

Zastosowanie metody „suchej” i „mokrej” z wykorzystaniem gazowej formy nadtlenu wodoru w dekontaminacji pomieszczeń laboratoryjnych

ADRIAN SKORUPSKI, MICHAŁ REICHERT*, GRZEGORZ SIKORSKI**

Sekcja Ochrony Środowiska, *Zakład Anatomii Patologicznej, **Zakład Organizacji i Upowszechniania Badań Naukowych Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Skorupski A., Reichert M., Sikorski G.

Use of “dry” and “wet” methods with gas form of hydrogen peroxide in laboratory rooms decontamination

Summary

One of the latest and most effective disinfectants is the gas form of hydrogen peroxide (H_2O_2). The disinfection process runs in closed air circulation minimizing the threat to operating personnel. The advantage of the system is a broad spectrum of biocidal effects as well as the fact that the gas form of the biocidal substance has no impact on materials placed in the disinfected area (inter alia metals, plastics, installations, construction materials) and also guarantees the entire fill up of the gassed room. A comparison was made of “dry” and “wet” disinfection methods of gas. For comparison purposes generators from Bioquell and Steris companies were chosen. Both devices are low-temperature mobile disinfection systems using a disinfecting agent in the form of 35% perhydrol and operating in a cubic capacity of up to 500 m³.

In order to keep identical conditions during both processes, the comparison was made in the same room under similar physical conditions. Additionally, for the “wet” system process was carried out in a room of cubic capacity of 250 m³. To confirm the effectiveness of the decontamination processes microbiological tests using *Geobacillus stearothermophilus* bacteria (placed on metal discs and put in Tayvek bags) were applied. It was found that in both cases the decontamination systems demonstrated high biocidal efficiency. During the comparison of both methods it was noticed that in the case of the generator from Bioquell UK Company the optimization of the process intended to maintain a micro-condensation layer is possible only during decontamination of rooms of cubic capacities up to 250 m³. Above that cubic capacity the generator does not optimize the process. This means that the decontamination process conducted in such a manner is uncontrolled and may cause condensation of the disinfection agent on surfaces of expensive laboratory equipment. After the process some paint detachments were found in laboratories.

Keywords: disinfection, decontamination, hydrogen peroxide

Dekontaminacja pomieszczeń zamkniętych, zanieczyszczonych mikroorganizmami stanowi istotny problem dotyczący między innymi obiektów farmaceutycznych i laboratoriów badawczych o wysokiej klasie bezpieczeństwa biologicznego. Bezpieczną i wiarygodną metodą dekontaminacji powierzchni zanieczyszczonych mikroorganizmami jest oddziaływanie na te powierzchnie gazowej postaci nadtlenu wodoru. Gazowa postać nadtlenu wodoru, o znanych właściwościach szybkiego i szerokiego zakresu antybakteryjnego, może jako element procesu sterowanego zapewnić powtarzalność procesu dekontaminacji obszarów zamkniętych. Należy podkreślić, że nadtlenek wodoru w porównaniu z innymi tradycyjnymi metodami fumigacji, wykorzystującymi gazową postać for-

maldehydu, tlenku etylenu lub tlenku propylenu, charakteryzuje się stosunkowo bezpiecznym profilem, zarówno dla użytkownika, jak i środowiska (4).

Systemy dekontaminacyjne wykorzystujące nadtlenek wodoru mogą być klasyfikowane jako systemy wykorzystujące procesy suche lub mokre. Nadtlenek wodoru w postaci gazowej może być wprowadzany do pomieszczenia zamkniętego poddawanego dekontaminacji do czasu osiągnięciażądanego stężenia (punkt nasycenia lub punkt rosy), będącego funkcją temperatury i wilgotności wewnątrz pomieszczenia. Jeżeli stężenie nadtlenu wodoru przekracza wartość właściwą dla punktu rosy, to wówczas występuje zjawisko kondensacji (kondensacji lub mikrokondensacji) czynnika sterylizującego na powierzchniach we-

wnętrz pomieszczenia zamkniętego. Zjawisko kondensacji jest dokładnie znane pod względem fizycznym i chemicznym od ponad pięćdziesięciu lat. Jeżeli zjawisko mikrokondensacji występuje i jest utrzymywane podczas całego cyklu, to proces dekontaminacji rozpatrywany jest jako proces mokry. Jeżeli stężenie nadtlenu wodoru wewnątrz pomieszczenia zamkniętego podczas całego cyklu jest utrzymywane poniżej wartości parametrów punktu rosy, to proces dekontaminacji rozpatrywany jest jako proces suchy.

