

CONTROLLO DELL'IGIENE DELLE SUPERFICI: BIOLUMINOMETRO LUMITESTER SMART

Cos'è un bioluminometro

Il bioluminometro è uno strumentino portatile che determina in tempo reale il grado di pulizia delle superfici, attraverso la rilevazione della sostanza organica, indicatore di igiene.

Il campione viene prelevato strisciando uno specifico tamponcino sulla superficie e inserendolo nello strumento, che poi esegue la lettura.

Kairosafe ha scelto il Lumitester Smart

Da diversi anni Kairosafe distribuisce il bioluminometro del modello Lumitester Smart prodotto dall'azienda giapponese Kikkoman, che si avvale di una tecnologia unica e innovativa, che consente di ottenere risultati affidabili e solidi anche negli ambiti più delicati.



Ambiti d'uso

Il Lumitester Smart è utilizzabile per il controllo della sanificazione in tutti gli ambiti, come il farmaceutico, alimentare, sanitario, HO.RE.CA, industriale ecc., offrendo la possibilità di effettuare un confronto sullo stato di igiene prima e dopo aver applicato le procedure di pulizia. Non richiede un training particolare ed è molto apprezzato dagli operatori per la velocità dei risultati (10 secondi).

Lumitester e tamponi

Il Lumitester Smart si utilizza in abbinamento con i tamponi Lucipac A3, con i quali si preleva il campione dalla superficie in esame. Dopo la lettura del tampone, pressoché istantanea, i risultati sono visualizzati sul display del Lumitester e memorizzati nell'archivio cloud a cui si può accedere in qualsiasi momento per un continuo monitoraggio dei dati. Il trasferimento dei risultati avviene in Bluetooth a smartphone, tablet e altri dispositivi.



Il principio di funzionamento dei bioluminometri

In generale, i bioluminometri determinano la presenza di sostanza organica attraverso la **rilevazione della molecola dell'ATP**. Il Lumitester Smart si distingue dagli altri bioluminometri presenti sul mercato perchè evidenzia la presenza di **ATP e anche dei suoi derivati ADP e AMP**, garantendo un risultato più affidabile, stabile, ripetibile e preciso.

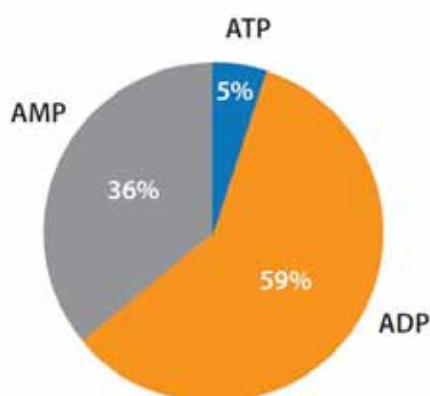
L'ATP (adenosina trifosfato) è una molecola coinvolta nel metabolismo di tutti gli organismi viventi per cui la sua presenza sulle superfici è considerata un indicatore di scarsa igiene. È una molecola relativamente instabile se sottoposta a trattamento termico, chimico ed enzimatico. La sua degradazione genera derivati più semplici quali ADP (adenosina difosfato) e AMP (adenosina monofosfato).

Unicità del Lumitester

Come detto, il Lumitester Smart rileva la presenza di materiale organico misurando **ATP, ADP e AMP (A3)**. Il trio di molecole A3 reagisce con il reagente presente sul tamponcino usato per il campionamento, generando una reazione di bioluminescenza. L'intensità del segnale luminoso è direttamente proporzionale alla concentrazione di A3 nel campione ed è misurata dallo strumento, che la converte in un valore numerico di **RLU (Unità di Luce Relativa)**, visualizzato sul display.

Vantaggio della misurazione di ATP+ADP+AMP

L'utilizzo dei test ATP convenzionali per il monitoraggio delle superfici presenta un limite: l'ATP contenuto nei residui organici derivati ad esempio da alimenti o dal tocco delle mani può degradarsi rapidamente in ADP e AMP, lasciando un segnale che il test ATP convenzionale non è in grado di rilevare. Di fatto, ADP e AMP sono presenti in grande abbondanza in molti residui organici a seguito della degradazione dell'ATP, lasciando potenzialmente nel residuo quantità minima o nulle di ATP rilevabile. Confrontando la capacità di rilevamento degli adenilati presenti in diverse matrici tra il test A3 e i test ATP, il test A3 ha mostrato un'intensità del segnale nettamente superiore rispetto a ciascuno degli altri kit di test ATP, ad indicare che la tecnologia A3 riduce i falsi negativi.



