



Report (versione 1.0)

Siena, 27th Giugno 2020

VALUTAZIONE DELL'AZIONE VIRUCIDA DEL SISTEMA STET CUBE PER LA DISINFEZIONE DELLO STETOSCOPIO





INDICE

- ❖ OBIETTIVO
- ❖ SISTEMA DI DISINFEZIONE DELLO STETOSCOPIO
- ❖ PARAMETRI STABILITI PER I TEST
- ❖ METODO
- ❖ RISULTATI
- ❖ DISCUSSIONI E CONCLUSIONI
- ❖ REFERENZE
- ❖ CONTATTI



OBIETTIVO

E' risaputo come gli UV-C siano in grado di inibire la moltiplicazione microbica e virale. Tale tecnologia è considerata un buon compromesso tra costo e beneficio, motivo per cui sta diventando progressivamente sempre più diffusa in ambito domestico e sanitario.

Il corretto utilizzo della tecnologia UV-C tiene conto dei seguenti parametri: distanza dalla sorgente luminosa (m), distribuzione spaziale della luce, potenza radiante (W), irradianza (W/m^2); inversamente proporzionale al quadrato della distanza e dal tempo di esposizione (min). Tale tecnologia consente una profonda disinfezione degli oggetti esposti ad un'adeguata dose di raggi UV-C, dove la dose (J/m^2) è il prodotto tra il tempo di esposizione e l'irradianza. I modelli predittivi, che tengono conto dei parametri sopra citati, consentono di prevedere la capacità di disinfezione dei sistemi basati sulla tecnologia UV-C. In particolare, una volta stabilita la dose corrispondente ad una specifica riduzione della carica microbica, consentono di valutare i relativi tempi di irradianza UV-C per ciascuna distanza, e viceversa. Lo scopo di questo studio è quello di determinare l'attività virucida, verso SARS-CoV-2, grazie all'utilizzo dei raggi UV-C emessi dal sistema "Stet Cube" utilizzato nella disinfezione dello stetoscopio.

SISTEMA DI DISINFEZIONE DELLO STETOSCOPIO

Il dispositivo "Stet Cube" è provvisto di un Light Emitting Diode (LED) UV-C installato all'interno del dispositivo. Il LED irradia il diaframma dello stetoscopio e ne determina la sua disinfezione. Il dispositivo consente, in modo automatizzato, due livelli di trattamento: 3 minuti per una disinfezione standard, seguiti da due minuti aggiuntivi per una disinfezione più profonda. Quando il coperchio del box è chiuso, una spia luminosa blu (lampeggiante per 3 minuti e fissa per 2 minuti successivi) indica che il trattamento è in corso o è stato completato; una spia gialla indica che la batteria è scarica o che c'è un malfunzionamento (Figura 1).





Figura 1 Sistema di disinfezione dello stetoscopio: Stet Cube

Nell'immagine a sinistra è riportato il dispositivo quando è chiuso, nel centro quando è aperto, sulla destra la parte dove poggia lo stetoscopio

PARAMETRI STABILITI PER I TEST

Nome del dispositivo testato: Stet Cube (PCB ver. 1.3)

Periodo dei test 10/06/20 – 13/06/20

Ceppo virale: SARS-CoV-2 (Lot: VMR –SARSCP2 VERO E6_28042020)

Protocollo per distanza e tempo di irradiazione: 3 min (luce blu lampeggiante);
5 min (luce blu lampeggiante e fissa);

Ripetizione dei test: 3 volte

Temperatura di incubazione: 37°C

Periodo di incubazione: 3 giorni

METODO

Tutte le ripetizioni sono state testate ad una concentrazione di SARS-CoV-2 con TCID50%, utilizzando la linea cellulare VERO E6 C1008 (ATCC CRL-1586).

Set-Up

La luce UV-C è stata attivata chiudendo il coperchio dello Stet Cube.



Metodo sperimentale

Un cristallo (permeabile ai raggi UV) è stato posizionato sul supporto del sistema (Figura 2 e 3), successivamente 100 μ L di sospensione virale sono stati inoculati al centro del cristallo alla concentrazione di $10^{7.2}$ TCID₅₀/mL.



Figura 3 Posizione della goccia sul supporto di cristallo



Figura 2 posizione della goccia (coperchio del box chiuso)

La superficie è stata irradiata seguendo il protocollo.

Campioni esaminati:

- 3 campioni inoculati con il virus ad esposti ai raggi UV-C come descritto nel protocollo;
- 3 campioni inoculati ma non esposti agli UV-C, per determinare la titolazione virale, esaminati subito dopo l'inoculazione.

