

# Evaluación de un producto bactericida aplicado por micronebulización

## Evaluation of a Bactericidal Product Applied by Micronebulization

Linares LH<sup>1\*</sup>, Guirin G<sup>2</sup>, Stambullian J<sup>3</sup>, Brusa V<sup>1</sup>, de la Torre JH<sup>1</sup>, Ortega EE<sup>1</sup>, Copes J<sup>1</sup>, Leotta GA<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata; <sup>2</sup>Universidad Nacional de Lanús; <sup>3</sup>Centro Estudios Infectológicos "Dr. Stamboulian", División Alimentos; <sup>4</sup>Instituto de Genética Veterinaria "Ing. Fernando Noel Dulout" (UNLP-CONICET La Plata), Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

\*Autor correspondiente. Correo electrónico del autor: [lucianolinares@hotmail.com](mailto:lucianolinares@hotmail.com)

**Resumen:** La contaminación ambiental puede representar un problema para la salud pública. El objetivo de este trabajo fue evaluar el poder bactericida de un producto a base de peróxido de hidrógeno y sales de plata aplicado mediante micronebulización. El estudio fue realizado en ambientes con distinta frecuencia de procedimientos operativos estandarizados de sanitización: un aula universitaria y un quirófano. Previo a la aplicación del producto bactericida se colectaron muestras de superficies y aire para recuento de mesófilos. A los 12 min de aplicado el producto se tomaron muestras ambientales para determinar el efecto inmediato. El efecto residual se evaluó hasta 17 h posteriores a la aplicación. En el aula los mayores recuentos iniciales se observaron en la lámpara y pisos. Luego de aplicado el producto los mejores resultados se observaron en el aire mientras que en las superficies los resultados fueron variables. En el quirófano, el mayor desarrollo pretratamiento se detectó en aire y pisos. El efecto inmediato tuvo una eficacia absoluta en todas las muestras excepto en pisos, mientras que el efecto residual arrojó resultados negativos hasta 17 h posteriores. La alternativa evaluada fue eficaz y novedosa. Es interesante desarrollar estos sistemas como herramienta para mejorar la eficiencia del procedimiento operativo estandarizado de sanitización en ambientes controlados a nivel industrial.

**Palabras clave:** peróxido de hidrógeno, contaminación ambiental, acción bactericida.

**Abstract:** Environmental contamination may represent a public health problem. We evaluated the bactericide power of a product containing hydrogen peroxide and silver salts applied by micronebulization in rooms with different frequency of *sanitation standard operating procedures*: a university classroom and an operating room. Before applying the bactericidal product, surface and air samples were collected for mesophilic count. Environmental samples were collected after 12 min of product application to determine the immediate effect. The residual effect was evaluated up to 17 h after application. In the classroom, the highest initial counts were observed on a lamp and floor. After application of the product, the best results were observed in the air whereas results were variable on the surfaces sampled. In the operating room, pre-treatment counts were higher in the air and floors. The immediate effect was totally efficient in all samples excepting floors, whereas the residual effect showed negative results up to 17 h after application. The alternative tested was effective and novel; therefore, its development would improve the efficiency of *sanitation standard operating procedures* in industrially controlled environments.

**Key words:** hydrogen peroxide, environmental contamination, bactericide action.

## Introducción

La contaminación ambiental con microorganismos potencialmente patógenos en superficies y aire de lugares de trabajo en hospitales, industria alimentaria y lugares públicos puede representar un problema para la salud pública (Herruzo *et al* 2014).

