

Prueba piloto para determinar la eficiencia del uso de una solución de Dióxido de cloro (Bioxydes Plus) en la desinfección en áreas de oficinas y laboratorios de la Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar, ESPOL.

Víctor Osorio Cevallos, Ph. D. & Jonathan Castro Lara, M.Sc.

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.

Introducción.

La epidemia del COVID-19 ha hecho que muchas personas por primera vez se enteren que el Dióxido de Cloro (ClO_2) es un poderoso desinfectante. Luego de una comparación científica de varios métodos de desinfección y prevención epidemiológica, tanto físicos como químicos, el Dióxido de Cloro se ha convertido en uno de los desinfectantes estrella debido a sus sobresalientes características de seguridad y eficiencia, así como la no toxicidad para los humanos a las concentraciones requeridas, además de no dejar residuos luego de su uso.

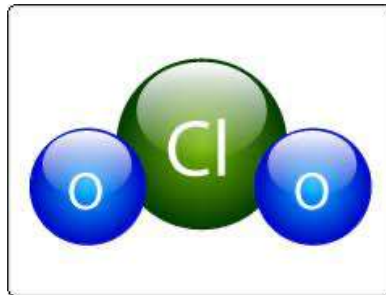


Figura 1. Molécula de Dióxido de cloro ClO_2 . Tomado de: www.yamathosupply.com

Sobre el principio de desinfección, el dióxido de cloro usa su fuerte capacidad de oxidación para capturar electrones de la superficie del virus, lo que hace que el sistema de enzimas celulares se inactive y muera naturalmente, de esta manera se logra la desinfección y esterilización. En 2012, Ogata (Research Institute, Taiko Pharmaceutical Co.) demostró que el dióxido de cloro inactiva el virus de la gripe (de similares características del coronavirus) por la oxidación de residuos de los aminoácidos cisteína, tirosina y triptófano presentes en la proteína de las puntas del virus (spikes); aboliendo así su capacidad de unión a los receptores. Es interesante señalar que la proteína presente en las puntas (spikes) del nuevo coronavirus SARS_CoV-2 contienen 54 tirosinas, 12 triptófanos y 40 residuos de cisteína. En una solución acuosa todos estos residuos son capaces de reaccionar con ClO_2 al igual que los aminoácidos libres, inactivando el coronavirus extremadamente rápido incluso con una solución de dióxido de cloro muy diluida.

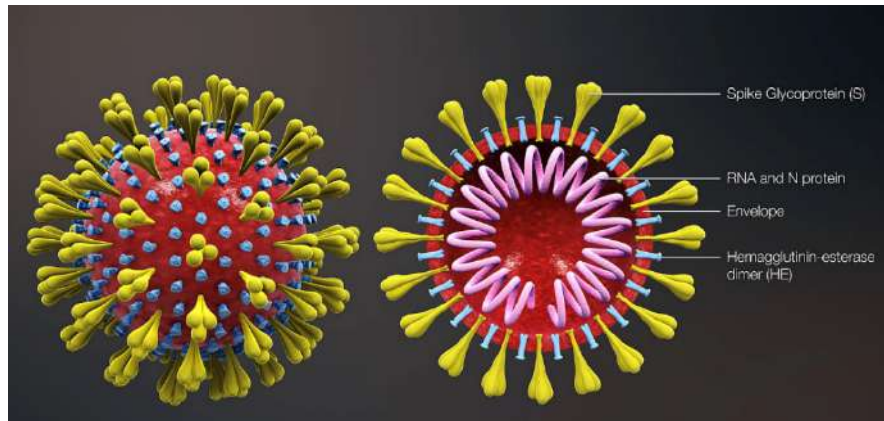


Figura 2. La glicoproteína de los picos (spikes) está compuesta por aminoácidos y el dióxido ataca tres de ellos (cisteína, tirosina y triptófano). Tomado de: American Society for Microbiology.

La molécula del gas de dióxido de cloro tiene 0,124 nm, siendo mil veces más pequeña que el coronavirus (120 y 160 nm); y tiene características de excelente difusibilidad y penetrabilidad que le permite acceder a sitios que son difíciles de desinfectar con agentes líquidos convencionales.