Le sospensioni sono state inoculate in 48-pozzetti dove sono state precedentemente fissate le colture cellulari VERO E6. Sono state inoculate delle diluizioni decimali seriali per un totale di 10 diluizioni. Ogni diluizione è stata inoculata in 4 pozzetti.

Le piastre sono state incubate per 3 giorni in un'atmosfera umidificata a 37°C \pm 2°C e CO₂ al 5%.



L'attività residua del virus è stata testata valutando la dose infettante il 50% della coltura cellulare (TCID50%).

La titolazione virale è stata determinata in accordo con il metodo di Spearman-Karber dove la percentuale di riduzione del virus è riportata dalla seguente formula:

$$[1-(T/C)]*100$$

dove:

T = Log₁₀ di sospensione virale nei supporti utilizzati nel test in seguito a trattamento con UV

C = Log₁₀ di sospensione virale nei campioni di controllo non trattati

RISULTATI

I risultati sono riportati nelle tabelle 1 e 2 e nei grafici: 1-6

Tabella 1: Test su Stet Cube a tre minuti di esposizione agli UV-C

Ripetizione	Tempo	Log ₁₀ sospensione virale TCID50%	Log ₁₀ TCID50% dopo il trattamento	Riduzione Log ₁₀ TICID50%
1	3 min	7,2	1,5*	5,7
2	3 min	7,2	1,5*	5,7
3	3 min	7,2	1,5*	5,7