Rapporto ATP:ADP:AMP
in campioni prelevati da mani

Risultati espressi in Unità di Luce Relativa

Le RLU non sono un'unità di misura standard come il metro, infatti ciascun produttore imposta il proprio rapporto tra intensità luminosa (espressa in RLU) e quantità rilevata di ATP puro (espressa in femtomoli), in base alle formulazioni dei reagenti e ai sistemi di rilevamento della luce.

Nel caso del Lumitester Smart con tecnologia A3, avendo ottenuto la certificazione AOAC sono disponibili i dati dei test di validazione.

Il test A3 ha misurato 174 RLU per 100 femtomoli (fmol) di ATP puro.

Il limite di rilevabilità (LOD) è 1,5 fmol ATP (11,9 RLU).

Sensibilità

Occorre considerare che, confrontando diversi sistemi ATP e A3, un sistema in grado di indicare valori RLU maggiori per una certa quantità di ATP puro non è necessariamente più sensibile.

I test ATP/A3 approvati AOAC mostrano prestazioni di rilevamento valide e comparabili. Tali test costituiscono metodi accettabili per valutare l'efficacia della pulizia attraverso la rilevazione di ATP/A3 derivanti da residui alimentari, tracce lasciate dalle mani, fluidi corporei e carica batterica totale, utilizzando soglie di accettabilità (pass/fail) comprese tra le decine e le migliaia di unità RLU.

Pertanto, la precisione nella rilevazione di ATP puro, in termini di scala RLU e LOD, potrebbe non influire in modo significativo sull'efficacia dei test ai fini del monitoraggio dell'igiene.

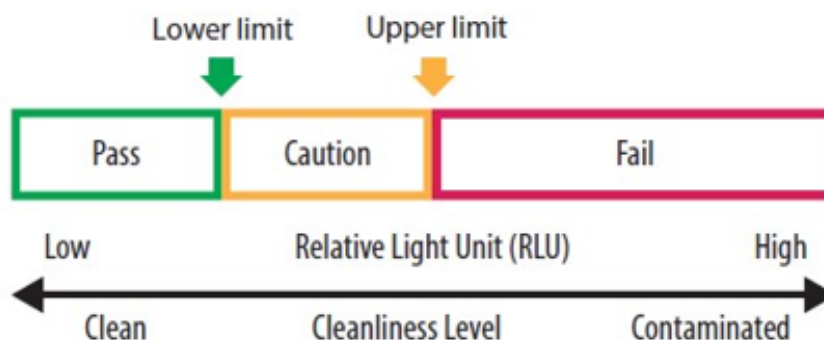
Criteri pass-fail

I limiti di accettabilità pass-fail sono valori di RLU usati come criterio per valutare il livello di pulizia e le azioni che è necessario svolgere. Questi limiti sono scelti in base a esigenze specifiche o raccomandazioni.

Basandosi sui dati raccolti durante i test di validazione del proprio sito, vengono stabiliti limiti che determinano il tipo di azione da svolgere;

- Sotto il limite inferiore il processo di pulizia si considera efficace.
- Tra il limite inferiore e quello superiore è necessario rivedere l'applicazione del processo.
- Sopra al limite superiore, oltre che investigare sulle cause, è anche necessario eseguire nuovamente la procedura di pulizia.

In generale, il produttore raccomanda di considerare come **limite inferiore** di accettabilità l'80% dei valori registrati in loco (generalmente il secondo valore più alto su 5 misurazioni) oppure statisticamente di impostare il valore medio ottenuto. Il **limite superiore** può essere il doppio del valore del limite inferiore oppure il triplo del valore medio statistico.



Limiti raccomandati dal produttore

Si consiglia di stabilire i criteri pass/fail in base alle indicazioni del produttore Kikkoman.

Limite inferiore:

- 200 RLU: superfici lisce, facili da pulire (es. vetro, acciaio)
- 500 RLU: superfici ruvide, difficili da pulire (es. plastica, resina)
- 2000 RLU: mani

Il limite superiore va impostato due volte sopra il limite inferiore, ad. esempio per le mani la zona di caution, attenzione, va da 2000 a 4000 RLU.

