



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CARDIO - TORACO - VASCOLARI E
SANITÀ PUBBLICA

Corso di Laurea

Tecniche della Prevenzione nell'Ambiente e nei Luoghi di Lavoro

Presidente: Prof.ssa Mariella Carrieri

Tesi di Laurea:

LA CLEANING VALIDATION NELLA PRODUZIONE DI INTEGRATORI ALIMENTARI

Relatore: Ch.ma Prof.ssa Mirka Grigoletto

Laureando: Sebastiano Minto

Anno Accademico: 2023/2024

DEDICHE

A tutti coloro che mi hanno mostrato che la conoscenza è un percorso senza fine, e che la verità è un orizzonte sempre più lontano.

Una dedica più profonda va ai miei Nonni, Giuseppe, Paolo, Cesarina e Bianca e mio fratello Lorenzo, siete e sarete per sempre un esempio per me... Grazie.

RINGRAZIAMENTI

Un Grazie è rivolto alle persone meravigliose che ho incontrato alla Duepipharma, rispecchiando il senso della vita e rispettando ancora una volta un famoso detto, **“la vita è l’arte dell’incontro”** grazie Marco, grazie Margherita, grazie Ire, grazie Stefano.

Grazie a tutta la mia famiglia e alle persone presenti, e un grazie speciale va alle persone che non ci sono più, lasciando un vuoto incolmabile nella nostra vita, per questo lo riempio scrivendo... GRAZIE.

Sommario

Abstract:	1
PREMESSA	3
Gli Integratori Alimentari:.....	4
La Rilevanza della Cleaning Validation (CV – Validazione della pulizia).....	6
Benefici della Cleaning Validation	7
Risk Assessment	7
SCOPO DELLA TESI	9
MATERIALI E METODI	11
Il Rischio	11
Risk assessment	11
Il livello accettabile nel Risk assessment:	11
Risk analysis.....	12
Cleaning Validation	12
Cleaning in Place (CIP).....	14
Cleaning out of place (COP):	16
Metodologia per il Risk Assessment	17
Macchinari.....	18
HYDROWASH	18
La fase di Prelavaggio consiste in:	20
EFFECTA 200: Rivestimento di nuclei.....	22
Ricetta di lavaggio.....	29
Worst case analysis.....	31
Definizione dei limiti.....	38
Aspetti chimici.....	38
Aspetti microbiologici	41
Metodi e piano di campionamento	43
Rinse	43
Swab	43
RISULTATI E DISCUSSIONE	45
Rinse	47
Swab	48
CONCLUSIONE	49
BIBLIOGRAFIA	51
SITOGRAFIA	53
ALLEGATI	55
Elenco degli allergeni alimentari secondo Reg. (UE) 1169/2011:	55

Abstract:

In collaborazione con un'azienda leader nel settore, è stato gestito un progetto di cleaning validation al fine di garantire la massima sicurezza degli integratori alimentari prodotti e commercializzati.

Attraverso l'analisi del rischio e la valutazione delle informazioni tossicologiche delle materie prime e dei detergenti utilizzati, sono stati definiti i worst-case di prodotto e di campionamento, nonché le modalità operative e i limiti analitici.

PREMESSA

La produzione di integratori alimentari è un settore in rapida crescita, con una domanda sempre più elevata da parte dei consumatori attenti al proprio benessere. Garantire la sicurezza e la qualità di questi prodotti risulta essere fondamentale per tutelare la salute pubblica. Un aspetto cruciale in questo ambito risulta essere la Cleaning Validation, un processo che fornisce prove documentate sull'efficacia delle procedure di pulizia impiegate all'interno degli stabilimenti produttivi.

Duepipharma S.r.l è una azienda del trevigiano che opera nel settore alimentare, più precisamente sugli integratori alimentari; nel 2023 si è industrializzata a seguito di una partnership con Unifarco S.p.A. formando, quindi, una nuova realtà di produzione di integratori.

L'azienda realizza forme farmaceutiche solide e liquide per conto terzi, destinate ad un mercato sempre più predisposto a questo tipo di prodotti; essa dispone di ambienti a umidità, temperatura e pressione controllate, per monitorare e stabilizzare particolari prodotti quali probiotici, sostanze facilmente ossidabili o sensibili all'umidità ambientale.

L'azienda fin da subito si è impegnata nella stesura di procedure per l'applicazione delle tecniche di pulizia, essenziali al fine di realizzare un prodotto di qualità, sicuro e affidabile nei confronti del consumatore. Lo studio è stato di supporto all'azienda per comprovare, con evidenza scientifica ed analitica, l'efficacia delle procedure di pulizia progettate e messe in atto.

Gli Integratori Alimentari:

Gli integratori alimentari sono una categoria di prodotto che appartiene al settore alimentare e sono definiti puntualmente dall'articolo 2 della direttiva 2002/46/CE (recepito D.lgs. n° 169 del 21 maggio 2004). Tale articolo descrive gli integratori alimentari come “prodotti alimentari destinati ad integrare la dieta normale e che costituiscono una fonte concentrata di sostanze nutritive o di altre sostanze aventi un effetto nutritivo o fisiologico, sia monocomposti che pluricomposti, in forme di dosaggio, vale a dire in forme di commercializzazione quali capsule, pastiglie, compresse, pillole e simili, polveri in bustina, liquidi contenuti in fiale, flaconi a contagocce e altre forme simili, di liquidi e polveri destinati ad essere assunti in piccoli quantitativi unitari.

Tale definizione, mette in luce le caratteristiche fondamentali che distinguono tali prodotti, vale a dire il loro ruolo all'interno dell'alimentazione umana e la loro forma di commercio.

L'obiettivo principale legato alla loro assunzione è quello di “integrare” la normale dieta, permettendo l'assunzione di vitamine, minerali, aminoacidi, acidi grassi essenziali, fibre ed estratti di origine vegetale in quantitativi tali da colmare carenze nutrizionali: in caso di diete particolari, di condizioni di salute specifiche o aumentato fabbisogno (es: sportivi).

Inoltre, possono venir assunti per supportare alcune funzioni fisiologiche, come, per esempio, sostegno per il sistema immunitario, la funzionalità muscolare e la salute delle ossa; altre volte per migliorare il benessere generale, contrastando la stanchezza o lo stress.

Le sostanze che possono essere inserite all'interno degli integratori alimentari sono disciplinate da regolamenti e linee guida che vanno a puntualizzare caratteristiche quali-quantitative che devono essere rispettate. A livello europeo, solo le vitamine e i minerali sono armonizzate tra i diversi paesi: attraverso il Reg. (CE) 1170/2009 si stabiliscono le forme vitaminiche e minerali inseribili all'interno degli integratori; diversamente, altre sostanze come gli estratti vegetali e i probiotici sono presentati attraverso linee guida nazionali che presentano una certa variabilità quantitativa relativamente al livello di limiti di ingredienti primari accettati dai diversi Ministeri.

Gli integratori alimentari sono prodotti “complessi” dal punto di vista regolatorio: si tratta di prodotti alimentari commercializzati con formule che ricordano il mondo farmaceutico, creando un’immagine “ibrida” nella concezione globale di tali prodotti. Questa immagine è alimentata dal fatto che in alcune culture il mondo medicinale è attivamente associato all’utilizzo di estratti e sostanze normalmente inserite all’interno degli integratori (in particolare gli estratti vegetali), così come in alcuni paesi europei è ampiamente diffuso l’utilizzo del “medicinale vegetale di uso tradizionale” (diffusione della Fitoterapia). La differenza tra integratore e farmaco viene ben definita dalla definizione ed è quella di mantenere l’omeostasi senza alterarla. Su questo stesso principio si basano anche tutte le regole comunicative ad esso legate, come la rivendicazione di claim salutistici-nutrizionali e l’etichettatura.

L’etichettatura è la prima fonte di informazioni per il consumatore ed è fondamentale presenti informazioni corrette e non fuorvianti, come stabilito dai punti fissati all’interno della Direttiva 2002/46/CE. Per garantire questo, l’etichettatura è disciplinata in modo primario dal Reg. (UE) 1169/2011 e dai suoi allegati che stabiliscono i requisiti specifici di etichettatura per gli integratori alimentari e successivamente dal decreto legislativo n°169/2004, che mette in atto, integrando ulteriormente, quando definito dal regolamento stesso.

Ai fini dell’immissione in commercio, la legislazione italiana prevede che venga eseguita una notifica che abbia come contenuto proprio l’etichetta stessa, che viene valutata e accettata dal Ministero della Salute (prima dell’immissione in commercio dell’integratore stesso). Il Ministero, svolge un’attività di controllo primario sulle materie prime inserite all’interno della formula, e allo stesso tempo può eseguire dei controlli successivi all’immissione dello stesso. Tali controlli hanno l’obiettivo di verificare che nel mercato vengano inseriti prodotti che non rechino avversità per la salute dei consumatori; per definizione, infatti, un integratore è considerato un prodotto sicuro.

Il primo soggetto responsabile della sicurezza del prodotto stesso è l’(OSA) operatore del settore alimentare, che deve garantire la conformità delle materie prime inserite all’interno della formula costruita (Reg. (CE) 178/2002 e 852/2004). Gli operatori del settore alimentare devono tenere a disposizione un dossier completo per ciascun prodotto, con schede tecniche degli ingredienti impiegati e relative caratteristiche compositive. Inoltre, occorre documentare le modalità e i

metodi di analisi per il controllo dei tenori delle sostanze caratterizzanti dichiarate in etichetta.

Ciascuna materia prima viene valutata e scelta sulla base di indicazioni derivanti da studi condotti dalle Autorità (principalmente dall' (EFSA) Autorità Europea per la sicurezza Alimentare e, successivamente emanate attraverso Regolamenti o Direttive dalla Commissione europea). Ciascun ingrediente è supportato da studi che ne attestano la sicurezza ed un valore massimo di assunzione, definito per mezzo dell'analisi critica di indicatori come l'(ADI) Acceptable Daily Intake, (PDE) Permitted Daily Exposure.

Tali valori sono continuamente aggiornati sulla base dei dati disponibili in quel momento storico. In caso di criticità, ovvero nel momento in cui emergano nuovi dati che attestino che una determinata sostanza utilizzata possa inficiare alla salute dei consumatori, viene avviata una procedura specifica chiamata "RASFF" Sistema di allerta Europeo per alimenti e mangimi che permette l'immediato intervento delle autorità nella gestione dei prodotti a disposizione dei consumatori.

Una questione che sta suscitando un particolare interesse negli ultimi anni è la questione "**Novel food**", ovvero l'utilizzo di nuovi prodotti che non hanno una storia significativa di consumo antecedente al 1997 e che non presentano una sicurezza consolidata. Attraverso l'avanzamento tecnologico e la scoperta di nuove fonti estrattive, infatti, i "nuovi ingredienti" si stanno diffondendo sempre più, anche per le "novità" formulative che si vogliono presentare nel mercato, ormai saturo di prodotti conosciuti.

La questione Novel food è un punto critico a livello di sicurezza del prodotto, in quanto sono necessari molti studi e valutazioni da parte del mondo scientifico per attestarne l'innocuità e la possibilità di essere impiegato.

La Rilevanza della Cleaning Validation (CV – Validazione della pulizia)

Nella produzione di integratori alimentari, la Cleaning Validation assume un'importanza maggiore rispetto ad altri settori industriali, per:

- elevata sensibilità dei consumatori: gli integratori alimentari sono spesso assunti da persone con condizioni di salute particolari, che potrebbero essere più vulnerabili agli effetti di contaminanti;

- varietà di prodotti: la produzione di differenti integratori in impianti condivisi aumenta il rischio di contaminazione crociata, con potenziali conseguenze negative per la salute dei consumatori.

Benefici della Cleaning Validation

L'implementazione di un efficace processo di Cleaning Validation offre numerosi benefici:

- Maggiore sicurezza per i consumatori: riduce il rischio di contaminazione accidentale e di esposizione a sostanze nocive.
- Migliore qualità dei prodotti: garantisce che gli integratori alimentari siano prodotti in ambienti igienici e privi di contaminanti.
- Conformità alle normative: assicura il rispetto delle normative vigenti in materia di sicurezza alimentare.
- Minore rischio di ritiri dal mercato: riduce la possibilità di dover richiamare prodotti dal mercato a causa di contaminazione.
- Maggiore fiducia nei consumatori: aumenta la fiducia nei consumatori della qualità e della sicurezza degli integratori alimentari.