* Il valore di Log TCID50% = 1,50 significa inattivazione totale virale



Grafico 1

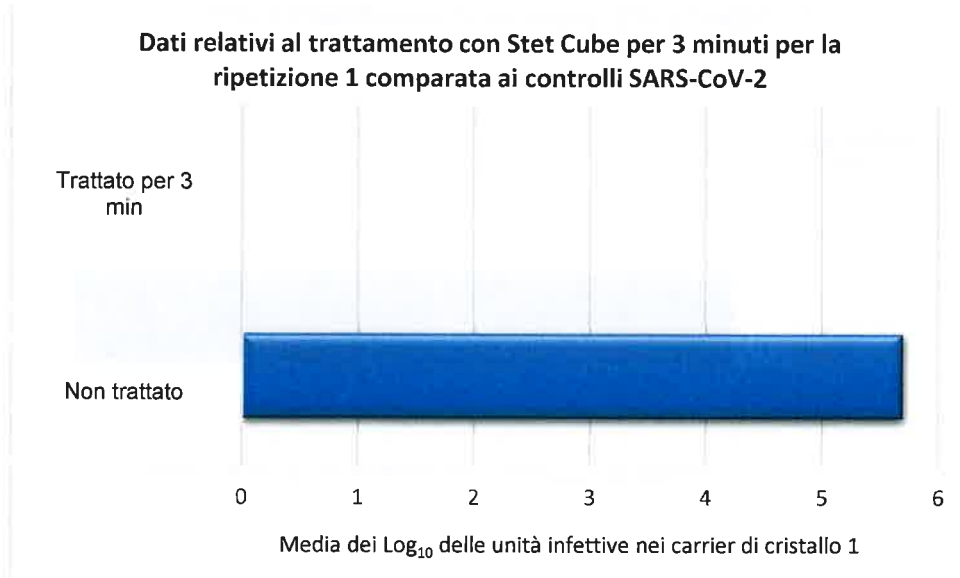


Grafico 2

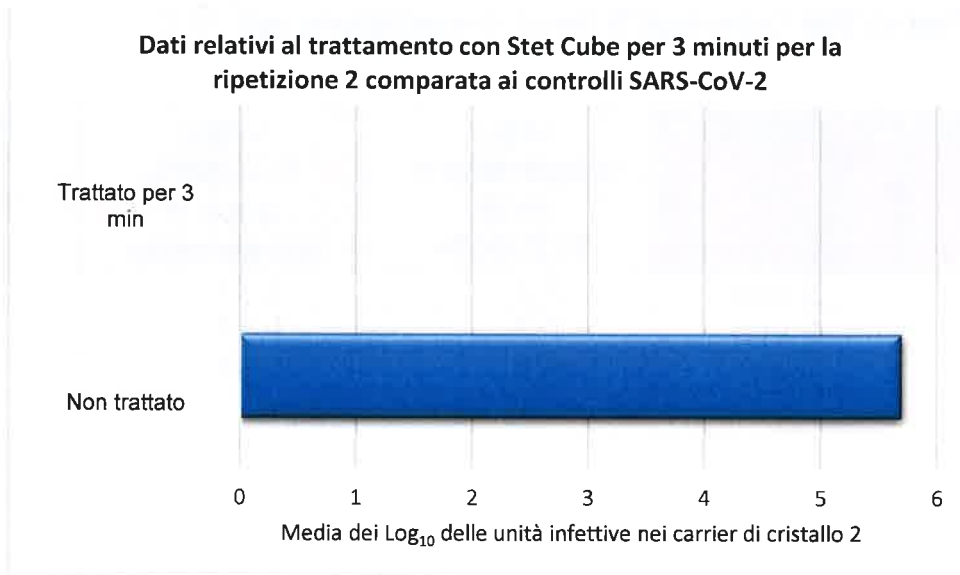




Grafico 3

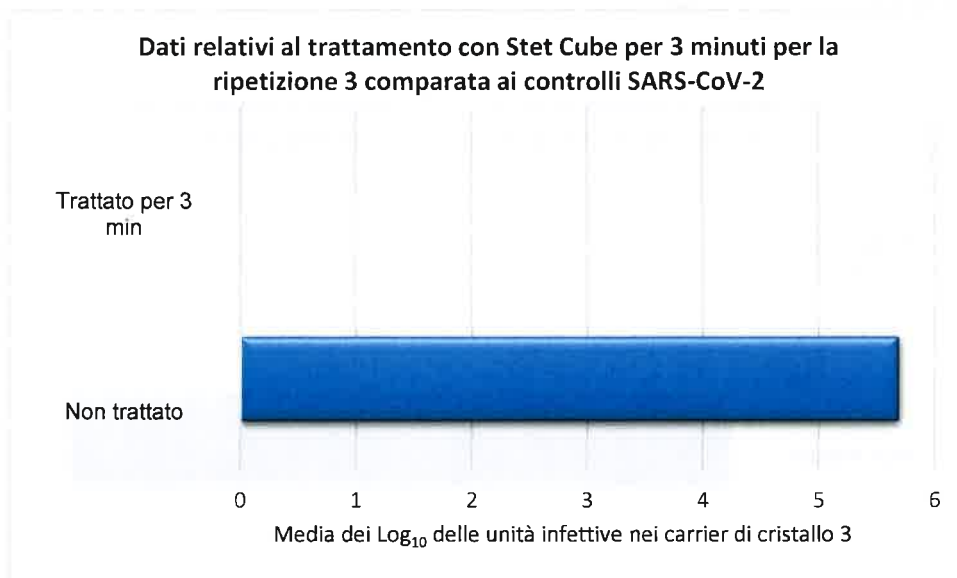


Tabella 2: Test su Stet Cube dopo 5 minuti di esposizione agli UV-C

Ripetizione	Tempo	Log ₁₀ sospensione virale TCID ₅₀ %	Log ₁₀ TCID ₅₀ % dopo il trattamento	Riduzione Log ₁₀ TICID ₅₀ %
1	5 min	7,2	1,5*	5,7
2	5 min	7,2	1,5*	5,7
3	5 min	7,2	1,5*	5,7