W związku z brakiem literatury opisującej metody dekontaminacji H_2O_2 przy użyciu systemów mokrych i suchych, pozwalających jasno stwierdzić wady lub zalety obu metod, w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym – Państwowym Instytucie Badawczym w Puławach dokonano badania – porównania tych metod.

Materiał i metody

Do celów badawczych wybrano generatory Bioquell model Z firmy Bioquell (ryc. 1) oraz generator firmy Steris o nazwie ARD 1000 (ryc. 2). Oba generatory to mobilne systemy dekontaminacji niskotemperaturowej wykorzystujące czynnik dezynfekcyjny w postaci 35% perhydrołu, obsługujące kubatury do 500 m³.

Metoda sucha. Technologia wykorzystująca fazę gazową nadtlenu wodoru opracowana została w latach osiemdziesiątych przez firmę Steris (dawniej Amsco). W 1985 r. metoda została zarejestrowana przez amerykańską Agencję Ochrony Środowiska EPA (Environmental Protection Agency). Ze względów technologicznych metoda ta została zakwalifikowana jako sucha. System dekontaminacji oparty na generatorach ARD 1000 jest system w pełni skomputeryzowanym, powtarzalnym i łatwym do walidacji.

Proces prowadzony jest na drodze waporyzacji (odparowania) ciekłego nadtlenu wodoru (w temperaturze 120°C), w wyniku czego powstaje mieszanina nadtlenu wodoru

i pary wodnej. Zasadą metody jest utrzymywanie stężenia nadtlenu wodoru poniżej punktu kondensacji, który jest funkcją temperatury i wilgotności (3). Podczas dekontaminacji pomieszczeń stężenie H_2O_2 utrzymywane jest zazwyczaj znacznie poniżej poziomu nasycenia, na poziomie 0,1-1,5 mg/l w temperaturze 25°C. Jeśli stężenie nadtlenu wodoru przekroczy punkt nasycenia w danej temperaturze, dochodzi do kondensacji stężonego nadtlenu wodoru na powierzchniach, ponieważ substancję tę charakteryzuje niższa wartość ciśnienia parowania niż ciśnienie parowania wody (2), by zagwarantować optymalne parametry procesu i utrzymać stężenie poniżej punktu kondensacji firma Steris osusza powietrze do wartości RH (Relative Humidity) 30-35% i wprowadza pary nadtlenu wodoru do uzyskania stężenia 250 ppm i utrzymania go przez 90 minut (cykl ten został zatwierdzony do stosowania przez EPA). W czasie trwania procesu możliwe jest stałe obniżanie wilgotności.

Podczas prowadzonych testów urządzenia w PIWet-PIB w Puławach generator ARD 1000, w skład którego wchodził kolumnowy osuszacz powietrza oraz system rozprowadzania H_2O_2 po pomieszczeniu, został umieszczony w laboratorium składającym się z czterech pomieszczeń o łącznej kubaturze 500 m³.

W celu potwierdzenia skuteczności procesu wewnątrz pomieszczeń rozmieszczono testy mikrobiologiczne zawierające zarodniki *Geobacillus stearothermophilus* (5).

Przed uruchomieniem generatora system wentylacyjny laboratorium został wyłączony i uszczelniony, a pomieszczenia laboratoryjne odpowiednio przygotowane, tj. usunięto odpady oraz pozostawiono otwarte szuflady, drzwiczki szafek oraz maksymalnie uniesiono szyby wszystkich będących w wyposażeniu laboratorium komór mikrobiologicznych. Dwa zespolone sensory wilgotności i stężenia H_2O_2 zostały umieszczone w trudno dostępnych miejscach laboratorium.