Risk Assessment

Il Risk Assessment nella Cleaning Validation ha lo scopo di **identificare, valutare e mitigare i rischi** che potrebbero compromettere l'efficacia del processo di pulizia e, di conseguenza, la qualità del prodotto, in particolare il Risk Assessment aiuta a:

- **Comprendere i potenziali contaminanti** che potrebbero rimanere sulle superfici dopo il processo di pulizia.
- **Identificare i punti critici del processo di pulizia** dove è più probabile che si verifichino contaminazioni.
- **Valutare la gravità di ogni rischio** in base alla probabilità che si verifichi e alle potenziali conseguenze.
- **Prioritizzare i rischi** in modo da poter concentrare gli sforzi di mitigazione sui rischi più importanti.
- Sviluppare strategie di mitigazione per ridurre o eliminare i rischi.
- Dimostrare la conformità alle normative e agli standard di settore.

SCOPO DELLA TESI

L'elaborato di tesi ha lo scopo di creare una procedura di Cleaning Validation (cleaning in place, noto come CIP) rivolta ad un processo di pulizia automatizzato di una particolare attrezzatura utilizzata nella filmatura delle compresse, la bassina. Tale procedura consente di gestire in modo consistente ed efficace l'eliminazione (fino ad un livello accettabile) di tracce microbiche, chimiche di prodotto e di detergente prevenendo la contaminazione e la contaminazione crociata nelle lavorazioni successive.

Questo processo rappresenta la base della qualità e sicurezza del prodotto finale, in particolare serve per:

- **Dimostrare l'efficacia delle procedure di pulizia:** la Validazione della Pulizia garantisce che i metodi di pulizia impiegati siano in grado di rimuovere efficacemente ogni traccia di contaminante, compresi residui di prodotti precedenti, microrganismi e altri agenti nocivi.
- **Prevenire la contaminazione crociata:** la contaminazione crociata può verificarsi quando i residui di un prodotto contaminano un altro prodotto durante il processo produttivo. La Validazione della Pulizia aiuta a prevenire questo fenomeno garantendo che le aree di produzione e le attrezzature siano adeguatamente pulite tra un ciclo produttivo e l'altro.
- **Mantenere elevati standard igienici:** la Validazione della Pulizia contribuisce a mantenere elevati standard igienici all'interno degli stabilimenti produttivi, minimizzando il rischio di proliferazione di microrganismi e garantendo un ambiente di lavoro sicuro per gli operatori.

Lo studio si avvarrà di un approccio multidisciplinare che coinvolgerà diverse aree:

- **Analisi delle materie prime:** si studieranno le caratteristiche chimiche, microbiologiche e allergizzanti delle materie prime utilizzate per la produzione di integratori, valutando il loro potenziale contaminante.

- **Contaminazione tra prodotti:** si valuterà il rischio di contaminazione crociata tra differenti prodotti, considerando aspetti chimici, microbiologici, allergenici e fisici.
- **Detergenti e disinfettanti:** si analizzeranno le proprietà e l'efficacia di detergenti e disinfettanti impiegati nel processo di pulizia, consultando le Schede di Sicurezza (SDS).
- **Macchina (Bassina):** si utilizzerà la macchina Bassina come modello per lo studio, analizzando il comportamento di diverse materie prime e il loro impatto sulla Cleaning Validation.
- **Valutazione dell'efficacia:** si effettueranno campionamenti chimici TOC (Total Organic Carbon) e microbiologici e per valutare l'efficacia dei detergenti e disinfettanti a differenti livelli di pulizia.
- **Analisi dei risultati:** i dati ottenuti saranno rappresentati graficamente e tabulati, con una successiva discussione approfondita.

MATERIALI E METODI

Spesso, nell'ambito sicurezza sul lavoro, sentiamo parlare di come si possa eliminare in modo completo il rischio di infortuni ed incidenti per i lavoratori ma ciò è una visione utopistica, in quanto non esiste il «rischio zero».

Possiamo agire riducendo la probabilità che un evento si verifichi, facendo una corretta prevenzione (ad esempio, formazione su sicurezza nei luoghi di lavoro), oppure possiamo ridurre l'effetto di un danno, lavorando con idonea protezione (ad esempio, lavorando con dispositivi di protezione individuale, DPI).

Il Rischio

Il rischio è definito come il prodotto fra la probabilità che si verifichi un evento ed il danno dell'evento stesso.

$$R = P \times D$$

Risk assessment

Se parliamo di rischio, parliamo anche della sua valutazione e capire come prevenirlo apportando le misure tecniche adeguate.

La Valutazione del rischio (**Risk assessment**) in Sicurezza alimentare è un processo scientifico sistematico finalizzato a stimare la probabilità di comparsa e la gravità di effetti dannosi per la salute umana a seguito dell'esposizione a pericoli veicolati con gli alimenti, oltre a simulare possibili misure d'intervento.

La valutazione del rischio è la prima delle tre fasi che compongono il processo dell'analisi del rischio con la gestione del rischio e la sua comunicazione.

Il livello accettabile nel Risk assessment:

Nel contesto dell'Esposizione Giornaliera Accettabile (ADE), “accettabile” si riferisce a un livello di esposizione che, se sperimentato ogni giorno per la durata della vita di un individuo, non dovrebbe causare effetti avversi sulla salute.

Questo livello “accettabile” è determinato attraverso studi scientifici e tossicologici dettagliati. Si basa su una comprensione della dose di una sostanza che può causare effetti avversi, e poi applicando vari fattori di sicurezza per assicurare che il livello di esposizione sia ben al di sotto di questa dose.

È importante notare che l’ADE è specifica per ogni sostanza e può variare a seconda di vari fattori, tra cui la via di esposizione (ad esempio, ingestione, inalazione, contatto cutaneo), la durata dell’esposizione, e le caratteristiche individuali dell’organismo esposto. Pertanto, ciò che è “accettabile” per una sostanza potrebbe non esserlo per un’altra.

Risk analysis

La **risk analysis** può essere descritta come un processo che consente di descrivere “qualitativamente” e “quantitativamente” la probabilità e l’impatto potenziale di alcuni rischi (fase di valutazione del rischio), di scegliere ed adottare le opportune azioni di mitigazione del rischio (fase di gestione del rischio) e di comunicare a tutti i soggetti interessati (consumatori compresi) i risultati della valutazione del rischio e le decisioni che si suggerisce di prendere (fase di comunicazione del rischio).

L’analisi del rischio è un principio applicato agli inizi degli anni 70’, introdotto dalle organizzazioni mondiali e indicato come processo fondamentale alla base della Sicurezza alimentare.

Cleaning Validation

Nell’ambito delle Buone Pratiche di Fabbricazione (GMP), la CV rappresenta un processo imprescindibile nell’industria farmaceutica e alimentare, in quanto, attraverso la convalida dei metodi impiegati nelle procedure di pulizia, permette di garantire la qualità del prodotto finito, rimuovendo ogni traccia di contaminante al fine di tutelare la salute dei consumatori.

Nonostante la semplicità intrinseca delle operazioni di pulizia, il processo di validazione è diventato estremamente complesso e dispendioso in termini di risorse, a causa delle rigorose aspettative normative.

Tradizionalmente, la validazione dei processi di pulizia negli ambienti GMP si rivela un’attività impegnativa e dispendiosa in termini di tempo, soprattutto per le strutture che gestiscono molteplici prodotti e protocolli di pulizia. Lo sforzo richiesto si estende dallo sviluppo del metodo alla stesura del protocollo, passando per i test di laboratorio e la redazione di report completi.

Per affrontare queste sfide e ottimizzare il processo di validazione della pulizia, è necessario un approccio più razionale e basato sul rischio.

Per un approccio più efficiente è necessario considerare:

- **Lo sviluppo di una strategia di validazione della pulizia basata sul rischio:** identificare i prodotti e i processi critici che presentano un rischio maggiore di contaminazione crociata e concentrare gli sforzi di validazione su tali aree.
- **L'utilizzo di metodi di campionamento e analisi più efficienti:** implementare tecniche di campionamento statistico e metodi analitici sensibili per ottimizzare la raccolta e l'analisi dei dati.
- **Lo sfruttamento di approcci di convalida alternativi:** valutare l'utilizzo di metodi di convalida alternativi, come la modellazione computazionale, per ridurre la necessità di test di laboratorio estesi.
- **La promozione di una cultura di miglioramento continuo:** adottare un approccio proattivo al miglioramento continuo del processo di pulizia, identificando e implementando opportunità di ottimizzazione su base continuativa.

L'adozione di un approccio più efficiente alla validazione della pulizia non solo ridurrà il tempo e le risorse dedicate a questa attività, e migliorerà la qualità complessiva del processo di produzione, garantendo la sicurezza e l'efficacia dei prodotti finali tutelando il consumatore.

Nella produzione di integratori alimentari, la CV assume un'importanza ancora maggiore a causa del potenziale rischio di contaminazione accidentale. Fattori come il rilascio di polvere, gas, vapore o microrganismi, così come residui di attrezzature, microplastiche o dall'abbigliamento degli operatori, possono compromettere la qualità e la sicurezza degli integratori.

Inoltre, la produzione di differenti integratori in impianti condivisi aumenta il rischio di contaminazione crociata, con potenziali conseguenze negative per la salute dei consumatori. La Cleaning Validation diventa uno strumento fondamentale per garantire che ogni integratore sia prodotto in modo sicuro e privo di contaminanti.

Cleaning In Place (CIP)

Secondo "Society of dairy Technology" significa: la pulizia completa di impianti o circuiti di tubazioni senza smontare o aprire l'attrezzatura e con scarsa o nessuna partecipazione manuale da parte dell'operatore.

Il processo prevede il getto o la spruzzatura delle superfici o la circolazione di soluzioni detergenti attraverso l'impianto in condizioni di turbolenza e velocità di flusso aumentate.

Il CIP, o Cleaning In Place, è un metodo per la pulizia di impianti e tubazioni **senza smontarli**. Cioè, la pulizia avviene direttamente all'interno dell'impianto, senza dover aprire o smontare i vari componenti.

Il processo si avvale di soluzioni detergenti, acqua calda o vapore, che vengono fatti circolare all'interno dell'impianto ad alta velocità e con moto turbolento per rimuovere lo sporco, i residui ed i batteri eventualmente presenti. Il tutto avviene con un **intervento umano minimo o nullo**, grazie a sistemi di controllo automatici che verificano l'idoneità del ciclo di pulizia e sanificazione, garantendo la conformità del processo anche attraverso la registrazione delle operazioni effettuate.

Il CIP offre diversi vantaggi rispetto ai metodi di pulizia tradizionali, come lo smontaggio e il lavaggio manuale:

- **Maggiore efficienza:** permette di pulire impianti e tubazioni in modo più rapido e completo rispetto ai metodi manuali.
- **Minori costi:** riduce la necessità di manodopera e di materiali di pulizia.
- **Migliore igiene:** garantisce una pulizia più uniforme e accurata, riducendo il rischio di contaminazione.
- **Maggiore sicurezza:** elimina la necessità di lavorare all'interno di impianti aperti, riducendo il rischio di infortuni.

Semplicemente, il CIP funziona come un circuito chiuso ma a perdere, (nulla viene ricircolato) in cui una soluzione detergente viene fatta circolare all'interno dell'impianto. La soluzione transita attraverso tubazioni, valvole, scambiatori di calore e altri componenti, rimuovendo sporco e residui. Con velocità e turbolenza del flusso tali da garantire una pulizia efficace.

Le fasi del processo CIP si possono così rappresentare:

- **Prelavaggio** si esegue un risciacquo con acqua per rimuovere lo sporco grossolano.
- **Lavaggio** della soluzione detergente viene fatta circolare all'interno dell'impianto per un determinato periodo di tempo.
- **Risciacquo intermedio** si esegue un risciacquo con acqua per rimuovere il detergente.
- **Neutralizzazione** se necessario, si esegue un risciacquo con una soluzione acida o alcalina per neutralizzare il detergente.
- **Risciacquo finale** si esegue un risciacquo con acqua pulita per rimuovere qualsiasi residuo dall'impianto.