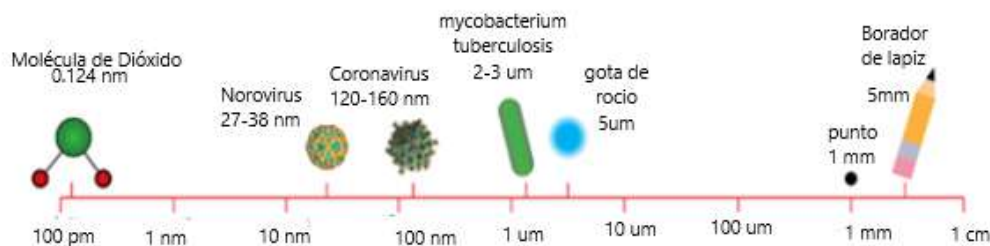


Figura 3. Ilustración del tamaño de varias partículas, incluyendo el dióxido de cloro, bacterias y virus. Tomado de <https://clordisys.com>

La desinfección del dióxido de cloro tiene una especificidad muy alta, es decir, sólo funciona en patógenos mononucleares y no nucleares (la mayoría de los virus respiratorios incluyendo COVID-19 pertenecen a esta categoría), pero no es eficaz en organismos multicelulares. Según el Informe de Análisis Toxicológico de Dióxido de Cloro y Clorato emitido por el Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos (HHS, por sus siglas en inglés) en 2020, hasta ahora, ningún estudio toxicológico ha demostrado que la administración oral de dióxido de cloro puede causar la muerte o carcinogénesis en los seres humanos, y no ha habido informes que demuestren que la exposición de la piel humana al dióxido de cloro puede causar cáncer y la muerte, por lo que actualmente considero un método de desinfección más seguro que el cloro. Esta es también la razón fundamental por la que la Organización Mundial de la Salud (OMS) lo recomienda como el único desinfectante A1 seguro y fiable.

En el escenario de aplicación de la desinfección del dióxido de cloro estipulado en las Normas Sanitarias para desinfectantes de dióxido de cloro (GB 26366-2010), China propuso específicamente la desinfección para "superficies de objetos de uso general", es decir, la desinfección de objetos utilizados para satisfacer las necesidades diarias en los hogares y lugares públicos (mesas, sillas, artículos sanitarios, manijas de puertas y ventanas, pasamanos, asientos y asas de autobús, juguetes, herramientas, etc.).

Además, un gran número de estudios han demostrado el efecto sobresaliente del dióxido de cloro en la desinfección del aire, la desinfección superficial en espacios específicos y la desinfección de tejidos y equipos. El ejército estadounidense y los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés) han utilizado la desinfección del aire con dióxido de cloro como principal medio de desinfección seguro y eficiente contra el virus del Ébola y los ataques bioquímicos de ántrax. Un gran número de estudios en China también han confirmado que una concentración segura del cuerpo humano directamente expuesto al gas dióxido de cloro se obtiene inicialmente como 0,090 mg/m³/2h/d; esta concentración determinada como segura, ha sido capaz de asegurar la esterilización efectiva de bacterias y virus.

Materiales y métodos.

Se realizaron tres pruebas para medir la eficiencia de una solución desinfectante a base de dióxido de cloro (Bioxydes Plus) en la desinfección de oficinas y laboratorio de FIMCM. La primera prueba consistió en colocación de varios recipientes (beakers) con 200ml de Bioxydes Plus en 3 puntos de una oficina de 30m² (Oficina de la Coordinación de Acuicultura) y se dejó actuar durante 5 días. Esta oficina no había sido desinfectada y limpiada por más de un año debido a las restricciones de la pandemia por Covid-19. Pasado este tiempo, se realizaron pruebas de la calidad microbiológica del aire de la oficina, utilizando placas de Agar de Tripticasa de Soya (TSA – Difco), para la recuperación de bacterias totales; también se utilizó el mismo agar TSA (Difco) enriquecido con Dextrosa al 2% y suplementado con Enrofloxacin para inhibir el crecimiento bacteriano y favorecer la recuperación de hongos.