Monitorowanie procesu odbywało się za pomocą przenośnego komputera, który znajdował się poza strefą dekontaminacji. Podczas procesu nadtlenek wodoru był wprowadzany do pomieszczenia w ilości 10 g/min., aż do osiągnięcia 250 ppm. W celu utrzymania stężenia na stałym poziomie ilość dozowanego H_2O_2 podczas tej fazy procesu wyniosła 4-6 g/min. Proces przebiegał bez zakłóceń i nie zaobserwowano żadnych smug świadczących o wykropleniu się nadtlenu wodoru na powierzchniach wyposażenia. Całkowita ilość zużytego do procesu perhydrołu wyniosła 3000 ml. Czas trwania procesu dekontaminacji wyniósł 8 godzin.

Po procesie dekontaminacji zebrano wcześniej rozmieszczone w pomieszczeniach testy mikrobiologiczne w celu ich inkubacji oraz dokładnie sprawdzono pomieszczenie pod kątem ewentualnych zniszczeń.



Ryc. 1. Generator Bioquell Z



Ryc. 2. Generator VHP ARD 1000 firmy Steris



Ryc. 3. Rozmieszczenie generatora ARD 1000 w pomieszczeniu



Ryc. 4. Rozmieszczenie generatora Bioquell Z w pomieszczeniu

Metoda mokra. Firma Bioquell w 2007 r. wprowadziła na rynek polski generatory nadtlenu wodoru przeznaczone do biodekontaminacji zanieczyszczonego patogenami sprzętu, pomieszczeń lub, jak deklaruje producent, całych budynków, przy użyciu formy gazowej H_2O_2 .

Istotą metody wykorzystywanej w generatorze Bioquell Z jest szybkie odparowanie perhydroflu. Wprowadzany do pomieszczenia nadtlenek wodoru uzyskuje punkt mikrokondensacji mający na celu wytworzenie cienkiego „filmu” pokrywającego powierzchnie dekontaminowanego obszaru. Ilość wprowadzanego nadtlenu wodoru podczas dekontaminacji wynosi dla napięcia 230 V 20 g/min. (bez względu na kubaturę pomieszczenia). Zakres pracy generatora wykorzystującego metodę „mokrą” dekontaminacji jest ograniczony i możliwy wyłącznie w zakresie wilgotności RH od 30% do 75% oraz różnicy temperatur dekontaminowanych powierzchni do $5^{\circ}C$.

Podczas trwania cyklu gazowania proces jest nieustannie optymalizowany poprzez pomiary wilgotności względnej, temperatury oraz stężenia H_2O_2 w pomieszczeniu za pomocą zespolonego sensora zainstalowanego w urządzeniu. Optymalizacja jest niezbędna do utrzymania wilgotności nieznacznie poniżej punktu rosy (bezpiecznego poziomu wilgotności). Wadą systemu jest brak optymalizacji procesu powyżej kubatury $250 m^3$.

Generator H_2O_2 posiada dwa dostępne cykle dekontaminacji pomieszczeń: parametryczny oraz czasowy. W cyklu parametrycznym wykorzystywana jest informacja z ręcznych przyrządów pomiarowych oraz algorytm wyznaczający długość fazy gazowania (dekontaminacji). Dla poprawnego zaprogramowania cyklu potrzebne są wymiary pomieszczenia: długość, szerokość, wysokość, a także informacja o ilości wyposażenia znajdującego się w pomieszczeniu (pomieszczeniach). W przypadku, kiedy pomieszczenie nie posiada prostokątnego kształtu, lecz jest w formie litery „L” lub jest to zespół kilku pomieszczeń, do zaprogramo-

wania cyklu potrzebne są dane dotyczące łącznej kubatury i pola powierzchni tych pomieszczeń. Cykl parametryczny jest stosowany dla kubatury maksymalnie do $250 m^3$ i pola powierzchni do $500 m^2$.

Cykl czasowy wykonywany jest z fazami gazowania i przetrzymania o zaprogramowanym czasie, a więc za każdym razem, kiedy cykl jest uruchamiany, nie zmienia się jego długość. Programowany czas gazowania może wynosić w cyklu tym od 1 do 500 minut, a czas przetrzymania od 0 do 60 minut. Cykle czasowe stosowane są dla obszaru o łącznej kubaturze $250-500 m^3$. W cyklu czasowym stężenie nadtlenu wodoru podczas czasu przetrzymania nie jest utrzymywane na stałym poziomie, ponieważ cała zawartość 5-litrowego zbiornika perhydroflu jest odparowywana w fazie gazowania. W związku z tym należy każdorazowo walidować pomieszczenia o kubaturze powyżej $250 m^3$ (1).