Vi sono dei fattori che influenzano l'efficacia del CIP:

- **Il tipo di sporco** in relazione alla natura e la quantità di sporco influenzano la scelta della soluzione detergente e del tempo di lavaggio.
- **La geometria dell'impianto**, la complessità del design dell'impianto può influenzare l'efficacia del flusso della soluzione detergente.
- **La temperatura** della soluzione detergente può influenzare la sua efficacia nello sciogliere e rimuovere lo sporco.
- **Il tempo di contatto** tra la soluzione detergente e lo sporco è fondamentale per una pulizia efficace.

Il CIP è utilizzato in una vasta gamma di industrie, per esempio

- **Nell'industria alimentare** per la pulizia di impianti di produzione: di latte, birra, succhi di frutta, prodotti lattiero-caseari e altri alimenti.
- **Nell'industria farmaceutica** per la pulizia di impianti di produzione di farmaci, vaccini e altri prodotti farmaceutici.
- **Nell'industria cosmetica** per la pulizia di impianti di produzione di cosmetici e prodotti per la cura della persona.
- **Nell'industria chimica** per la pulizia di impianti di produzione di prodotti chimici, vernici e rivestimenti.
- **Nelle biotecnologie** per la pulizia di impianti di produzione di prodotti biotecnologici.

Nonostante possa essere una scelta ottimale per il ciclo produttivo il CIP presenta come svantaggio:

- **Costo iniziale** per l'installazione del sistema.

Cleaning Out of Place (COP):

La COP nota anche come pulizia fuori sede è un processo in cui le apparecchiature vengono rimosse dalla loro posizione operativa e portate in una stazione di pulizia dedicata. Qui vengono smontate, lavate utilizzando un sistema automatizzato e poi rimontate. Durante il rimontaggio, viene effettuato un controllo per garantire che l'apparecchiatura sia pulita e funzionante.

La Cleaning validation determina un supporto teorico-applicativo-scientifico calcolato su dati raccolti da documentazioni come:

- (SDS) scheda di sicurezza detergenti;
- Registro raccolta dati pulizia.

La cleaning applicata in azienda prevede la predisposizione delle procedure e di metodi che vengono applicati in azienda per prevedere le contaminazioni.

Attraverso la rimozione dei residui di tipo:

- Fisico.
- Chimico (allergeni inclusi).
- Microbiologico.

A seconda del tipo di residuo individuato si vanno a delineare due fonti di rischio, il detergente (principalmente residui chimici) e l'integratore stesso (allergeni europei, microbiologici e fisici).

Tipi di Pulizia (cleaning) adottati in azienda sono riconducibili a due tipologie di procedure per la pulizia dei macchinari di produzione:

- *pulizia manuale* → è tipicamente definita come la pulizia diretta di apparecchiature da parte di un operatore adeguatamente formato che esegue una serie di operazioni manuali allo scopo di rimuovere i residui delle lavorazioni;

- *pulizia automatizzata* → effettuata attraverso impianti **CIP** (Cleaning In Place), con sistema automatizzato mediante il quale il macchinario è lavato senza l'intervento dell'operatore e con modalità standard ("ricetta") in base ad una procedura scritta.

Metodologia per il Risk Assessment

Il Risk Assessment per la valutazione del rischio ha 3 classi di rischio: alta, media, e bassa riferite a 3 principali indicatori di rischio, negli integratori alimentari.

La **rilevabilità** è un parametro riferito al grado di solubilità di una materia prima (MP) in un detergente acido e basico, potendolo così definire:

1. Completamente solubile.
2. Parzialmente solubile.
3. Insolubile.

La **severità** misura l'impatto negativo che un rischio può avere sulla salute o sulla sicurezza. Permette di valutare quanto gravi possono essere le conseguenze in caso di esposizione al rischio.

Ad esempio, un effetto collaterale grave o una reazione allergica presenterebbe una severità elevata.

La valutazione della carica microbica unità formanti colonia (UFC), fornisce indicazioni in merito ad un inquinamento microbiologico.

La pericolosità della sostanza, che può provocare un danno alla persona, la tossicità delle materie prime sono indicazioni relative alle caratteristiche chimiche del contaminante.

La **probabilità** da indicazioni relativamente alla probabilità che si verifichi un determinato evento. Si considera la frequenza con cui l'evento avverso potrebbe accadere, ad esempio, se l'uso di un ingrediente ha causato problemi in passato, la probabilità se si verificasse potrebbe essere alta.

Il procedimento cleaning in place sinteticamente può essere così rappresentato:

- definizione dei punti di campionamento da eseguire;
- analisi del rischio, finalizzata all'individuazione del worst-case di prodotto sul quale basare la convalida;
- definizione di metodi di campionamento e di analisi e dei rispettivi limiti di accettabilità atti a verificare l'efficacia della pulizia;
- esecuzione dei test di convalida previsti in 3 run distinti di pulizia dopo produzione del prodotto worst-case;
- riesame dei dati ottenuti.

Macchinari

HYDROWASH

Si tratta di un sistema di lavaggio integrato con la **bassina EFFECTA 200**.

In parole semplici, si tratta di un'unità di pulizia che collabora con la vasca EFFECTA 200 per garantire un processo di lavaggio completo ed efficiente basato sulla rimozione dei residui lasciati dalla filmatura degli integratori alimentari.

Le parti principali che compongono la macchina che applica tale processo sono:

- telaio di supporto;
- gruppo di 3 ingressi principali: N°2 ingressi per acqua e N°1 ingresso per aria compressa di soffiaggio;
- gruppo sensori costituito da un sensore di pressione ed un sensore di temperatura montati a valle della pompa;
- scarico acqua.

La gestione automatizzata da controllore logico programmabile (PLC) può essere di seguito rappresentata da:

- Un controllore logico programmabile (PLC) che funge da nucleo centrale del sistema, orchestrando tutte le operazioni di dosaggio con la massima precisione.
- Il PLC riceve l'input da sensori e da un pannello di controllo (opzionale).
- Sulla base di questi input, il PLC invia segnali alle pompe dosatrici e alle valvole per regolare con precisione la quantità di detergente e acqua erogata.

- Questo garantisce un dosaggio personalizzato e ottimizzato per ogni ciclo di lavaggio.

Il sistema automatizzato (Figura 1) utilizza:

- Quattro pompe dosatrici che vengono posizionate sullo SKID di lavaggio.
- Ogni pompa è collegata a un serbatoio detergente dedicato tramite un tubo di aspirazione.
- Le pompe dosatrici aspirano il detergente dai serbatoi e lo iniettano nelle tubazioni di lavaggio con la portata e la velocità desiderate, regolabili individualmente per soddisfare le specifiche esigenze di lavaggio.

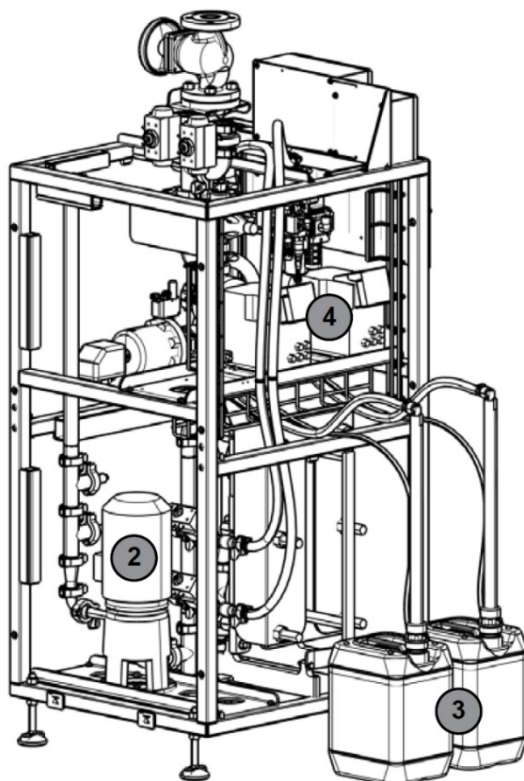


Figura 1: CIP HYDROWASH

L'impianto è dotato di valvole di pescaggio:

- Installate all'estremità dei tubi di aspirazione all'interno dei serbatoi di deposito dei detersivi.
- Le valvole impediscono al detergente di fuoriuscire dai serbatoi quando le pompe non sono in funzione, garantendo la sicurezza dell'impianto ed evitando la perdita di detergente.

Le valvole pneumatiche ON/OFF:

- Controllano il flusso di detergente e acqua fredda verso le pompe dosatrici con la massima precisione per garantire flusso e portata idonei.
- Queste valvole vengono aperte e chiuse dal PLC in base al programma di lavaggio selezionato, garantendo un controllo preciso del dosaggio e ottimizzando il consumo di acqua e detergente.

Le valvole di non ritorno:

- Sono installate nelle tubazioni di dosaggio per impedire il reflusso di liquido.
- Questo garantisce che il detergente fluisca solo nella direzione corretta e che non ritorni nei serbatoi o nelle pompe, preservando l'integrità del sistema e scongiurando fuoriuscite indesiderate.

Le fasi operative della macchina sono le seguenti:

- Prelavaggio;
- Lavaggio 1;
- Risciacquo 1;
- Risciacquo finale;
- Drenaggio e asciugatura delle linee insufflando aria compressa.

La fase di Prelavaggio consiste in:

- **Fase di preparazione:** l'operazione di prelavaggio inizia con l'utilizzo di acqua deionizzata, un elemento fondamentale per rimuovere efficacemente i residui calcarei e ottimizzare le successive fasi di pulizia. La durata del prelavaggio e la temperatura dell'acqua deionizzata sono parametri regolabili, permettendo di personalizzare il processo in base alle caratteristiche specifiche dei materiali da trattare e al grado di sporco presente.

La fase di Lavaggio consiste in:

- **Azione profonda:** il lavaggio rappresenta il cuore del processo di pulizia, sfruttando l'azione combinata di acqua deionizzata, temperatura e detergente. La durata del lavaggio, la temperatura dell'acqua deionizzata e la quantità del

detergente sono parametri regolabili con estrema precisione, garantendo un trattamento personalizzato e ottimale per ogni tipologia di sporco.

- **Detergente idoneo:** la scelta del detergente più adatto avviene in base alle caratteristiche dei materiali da trattare e al tipo di sporco da rimuovere. La concentrazione del detergente viene regolata con precisione per massimizzare l'efficacia del lavaggio senza danneggiare le superfici.

La fase di Risciacquo consiste in:

- **Sequenze di lavaggio multiple:** nel caso di esigenze di pulizia particolarmente complesse, è possibile impostare sequenze di lavaggio multiple, utilizzando detergenti differenti per ciascuna fase.
- **Risciacquo accurato:** dopo ogni fase di lavaggio con detergente, segue una fase di risciacquo accurata con acqua deionizzata per rimuovere completamente i residui di detergente e garantire una finitura impeccabile.

La fase di Risciacquo finale consiste in:

- **Rimozione completa di residui:** il risciacquo finale rappresenta l'ultima fase del processo di pulizia, finalizzata alla completa rimozione di ogni traccia di detergente e residuo dalle superfici trattate.
- **Utilizzo di acqua purificata:** per garantire un risultato impeccabile, il risciacquo finale viene effettuato con acqua purificata, priva di impurità e contaminanti che potrebbero compromettere la finitura delle superfici. La durata del risciacquo finale, la temperatura dell'acqua purificata e la conducibilità di fine risciacquo sono parametri regolabili con estrema precisione. Questo permette di ottimizzare il processo in base alle caratteristiche specifiche dei materiali trattati e alle esigenze di pulizia desiderate.

La fase di Drenaggio e asciugatura delle linee insufflando aria compressa consiste in:

- **Rimozione residua di acqua:** al termine del risciacquo finale, le valvole di scarico vengono aperte per consentire il drenaggio completo dell'acqua residua dalle tubazioni e dai componenti del sistema.