* Il valore di Log TCID₅₀% = 1,50 significa inattivazione totale virale





Grafico 4

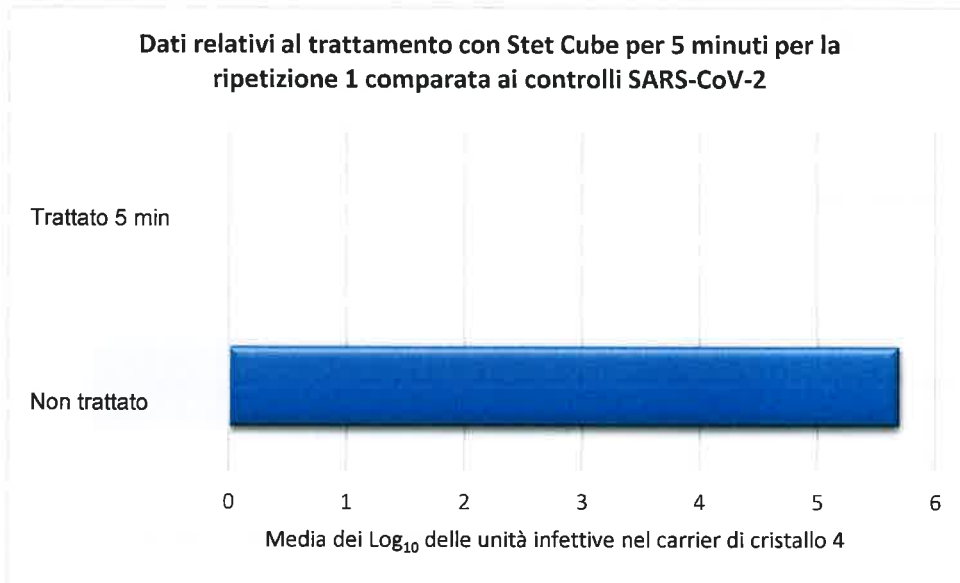


Grafico 5

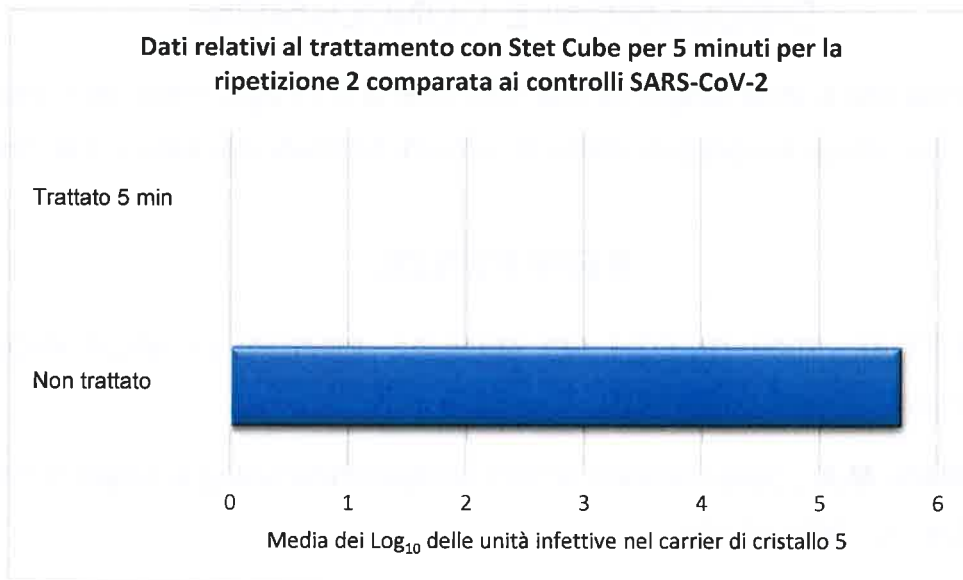
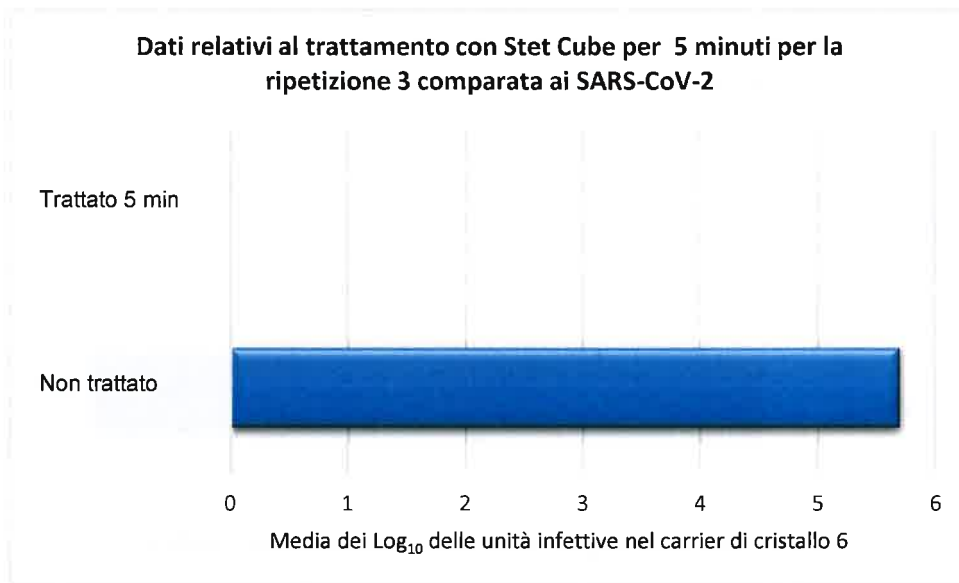




Grafico 6



DISCUSSIONI E CONCLUSIONI

Il test ha mostrato che è stata raggiunta una riduzione di 5,7 Log₁₀, testando il dispositivo sul SARS-CoV-2, sia con un tempo di contatto di 3 che di 5 minuti, per tutte e 3 le ripetizioni.

REFERENZE

ZIMBRO, M.J. ET AL., 2009: *DIFCO & BBL MANUAL –MANUAL OF MICROBIOLOGICAL CULTURE MEDIA-* SECOND EDITION

RAMAKRISHNAN, M.A., Determination of 50% endpoint titer using a simple formula, *World J Virol.* 2016 May 12; 5(2): 85–86.

CONTATTI

Dr.ssa Comasia Ricci, Università degli Studi di Siena, Dipartimento Scienze della Vita Via A. Moro 2, 53100 Siena. Email: comasia.ricci@unisi.it



Dr.ssa Comasia Ricci