Las placas con los medios de cultivo fueron colocadas cerca de los puntos donde se situaron los recipientes con Bioxydes Plus, como se muestra en la imagen 1. Para medir la carga microbiana en un punto no expuesto al Bioxydes Plus, se colocaron placas en un cuarto punto donde no se había puesto recipiente alguno con el desinfectante. Las placas se mantuvieron abiertas durante 30 minutos para capturar los microorganismos que se encontraban en el aire.



Imagen 1. Se observan la ubicación de los recipientes con Solución de Bioxydes Plus y junto a estos, se situaron las placas con los medios de cultivo para la recuperación de bacterias y hongos.

La segunda prueba fue realizada en el laboratorio de Patología, donde no se midió la calidad del aire atmosférico del área total del inmueble, sino el aire que se encontraba dentro de dos cabinas de flujo para PCR (Marca: Lab Claire, Modelo: PCR 6, Serie: PCR6-411 y PCR6-417) con las que cuenta este laboratorio. En una de las cabinas se colocó un recipiente con 200 ml de Bioxydes Plus, y al mismo tiempo se colocaron 2 placas con medios de cultivo de Agar de Tripticasa de Soya (TSA – Difco), para la recuperación de bacterias totales; así mismo se utilizó el mismo agar TSA (Difco) enriquecido con Dextrosa al 2% y suplementado con Enrofloxacin para inhibir el crecimiento bacteriano y favorecer la recuperación de hongos, como se muestra



en la imagen 2. El tiempo en que se dejó actuar el Bioxydes Plus y que se mantuvieron abiertas las placas con medios de cultivo fue de 30 minutos.

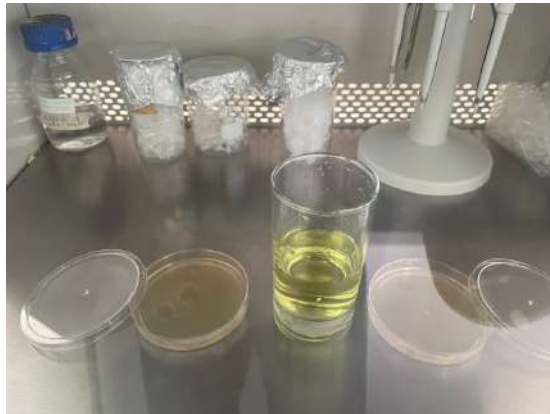


Imagen 2. Cámara de flujo laminar en la que se colocaron 200ml de Bioxydes Plus y placas con medios de cultivo para testear el aire del interior de la cámara.

En la segunda cámara, se colocaron las placas con medios de cultivos y se mantuvieron abiertas durante 30 minutos al igual que en la primera cámara, con la diferencia de que en esta cámara no se colocó recipiente con Bioxydes Plus (Ver Imagen 3).



Imagen 3. Segunda cámara de flujo laminar en donde solo se colocaron las placas con medios de cultivo para la recuperación de microorganismos encontrados en el aire interior de la cámara.

Cabe mencionar que las pruebas que se llevaron a cabo dentro de las cámaras de flujo laminar no estaban influenciadas por la filtración del aire de las cámaras a través de los filtros HEPA, porque no se encendieron en ningún momento, justamente para evitar la incidencia de este proceso. Así mismo, los cultivos realizados se incubaron por 5 días a temperatura ambiente en ausencia de luz.

Adicional a estos controles con cultivos en placas, se realizaron unas mediciones utilizando el equipo Clean-Trace™ Luminómetro de la empresa 3M. con la que se tomaron muestras de las superficies de varias áreas, donde se colocaron recipientes con Bioxydes Plus y otras áreas donde no fueron expuestas al desinfectante.

Para la desinfección de superficies se realizó el siguiente procedimiento: Se aplicó el Bioxydes Plus utilizando un atomizador, se dejó actuar el producto por 20 segundos y finalmente se eliminó el exceso de humedad con un paño desechable. Las mediciones se realizaron antes y



después de la aplicación de producto en la superficie de escritorios, mesones y equipos como las cámaras de flujo laminar.



Imagen 4. Punto 1 ubicado en la oficina de la Coordinación de Acuicultura de la FIMCM, donde se tomó muestra con un hisopo y luego leído en un luminómetro Clean-Trace™.

