



Pascual, G.¹, Mengibar, M.P.²

¹ Jefe del Servicio de Seguridad Biológica del Centro de Investigación en Sanidad Animal, INIA.

² Técnico de Seguridad Biológica de VEOLIA.

DESCONTAMINACIÓN DE CABINAS DE SEGURIDAD BIOLÓGICA MEDIANTE LA APLICACIÓN DE VIRKON, PERASAFE Y CEBER MPW

Este estudio compara la eficacia de tres productos químicos empleados en la descontaminación superficial de cabinas de seguridad biológica de clase II. Los dos primeros, Perasafe® y Virkon®, de uso rutinario y el tercero, el Ceber MPW®, un nuevo descontaminante de la empresa STERIS, en fase de prueba y validación.

Uno de los puntos críticos presentes en Centros Sanitarios, de Diagnóstico o Investigación, en relación a una posible exposición de trabajadores y espacios a agentes biológicos de alto riesgo, son las cabinas de seguridad biológica (CSB). Una CSB constituye una barrera primaria de contención puesto que en su interior es liberado intencionalmente de su envase primario, un agente biológico para poder ser manipulado en distintas técnicas microbiológicas. El correcto uso de la cabina se convierte en un aspecto primordial para evitar cualquier tipo de contaminación, tanto para el personal directamente o indirectamente implicado como para el medioambiente interior, incluyendo las tareas de bio-descontaminación de superficies una vez concluido el trabajo.

La elección del descontaminante a utilizar, su aplicación, tiempo de actuación, efectos adversos y eficacia del producto, son características fundamentales a tener

en cuenta para que el proceso de descontaminación sea eficaz.

Introducción

Las CSB o cabinas de bioseguridad, son equipos diseñados para mantener una zona de trabajo libre de partículas o de probables contaminantes, que puedan alterar el producto con el que se trabaja, afectar a la salud del trabajador o afectar al medio ambiente. En definitiva ofrecen protección frente a los riesgos asociados al manejo del material infeccioso y otros materiales biológicos peligrosos, excluyendo materiales radiactivos, tóxicos y corrosivos.

La protección que proporcionan este tipo de equipos se logra mediante la combinación de elementos mecánicos y eléctricos (motor, ventilador, filtro, iluminación, etc.), con procesos físicos (flujo laminar, diferencia de presiones, etc.), que hacen que se impulse el aire a través de unos filtros especiales. Estos filtros se conocen como filtros H.E.P.A (*High Efficiency Particulate Air*), cuya

función es retener partículas en suspensión en el aire de entre 0,12 y 0,20 micrómetros en las peores condiciones posibles, es decir aquellas partículas con tamaño de máximo poder de penetración (*maximun power penetration size*, mpps), llegando a tener una eficiencia de 99'995 %.

Debido al uso al que están destinados, estos equipos pueden suponer un punto de contaminación biológica primaria, si no son utilizados adecuadamente.