Validazione e frequenza di test

Per verificare l'adeguatezza del limite di accettabilità stabilito, è necessario prelevare campioni sia prima che dopo un'accurata pulizia. Una volta raccolti i dati post-pulizia, se i risultati soddisfano i criteri, il limite viene considerato valido. Tuttavia, qualora il tasso di superamento risultasse eccessivamente elevato, occorre valutare la possibilità di ulteriori miglioramenti e adeguare il limite per allinearli alla soglia dell'80%. Inoltre, poiché l'impostazione di limiti troppo rigorosi potrebbe scoraggiare il personale, è importante garantire che gli standard siano al contempo efficaci e motivanti.

Giornaliero

- Smontaggio e pulizia di attrezzature e componenti per la produzione
- Aree in cui gli alimenti entrano in contatto diretto con le attrezzature di produzione
- Punti critici identificati

Settimanale

- Aree con valori di misurazione costantemente bassi
- Punti critici identificati

Mensile

- Ispezioni di routine per il controllo delle infezioni, valutazione della qualità della pulizia
- Igiene delle mani

Eventuale

- Indagine sulle cause in caso di incidenti legati al prodotto
- Ispezioni senza preavviso

Ri-validazione

Il limite di accettabilità deve essere sottoposto a ri-validazione ogni volta che si verificano cambiamenti nel processo di pulizia utilizzato o modifiche al processo produttivo. Tali fattori possono influire sui livelli di pulizia e sull'efficacia complessiva; è quindi fondamentale riesaminare e confermare che il limite stabilito rimanga appropriato e affidabile anche nelle nuove condizioni.

Batteri, virus, allergeni – Non correlazione e Opportunità

Batteri

In generale, non è possibile determinare una corrispondenza diretta tra ATP/A3, RLU e carica batterica.

E' noto che i test ATP/A3 non possono rilevare i batteri se il loro numero non supera le 10^2 - 10^4 CFU. Inoltre, essi non possono determinare in modo definitivo la carica batterica perché rilevano ATP/A3 da tutti i residui organici, che possono avere origine da batteri ma anche da tracce di cibo o ad esempio dalla manipolazione con le mani. La fonte di ATP è indistinguibile.

Anche se i batteri sono presenti, la quantità di ATP/A3 di ciascun batterio varia a seconda del tipo, della dimensione e delle condizioni metaboliche delle cellule. Allo stesso tempo, l'elevata sensibilità nella rilevazione di ATP puro non è indicativa di capacità di rilevazione batterica.

Allergeni

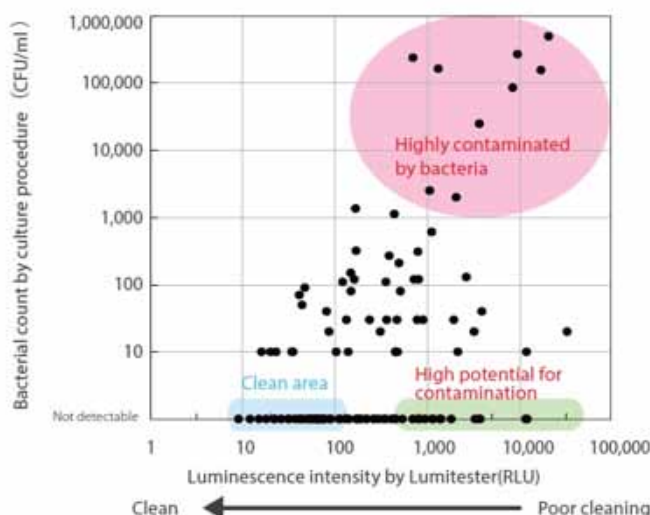
Poiché il test ATP/A3 non rileva le proteine, gli allergeni, che sono proteine, non possono essere identificati o dosati. Tuttavia, i protocolli di controllo degli allergeni negli impianti di produzione alimentare prevedono comunque l'impiego dei test ATP/A3 perché quando la concentrazione di ATP sulla superficie si riduce al di sotto di un valore soglia, la superficie può essere dichiarata pulita e il rischio di contatto incrociato con gli allergeni diminuisce. In questo caso è consigliato utilizzare i test ATP/A3 associati ad un test ELISA quantitativo di convalida per allergeni al fine di monitorare il rischio di contatto incrociato.