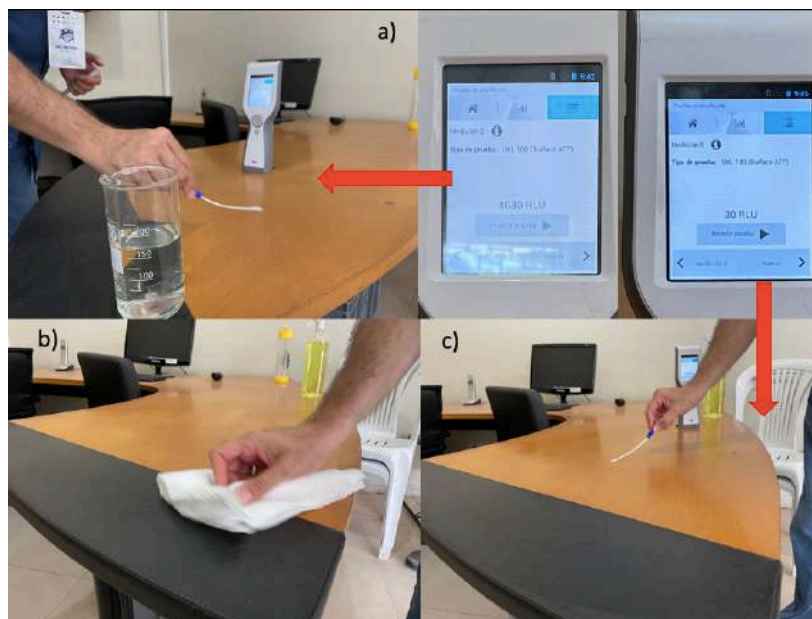


Imagen 5. Medición de las unidades de luminiscencia relativa, (RLU, por sus siglas en inglés) de superficies antes y después de la desinfección con Bioxydes Plus.



Imagen 6. Toma de muestra de la superficie de la cámara de flujo laminar del laboratorio de Patología, FIMCM-ESPOL.

Resultados.

Los cultivos de la primera prueba arrojaron crecimientos en casi todas sus placas. En el punto 1 de la oficina de la Coordinación de Acuicultura, se evidenció el crecimiento de 5 aislados de hongos en las dos placas de cultivo (medio de cultivo para bacterias B1 y medio de cultivo para hongos H1) Ver imagen 7 a y b. Mientras que en el punto 2, de la misma área, el crecimiento fue de 2 aislados de hongos y la placa totalmente llena de bacterias, para la placa de TSA para recuperación de bacterias; y 5 aislados de hongos en la placa de TSA suplementado con dextrosa y enrofloxacin (ver imagen 7 c y d). El punto 3 se observaron 3 aislados de hongos en la placa para recuperación de bacterias; mientras que en la placa para recuperación de hongos se encontraron 4 aislados, tal como se muestra en la imagen 7 e y f. Para terminar la prueba en el área de la coordinación de Acuicultura, el punto 4, hubo una recuperación de 9 aislados de hongos en la placa de TSA sin suplementos, y 6 aislados de hongos en la placa de TSA con los suplementos para la recuperación de este microorganismo (imagen 7g y h).