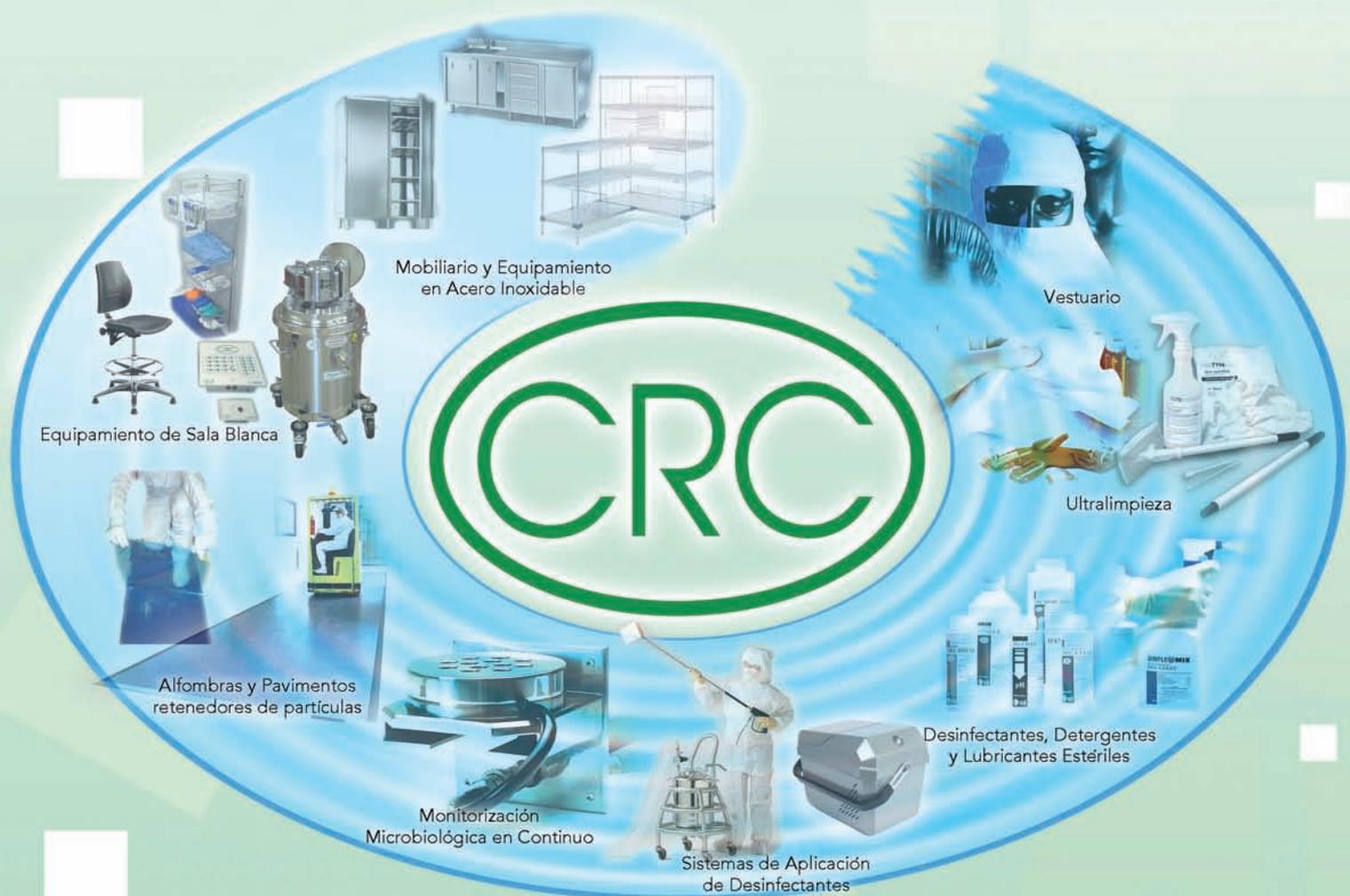
La descontaminación superficial de las CSB, una vez finalizados los trabajos de investigación, es fundamental dentro del correcto uso que se le da al equipo.

El uso de descontaminantes como Perasafe® y Virkon® validados para una amplia gama de microorganismos, no son habituales en estos equipos, prefiriéndose el alcohol 70 por su facilidad de uso desde el recipiente original y coste, pero que no satisface el éxito esperado en muchas ocasiones debido a su volatilidad y en consecuencia a la posibilidad de recontaminación de espacios

CRC Vestilab®

Clean Room Control

CONTROL TOTAL DE LA CONTAMINACIÓN DE LAS SALAS ESTÉRILES / BLANCAS



www.vestilab.com

a member of the
ALSI/CO group

SALAS BLANCAS

superficiales ya descontaminados sin haber finalizado completamente el proceso.

Aparecen en el mercado nuevos productos de uso rápido para biodescontaminaciones superficiales como es el caso del Ceber MPW®, producto comercializado por la firma Steris y que aún no está validado para su uso en CSB.

Objetivo

El objetivo principal del presente estudio es demostrar la eficacia descontaminante del producto químico Ceber MPW® de Steris al emplearlo en CSB ubicadas en las diferentes áreas de contención biológica (NCB-2 y NCB-3) presentes en el Centro de Investigación en Sanidad Animal y su comparación con el uso de los productos Perasafe® y Virkon®.

Material y método

Ámbito de estudio

El estudio se ha llevado a cabo sobre CBS de clase II. A en las que se manipulan muestras infecciosas y/o susceptibles de crear cualquier tipo de contaminación y ubicadas en laboratorios de nivel de contención biológica 2 (NCB-2), salas de investigación y laboratorios de nivel de contención biológica 3 (NCB-3) y boxes de experimentación animal para grandes y pequeños animales.