Virus

Il test ATP/A3 rileva la quantità di ATP+ADP+AMP. I virus, che tecnicamente non sono cellule viventi, non contengono ATP, ma per replicarsi e svolgere qualsiasi attività, sfruttano l'ATP, gli enzimi e i meccanismi biochimici della cellula che infettano.

Considerando però che il test ATP/A3 è tipicamente utilizzato per la valutazione dell'efficacia dei protocolli di pulizia e, quando l'ATP presente sulle superfici viene rimosso con tecniche e reagenti chimici adeguati, è accettabile presumere che anche i virus siano stati rimossi.

In generale, l'analisi della correlazione tra i risultati RLU rilevati col Lumitester Smart e altre metodiche di cleaning validation può essere comunque molto utile per validare l'utilizzo del Lumitester come metodo di controllo. Ad esempio, confrontando i risultati RLU del Lumitester Smart con i risultati di analisi microbiologiche eseguite in parallelo è possibile stabilire criteri pass/fail di RLU che mettano in sicurezza rispetto alla carica batterica potenzialmente presente. Lo stesso può valere per la presenza di residui proteici come gli allergeni, in questo caso rilevati in parallelo con test di tipo immunologico.



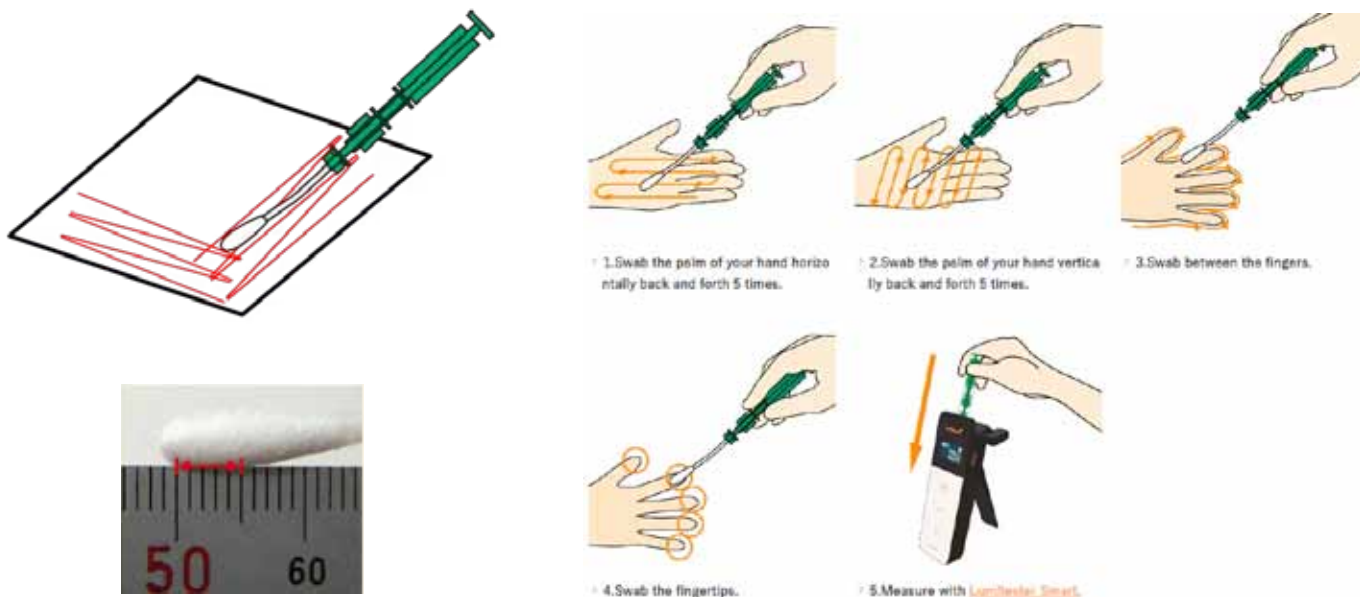
Come si esegue il campionamento col Lumitester Smart

Lo strumento può essere utilizzato facilmente anche da personale non strutturato, con un training davvero basico. Le procedure devono essere validate e consolidate.

Superfici

Per campionare superfici e attrezzature si utilizza il tampone LuciPac A3 Surface. Lo si estrae dalla provetta e lo si striscia accuratamente sull'area di campionamento, secondo la procedura raccomandata dal produttore. Il tampone deve essere posizionato in obliquo in modo che tra la superficie e la testa del tampone ci siano almeno 5 mm di contatto.