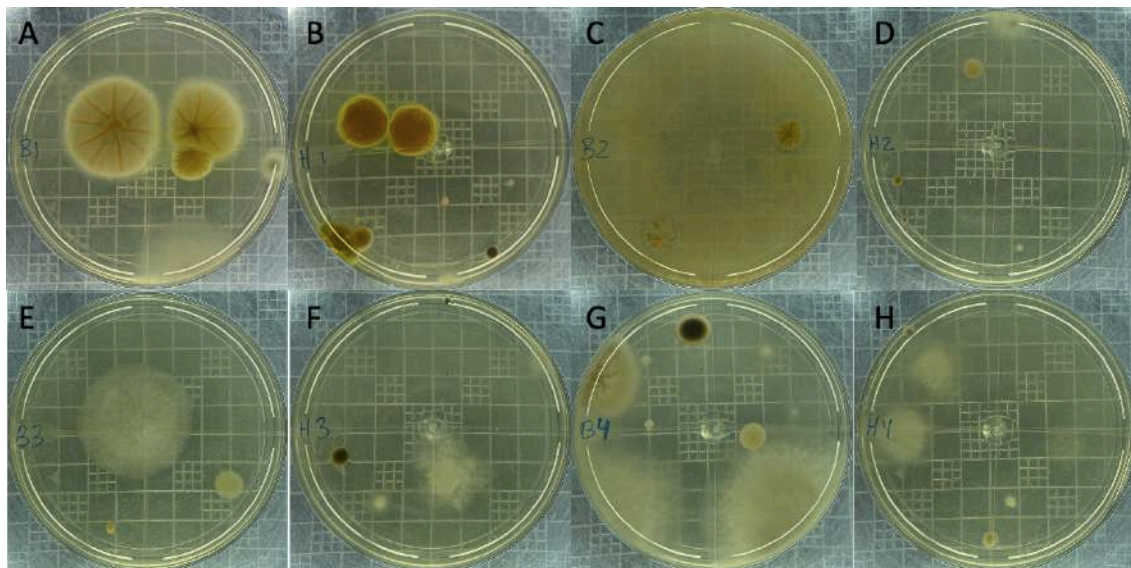


Imagen 7. Cultivos de bacterias y de hongos de los diferentes puntos del área de la Coordinación de Acuicultura, FIMCM-ESPOL. A y B, pacas del punto 1; C y D, placas del punto 2; E y F, placas del punto 3; G y H, Placas del punto 4.

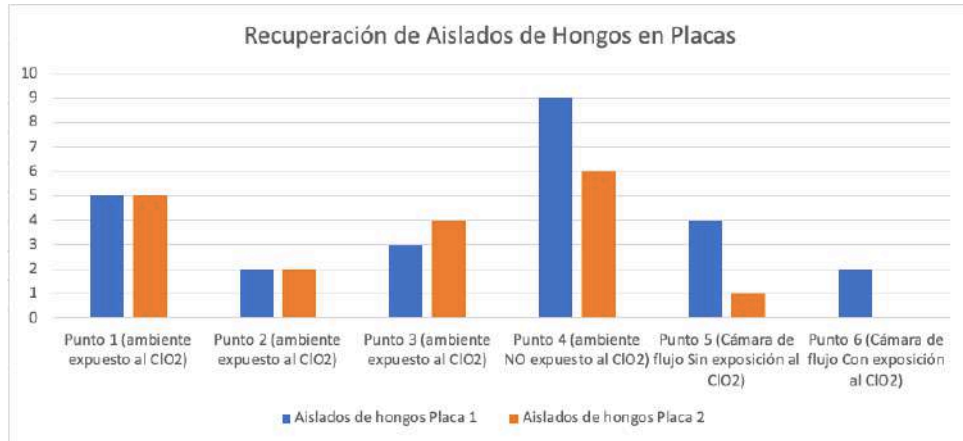


Gráfico 1. Recuperación de aislados de hongos en placas enriquecidas para el cultivo, mismas que se mantuvieron abiertas durante 30 minutos para la inoculación de los microorganismos que se encontraban en el ambiente del área.

En la prueba realizada en las cámaras de flujo laminar para PCR, los cultivos en la cámara de flujo donde se colocó una solución de Bioxydes Plus durante 30 minutos evidenciaron el crecimiento de dos aislados de hongos (placa para cultivo de bacterias) y no se observó crecimiento en la placa adecuada para el crecimiento de hongos (imagen 8a y b); mientras que en la cámara que no se colocó el desinfectante, se observaron 4 aislados de hongos en la placa adecuada para la recuperación de bacterias, y 1 aislado de hongo en la placa adecuada para este microorganismo. Ver imagen 8c y d.