Material empleado

Para poder desarrollar este estudio, el material empleado ha sido el siguiente:

- CSB de clase II. A.
- Placas 3M Petrifilm reconocidos por la AOAC INTERNATIONAL como Métodos Oficiales de Análisis (OMA). Permiten el recuento de, en este caso, aerobios, enterobacterias, mohos y levaduras.
- Perasafe®. Contiene ácido cítrico (20-25%), alquilaryl sulfato sódico (1-2%) y perborato sódico (40-60%) como ingredientes activos. Presenta un sistema peróxido que genera un equilibrio de iones peracetato a pH 8.0 equivalentes a una concentración del 0,26% de ácido peracético. Su mecanismo de acción es por oxidación de proteínas. Es activo frente a bacterias, hongos, levaduras, endosporas y virus.
- Ya en 1902, Freer y Novy (1902) dieron a conocer las excelentes propiedades del ácido peracético como agente germicida, afirmando la excelente acción desinfectante y esterilizante en frío del ácido peracético.

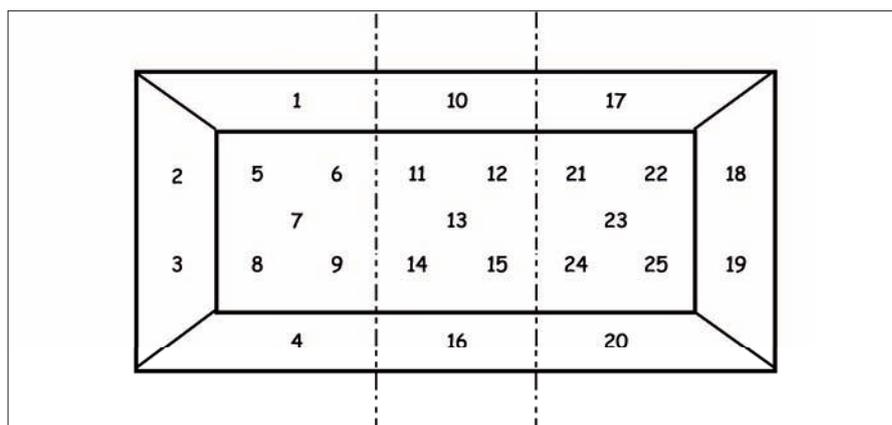


Figura 1. División de la cabina de seguridad biológica y distribución de los controles. Reactivos químicos y Formulados

En 2002 quedó demostrado cómo el ácido peracético era el germicida más activo de entre otros 23 elementos testados frente a esporas de *Bacillus thermoacidurans* (Steris Co., 2002). Estudios posteriores catalogaron al ácido peracético como bactericida al 0,001%, fungicida al 0,003% y esporicida al 0,3%.

Virkon®. Presenta una actuación de amplio espectro frente a bacterias, hongos y virus. Las soluciones son estables aproximadamente 7 días y se presenta una mezcla equilibrada y estabilizada de compuestos peroxidados, tensoactivos y ácidos orgánicos. Actúa produciendo disrupción de la pared celular y la consiguiente muerte. Los compuestos peroxigenados pueden causar también degradación e inactivación de los ácidos nucleicos por su fuerte potencial oxidante. Distintos estudios han mostrado la actividad microbiocida del Virkon®. Sin embargo las controversias sobre su efectividad han creado incertidumbre sobre el uso. (Hernández y col., 2000; Suárez y col., 2003; McCormick y Maheshwari, 2004; Chan y Abu Bakar, 2005).

- Ceber Muti Purpose Wipe. Nuevo descontaminante de la firma Steris, basado en alcohol isopropílico al 63% de volumen, que va a ser validado para descontaminar la superficie de las cabinas de seguridad biológica.
- Estufa/Incubador. NUAIRE
Los formulados Virkon® y Perasafe® fueron obtenidos de FHP (Francisco Hurtado Portela, España).
El formulado Ceber MPV® (Ceber Muti Purpose Wipe) fue cedido por la Compañía STERIS Iberia S.A. (España).

Método de trabajo

Los ensayos la valoración de los compuestos ensayados fueron realizados bajo un

escenario de condiciones reales en ambiente "sucio" y a una temperatura de 20°C.

La superficie de trabajo de las CSB se sectorizó en tres espacios paralelos de iguales dimensiones espaciales.

La toma de muestras se practicó en 10 CSB; 5 de ellas situadas en contención biológica de nivel 2 y 5 en nivel 3. Antes de la toma, se conectaron las cabinas durante 10 minutos con el fin de lograr la estabilización del flujo laminar.

