2. A. Frabetti, A. Vandini, P.G. Balboni, F. Triolo, S. Mazzacane - *Experimental evaluation of the efficacy of sanitation procedures in operating rooms - American Journal*

of infection control – Vol. 37 n. 8 – pagg. 658-664 – October 2009

3. S. Mazzacane, A. Frabetti, A. Vandini, D. Migliori, P.G. Balboni - *L'igiene nei reparti ospedalieri: correlazioni tra le procedure di sanificazione ed i fattori di contaminazione -*

4. Conferenza Nazionale ANMDO – 12-14 Settembre 2007, Rimini A.Frabetti, A.Vandini, D.Migliori, A. Cusumano, E.Righini, P.G.Balboni, S.Mazzacane - *Efficacia ed efficienza dei protocolli di pulizia e disinfezione in sale operatorie - Congresso ANMDO 2006 – Associazione Nazionale Medici Direzioni Ospedaliere - 21-24 settembre 2006, Lecce*

5. C.J. Henwood, T. Gatward, M. Warner, D. J. Mark W. Stockdale, R.P. Spence, K.J. Towner, D.M. Livermore, N.Woodford - *Antibiotic resistance among clinical isolates of Acinetobacter in the UK, and in vitro evaluation of tigecycline - Antimicrob. Chemother. (2002) 49 (3): 479-487.*

6. H.S. Gold, R.C. Moellering, Jr., - *Antimicrobial-Drug Resistance- N Engl J Med 1996; 335:1445-1453*

7. Keith Klugman, Ethan Rubinstein - *Antimicrobials & Drug Resistance Evaluations - <http://f1000.com/evaluations/info/antimicrobanddrugresist>*

8. A. Frabetti, A.Vandini, S.P.Rodriguez, F.Margelli, M.Caviccholi, M.Migliori, D.Arujo Azevedo, P.G.Balboni, S.Mazzacane - *Microbiological risk in operating rooms: new strategies for infections surveillance - Congresso Interazionale Environmental Risk, Bologna, settembre 2005*

9. Murray Patrick R.; Pfaller Michael A.; Rosenthal Ken S. - *Microbiologia medica - 6 ed.2010.*

10. Granum, P.E., Baird-Parker, T.C. - *Bacillus species in Microbiological Safety and Quality of Food, Volume 2. Eds. Lund B.M., Baird-Parker T.C, Gould G.W., Gaithersburg. Aspen Publishers, 2000, 1029 -- 39.*

11. http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/biohaz_ej175_op_bacillus_enfinal1,1.pdf

12. M. Pizzurra, A. Savino, C. Pasquarella - *Il Monitoraggio ambientale microbiologico - 1997, Ann.Ig., 9:439-454*

Si ringraziano l'Azienda Ospedaliera Arcispedale S. Anna di Ferrara e la Copma s.c.arl per la disponibilità data alla realizzazione della sperimentazione