Per ulteriori specifiche sulle modalità di campionamento contattare Kairosafe.



Successivamente il tampone va rimesso nella provetta e premuto fino a forare la membrana che tiene separato il reagente. Si agita leggermente per consentire il corretto dissolvimento dei reagenti e si inserisce la provetta nel Lumitester. Si fa partire l'analisi e si ottiene la misurazione in 10 secondi. Il test può essere impostato e gestito tramite apposita App. I risultati sono visualizzati sul display e memorizzati nell'archivio cloud a cui si può accedere in qualsiasi momento.

Liquidi

Esiste anche la versione dei tamponi per l'analisi dell'acqua e liquidi in generale. Il tampone LuciPac A3 Water si usa immergendone la testa nel liquido in esame, per poi procedere come sopra.

Endoscopi

Per il campionamento degli endoscopi in ambito clinico si utilizza il LuciSwab, uno speciale tamponcino lungo e flessibile messo a punto per l'inserimento negli endoscopi.



Lumitester e test A3 in ambito alimentare

La presenza di residui organici sulle superfici in ambito alimentare comporta un rischio diretto per la qualità dei prodotti finiti. La sostanza organica infatti costituisce una fonte di nutrienti per la crescita di microrganismi, potenzialmente patogeni. Laddove i test microbiologici rilevino una superficie come pulita, il bioluminometro potrebbe rilevare quantità di residui organici comunque sufficienti a costituire un substrato di sopravvivenza o crescita per i microrganismi.

È anche noto che molte tipologie di alimenti tipicamente allergenici contengono un grande quantitativo di ADP e AMP. La tecnologia A3 rileva simultaneamente ATP+ADP+AMP, eliminando quindi i falsi negativi.

Lumitester e test A3 in ambito sanitario

Il test A3 trova impiego anche nella prevenzione delle infezioni in ambito sanitario, considerando che le superfici ad alto contatto, gli strumenti chirurgici e gli endoscopi contaminati sono spesso responsabili della trasmissione di agenti patogeni ospedalieri. La pulizia, la disinfezione e la sterilizzazione delle superfici ambientali, degli strumenti e delle mani sono passi fondamentali per ridurre la loro incidenza. La presenza di materiale organico sulle superfici tende ad interferire con le procedure di disinfezione, riducendone l'attività germicida, pertanto sono necessari metodi di valutazione dell'igiene rapidi e semplici e sebbene i test ATP/A3 non siano in grado di dosare accuratamente i batteri o di specificarli, hanno attirato molta attenzione perché consentono una rapida verifica in loco delle procedure di sanificazione.

Il lavaggio delle mani è un passo importante per prevenire la contaminazione e la diffusione delle infezioni in ambito ospedaliero. Poiché le mani sono la principale fonte di contaminazione per le superfici ad alto contatto, gli adenilati presenti sulle mani sono indice di una pulizia insufficiente. In alcuni studi è emerso che la quantità di A3 sui guanti indossati era 20 volte superiore a quella del solo ATP.

Fattori di interferenza

Si consiglia di eseguire il test A3 dopo la pulizia e prima della disinfezione.

Qualsiasi detergente, candeggina (ipoclorito di sodio), alcool o altro disinfettante lasciato sulla superficie può influenzare i risultati.

Il grado di inibizione dipende dal tipo e dalla quantità di sostanza inibitoria. Se l'inibitore viene risciacquato accuratamente, nella maggior parte dei casi non si ha alcun effetto.

Per quanto riguarda l'alcol, non c'è alcun effetto quando è completamente evaporato.

Sodium chloride		Ethanol		Sodium hypochlorite		Osuban (10% benzalkonium chloride)	
Conc. (%)	Light emission rate (%)	Conc. (%)	Light emission rate (%)	Effective Cl Conc. (ppm)	Light emission rate (%)	Conc. (%)	Light emission rate (%)
0	100.0	0	100.0	0	100.0	0	100.0
0.1	90.2	1.0	95.7	20	103.4	0.01	96.7
0.2	77.7	2.0	99.6	50	99.8	0.05	95.6
0.5	62.3	5.0	89.2	100	96.9	0.1	98.2
1.0	43.3	10.0	80.1	200	91.9	0.5	76.7
2.0	27.4	20.0	65.0	500	73.2	1.0	64.6
-	-	50.0	32.4	1000	38.0	-	-