- **Soffiaggio con aria compressa:** per favorire ulteriormente il drenaggio dell'acqua e prevenire la formazione di ristagni, viene insufflata aria compressa nelle tubazioni per un tempo prestabilito. Questo trattamento assicura una perfetta asciugatura delle tubazioni e previene la proliferazione di microrganismi. La durata del processo di asciugatura è un parametro regolabile, in base alla complessità del sistema di tubazioni e al volume di acqua residua.

EFFECTA 200: Rivestimento di nuclei

La macchina **EFFECTA 200** (Figura 2) rappresenta una soluzione avanzata per il rivestimento di nuclei con elevata precisione, efficienza e versatilità, ideale per le industrie farmaceutiche ed alimentari.

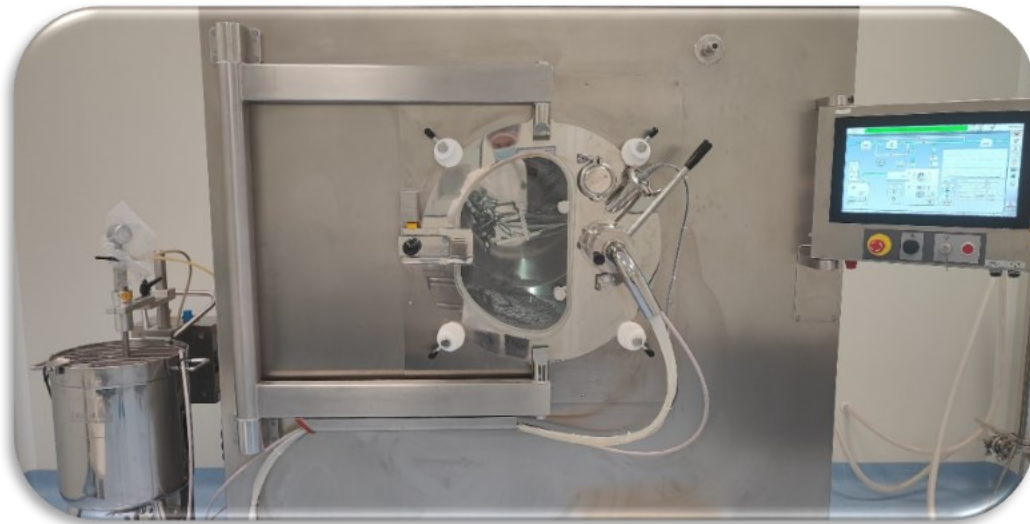


Figura 2: Bassina

Funzione: la macchina EFFECTA 200 è progettata per il rivestimento di nuclei farmaceutici ed alimentari mediante un processo di filmatura denominato "FILM".

Processo: i nuclei vengono posti all'interno di una bassina rotante dove vengono spruzzati con una soluzione acquosa poco viscosa. La rotazione della bassina assicura una distribuzione uniforme del rivestimento su tutta la superficie dei nuclei.

Risultato: il processo di filmatura crea una sottile pellicola che conferisce ai nuclei le proprietà desiderate, come il rilascio controllato del principio attivo, la protezione da agenti esterni o il miglioramento delle caratteristiche estetiche.

Applicazioni:

- Rivestimento di compresse farmaceutiche con principi attivi a rilascio controllato.
- Protezione di nuclei alimentari da agenti esterni come l'umidità o l'ossigeno.
- Miglioramento delle caratteristiche estetiche di nuclei farmaceutici o alimentari.

L'impianto (Figura 3) è composto da:

- una bassina;
- un'unità di trattamento aria;
- un impianto di spruzzatura;
- un filtro abbattimento polveri;
- un sistema di lavaggio automatico.

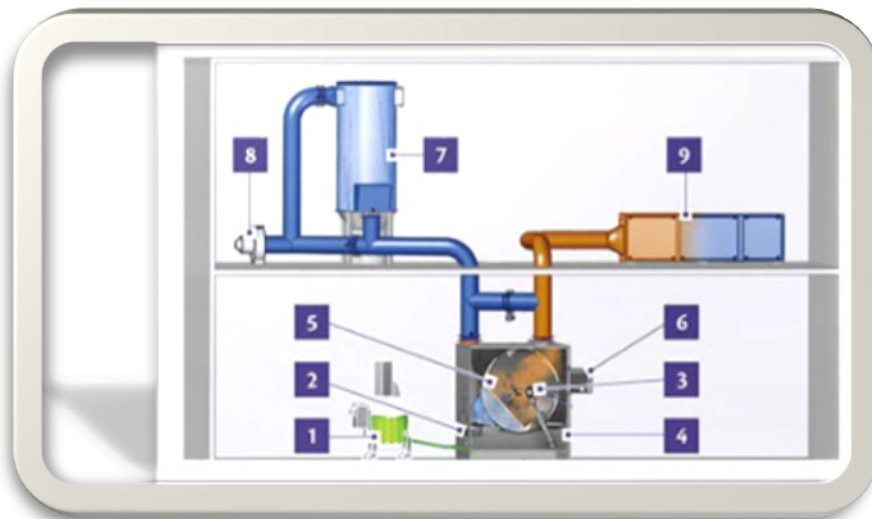


Figura 3: Parti dell'impianto

Per la gestione dell'impianto viene utilizzato un terminale operatore tipo "touch screen" posto di fianco al fronte bassina (Figura 4).



Figura 4: Touch Screen

1. Bassina

È un recipiente di forma concava, generalmente rotante, utilizzato per contenere i nuclei durante il processo di rivestimento.

La rotazione della bassina assicura una distribuzione uniforme del rivestimento su tutta la superficie dei nuclei ed è tipicamente realizzata in acciaio inossidabile o in altro materiale resistente alla corrosione e compatibile con le soluzioni di rivestimento utilizzate.

2. Unità di trattamento aria

L'unità di trattamento aria (UTA) è un sistema che gestisce l'aria all'interno della macchina EFFECTA 200.

L'UTA provvede a:

- Filtrare l'aria per rimuovere polvere e contaminanti.
- Controllare la temperatura e l'umidità dell'aria.
- Creare una depressione all'interno della macchina per favorire l'aspirazione dei vapori di solvente ed è tipicamente composta da:
 - Un ventilatore per far circolare l'aria.

- Filtri per la rimozione di polveri e contaminanti.
- Scambiatori di calore per il controllo della temperatura e dell'umidità.
- Un sistema di aspirazione per la rimozione dei vapori di solvente.

3. Impianto di spruzzatura

L'impianto di spruzzatura è il sistema responsabile dell'erogazione della soluzione di rivestimento sui nuclei esso deve garantire una distribuzione uniforme e precisa della soluzione su tutti i nuclei ed è tipicamente composto da:

- Ugelli di spruzzatura per la nebulizzazione della soluzione.
- Pompe per il controllo del flusso della soluzione.
- Un sistema di controllo per la regolazione dei parametri di spruzzatura.

4. Filtro abbattimento polveri

Il filtro abbattimento di polveri è un dispositivo utilizzato per catturare le polveri generate durante il processo di rivestimento, esso contribuisce a mantenere un ambiente di lavoro pulito e sicuro e a prevenire la contaminazione dei nuclei.

Esistono diverse tipologie di filtri abbattimento polveri, tra cui:

- Filtri a manica: composti da maniche in tessuto che trattengono le polveri.
- Filtri a cartuccia: composti da cartucce in materiale filtrante che trattengono le polveri.
- Filtri elettrostatici: utilizzano un campo elettrico per attirare e trattenere le polveri.

5. Sistema di lavaggio automatico

Il sistema di lavaggio automatico è un sistema automatizzato per la pulizia della macchina EFFECTA 200, esso garantisce una pulizia efficiente e sicura della macchina, contribuendo a prolungarne la vita utile e a mantenerne le prestazioni ottimali.

La **vasca di contenimento** collocata nel basamento svolge la funzione di contenitore a tenuta della zona di produzione e di struttura esterna della macchina.

La zona di produzione:

È costituita da un contenitore rotante forato (coppa forata) atto a contenere e mescolare il prodotto.

Funzione della vasca di contenimento:

- contenimento dell'aria di processo che durante l'essiccamento attraversa il prodotto passando dai fori della coppa.
- Raccoglie la soluzione acquosa grazie alla quale viene eseguito il lavaggio, in seguito convogliata attraverso uno scarico.
- Separa la zona nella quale avviene il processo da quella in cui è alloggiata la meccanica.

Funzione della coppa Forata:

La coppa racchiude il prodotto da rivestire e lo mantiene in continuo movimento rotatorio per garantire una distribuzione uniforme del rivestimento.

- Componenti:
 - **Parte cilindrica:** sezione centrale in lamiera forata che permette il passaggio dell'aria per l'essiccamento.
 - **Coppe coniche:** due estremità non forate che forniscono stabilità e supporto alla parte cilindrica.
 - **Coppa frontale aperta:** forma la bocca di ingresso del prodotto.
 - **Coppa posteriore:** alloggia l'albero di rotazione.

Movimento rotatorio: la coppa ruota su un albero, favorendo il rimescolamento del prodotto e la distribuzione del rivestimento.

Processo di rivestimento:

Il prodotto da rivestire viene inserito all'interno della coppa rotante, successivamente la soluzione di rivestimento viene versata sul prodotto in movimento e la rotazione della coppa distribuisce uniformemente il rivestimento su tutta la superficie del prodotto.

Un flusso d'aria viene fatto passare attraverso la parete forata della coppa per rimuovere l'umidità dal rivestimento; all'interno della coppa, vi sono dei deflettori che smuovono il prodotto per ottimizzare l'essiccamento.

La coppa forata è dotata di sei vomeri smontabili a seconda del prodotto che si prepara, si possono utilizzare dei vomeri miscelanti con inclinazione personalizzata.

Pistole a spruzzo:

La funzione delle pistole a spruzzo è quella di nebulizzare la soluzione di rivestimento ed assicurare una spartizione omogenea sui nuclei.

Le pistole a spruzzo sono situate all'interno della bassina posizionate su di un supporto (braccio pistole) estraibile dalla bassina per le operazioni da effettuarsi all'esterno della macchina.

La soluzione di rivestimento viene dispersa in particelle fini utilizzando aria compressa e quindi applicata ai nuclei tramite ugelli specifici. È possibile regolare la combinazione di aghi e ugelli in base alla viscosità del prodotto da spruzzare.

Il ciclo di funzionamento EFFECTA 200 è il seguente:

La pompa preleva il prodotto dal contenitore del film e lo convoglia alla pistola all'interno della bassina.

L'aria di essiccazione viene insufflata nella bassina tramite una condotta dedicata. Quest'aria viene riscaldata, filtrata e, se necessario, deumidificata dall'unità di trattamento aria.

Durante le fasi in cui l'essiccazione in bassina è esclusa, un sistema di by-pass consente il passaggio continuo dell'aria, evitando oscillazioni di temperatura.

L'aria aspirata viene indirizzata verso un gruppo di abbattimento polveri prima di essere emessa nell'atmosfera.

Durante le fasi di lavaggio della bassina, un sistema di by-pass impedisce all'aria aspirata di passare attraverso i filtri di abbattimento polveri, riducendo il rischio di occlusione dovuto all'umidità.

Utilizzando una lancia di lavaggio e spruzzatori posizionati strategicamente, la bassina viene pulita accuratamente all'interno.

Il sistema lavaggio CIP è progettato per rimuovere i residui delle lavorazioni precedenti dalle parti dell'impianto che sono a contatto con il prodotto.

La Stazione di lavaggio (HYDROWASH) è la sorgente principale dei fluidi di lavaggio. Da qui parte una tubazione che trasporta i fluidi alla bassina, vi è un circuito idraulico e pneumatico responsabile della fornitura e distribuzione dei

fluidi di lavaggio alla bassina. Include una pompa di rilancio per garantire la pressione necessaria.

Il circuito di lavaggio del gruppo bassina (Figura 5 - 2) è dedicato alla pulizia del gruppo bassina. Gli ugelli di lavaggio sono posizionati per pulire l'esterno della coppa, il suo box e il condotto dell'aria OUT fino al flap di isolamento. Inoltre, una lancia di lavaggio con ugelli è utilizzata per pulire l'interno della coppa.