En cada CBS utilizada, se tomaron muestras superficiales antes y después del proceso de descontaminación; 9 en los espacios perimetrales laterales y 7 en los espacios centrales, siguiendo una estrategia de muestreo simétrica y de puntos equidistantes entre sí (figura 1).

La toma de muestreos se realizó sobre placas de contacto Petrifilm (3M), con agar tripton de soja (TSA) como medio de cultivo, y suplementado con histidina y lecitina como neutralizantes de desinfectantes y detergentes con actividad antimicrobiana, buscándose la presencia de microorganismos aerobios, enterobacterias, levaduras y moho.

El proceso fue sistemático antes y después del uso de los descontaminantes, consistiendo en:

- a. Hidratación de placas añadiendo 1 mL de agua estéril una hora antes de su uso. Las placas no permanecieron hidratadas más de 7 días.
- b. Siembra. Levantamiento de la película y toma de muestra en superficie presionando la placa sobre la misma.
- c. Incubación en la estufa. El tiempo de incubación varió en función del microorganismo a testar (tabla 1).
- d. Contaje. Transcurrido el tiempo de incubación, se procedió al recuento de

PennTech

Machinery Corporation

Lavadora y túnel de esterilización
para lotes pequeños de viales.

Viales 2ml - 100ml.
Hasta 100 viales/minuto.
Cambio de formato de
vial en 20 minutos.



Lavadora externa de
viales de productos
citostáticos y HPAPIs.



Lotes medianos. Viales desde 2ml hasta 100 ml.
Hasta 400 viales/minuto. Opción de cepillos rotativos.
Cambio de formato de vial en 15 minutos.

www.penntech-spain.com

info@penntech-spain.com

Contacto: Juan Solá

Tel: +34 620 838 814

SALAS BLANCAS

| TIPOS DE MICROORGANISMOS | TEMPERATURA DE INCUBACIÓN | TIEMPO DE INCUBACIÓN |
|--------------------------|---------------------------|----------------------|
| Aerobios | 36-37°C | 48h |
| Enterobacteria | | 22h |
| Mohos y levaduras | | 3-5 días |

Tabla 1. Temperatura y periodo de incubación de los distintos microorganismos cultivados.

las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) aparecidas. El resultado es función del número de colonias que ofrecen crecimiento y la superficie de la misma.

Finalizada la primera toma de muestras sobre superficie no tratada, se procedió a su descontaminación aplicando los tres productos químicos, el Perasafe®, el Virkon® y el Ceber MPW® en cada cuadrante señalado (incluyendo los laterales, la bancada y el frontal) (figura 2).

En el cuadrante 1 se aplicó Perasafe®, en el cuadrante 2, Ceber MPW® y finalmente en el cuadrante 3, Virkon®.

Perasafe® y Virkon®, fueron preparados antes de su aplicación al ser su presentación en polvo.

La disolución de uso fue realizada en agua a temperatura igual que la ambiente (20°C).

Para Perasafe®, se disolvió 1'62 g del producto en 1 L de agua. Para Virkon®, se utilizaron 20 g del producto en 1 L de agua para obtener una concentración final del 2%.

Ambos biodescontaminantes se aplicaron sobre la superficie mediante pulverizaron a baja presión y se dejaron actuar 10 minutos.

Ceber MPW® no precisa ningún tipo de preparación ya que viene en formato de toallita impregnada contenida en un sobre estanco, de modo que, una vez preparada la cabina, se llevó a cabo el des-sellado del sobre y su aplicación directa sobre el cuadrante de superficie

seleccionado. El tiempo de actuación fue igualmente de 10 minutos.

Finalizada la biodescontaminación, se procedió a una nueva toma de muestras e incubación siguiendo el mismo proceso.

Resultados

A continuación se muestran las tablas que recogen los resultados obtenidos tras los muestreos realizados (tabla 2-3).

Para poder comprobar si las cabinas de seguridad biológica están o no contaminadas, el criterio de aceptación recomendado para este tipo de equipos es el que marca la norma UNE-171340.

En la superficie de las cabinas de seguridad biológica, se consideran que estas están contaminadas siempre que el resultado del muestreo sea mayor o igual a 10 ufc/25cm².

En ella se aprecia que de las diez cabinas que fueron muestreadas, 9 estaban contaminadas, presentando un crecimiento superior a las 10 ufc/cm².