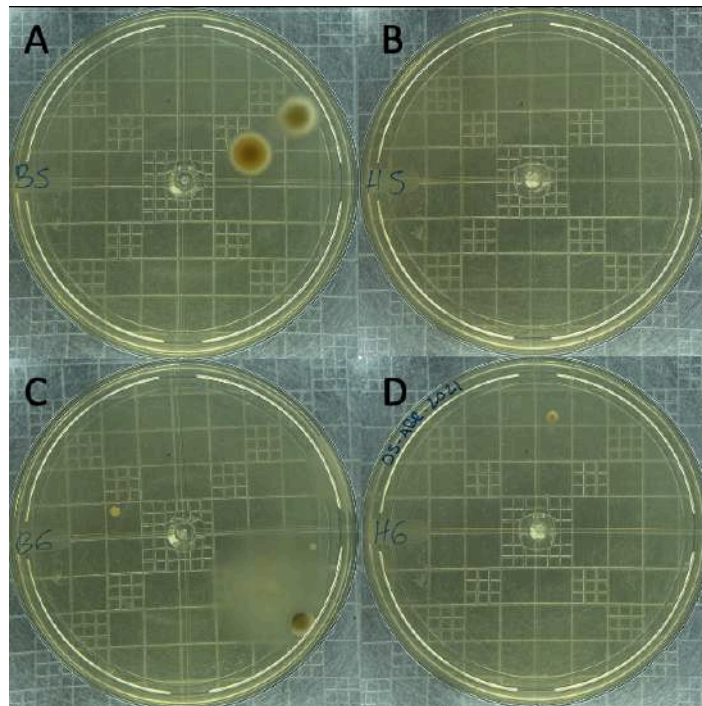


Imagen 8. Cajas de cultivo para bacterias y hongos, incubados a temperatura ambiente 28°C, de los puntos testeados en las cámaras de flujo PCR con y sin exposición al Bioxydes Plus. A y B, Placas de la cámara expuesta al Bioxydes Plus; C y D, placas de la cámara sin exposición al Bioxydes Plus.

La prueba realizada con el luminómetro mostró resultados alentadores acerca de la desinfección de superficies utilizando Bioxydes Plus. En la superficie sin desinfectar del punto 1 situado en la coordinación de Acuicultura de la FIMCM, la lectura fue de 2392 RLU (Unidades de luminiscencia relativa, por sus siglas en inglés). También se midió la superficie del punto 3 del mismo lugar, donde el resultado fue de 4030 RLU, lectura tomada antes de desinfectar con Bioxydes Plus; mientras que 1 minuto después de haberse realizado la limpieza y desinfección de esa área, la lectura del luminómetro descendió drásticamente a 30 RLU, dejando el área totalmente desinfectada hasta nivel grado quirófono. Así mismo, en el área de ingreso de Biomedicina la lectura previa a la desinfección con Bioxydes Plus fue de 1636 RLU, mientras que luego de la desinfección, el luminómetro arrojó un valor de 124 RLU. Por otro lado, en las cámaras de flujo situadas en el Laboratorio de Patología, la superficie de la cámara que no estuvo en contacto con el Bioxydes Plus tuvo una lectura de 572 RLU, mientras que la cámara que mantuvo contacto con el desinfectante arrojó una lectura de 50 RLU.

Tabla 1. Resultados del luminómetro de superficies testeadas en diferentes áreas de la Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar, Espol.

Punto de Prueba	Día	Hora	Resultado (RLU)
Escritorio punto 1, oficina de coordinación de Acuicultura	07 de abril 2021	09:39:55	2392
Superficie de escritorio oficina Biomedicina	07 de abril 2021	09:50:10	165
Cámara de flujo laminar sin exposición al Bioxydes Plus, Laboratorio de Patología, FIMCM.	07 de abril 2021	10:08:40	572
Cámara de flujo laminar con exposición al Bioxydes Plus durante 30 minutos 3 días antes del muestreo, Laboratorio de Patología, FIMCM	07 de abril 2021	10:09:36	50

Tabla 2. Resultados del luminómetro de superficies testeadas en diferentes áreas de la Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar, Espol, antes y después de realizar una limpieza y desinfección con Bioxydes Plus.

Punto de Prueba	Día	Resultado (RLU) Antes	Resultado (RLU) Después
Escritorio punto 3, oficina de coordinación de Acuicultura	07 de abril 2021	4030	30
Superficie de mesón, sala de ingreso de Biomedicina	07 de abril 2021	1636	124
Mesón central del Laboratorio de Patología, FIMCM	07 de abril 2021	372	29