Il circuito di scarico dei fluidi di lavaggio (Figura 5 - 3) interviene dopo il lavaggio, in modo che i fluidi utilizzati vengano scaricati.

L'asciugatura con aria calda: alla fine del processo di lavaggio, le parti bagnate vengono asciugate utilizzando aria calda.

Questo sistema garantisce la pulizia efficace delle parti dell'impianto, contribuendo alla qualità del prodotto e alla sicurezza igienica.

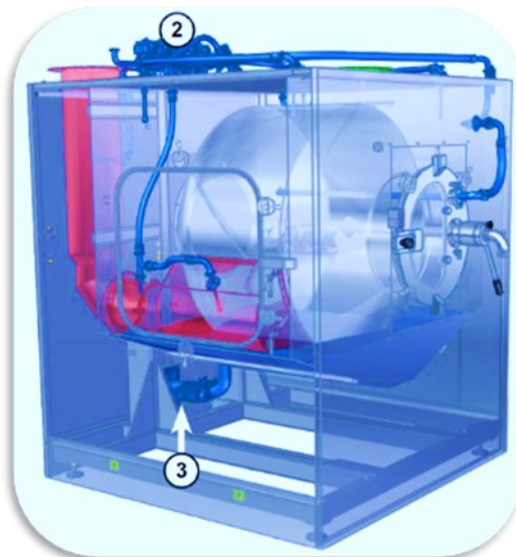


Figura 5: Sistema di lavaggio

Il **sistema di lavaggio** utilizza dispositivi specifici per distribuire il fluido detergente alle diverse parti dell'impianto, riassumibili come segue:

Gli **ugelli di lavaggio** sono dispositivi fissi con un getto orientato in una direzione specifica, sono posizionati strategicamente per pulire parti specifiche dell'impianto. Le **spray ball** sono dispositivi fissi da cui partono una serie di getti orientati a raggiera. Questi getti coprono un'area più ampia e sono utilizzati per la pulizia di superfici più estese.

Gli **ugelli rotanti di lavaggio** sono dispositivi rotanti e generano un unico getto che può coprire una superficie sferica. Sono alimentati da organi meccanici azionati dall'aria compressa e sono ideali per la pulizia di parti complesse o curve.

Ricetta di lavaggio

I detergenti e sanitizzanti sono prodotti per la pulizia utilizzati dall'impianto CIP e sono i seguenti:

- Detergente alcalino ECOLAB COSA CIP 96 a base di idrossido di sodio.
- Detergente acido ECOLAB COSA CIP 72 a base di acido citrico e acido formico.

Analisi Tossicologica dei detergenti:

- Il **detergente alcalino** ECOLAB COSA CIP 96 a base di idrossido di sodio è una miscela di NaOH in soluzione acquosa, in concentrazione dal 30 al 50%. Questa miscela, come quella "acida", viene diluita ulteriormente fino a raggiungere una soluzione acquosa al 5% in volume. Non sono noti effetti tossicologici direttamente correlati alla miscela acquosa, tuttavia, l'NaOH è noto per la sua caratteristica corrosività, che imputa alla miscela stessa una pericolosità non trascurabile. Nel caso estremo in cui la concentrazione sia la più alta indicata in SDS, nel prodotto finale (il detergente diluito e pronto all'uso) si potrebbe trovare una concentrazione del 2,5% di NaOH. Si tratta di una concentrazione non pericolosa che tuttavia va considerata e valutata.
- Il **detergente acido** ECOLAB COSA CIP 72 a base di acido citrico e acido formico è una miscela di acido citrico ed acido formico in rapporto 1:5. Seppur non avendo dati specifici per la miscela come tale, è possibile osservare attraverso le tossicità delle singole sostanze, che la sostanza che presenta una tossicità acuta orale più impattante è l'acido formico (LD/50 8 volte più piccolo rispetto l'acido citrico). Considerando che, nella miscela sia presente in concentrazione del 30%, nella soluzione diluita al 5%, la concentrazione di acido formico nella soluzione diluita sarà al 1.5%. Nonostante questo valore sia relativamente basso, potrebbe comunque essere presente in residui dopo il risciacquo.

La procedura di lavaggio (Figura 6) è stata impostata sulla base del know-how del produttore dell'impianto e tenendo conto della natura dei prodotti di filmatura utilizzati in azienda.

RICETTA MASTER									
		Nome		Versione		Ricetta di formato			
		Wash test		0.12		-WASH- 1.1			
Cicli		ACQUA	ACQUA CALDA	RISCIACQUO	ACQUA CALDA	ACQUA	ACQUA DEMI	ASCIUGATURA	RAFFREDDAMEN
		1	1	1	1	1	1	1	1
Tipo acqua		Acqua fredda	Acqua fredda	Acqua fredda	Acqua fredda	Acqua fredda	Acqua	No acqua	No acqua
Temperatura aria IN	°C							70.0	5.0
Portata aria IN	m3/h							2300	2500
Pressione bassina	Pa							-30	-30
Velocità bassina	RPM	12.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	5.0	5.0
Tempo essiccamento	hh:mm:ss							00:40:00	00:20:00
Tipo Detergente		NESSUNO	Detergente 2	NESSUNO	Detergente 1	NESSUNO	NESSUNO		
Tempo immissione fluidi di lavaggio in linea A1	hh:mm:ss	00:01:00	00:01:30	00:00:30	00:01:30	00:01:00	00:00:45		
Tempo immissione fluidi di lavaggio in linea O1	hh:mm:ss	00:01:00	00:01:30	00:00:30	00:01:30	00:01:00	00:00:45		
Tempo immissione fluidi di lavaggio in linea O3	hh:mm:ss	00:01:00	00:01:30	00:00:30	00:01:30	00:01:00	00:00:45		
Tempo immissione fluidi di lavaggio in linea I1	hh:mm:ss	00:01:00	00:01:30	00:00:30	00:01:30	00:01:00	00:00:45		
Tempo riempimento	hh:mm:ss	00:00:00	00:05:00	00:00:00	00:05:00	00:00:00	00:04:00		
Tempo rotazione	hh:mm:ss	00:00:00	00:10:00	00:00:00	00:10:00	00:00:00	00:03:00	00:00:00	00:00:00
Tempo Scarico	hh:mm:ss	00:00:00	00:03:00	00:00:00	00:03:00	00:00:00	00:03:00	00:01:00	00:00:00
Tempo drenaggio linee lavaggio	hh:mm:ss	00:01:00	00:00:30	00:00:00	00:00:30	00:00:00	00:00:30	00:00:30	00:00:00
Numero cicli di asciugatura		0	0	0	0	1	2	0	1
Tipo regolazione pompa		Pressione	Pressione	Pressione	Pressione	Pressione	Pressione		
Pressione fluidi di lavaggio	bar	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	4.0		
Temperatura fluidi di lavaggio	°C	0.0	60.0	0.0	60.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Portata Detergente	l/min	0.5	0.6	1.0	0.6	1.0	1.0		
Scarico acqua non in temperatura		OFF	OFF	OFF	OFF	OFF	ON	OFF	ON
Messaggio 1 di inizio fase									
Messaggio 1 di fine fase									

Figura 6: Impostazione ricetta di lavaggio

In Figura 6, con “Detergente 1” si riferisce al prodotto COSA CIP 72 e con “Detergente 2” il prodotto COSA CIP 96. Il volume di acqua osmotizzata usata per il risciacquo finale non è misurabile dall'impianto, ma è stata stimata rispetto ai livelli del serbatoio di accumulo nell'ordine di circa 200 litri.

Nella Tabella I sono riportati i prodotti lavorati in bassina dal 2023 all'aprile 2024. (Ove possibile sono stati raggruppati per composizione del rivestimento).

Tabella I: Prodotti lavorati

Descrizione	Materia prima caratterizzante	Raggruppamento rivestimento	Lotti
Prodotto 1	Vite rossa	Prodotto 1	1
Prodotto 2	Bromelina	Prodotto 2	2
Prodotto 3	Riso rosso	Prodotto 3	9
Prodotto 4	Riso rosso e berberina	Prodotto 4	32
Prodotto 5	Enzimi digestivi	Prodotto 5	6
Prodotto 6	Melograno	Prodotto 6	3
Prodotto 7	Passiflora	Prodotto 7	3
Prodotto 8	Acido lipoico	Prodotto 8	4
Prodotto 9	Multivitaminico adulti	Prodotto 9	3
Prodotto 10	Multivitaminico	Prodotto 10	2
Prodotto 11	Cardo mariano	R1	15
Prodotto 12	Amminoacidi		
Prodotto 13	Acido lipoico e cannella		
Prodotto 14	Inositolo		
Prodotto 15	D-glucosamina		
Prodotto 16	Rodiola		
Prodotto 17	Echinacea	R2	13
Prodotto 18	Dangyuja		
Prodotto 19	Valeriana	Prodotto 19	4
Prodotto 20	Centella asiatica	Prodotto 20	13

La tabella riporta la sequenza del numero di prodotti, 20 dal 2023 ad aprile 2024, il numero di lotti prodotti per quel determinato gruppo alimentare (ultima colonna), oltre alla denominazione della materia prima utilizzata e del gruppo di rivestimento.

Worst case analysis

Per identificare il “worst-case” nel contesto del rischio chimico, si considerano i prodotti utilizzati durante il processo. Per ciascun prodotto, si valutano gli ingredienti e le caratteristiche dei loro componenti e si indaga sulla possibilità che questi lascino residui nell’impianto alla fine del processo. Questa valutazione include anche i prodotti utilizzati per la pulizia.

I criteri per definire un prodotto come “worst-case” si basano su tre fattori:

- **Probabilità (P):** la probabilità che si verifichi un evento avverso.
- **Severità (S):** l’entità del danno o dell’effetto negativo causato dall’evento.
- **Rilevabilità (R):** la capacità di rilevare tempestivamente l’evento avverso.

La **probabilità (P)** è stata valutata considerando il numero di lotti lavorati nel periodo 2023 - aprile 2024.

In Tabella II sono riportati l'indice di riferimento per il calcolo della probabilità, relativo al numero di lotti del singolo prodotto utilizzati in bassina.

Tabella II: Classificazione probabilità

Probabilità	Punteggio
< 3 lotti	1
3-5 lotti	2
> 5 lotti	3

La **rilevabilità (R)** è stata valutata in base alla difficoltà di rimozione del residuo e da alcune caratteristiche di solubilità in acqua del residuo stesso. Una molecola facilmente rimuovibile con le concentrazioni dei detersivi utilizzati e/o facilmente solubile in acqua risulterà avere un punteggio basso. Il punteggio cresce se le caratteristiche chimico-fisiche del componente lo rendono più difficilmente rimuovibile dalle superfici.

I componenti sono stati classificati nelle seguenti categorie ed è stato assegnato un punteggio da 1 a 3 descritto in Tabella III.

In Tabella III sono riportati gli indici di rilevabilità in funzione delle materie prime utilizzate per ogni integratore. Come riportato in Tabella III si attribuisce un indice pari ad 1 nel caso di Vitamine idrosolubili, mentre per sostanze come i sali insolubili (ossidi di ferro) o agenti di rivestimento protettivo, scarsamente solubili in acqua, e quindi di difficile rimozione con acqua si attribuisce un indice di rilevabilità di 3.