Una de las cabinas presento una contaminación no significativa, ya que del muestreo total, sólo hubo crecimiento de 1 ufc/cm², tanto en el caso de los aerobios como el caso de las enterobacterias.

Tras la descontaminación de las cabinas de seguridad biológica, se realizó un nuevo muestreo de la superficie de las mismas, con el fin de comprobar la efectividad de los productos empleados.

Los resultados obtenidos quedan recogidos en la tabla 3. En ella se aprecia que

la mayor parte de las CSB muestreadas no presentan ningún tipo de contaminación.

Una cabina (CSB-2), presentó 1 ufc/cm² en el cuadrante que fue descontaminado con Perasafe®. El crecimiento se considera despreciable, ya que es muy inferior al criterio aceptación aplicado.

Se pudo constatar que los valores de temperatura y humedad no variaron en más de 1°C y se mantuvo una humedad relativa 45% durante los ensayos. Igualmente, la velocidad del aire en el interior de las CBS resultó ser la misma durante los ensayos de validación (± 0,1 m/s).

Discusión

Los niveles de desinfección resultan ser uno de los principales problemas para la mayoría de los laboratorios.

Muchas de estas instalaciones, optimizan los recursos de infraestructura científica disponibles permitiendo la existencia de salas específicas donde los equipos resultan ser de uso compartido, como es el caso de las CSB.

Esta situación, acrecienta el problema de posibles contaminaciones entre experiencias distintas y la posibilidad de exponer a un usuario a agentes biológicos no vinculados a su línea de diagnóstico o investigación.

Si después del uso de una CSB, no se procede a una descontaminación pormenorizada de las superficies, el usuario o el técnico encargado de mantener un criterio aséptico admisible en una instalación se ve sometido a un grado de incertidumbre significativo que no asegura un uso óptimo de estos equipos.

Por lo tanto, la garantía de estos procesos de descontaminación simples o redundantes, no se basa en la comprobación de la evidencia descontaminante por la implantación de un método cuantitativo reproducible, sino por la ausencia en el tiempo de contaminaciones cruzadas (Richmond y Nesby-O'Dell, 2002).

En base a todo ello, el presente estudio comparativo trata de aportar una visión cuantitativa del comportamiento de los descontaminantes biológicos seleccionados entre sí, en un mismo entorno, tratando de ofrecer al usuario, una herramienta de uso rutinario para las biodescontaminaciones a afrontar.

Los resultados obtenidos han demostrado que los formulados Virkon®, Perasafe® y CEBER MPW®, se comportan como excelentes biodescontaminantes sobre superficies que pueden soportar una carga biológica

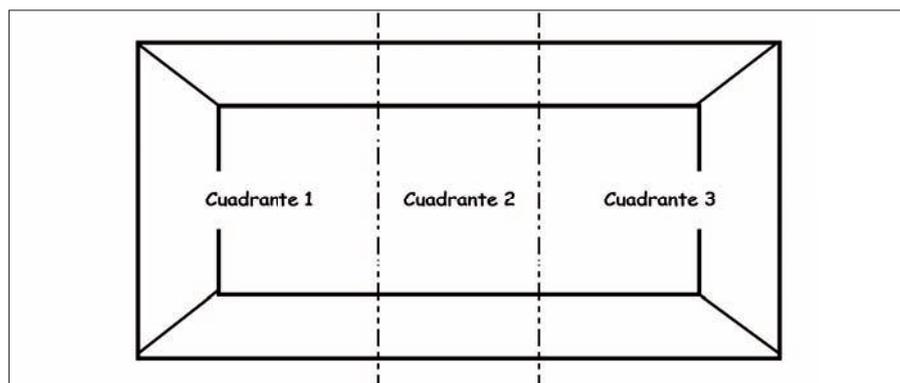


Figura 2. División de la cabina de seguridad biológica para aplicar los tres descontaminantes.

Medición de humedad y temperatura

IBERFLUID junto a su representada ROTRONIC se posicionan como un referente en la medición de humedad y temperatura para la industria farmacéutica.