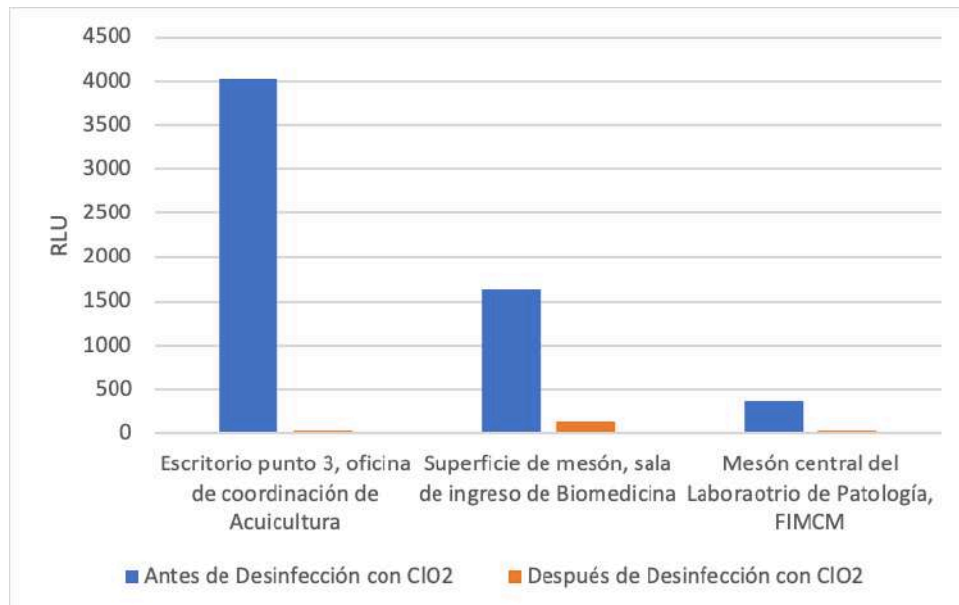


Gráfico 2. Lecturas proporcionadas con el luminómetro en superficies antes y después de haber sido limpiadas y desinfectadas con Bioxydes Plus.

Recomendaciones.

En base a los resultados obtenidos en cuanto a la eficiencia de la desinfección utilizando una solución en base a dióxido de cloro (Bioxydes Plus), podemos recomendar su uso en las instalaciones de Espol, tales como oficinas, aulas, laboratorios y demás espacios de la Institución. Por ende, hemos adecuado un protocolo a seguir para la desinfección y limpieza de nuestras áreas de trabajo, lo cual detallamos a continuación:

1. Desinfección mediante la nebulización de Bioxydes Plus. Esto se debe de realizar con un nebulizador eléctrico, abarcando el área de adentro hacia fuera, tratando de llegar a todos los rincones para que pueda ejercer su acción desinfectante. Esta nebulización ayudará a disminuir significativamente la carga microbioana, como virus, bacterias y hongos, suspendidos en el aire o sobre las superficies de escritorios u otros objetos. Mantener el área cerradas por un tiempo de 24 horas para maximizar el efecto. Adicional, encender los aires acondicionados de 2 a 4 horas para que el dióxido de cloro nebulizado en el área circule por los ductos de ventilación y purifique el sistema de aclimatación.





Imagen 9. Nebulizador eléctrico utilizado para la desinfección con la solución de Dióxido de Cloro (Bioxydes Plus).



Imagen 10. Nebulización con Bioxydes Plus en oficinas.

2. Limpieza profunda de superficies y pisos usando también el Bioxydes Plus como agente desinfectante para superficies de escritorios, mesas y demás objetos en el lugar; para así eliminar el polvo acumulado por el tiempo en que se mantuvo cerrada el área.
3. Para prevenir el crecimiento de microorganismos es recomendable mantener el área desinfectada utilizando 200ml de solución de dióxido de cloro en un recipiente, para que el gas se volatilice por toda el área y mantenga controlada la carga microbiana del ambiente. Recomendamos utilizar un envase de vidrio con 200ml de Bioxydes Plus por cada 15m²; mismos que deben de ser renovados cada semana.