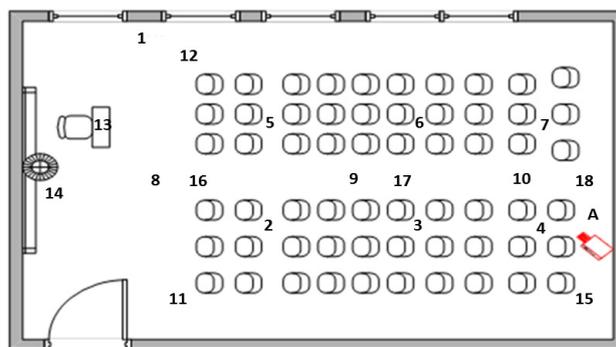
La limpieza tradicional con detergentes no siempre suele ser eficiente para eliminar estos microorganismos. Por este motivo, es de suma importancia contar con un sistema de desinfección que elimine eficazmente los microorganismos presentes en el aire y superficies ambientales, inclusive en sitios de difícil acceso (Carling *et al* 2010; Otter *et al* 2011). Uno de los productos mayormente utilizados es el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). Con la vaporización se consigue una reducción del número de microorganismos de entre 4 a 6  $\log_{10}$ . Este proceso demora alrededor de 5 h y utiliza  $H_2O_2$  al 30 %. La técnica de micronebulización utiliza una solución de  $H_2O_2$  al 5 % y, según el área de trabajo, la desinfección total se consigue en 2 a 3 h (Herruzo *et al* 2014). Este método es de fácil uso y eficiente frente a esporas, micobacterias y otras bacterias (Bartels *et al* 2008; Fu *et al* 2012; Grare *et al* 2008). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el poder bactericida de un producto a base de peróxido de hidrógeno y sales de plata aplicado por micronebulización en distintos ambientes.

## Materiales y Métodos

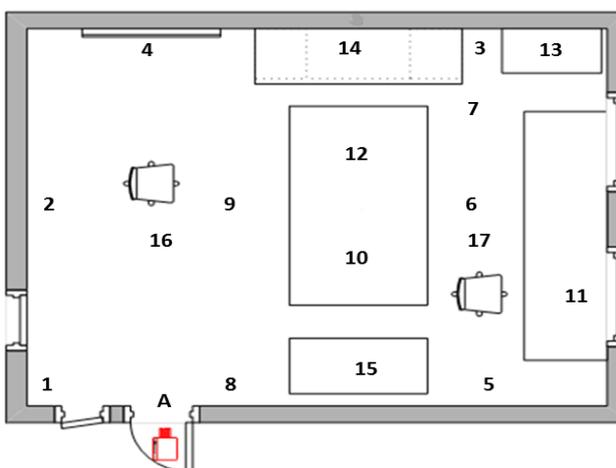
Se utilizó el sistema de micronebulización 99.99™ (La Fucina di Leonardo S.R.L., Bologna, Italia), mediante el cual se pulverizó una solución compuesta por  $H_2O_2$  al 5 %, sales de plata ( $Ag^+$ ) y agua bio-osmótica, permitiendo pulverizar hasta 1000  $m^3$  con una densidad de 7  $ml/m^3$ . Para poder alcanzar el efecto deseado es necesario que la solución bactericida esté en contacto con las superficies ambientales durante un tiempo mínimo de 12 min.

El trabajo fue realizado en dos ambientes con distinta frecuencia de procedimientos operativos estandarizados de saneamiento (POES): 1) un aula universitaria de 900  $m^3$ , con constante tránsito de personas. Durante la presente evaluación no se modificó el uso del aula; 2) un quirófano de pequeños animales de 180  $m^3$ . Este ambiente contaba con POES al comenzar y al finalizar la jornada, un primer paso de limpieza con detergente seguido de una etapa de desinfección con productos clorados. Durante la realización de la presente evaluación no se realizaron cirugías.

El equipo 99.99® se colocó en lugares estratégicos de cada uno de los ambientes para evaluar el alcance del producto (figuras 1 y 2). El proceso de desinfección tuvo una duración de 55 min en el aula y 20 min en el quirófano, aplicándose 800 ml de solución



Enviar texto de figura en word.



Enviar texto de figura en word.

bactericida en el primero y 600 ml en el segundo. La duración y el volumen de aplicación del producto fueron establecidos según las indicaciones del fabricante, las cuales dependen de las dimensiones del ambiente.

Se evaluó el efecto inmediato del producto sobre los microorganismos ambientales en el quirófano y en el aula. Se obtuvieron muestras en el momento previo a la aplicación del producto y 12 min posteriores. El efecto residual se evaluó en 4 zonas representativas de superficies, tomándose muestras en tiempos sucesivos hasta 17 h posteriores a la aplicación del producto, tanto en el quirófano como en el aula.

En el aula universitaria se colectaron muestras para recuento de mesófilos en la superficie de 15 sitios diferentes. Para la toma de muestras de aire se utilizó el equipo *Samp'l'air*® (AES CHEMUNEX, Princeton, Nueva Jersey, EE.UU.) según las instrucciones del fabricante. Se tomaron 3 muestras de aire con un flujo de muestreo de 100  $l/min$ .