El sensor más preciso y estable del mercado, unido a la tecnología digital AIRCHIP permite resolver las aplicaciones más exigentes:

**salas blancas, HVAC,
validaciones, laboratorios
de calibración, cámaras de
estabilidad, etc.**

| CABINA | FECHA TOMA DE MUESTRAS | UFC | | |
|--------|------------------------|----------|-----------------|-------------------|
| | | AEROBIOS | ENTEROBACTERIAS | MOHOS Y LEVADURAS |
| 1 | 21/01/2015 | 19 | 21 | 1 |
| 2 | 21/01/2015 | 40 | 45 | 7 |
| 3 | 21/01/2015 | 25 | 37 | 4 |
| 4 | 21/01/2015 | 34 | 30 | 1 |
| 5 | 21/01/2015 | 20 | 39 | 3 |
| 6 | 28/01/2015 | 1 | 1 | 0 |
| 7 | 28/01/2015 | 11 | 42 | 2 |
| 8 | 28/01/2015 | 17 | 41 | 3 |
| 9 | 28/01/2015 | 13 | 32 | 2 |
| 10 | 28/01/2015 | 10 | 13 | 1 |

gica significativa, siendo equiparables a los resultados obtenidos por otros autores con diferentes tipos de biocidas (Van Klingeren et al., 1998; Eleraky et al., 2002; Müller y Kramer, 2008).

Los niveles de eficacia obtenidos con el formulado Virkon®, que demuestran el alto grado de desinfección que es posible alcanzar con su uso, son similares a los obtenidos por otros autores, tanto en ensayos *in vitro* (Gasparini et al., 1995; Hernández et al., 2000) como *in vivo* (Angelillo et al., 1998).

Adicionalmente, el formulado Virkon® presenta un mantenimiento de su actividad biodescontaminante mayor en el tiempo (> 72 horas), mostrando la característica del viraje de color cuando deja de ser activo, exhibe una baja ecotoxicidad conjuntamente con un alto grado de biodegradabilidad, y a la concentración del 1% está clasificado como no irritante de piel y ojos (McCormick y Maheshwari, 2004). Sin embargo, presenta como desventajas su pH bajo, lo que puede provocar un ataque a las superficies de acero inoxidable en exposiciones a largo plazo.

Los estudios realizados con el formulado Perasafe®, han demostrado su alta eficacia frente a gran número de microorganismos, siendo los resultados obtenidos por los diferentes autores muy similares a los obtenidos en el presente estudio (Stanley, 1999; Hernández et al., 2003).

Arriba: tabla 2. Unidades Formadoras de Colonias (UFC), obtenidas tras la primera toma de muestras. Derecha, Tabla 3. Unidades Formadoras de Colonias (UFC), obtenidas tras la descontaminación de las cabinas de seguridad biológica y tras el segundo muestreo en la superficie de las mismas.

| CABINA | DESCONTAMINANTES | UFC | | |
|--------|------------------|----------|-----------------|-------------------|
| | | AEROBIOS | ENTEROBACTERIAS | MOHOS Y LEVADURAS |
| 1 | Perasafe | 0 | 0 | 0 |
| | Ceber MPN | 0 | 0 | 0 |
| | Virkon | 0 | 0 | 0 |
| 2 | Perasafe | 1 | 0 | 0 |
| | Ceber MPN | 0 | 0 | 0 |
| | Virkon | 0 | 0 | 0 |
| 3 | Perasafe | 0 | 0 | 0 |
| | Ceber MPN | 0 | 0 | 0 |
| | Virkon | 0 | 0 | 0 |
| 4 | Perasafe | 0 | 0 | 0 |
| | Ceber MPN | 0 | 0 | 0 |
| | Virkon | 0 | 0 | 0 |
| 5 | Perasafe | 0 | 0 | 0 |
| | Ceber MPN | 0 | 0 | 0 |
| | Virkon | 0 | 0 | 0 |
| 6 | Perasafe | 0 | 0 | 0 |
| | Ceber MPN | 0 | 0 | 0 |
| | Virkon | 0 | 0 | 0 |
| 7 | Perasafe | 0 | 0 | 0 |
| | Ceber MPN | 0 | 0 | 0 |
| | Virkon | 0 | 0 | 0 |
| 8 | Perasafe | 0 | 0 | 0 |
| | Ceber MPN | 0 | 0 | 0 |
| | Virkon | 0 | 0 | 0 |
| 9 | Perasafe | 0 | 0 | 0 |
| | Ceber MPN | 0 | 0 | 0 |
| | Virkon | 0 | 0 | 0 |
| 10 | Perasafe | 0 | 0 | 0 |
| | Ceber MPN | 0 | 0 | 0 |
| | Virkon | 0 | 0 | 0 |

Perasafe® presenta como ventajas el ser un esterilizante en frío, con un valor de pH alrededor de 8 y por lo tanto inactivo frente a la mayoría de los materiales estructurales, y necesitar un tiempo de residencia para ser efectivo de 10 minutos. Como desventaja presenta un coste muy superior al Virkon® y una actividad máxima de 24 horas.