Tabella III: Punteggio severità chimica

Componente	Gruppo	Rilevabilità
ACQUA DEMINERALIZZATA	Acqua	1
AROMA SPRAY CAMOMILLA NAT	Aroma	2
CLOROFILLA RAME PLV WS E141ii	Colorante organico solubile	2
GLICEROLO VEGETALE E422	Solvente organico solubile	1
OSSIDO DI FERRO GIALLO E172	Sali insolubili	3
OSSIDO DI FERRO NERO E172	Sali insolubili	3
OSSIDO DI FERRO ROSSO E172	Sali insolubili	3
R2U ETILCELL 25% SURELEASE	Agente rivestimento gelificante	2
R2U GOMMA LACCA ACQUOSA E904	Agente rivestimento insolubile	3
R2U HPMC B.CO CC	Agente rivestimento gelificante	2
R2U HPMC TRASP	Agente rivestimento gelificante	2
R2U NA-ALGINATO NS ENTERIC	Agente rivestimento gelificante	2
R2U PVA B.CO CC	Agente rivestimento protettivo	3
R2U PVA TRASP	Agente rivestimento protettivo	3
SUCCO BARBABIETOLA PLV	Derivati pianta	1
SUCRALOSIO E955	Composto organico solubile	1
VITAMINA B2 - RIBOFLAV 100% E101(i)	Vitamine idro	1
ZENZERO RADICE ES 5% GINGEROLI	Derivati pianta	2

La **severità chimica (Sc)**, è stata valutata sulla base del danno alla salute umana. In Tabella IV sono riportati i punteggi stabiliti per definire la Severità che sono state assegnate ai componenti del film di rivestimento dei prodotti che saranno descritti in Tabella V.

Tabella IV: Classificazione per severità chimica

Danno per la salute Umana	Punteggio Sc
Nessuno	1
Medio	2
Alto	3

La classificazione della severità chimica si basa sui seguenti criteri, presenza di:

- **Allergeni:** sono assegnati 3 punti agli allergeni a causa del loro potenziale pericolo per la salute umana.

- **Aromi e conservanti:** sono stati attribuiti 2 punti. Questi componenti sono regolamentati in termini di dosaggio e assunzione giornaliera.
- **Altri componenti:** a cui viene assegnato 1 punto. I residui di questi componenti non rappresentano alcun potenziale danno alla salute umana.

In tabella V, come già anticipato sono riportati i punteggi stabiliti per definire la Severità chimica che sono stati assegnati ai componenti dei prodotti.

Tabella V: Punteggio severità chimica

Componente	Gruppo	Severità chimica
ACQUA DEMINERALIZZATA	Acqua	1
AROMA SPRAY CAMOMILLA NAT	Aroma	2
CLOROFILLA RAME PLV WS E141ii	Colorante organico solubile	2
GLICEROLO VEGETALE E422	Solvente organico solubile	1
OSSIDO DI FERRO GIALLO E172	Sali insolubili	1
OSSIDO DI FERRO NERO E172	Sali insolubili	1
OSSIDO DI FERRO ROSSO E172	Sali insolubili	1
R2U ETILCELL 25% SURELEASE	Agente rivestimento gelificante	2
R2U GOMMA LACCA ACQUOSA E904	Agente rivestimento insolubile	1
R2U HPMC B.CO CC	Agente rivestimento gelificante	1
R2U HPMC TRASP	Agente rivestimento gelificante	1
R2U NA-ALGINATO NS ENTERIC	Agente rivestimento gelificante	1
R2U PVA B.CO CC	Agente rivestimento protettivo	1
R2U PVA TRASP	Agente rivestimento protettivo	1
SUCCO BARBABIETOLA PLV	Derivati pianta	1
SUCRALOSIO E955	Composto organico solubile	2
VITAMINA B2 - RIBOFLAV 100% E101(i)	Vitamine idro	1
ZENZERO RADICE ES 5% GINGEROLI	Derivati pianta	2

La **Severità microbiologica (Sm)** è stata valutata sulla base dell'origine e della carica microbica potenziale dei componenti prodotti (Tabella VI).

Sono state considerate tre categorie di rischio:

- **I componenti contenenti microrganismi (fermenti):** viene assegnato un punteggio di 3. Si tratta di ingredienti che contengono microrganismi, come i fermenti.
- **I componenti aventi potenziale elevato di Conteggio Totale di Aerobi Mesofili (TAMC):** ai quali viene attribuito un punteggio di 2. Questi ingredienti possono avere una concentrazione significativa di microrganismi aerobi mesofili.
- **I componenti con bassa carica microbica intrinseca:** viene assegnato un punteggio di 1. Sono ingredienti che, per la loro origine o il metodo di produzione, hanno una bassa concentrazione totale di microrganismi e una ridotta probabilità di contenere patogeni.

Tabella VI: Classificazione per severità microbiologica

Carica microbiologica	Punteggio Sm
Bassa (componenti con carica < 10 ⁴ UFC/g)	1
Media (componenti con carica 10 ⁴ -10 ⁶ UFC/g)	2
Alta (fermenti)	3

Nella Tabella VII sono riportati i punteggi stabiliti per definire la Severità microbiologica che sono stati assegnati ai componenti dei prodotti.

Tabella VII: Punteggio severità microbiologica

Componente	Gruppo	Severità micro
ACQUA DEMINERALIZZATA	Acqua	1
AROMA SPRAY CAMOMILLA NAT	Aroma	1
CLOROFILLA RAME PLV WS E141ii	Colorante organico solubile	1
GLICEROLO VEGETALE E422	Solvente organico solubile	1
OSSIDO DI FERRO GIALLO E172	Sali insolubili	1
OSSIDO DI FERRO NERO E172	Sali insolubili	1
OSSIDO DI FERRO ROSSO E172	Sali insolubili	1
R2U ETILCELL 25% SURELEASE	Agente rivestimento gelificante	1
R2U GOMMA LACCA ACQUOSA E904	Agente rivestimento insolubile	1
R2U HPMC B.CO CC	Agente rivestimento gelificante	1
R2U HPMC TRASP	Agente rivestimento gelificante	1
R2U NA-ALGINATO NS ENTERIC	Agente rivestimento gelificante	1
R2U PVA B.CO CC	Agente rivestimento protettivo	1
R2U PVA TRASP	Agente rivestimento protettivo	1
SUCCO BARBABIETOLA PLV	Derivati pianta	2
SUCRALOSIO E955	Composto organico solubile	1
VITAMINA B2 - RIBOFLAV 100% E101(i)	Vitamine idro	1
ZENZERO RADICE ES 5% GINGEROLI	Derivati pianta	2

Come riportato in Tabella VII si evidenzia come la severità microbica sia risultata pari a 1 per 16 materie prime su 18. Per le restanti due materie prime, nello specifico la radice di zenzero e il succo di barbabietola è stato attribuito una Sm di 2. Tali sostanze di origine vegetale per la loro natura possono presentare potenzialmente una carica microbica maggiore rispetto alle altre materie prime riportate in tabella.

Indice RPN (Risk Priority Number)

Il calcolo del rischio utilizza una matrice in cui è stato calcolato l'indice RPN (Risk Priority Number) per ciascun prodotto. Questo indice permette di identificare il prodotto considerando il "worst-case" sia dal punto di vista chimico che microbiologico. Sul prodotto vengono eseguiti i test di convalida.

Tramite questa formula è stato calcolato RPN per il rischio chimico e microbiologico:

$$RPN = P * \prod S * \prod R$$

La definizione del worst-case di prodotto come riportato in Tabella VIII permette la classificazione di valorizzazione del rischio per i prodotti considerati.

Tabella VIII: Classifica di valorizzazione del rischio

Gruppo prodotto	P	IIR	IISc	RPNc	IISm	RPNm
Prodotto 1	1	9	1	9	1	9
Prodotto 2	2	4	2	16	1	8
Prodotto 3	3	18	1	54	1	54
Prodotto 4	3	9	1	27	1	27
Prodotto 5	3	36	2	216	2	216
Prodotto 6	2	9	1	18	1	18
Prodotto 7	2	6	2	24	1	12
Prodotto 8	2	54	1	108	1	108
Prodotto 9	2	6	1	12	1	12
Prodotto 10	1	9	1	9	1	9
R1 (Prod. da 11 a 16)	3	2	1	6	1	6
R2 (Prod. 17 e 18)	3	3	1	9	1	9
Prodotto 19	2	6	4	48	1	12
Prodotto 20	3	2	1	6	2	12

In tabella VIII sono riportati i risultati dell'indice RPN (**Risk Priority Number**) chimico (RPNc) e microbiologico (RPNm), il primo è dato dalla moltiplicazione della probabilità (P) per la rilevabilità (IIR) per la severità chimica (IISc) mentre l'RPN microbiologico a differenza del chimico è moltiplicato per la severità microbiologica (IISm).

Dall'analisi dei dati riportati in Tabella VIII si evidenzia come in nessuno di questi prodotti siano presenti componenti con una severità microbiologica pari a 3. Tuttavia, il **Prodotto 5** è l'unico che contiene un derivato di pianta: l'estratto secco di zenzero radice; tale estratto potrebbe portare una carica batterica maggiore rispetto agli altri componenti.

Il Worst-case chimico è rappresentato da due integratori alimentari:

- **Enzimi digestivi (Prodotto 5)**
- **Acido lipoico (Prodotto 8)**

Nella valutazione della presenza di allergeni, (presenti nel capitolo Allegati “Allegato 1 Tabella allergeni Europei”) nell’impianto soggetto a CV, si può dichiarare che:

- Il macchinario in questione non utilizza materie prime contenenti allergeni.
- Nel semilavorato (nucleo del **Prodotto 11** – gruppo R1), è documentata la presenza esclusiva dell’allergene soia derivante da ES cardo mariano. L’analisi PCR condotta sul prodotto finito ha escluso la presenza di questo allergene; pertanto, il rischio di contaminazione da soia nel semilavorato nucleo del **Prodotto 11** (gruppo R1) è molto basso, prossimo a zero rispetto al macchinario oggetto di studio per la validazione del processo di pulizia.

Nella valutazione del worst-case microbiologico si è identificato questo prodotto:

- **Enzimi digestivi (Prodotto 5)**

Definizione dei limiti

Aspetti chimici

Per determinare il residuo chimico di contaminante si è deciso di utilizzare il metodo analitico aspecifico TOC “Total Organic Carbon” in modo da valutare la presenza di sostanze contenenti carbonio fino a concentrazioni molto ridotte.

Per i campionamenti superficiali con Swab (chimico) viene calcolato il limite di accettabilità aspecifico ($L=MACO$ (massimo carryover permesso) con due approcci distinti e prendendo in considerazione tra i due, il risultato più restrittivo:

- **Limite stabilito sull’acqua di Rinse:** Si parte dal MACO definito per l’acqua di risciacquo (Rinse). Questo valore rappresenta la quantità massima di contaminante che può essere presente nell’acqua di risciacquo senza causare problemi di sicurezza o qualità del prodotto.
- **Criterio dei 10 ppm:** Questo criterio considera la superficie totale dell’attrezzatura a contatto con il prodotto e la dimensione minima del lotto del

prodotto successivamente lavorato sulla stessa linea. Si calcola il limite di accettabilità aspecifico ($L=MACO$) come una percentuale (10 ppm) del limite stabilito per l'acqua di Rinse. Questo assicura che il rischio di contaminazione incrociata sia mantenuto entro livelli accettabili.

Il limite di accettabilità del residuo chimico (TOC) sull'acqua di ultimo risciacquo (Rinse) stabilito è $L_{TOC\ rinse} \leq 10$ ppm.

Le considerazioni per questo limite includono:

- Nel D.lgs. 18/2023 relativo alle acque destinate al consumo umano, l'analisi TOC non ha una specifica definita.
- Nella Farmacopea Europea, l'analisi del TOC è prevista per monitorare l'acqua purificata, ultra-purificata e l'acqua per preparazioni iniettabili, con un limite di 0,5 ppm (500 ppb). Tuttavia, l'azienda non utilizza acqua purificata per la produzione di prodotti farmaceutici.
- La metodica attualmente utilizzata dal laboratorio esterno ha un limite di rilevabilità (LOD) di 0,5 ppm e un limite di quantificazione (LOQ) di 1 ppm.
- Non è praticabile considerare lo 0,1% della dose massima terapeutica, poiché i prodotti realizzati non sono classificabili come prodotti farmaceutici attivi e non presentano tale informazione. Come alternativa, potrebbe essere considerata la massima dose giornaliera assumibile (acceptable daily intake), ma questa informazione non è disponibile per tutte le materie prime.
- Secondo il criterio dei "NMT" (no more than) 10 ppm, non più di 10 ppm di qualsiasi prodotto possono essere trasferiti in un prodotto successivo.