En el quirófano se colectaron muestras para recuento de mesófilos en la superficie de 15 sitios. La toma de muestras de aire fue realizada en 2 zonas representativas, de la misma forma que en el aula universitaria.

La toma de muestras para el recuento de mesófilos se realizó con placas RODAC (bioMérieux, Lion, Francia) con *Plate Count Agar* (PCA, Britania, Buenos Aires, Argentina) con inhibidor de desinfectantes, incubándose durante 24 h a 37 °C según Norma ISO 4833 (2013). Luego se procedió al recuento de unidades formadoras de colonias (UFC).

## Resultados

En el aula universitaria, el mayor recuento inicial se obtuvo a partir de muestras tomadas de la lámpara, las cuales dieron origen a numerosas colonias, seguidas por las muestras del piso que llegaron a 152 UFC. A partir de muestras de los pupitres se observaron conteos desde 17 UFC hasta 90 UFC mientras que las del escritorio originaron 52 UFC. Los recuentos más bajos se obtuvieron a partir de muestras del respaldo y de debajo de las sillas, con ausencia o <10 UFC.

Luego de aplicar el producto se observaron resultados variables. La carga de mesófilos se mantuvo igual en sitios con mayor recuento inicial, como en la lámpara (>300 UFC) y en el piso (208 UFC). En las muestras tomadas del resto de las superficies se observó una disminución de los recuentos. En las de los pupitres el recuento más elevado observado fue de 37 UFC, a partir de las del escritorio se contaron <10 UFC y en las sillas se mantuvieron los bajos conteos observados inicialmente (<10 UFC).

El estudio del efecto residual demostró que los pupitres y el pizarrón mantuvieron el descenso observado a los 12 min, con 11 UFC y ausencia, respectivamente. En el piso no se observó disminución del número ya que a las 17 h se contaron 128 UFC.

En las muestras de aire se observaron inicialmente conteos de 12 a 17 UFC, disminuyendo su cantidad de 0 y <10 UFC a los 12 minutos de aplicar el producto.

En el quirófano, los recuentos en superficies con carga bacteriana elevada antes de la aplicación del producto se observaron a partir de pisos (74 UFC) y de mesadas (28 UFC). En el equipo, el aire acondicionado y la lámpara se obtuvieron muestras que arrojaron recuentos de 20, 16 y <10 UFC, respectivamente. En las paredes y la camilla no se observó crecimiento bacteriano.

A los 12 min de la aplicación de la solución, sólo se observó crecimiento en las muestras del piso (entre <10 UFC y 11 UFC), demostrando una eliminación total de las bacterias en el resto de las superficies.

El efecto residual de la acción bactericida alcanzó las 17 h, siendo en este tiempo todas las muestras negativas.

El efecto bactericida en el aire fue absoluto, ya

que no se observó crecimiento de bacterias luego de la aplicación del producto.

## Discusión y Conclusiones

La aplicación de soluciones bactericidas por micronebulización, luego de un correcto procedimiento de limpieza, es una alternativa a la desinfección tradicional para reducir la carga de bacterias en lugares públicos y en ambientes controlados. Sin embargo, es necesario establecer la frecuencia de aplicación ideal y la dosificación de la solución bactericida de acuerdo con las características físicas del ambiente a sanitizar.

En el aula, la acción bactericida evaluada fue afectada por las características edilicias del ambiente (dimensiones), la ausencia de aplicación de un POES y el constante tránsito de personas. Es interesante considerar la implementación de un POES en espacios públicos que justifique el uso de las nuevas alternativas de desinfección como herramienta para controlar el ambiente.

A diferencia del aula, en ambientes reducidos, controlados y que aplican POES rutinariamente, como es el caso del quirófano, la solución bactericida fue efectiva en el aire y en todas las superficies ambientales. Se logró reducir la carga de mesófilos a más de 6 m de distancia, resultados que concuerdan con estudios previos (Boyce 2007; Otter *et al* 2006; Shapey *et al* 2008).

Si bien los productos clorados son utilizados con frecuencia y son recomendados para la desinfección de ambientes hospitalarios (Dubberke *et al* 2008; Vonberg *et al* 2008), pueden presentar ciertos inconvenientes como la utilización manual del producto, el tiempo dedicado al proceso, la corrosión de materiales y la producción de vapores tóxicos, etc. La combinación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y sales de plata produce un potente efecto oxidante en los microorganismos ya que bloquea su sistema respiratorio enzimático y actúa sobre el ADN y la pared bacteriana (Silver 2003). Se demostró que la aplicación de esta solución tiene varias ventajas con respecto a los productos clorados, entre ellas poseer baja toxicidad, ser de fácil uso y no causar efectos corrosivos (Eckstein *et al* 2007).