CEBER MPW® presenta como ventaja su presentación y la fácil aplicación.

Como desventaja, la pérdida de descontaminante en la aplicación que al estar incorporado en toallitas húmedas, puede dar lugar a pérdida del descontaminante si se realizan continuas aplicaciones, poniendo en duda que se mantenga en todo

momento la misma cantidad de producto o su concentración.

Conclusiones

El presente estudio muestra que tanto Virkon®, Perasafe® como Ceber MPW®, resultan ser una alternativa efectiva para procesos de biodescontaminación de superficies en CSB de clase II respecto a biodescontaminantes tradicionales (alcohol 70°).

Por otro lado, teniendo en cuenta el conjunto de datos respecto a la eficacia biodescontaminante, características químicas y de aplicación, y la ausencia de producción de daño en superficies, Perasafe® y Ceber MPW® resultan ser *a priori*, productos ideales para su uso en CBS ◀◀

Agradecimientos

– A D. Gregorio Kaklis de la firma STERIS Ibérica S.A. por su colaboración y asesoramiento técnico.

Referencias

- Chan, YF y Abu Bakar, S (2005) Virucidal activity of Virkon S on human enterovirus. Med. J. Malaysia, 60:246-254.
- Eleraky, NZ, Potgieter, LN y Kennedy, MA (2002) Virucidal efficacy of four new disinfectants. J Am Animal Hosp Assos, 38:231-235.
- García-Saavedra MJ y Vicente, JC (1997) Técnicas de descontaminación. Edit. Paraninfo, Madrid. 258 p.
- Gasparini, R, Pozzi, T, Magnelli, R, Fatighenti, D, Giotti, E, Polisenio, G, Pratelli, M, Severini, R, Bonanni, P y De Feo, L (1995) Evaluation of in vitro efficacy of the disinfectant Virkon. Eur J Epidemiol, 11:192-197.
- Hernández, A, Martro, E, Matas, L, Martin, M y Ausina, V (2000) Assessment of in-vitro efficacy of 1% Virkon against bacteria, fungi, viruses and spores by means of AFNOR guidelines. J Hosp Infect, 46:203-209.

- Hernández A, Martro E, Matas L, Martin M y Ausina V (2003) In-vitro evaluation of Perasafe® compared with 2% alkaline glutaraldehyde against *Mycobacterium* spp. J Hosp Infect, 54:52-56.
- Mc Cormick, L y Maheshwari, G (2004) Inactivation of adenovirus types 5 and 6 by Virkon S. Antiviral Res., 64:27-33.
- Mc Donnell, G y Russell, AD (1999) Antiseptics and disinfectants: Activity, Action and Resistance. Clin. Microbiol. Rev, 12:147-179.
- Rutala, WA (1990) APIC guideline for selection and use of disinfectants. Am. J. Infect Control, 24:313-342.
- Steris Co. (2002) The Liquid Chemical Sterilization Story: Continuing Educations Study Guide presented by STERIS Corporation, Study Guide number 3, M1720EN. Mentor, Ohio.
- G. Pascual, P. de Miguel, J.M. Ramírez y M.C. Bartolomé (2011). Eficacia Biodescontaminante obtenida mediante aplicación de VIRKON®, PERASAFE® e Hidróxido Sódico sobre superficies de Alto Riesgo Microbiológico. Revista Complutense de Ciencias Veterinarias 2011 5(1):132-144.



Nuestro servicio de salas blancas responde a sus exigencias



Ropa de Protección Absoluta - PA*



- Identificación y análisis de sus necesidades
- Puesta a disposición de ropa adaptada a su entorno
- Proceso riguroso de tratamiento de los artículos en nuestra sala blanca
- Formación de su personal por un especialista Elis sobre los procedimientos de vestuario
- Entrega regular de la ropa, según el número de cambios definido según las normas de higiene de su empresa



ELIS, la garantía de un servicio de calidad en toda España



La solución global del servicio de alquiler-mantenimiento ELIS le libera de las obligaciones de compra, lavado, reparaciones...

902 223 000

LLAMADA LOCAL

www.elis.com
espana@elis.com



 **elis**