L_{TOC swab} calcolato a partire dal limite stabilito sull'acqua di rinse (ultimo risciacquo)

Per calcolare il limite di accettabilità del residuo sulla superficie campionata attraverso lo swab deve essere utilizzata una formula che considera il limite massimo di residuo consentito di TOC sull'acqua di ultimo risciacquo che è di 10 mg/L (ppm):

$$L_{TOC\ swab} [mg/swab] = L_{TOC1cm2} [mg/cm^2] * S_{swab} [cm^2]$$

Dove:

$L_{TOCswab} [mg/swab]$ = limite di TOC sulla superficie campionata tramite swab

$L_{TOC1cm2}$ [mg/cm²] = limite di TOC su 1 cm² di superficie dell'equipment

S_{swab} [cm²] = superficie campionata attraverso swab (100 cm²)

$$L_{TOC1cm2} [mg/cm^2] = L_{TOC S_{TOT}} [mg] / S_{TOT} [cm^2]$$

Dove:

S_{TOT} [cm²] = superficie totale dell'equipment a contatto con il prodotto

$L_{TOC S_{TOT}}$ [mg] = limite di TOC sulla superficie totale dell'equipment

$$L_{TOC S_{TOT}} [mg] = L_{TOC_{rinse}} [mg/L] * V_{Rinse} [L]$$

Dove:

$L_{TOC_{rinse}}$ = massimo valore di TOC consentito sul volume totale di acqua di ultimo risciacquo, ovvero 10 mg/L

V_{Rinse} [L] = Volume di acqua totale impiegata per l'ultimo risciacquo dell'equipment

LTOC swab (10 ppm criterio) calcolato con il criterio dei 10 ppm

Per il criterio dei 10 ppm, il valore di MACO viene calcolato nel seguente modo.

$$L_{TOC swab (10 ppm criterion)} [mg/swab] = L_{TOC1cm2} [mg/cm^2] * S_{swab} [cm^2]$$

Dove:

$L_{TOC_{swab}}$ [mg/swab] = limite di TOC sulla superficie campionata tramite swab.

$L_{TOC1cm2}$ [mg/cm²] = limite di TOC su 1 cm² di superficie dell'equipment

S_{swab} [cm²] = superficie campionata attraverso swab (100 cm²)

$$L_{TOC1cm2} [mg/cm^2] = (X [mg] * BS [kg] / S_{TOT} [cm^2])$$

Dove:

$X = 10$ [mg]. Ovvero 10 mg di residuo per kg di prodotto lavorato successivamente sull'equipment.

BS [kg] = Batch size minimo di prodotto lavorato successivamente sulla linea (30 kg)

S_{TOT} [cm²] = superficie totale dell'equipment a contatto con il prodotto

I parametri per il calcolo ed i risultati ottenuti hanno considerato i seguenti dati:

- $S_{TOT} = 23,93 \text{ m}^2 = 239.300 \text{ cm}^2$
 - vasca $\rightarrow 9,11 \text{ m}^2$
 - coppa forata int/est $\rightarrow 11,34 \text{ m}^2$
 - condotto $\rightarrow 1,69 \text{ m}^2$
 - oblò $\rightarrow 0,39 \text{ m}^2$
- $V_{Rinse} = 200 \text{ L}$
- $S_{swab} = 100 \text{ cm}^2$
- BS (batch size minimo) = 30 kg

In Tabella IX si riportano i risultati ottenuti:

Tabella IX: Riepilogo MACO swab calcolati

Limite	Valore	UM
$L_{TOC \text{ swab}} [\text{mg/swab}]$ (rinse)	0,84	mg/swab
$L_{TOC \text{ swab}} [\text{mg/swab}]$ (criterio 10 ppm)	0,13	mg/swab

Il limite più restrittivo (e quindi selezionato) risulta essere di 0,13 mg/swab.

Inoltre, è stata campionata l'acqua d'osmosi considerata "bianco" per l'analisi TOC. Di seguito, sono riassunti i test da eseguire per ogni tipologia di campionamento.

Tabella X: Limiti chimici per rinse e swab

Campionamento	Test	Metodo	Limite	UM
Swab	TOC	EPA 9060 A 2004	< 0,13	mg/swab
	TOC		< 10	ppm
Rinse e osmosi	pH	APAT CNR IRSA 2060 Man 29 2003	$\pm 10\%$ bianco	/

Aspetti microbiologici

I valori limite indicati in Tabella XI derivano direttamente dai parametri di controllo stabiliti nel manuale di autocontrollo, sviluppato in conformità alle normative nazionali e alle linee guida emanate dal Ministero della Salute.

I campionamenti verranno effettuati sia dall'acqua di ultimo risciacquo (rinse) che attraverso tamponi (swab).

Tabella XI: Limiti microbiologici per rinse e swab

Campionamento	Test	Metodo	Limite	UM
Swab	TAMC	ISO 18593:2018 (escluso PAR 7) + ISO 4833-1:2013/Amd 1:2022	< 50	UFC/cm ²
	TYMC	ISO 18593:2018 (escluso PAR 7) + NF V 08-059 2002	< 5	
	Enterobacteriaceae	ISO 18593:2018 (escluso PAR 7) + ISO 21528-2:2017	< 5	
Rinse e osmosi	Carica microbica a 22°C	ISO 6222:1999	< 200	UFC/mL
	Enterococchi intestinali	ISO 78992:2000	Assente	UFC/100mL
	Batteri coliformi	ISO	Assente	UFC/100mL
	<i>E. coli</i>	93081:2014/Amd 1:2016	Assente	UFC/100mL

La Tabella XI riporta una lista di microrganismi indicatori di qualità quali gli Aerobi totali (TAMC), lieviti e muffe (TYMC) ed enterobatteriacee riferiti al campionamento (Swab) e alti microrganismi come i batteri psicrofili (conformi), enterococchi intestinali, batteri coliformi e *E. coli* questi ultimi assenti, confermando un'assenza di contaminazione di origine fecale.

Questi microrganismi provengono da tre fonti principali: l'ambiente di produzione, gli addetti alla produzione, e le materie prime compresa l'acqua. Alcuni organismi sono generatori di spore, che sono generalmente quelli più resistenti agli stress ambientali, compresi i processi di sterilizzazione.

Secondo la Farmacopea Europea, gli esami microbiologici di prodotti non sterili hanno come obiettivi la determinazione di due indici:

- **TAMC** (total aerobic microbial count) ovvero la conta dei batteri aerobi totali;
- **TYMC** (total combined yeast/moulds count) ovvero la conta di muffe e lieviti.

Considerando le informazioni fornite dal fornitore del macchinario e dall'esperienza degli operatori, sono stati individuati due punti di campionamento tramite swab della superficie interna della coppa forata:

- La superficie prossimale all'innesto dei **vomeri**, poiché si forma un angolo tra le due parti, potenzialmente più difficoltoso da pulire.
- La **superficie forata**, in quanto sul bordo dei fori potrebbe rimanere adeso del materiale.

Metodi e piano di campionamento

Rinse

I campioni dell'acqua di risciacquo vengono prelevati al termine della procedura di pulizia dell'apparecchiatura e solamente dopo aver superato il test di ispezione visiva. Il campione di risciacquo viene raccolto all'uscita dell'apparecchiatura in un flacone da 1 L pulito. Dopo aver raccolto il campione di risciacquo, si mette l'etichetta di identificazione sul flacone del campione e si invia al laboratorio esterno per la determinazione dei residui chimici e microbiologici.

Swab

- *Swab chimico*: estrarre il tampone umido dal kit di campionamento, facendo attenzione a non toccare la punta del tampone. Questo, deve essere strofinato su una superficie di 10x10 cm, inizialmente in direzione verticale, senza alterare il lato del tampone utilizzato. Successivamente, si ruota il tampone su un lato diverso, si strofina orizzontalmente assicurandosi che tutta la superficie venga ripulita. Infine, il tampone viene sigillato in una provetta di vetro e inviato al laboratorio esterno per l'analisi, con un'adeguata etichettatura.
- *Swab microbiologico*: tamponare un'area di 5x5 cm (o 10x10 cm) con movimenti verticali e orizzontali utilizzando un tampone sterile umidificato in soluzione salina. In seguito, si trasferisce il tampone in una provetta contenente 10 ml di soluzione salina sterile, la soluzione all'interno della provetta è costituita da diluente sterile tamponato di peptoni in acqua in grado di bloccarne la crescita batterica mantenendo la sopravvivenza dei batteri eventualmente

presenti fino all'arrivo in laboratorio per le successive analisi. Il diluente è conforme alla ISO 18593:2018.

La provetta opportunamente identificata viene consegnata al laboratorio esterno per l'analisi microbiologica.

Il piano di campionamento per questo studio di convalida è riassunto in Tabella XII:

Tabella XII: Piano analitico per ogni run di convalida

Campione	Visivo	TOC	Conduc.	pH	Micro
Osmosi	\	1	1	1	1 acque
Rinse	\	3	3	3	3 acque
Swab vomeri	3	3	\	\	3 swab
Swab superficie forata	3	3	\	\	3 swab

La tabella XII rappresenta il piano di campionamento eseguito per lo studio di convalida, dei vari siti campionati all'interno del macchinario.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Lo studio è iniziato da un'analisi delle materie prime sotto il punto di vista tossicologico, lo studio si è sviluppato in diversi step che hanno coinvolto reparti aziendali diversi, come l'ufficio qualità, l'ufficio regolatorio e il reparto produttivo dell'azienda.

Con l'ufficio regolatorio è stato svolto uno studio tossicologico di tutte le materie prime che andavano a comporre gli integratori alimentari che richiedevano filmatura, valutando due aspetti riguardanti la severità chimica e microbiologica; è stata, quindi, valutata per ciascuna materia prima la solubilità in acqua e la facilità di rimozione dalla superficie. Oltre a questi due parametri è stata analizzata anche la probabilità che si riferiva al n° di lotti per quello specifico integratore alimentare prodotto nel periodo 2023 - aprile 2024. Grazie all'assegnazione di un determinato punteggio per parametro relativamente a ciascuna materia prima, è stato possibile delineare l'**RPN** (Risk Priority Number) il quale permette l'identificazione del prodotto "worst-case" chimico e microbiologico.

Il worst-case chimico è stato riscontrato per i **prodotti 8 e 5**, inoltre, quest'ultimo è stato delineato anche come worst-case microbiologico.

Il worst-case microbiologico per gli **Enzimi digestivi** è giustificabile per via della presenza di un ingrediente con severità microbiologica pari a 3, rappresentato da un estratto secco di radice di zenzero, il quale, rispetto alle altre componenti (e integratori) apporta una carica microbica più impattante.

A seguito dell'analisi tossicologica della materia prime anche i detergenti utilizzati nelle procedure di pulizia (detergente basico COSA CIP 96 e detergente acido COSA CIP 72) sono stati analizzati sotto questo aspetto.

Il quarto step della CV è stata l'esecuzione dei campionamenti per il worst-case microbiologico (Enzimi digestivi, prodotto 5), nello specifico:

- Rinse (acqua di risciacquo)
- Swab microbiologico
- TOC (Total Organic Carbon)

In questa fase non si sono riscontrati problemi analitici, infatti i campioni sono stati raccolti ed inviati ad un laboratorio accreditato per le analisi.

Il metodo analitico TOC (Total Organic Carbon) viene utilizzato per valutare la presenza di sostanze contenenti carbonio a concentrazioni molto basse, al fine di determinare il residuo chimico di contaminante.

Sono stati valutati determinati prodotti che vengono in contatto con la bassina, attraverso uno studio è stato individuato il worst-case rappresentato dal prodotto 5 a base di enzimi utili per la funzione digestiva di tutti i macronutrienti, anche del lattosio, arricchito con Zenzero per l'eliminazione dei gas intestinali e della sensazione di nausea.

Questo integratore alimentare in base all'indice RPN riscontrato, dato da una scarsa solubilità in acqua, una severità chimica e microbiologica più alta della media, quest'ultima dovuta anche alla presenza di derivato di pianta (Zenzero).

I calcoli sono stati eseguiti in relazione ai dati ottenuti dai campionamenti:

Come si può osservare in tabella XIII, sono specificati i risultati sull'acqua d'osmosi e di risciacquo (Rinse) sia per il campionamento chimico (TOC) sia per quello microbiologico.