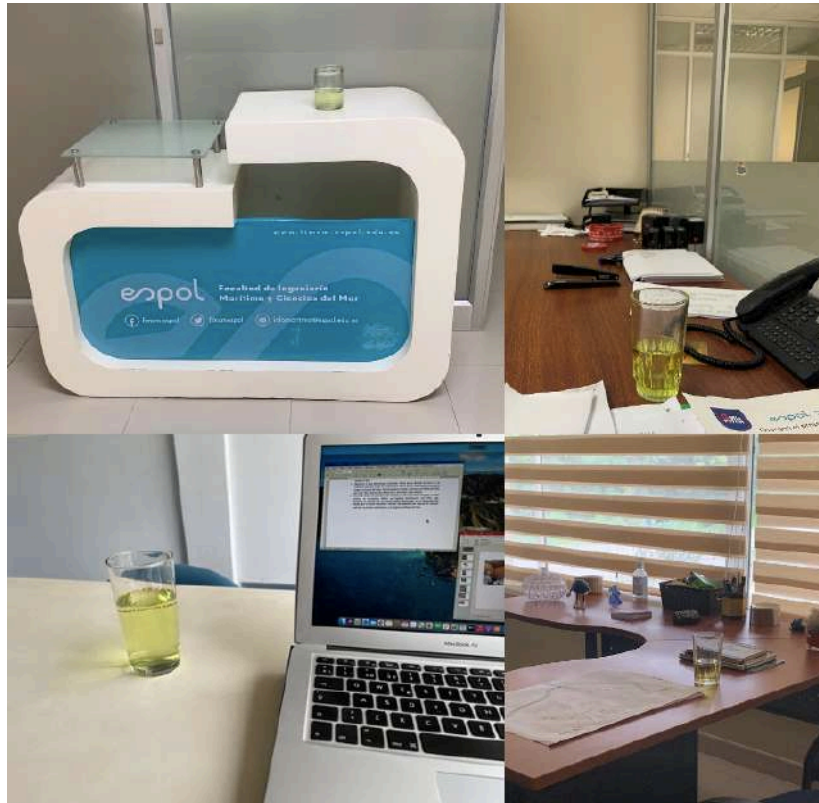


Imagen 11. Recipientes con 200ml de Bioxydes Plus, ubicados en varios sitios de dependencias de FIMCM, para mantener controlada la carga microbiana del ambiente.

4. Previo al retorno de personal a sus oficinas, ya sea en jornada completa o media jornada, se recomienda realizar una segunda nebulización con Bioxydes Plus, para fortalecer la desinfección que puede haberse disminuido por el transcurso del tiempo que se hayan mantenido cerradas las dependencias después de haberse realizado la primera nebulización y la limpieza profunda del área.

Este procedimiento de limpieza y desinfección a base de Dióxido de Cloro (Bioxydes Plus), además de recomendarse su uso en oficinas e instituciones educativas, también puede ser utilizado en domicilios, con lo que contrarrestaríamos las posibilidades de contagio de algún patógeno como lo es el Covid-19 que actualmente está afectando a la población mundial.

Referencias.

- Aly-Kullai K., Wittmann M., Noszticzius Z. and Rosivall L. (2020). *Can chlorine dioxide prevent the spreading of coronavirus or other viral infections? Medical hypotheses.* Physiology International 107 (2020) 1, 1–11. DOI: 10.1556/2060.2020.00015
- Evaluación del riesgo de la transmisión de SARS-CoV-2 mediante bioaerosoles. Medidas de prevención y recomendaciones. Ministerio de Sanidad, Dirección General de Salud Pública, España. 2020 nov.



- Milton. A Rosetta Stone for Understanding Infectious Drops and Aerosols. Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society [Internet]. 17 de septiembre de 2020 [citado 5 de octubre de 2020];9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32706376/>
- Morino, H., Fukuda, T., Miura, T., Shibata, T. (2011) *Effect of low-concentration chlorine dioxide gas against bacteria and viruses on a glass surface in wet environments*. Letters in Applied Microbiology ISSN 0266-8254.
- Montaña L., Flores-Soto E. (2020). *COVID-19 y su asociación con los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y los antagonistas de los receptores para angiotensina II*. Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México.
- Ogata N. Inactivation of influenza virus haemagglutinin by chlorine dioxide: oxidation of the conserved tryptophan 153 residue in the receptor-binding site. J Gen Virol 2012; 93: 2558–63, <https://doi.org/10.1099/vir.0.044263-0>.
- Waron and Willeke, *Aerosol Measurement: Principles, Techniques, and Applications*. Wiley Interscience, New York. 2001. Aerosol p. 1065. Bioaerosol p. 1066.