En este trabajo fue posible demostrar que en un ambiente controlado como un quirófano es posible lograr un efecto inmediato y residual capaz de eliminar/atenuar las bacterias presentes. En este ambiente el efecto residual perduró hasta las 17 h de aplicado el producto. Sin embargo, es necesario realizar evaluaciones del sistema de micronebulización en ambientes contaminados experimentalmente con microorganismos implicados en casos clínicos de infecciones nosocomiales (Herruzo *et al* 2014) e inclusive validarlo con mayor cantidad de estudios.

El método de desinfección con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y sales de plata aplicadas por micronebulización es una alternativa eficaz y novedosa, aunque no se encuentra disponible en el mercado nacional. Sería interesante desarrollar este tipo de sistemas destinándolos a mejorar la eficiencia de los POES en ambientes controlados, tales como quirófanos, salas de envasado de productos farmacológicos, salas de elaboración de biológicos y empresas elaboradoras de alimentos de Argentina.

## Referencias Bibliograficas

Bartels MD, Kristoffersen K, Slotsbjerg T, Rohde SM, Lundgren B, Westh H. Environmental methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) disinfection using dry-mist-generated hydrogen peroxide. *J Hosp Infect* 2008; 70:35-41.

Boyce JM. Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection. *J Hosp Infect* 2007; 65(2):50-4.

Carling PC, Parry MF, Bruno-Murtha LA, Dick B. Improving environmental hygiene in 27 intensive care units to decrease multidrug-resistant bacterial transmission. *Crit Care Med* 2010; 38:1054-9.

Dubberke E, Gerding DN, Classen D, et al. Strategies to prevent *Clostridium difficile* infection in acute care hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29 (1):S81-S92.

Eckstein BC, Adams DA, Eckstein EC, et al. Reduction of *Clostridium difficile* and vancomycin-resistant *Enterococcus* contamination of environmental surfaces after an intervention to improve cleaning methods. *BMC Infect Dis* 2007; 7:61.

Fu TY, Gent P, Kumar V. Efficacy, efficiency and safety aspect of hydrogen peroxide vapour and aerosolized hydrogen peroxide room disinfection systems. *J Hosp Infect* 2012; 80:199-205.

Grare M, Dailloux M, Simon L, Dimajo P, Laurain C. Efficacy of dry mist hydrogen peroxide (DMHP) against *Mycobacterium tuberculosis* and use of DMHP for routine decontamination of biosafety level 3 laboratories. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 2955-8.

Herruzo R, Vizcaíno MJ, Herruzo I. Quantifying Glosair™ efficacy for surface disinfection of American Type Culture Collection strains and microorganisms recently isolated from intensive care unit patients. *J Hosp Infect* 2014; 87:175-8.

International Standardization Organization. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the enumeration of microorganism – Part 1: colony count at 30 degrees C by the pour plate technique. ISO 4833-1:2013.

Otter A, Yezli S, French GL. The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011; 32:687-99.

Otter JA, French GL, Adams NM, Watling D, Parks MJ. Hydrogen peroxide vapour decontamination in an overcrowded tertiary care referral centre: some practical answers. *J Hosp Infect* 2006; 62:384-5.

Shapey S, Machin K, Levi K, Boswell TC. Activity of a dry mist hydrogen peroxide system against environmental *Clostridium difficile* contamination in elderly care wards. *J Hosp Infect* 2008; 70:136-41.

Silver S. Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. *FEMS Microbiol Rev* 2003; 27:341-53.

Vonberg RP, Kuijper EJ, Wilcox MH, et al. Infection control measures to limit the spread of *Clostridium difficile*. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:2-20.

## Agradecimientos

Los autores agradecen la colaboración del Dr. Filomena y de la empresa Ecopharma S.A. por proveer el sistema de desinfección 99,99® y el equipo de micronebulización.

## Conflictos de intereses

Todos los autores declaran que no existen conflictos de intereses, incluyendo las relaciones financieras, personales o de otro tipo con otras personas u organizaciones que pudieran influir de manera inapropiada en el trabajo.