Rinse

Tabella XIII: Risultati analisi su osmosi e rinse

Test	UM	Specifica	OSMOSI	RUN 1	RUN 2	RUN 3
TOC	ppm	< 10	1,1 ^[1]	< 1	< 1	< 1
pH	\	± 10% osmosi	6,3 [5,67/6.93]	6,7	6,3	6
CBT Carica microbica a 22°C ^[2]	UFC/mL	< 200	45 ^[1]	5	77	110
Enterococchi intestinali	UFC/100mL	Assente	Assente	Assente	Assente	Assente
Batteri coliformi	UFC/100mL	Assente	Assente	Assente	Assente	Assente
<i>E. coli</i>	UFC/100mL	Assente	Assente	Assente	Assente	Assente

Nota 1: In considerazione ai risultati dei 3 RUN, gli esiti di TOC e CBT sul campione di acqua d'osmosi sono anomali anche se ad ogni modo conformi.

Nota 2: I risultati di CBT non sono da considerarsi affidabili per la modalità di campionamento che si è resa necessaria in quanto la bottiglia è stata immersa completamente nel liquido e la superficie esterna (potenzialmente sporca) è andata a contatto con il rinse nel condotto di scarico. Inoltre, non sono indicativi del grado di pulizia finale in quanto la macchina opera un'asciugatura terminale con aria a oltre 60 °C. Pertanto, le superfici interne del macchinario sono sottoposte ad un trattamento abbattente successivo.

Swab

Tabella XIV: Risultati analisi swab su coppa forata

Test	UM	Specifica	Sample	RUN 1	RUN 2	RUN 3
TOC ^[1]	mg/swab	< 0,13	Coppa forata	< LoQ	< LoQ	< LoQ
TAMC	UFC/cm ²	< 50		< 0,10	< 0,10	< 0,10
TYMC	UFC/cm ²	< 5		< 0,10	< 0,10	< 0,10
Enterobacteriaceae	UFC/cm ²	< 5		< 0,10	< 0,10	< 0,10

Tabella XV: Risultati analisi swab su vomeri

Test	UM	Specifica	Sample	RUN 1	RUN 2	RUN 3
TOC ^[1]	mg/swab	< 0,13	Vomeri	< LoQ	< LoQ	< LoQ
TAMC	UFC/cm ²	< 50		< 0,10	< 0,10	< 0,10
TYMC	UFC/cm ²	< 5		< 0,10	< 0,10	< 0,10
<i>Enterobacteriaceae</i>	UFC/cm ²	< 5		< 0,10	< 0,10	< 0,10

Nota 1: Limite di quantificazione LoQ = 0,030 mg/swab

I risultati delle analisi hanno mostrato che il processo di pulizia ha rimosso efficacemente tutti i residui, i contaminanti e i detergenti mirati dalle superfici delle apparecchiature entro i criteri di accettazione definiti. Non è stata osservata alcuna contaminazione incrociata o carryover evidente.

I risultati riscontrati sia per l'aspetto microbiologico (swab microbiologico) sia per l'aspetto chimico (TOC) sono stati ottimali. Relativamente gli esiti di TOC e CBT sul campione di acqua d'osmosi si sono rivelati anomali anche se ad ogni modo conformi.

I risultati della convalida della pulizia dimostrano che il processo adottato per la bassina soddisfa i requisiti stabiliti, garantendo l'efficace rimozione di residui, contaminanti e detergenti. Le procedure, i prodotti e i parametri impiegati sono stati valutati come appropriati per assicurare la pulizia microbiologica e chimica dell'attrezzatura, prevenendo così il rischio di cross contamination.

In conclusione, la convalida ha confermato la piena conformità del processo di pulizia.

CONCLUSIONE

Lo studio di tesi ha contribuito significativamente alla garanzia della sicurezza alimentare nella produzione di integratori attraverso l'adozione della procedura di Cleaning Validation sviluppata, che potrebbe essere applicata ad altre realtà produttive, garantendo standard igienici elevati e prodotti sicuri per i consumatori come è stato dimostrato attraverso questo elaborato di tesi.

Tuttavia, si sono riscontrate difficoltà e limiti del metodo applicato per la difficoltà di gestione e difficoltà nel reperire i campioni, per la necessità di dover fermare la produzione per poter campionare correttamente.

Si ritiene ed è dimostrato dallo studio di tesi che, la validazione della Pulizia rappresenta un pilastro fondamentale per la sicurezza e la qualità degli integratori alimentari. La convalida delle procedure di pulizia che le aziende produttrici possono garantire nella produzione di integratori di alta qualità, privi di contaminanti e sicuri per il consumo permette la vendita e l'utilizzo anche da consumatori molto esigenti.

La lettura dei risultati può non essere immediata, dato che si fa riferimento a parametri chimico/microbiologici che vanno a constatare un significato preciso del risultato ottenuto, dovendo evidenziare delle premesse che spieghino i parametri d'utilizzo. L'impiego di una figura aziendale formata sul risk assessment può dare un grande aiuto alle aziende nel settore alimentare, instaurando le basi per la sicurezza igienico-sanitaria degli ambienti di produzione, instaurando degli standard da seguire nel nuovo campo tecnologico alimentare.

Lo scopo potrebbe essere quello di diffondere un concetto di pensiero per le nuove aziende, il **"Food Safety by Design"** il quale racchiude i principi fondamentali dettati dall'EFSA.

- **Food Safety Objectives;**
- **Hazard Analysis Critical Control Point System;**
- **Good Hygienic Practices;**
- **Good Manufacturing Practices.**

Inoltre, rappresenta una guida nel campo della sicurezza igienico-sanitaria che può essere seguito e preso come spunto da altre aziende simili nel settore alimentare.

La Cleaning Validation può portare a un riconoscimento in termini di garanzia e conformità di processo sia da un punto di vista nazionale che internazionale, il concetto di pulizia è molto importante da un punto di vista sia legislativo che per la qualità del prodotto garantendo la massima tutela del consumatore.

La consapevolezza nelle nuove aziende di apportare misure di garanzia e conformità della qualità di processo risulta essere sempre più crescente, anche da parte di un mercato sempre più tutelante a livello normativo.

Le considerazioni e le conclusioni offerte dallo studio di tesi trovano le competenze necessarie, nella figura del Tecnico della prevenzione, professionista preparato e competente per la diffusione di un messaggio nei confronti delle nuove realtà produttive, per la tutela del lavoratore e per la tutela del cliente in ambito di igiene e sanità pubblica.

L'adozione della Validazione della Pulizia efficace si traduce in maggiore tutela della salute dei consumatori, in una migliore immagine per l'azienda ed in un vantaggio competitivo sul mercato godendo di ottime referenze.

BIBLIOGRAFIA

Mead William J., Dietary Supplement Good Manufacturing Practices, Informa Healthcare, London, 2012

Stanga Mario, Sanitation, Cleaning and Disinfection in the Food Industry, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, England, 2010

Tamine Adnan, Cleaning-in-Place, Dairy, Food and Beverage Operations. Blackwell Publishing Ltd, England, 2008

Manuale d'uso e manutenzione Effecta 200

testi di riferimento calcoli

Nidhi K. S., Nitin D. CLEANING VALIDATION: REGULATORY EXPECTATIONS AND METHODOLOGICAL CHALLENGES, 2023, 12-17

Themis K. Cleaning Validation, 2022, 1-32

Riferimenti Normativi

- Direttiva 2002/46/CE
- Reg. (UE) 1169/2011
- Decreto legislativo 21 maggio 2004, n. 169

SITOGRAFIA

Riferimenti:

Importance of Cleaning Validation in Pharmaceutical Production, <https://www.ecolab.com/articles/2019/10/cleaning-validation-the-basics> (accessed on 7 July 2024).

Process Validation, <https://www.merieuxnutrisciences.com/eu/food/laboratory-testing/specific-studies/process-validation/> (accessed on 13 July 2024).

Pharmaceutical Technology, Washing and Disinfection Technologies for Pharmaceuticals, <https://www.pharmaceutical-technology.com/contractors/cleanroom/last-technology/> (accessed on 29 July 2024).

Francesco Centorrino, Controllo microbiologico: TAMC e TYMC, <https://www.microbiologiaitalia.it/test-microbiologici/controllo-microbiologico/> (accessed on 25 August 2024).

Tesi:

Istituto zooprofilattico sperimentale del lazio, La valutazione del rischio in sicurezza alimentare, <https://www.izslt.it/la-valutazione-del-rischio-nella-sicurezza-alimentare/> (accessed on 19 August 2024).

J. Rodehamel, Validation of Cleaning Processes, <https://www.fda.gov/inspections-compliance-enforcement-and-criminal-investigations/inspection-guides/validation-cleaning-processes-793> (accessed on 24 August 2024).

Cleaning Validation Guidelines in Pharma Industry, <https://www.leucine.io/cleaning-validation/cleaning-validation-guidelines-a-complete-list-2024> (accessed on 29 August 2024).

<https://www.leucine.io/cleaning-validation> (accessed on 20 August 2024).

Integratori alimentari:

Ministero della salute

<https://www.salute.gov.it/portale/alimentiParticolariIntegratori/menuContenutoAlimentiParticolariIntegratori.jsp?lingua=italiano&area=Alimenti%20particolari%20e%20integratori&menu=integratori> (accessed on 9 August 2024).

EFSA: <https://www.efsa.europa.eu/it/topics/topic/food-supplements> (accessed on 7 August 2024).

ALLEGATI

Elenco degli allergeni alimentari secondo Reg. (UE) 1169/2011

<p>Cereali contenenti glutine: grano (tra cui farro e grano khorasan), segale, orzo, avena o i loro ceppi ibridati prodotti derivati, tranne: a) sciroppi di glucosio a base di grano, incluso destrosio; b) maltodestrine a base di grano; c) sciroppi di glucosio a base di orzo; d) cereali utilizzati per la fabbricazione di distillati alcolici, incluso l'alcol etilico di origine agricola</p>
Crostacei e prodotti a base di crostacei
Uova e prodotti a base di uova
<p>Pesce e prodotti della pesca tranne: a) gelatina di pesce utilizzata come supporto per preparati di vitamine o carotenoidi; b) gelatina o colla di pesce utilizzata come chiarificante nella birra e nel vino</p>
Arachidi e prodotti a base di arachidi
<p>Soia e prodotti a base di soia, tranne: a) olio e grasso di soia raffinato; b) tocoferoli misti naturali (E306), tocoferolo D-alfa naturale, tocoferolo acetato D-alfa naturale, tocoferolo succinato D-alfa naturale a base di soia; c) oli vegetali derivati da fitosteroli e fitosteroli esteri a base di soia; d) estere di stanolo vegetale prodotto da steroli di olio vegetale a base di soia</p>
<p>Latte e prodotti a base di latte (incluso lattosio), tranne: a) siero di latte utilizzato per la fabbricazione di distillati alcolici, incluso l'alcol etilico di origine agricola; b) lattitolo.</p>

<p>Frutta a guscio: mandorle (<i>Amygdalus communis</i> L.), nocciole (<i>Corylus avellana</i>), noci (<i>Juglans regia</i>), noci di acagiù (<i>Anacardium occidentale</i>), noci di pecan [<i>Carya illinoensis</i> (Wangenh.) K. Koch], noci del Brasile (<i>Bertholletia excelsa</i>), pistacchi (<i>Pistacia vera</i>), noci macadamia o noci del Queensland (<i>Macadamia ternifolia</i>), e i loro prodotti, tranne per la frutta a guscio utilizzata per la fabbricazione di distillati alcolici, incluso l'alcol etilico di origine agricola</p>
Sedano e prodotti a base di sedano
Senape e prodotti a base di senape
Semi di sesamo e prodotti a base di semi di sesamo
Anidride solforosa e solfiti in concentrazioni superiori a 10 mg/kg o 10 mg/L in termini di SO ₂ totale da calcolarsi per i prodotti così come proposti pronti al consumo o ricostituiti conformemente alle istruzioni dei fabbricanti
Lupini e prodotti a base di lupini.
Molluschi e prodotti a base di molluschi