Przeprowadzono dwa testy z użyciem generatora typu Bioquell Z. W pierwszym z nich wykorzystano cykl parametryczny przeznaczony dla pomieszczeń o kubaturze do $250 m^3$. W drugim teście wykorzystano cykl czasowy przeznaczony do kubatury od $250 m^3$ do $500 m^3$. Podczas przeprowadzonych testów generator Bioquell Z umieszczono wewnątrz pomieszczenia laboratoryjnego o kubaturze $250 m^3$. W celu potwierdzenia skuteczności procesu rozmieszczono identycznie jak przy metodzie „suchej” wskaźniki biologiczne *Geobacillus stearothermophilus* w liczbie 15 szt. Wprowadzono do sytemu wymiary pomieszczenia, wykorzystując do tego celu program parametryczny, uszczelniono pomieszczenie i wyłączono systemy wentylacyjne. Monitorowanie procesu odbywało się za pomocą odłączanego, umieszczonego na zewnątrz dekontaminowanej strefy panelu sterowania, umożliwiającego wgląd we wszystkie parametry procesowe. W czasie dekontaminacji zaobserwowano wykoplenie się nadtlenu wodoru na szybach czy elementach wyposażenia laboratorium, takich jak np. lodówka czy niez izolowane przewody wodne i gazowe.

Uzyskane podczas badań stężenie nadtlenu wodoru wyniosło 465 ppm przy wilgotności względnej 37,9% oraz temperaturze powietrza 23,5°C. Ilość wprowadzonego do pomieszczenia perhydroflu wyniosła 3106 g. Całkowity czas cyklu dekontaminacji wyniósł 4 godziny i 44 minuty.

Drugi test przeprowadzono w pomieszczeniu o łącznej kubaturze 495 m³, wykorzystując do tego celu ten sam generator Bioquell Z. Jak już wspomniano wcześniej, do prawidłowego przeprowadzenia procesu w pomieszczeniu o tak dużej kubaturze należało zastosować cykl czasowy. W celu prawidłowego zaprogramowania cyklu wprowadzono dane dotyczące czasu odparowania perhydroflu (dla tej kubatury serwis firmy Bioquell zalecił 250 minut) oraz ręcznie ustalono fazę przetrzymania (dwell time) warunkującą skuteczność dekontaminacji na 60 minut (dane potrzebne do zaprogramowania cyklu czasowego uzyskano od serwisu firmy Bioquell).

Przed procesem w pomieszczeniu zostały umieszczone testy biologiczne *Geobacillus stearothermophilus* (niektóre z testów umieszczono na wysokości 7 m). Po wyłączeniu systemu wentylacyjnego i uszczelnieniu pomieszczenia uruchomiono generator H₂O₂, wykorzystując do tego celu panel sterujący umieszczony na zewnątrz pomieszczenia.

Uzyskane podczas testów stężenie nadtlenu wodoru wyniosło 447 ppm przy wilgotności względnej 35,7% oraz temperaturze powietrza 22,4°C. Ilość wprowadzonego do pomieszczenia perhydroflu wyniosła 4998 g. Całkowity czas cyklu dekontaminacji wyniósł 8 godzin i 20 minut.

Wyniki i omówienie

W metodzie suchej spośród 15 rozmieszczonych w pomieszczeniu testów *Geobacillus stearothermophilus* tylko te znajdujące się nad podwieszonym stropem wykazały wzrost drobnoustrojów (prawdopodobnie ze względu na brak penetracji gazu przez płyty kartonowo-gipsowe). Pozostałe testy, nawet te rozmieszczone w trudno dostępnych miejscach, dały wynik negatywny. Urządzenia elektroniczne znajdujące się w laboratorium nie nosiły śladu zniszczeń. Nie stwierdzono odbarwień i nalotów. W metodzie mokrej podczas dekontaminacji przy zastosowaniu cyklu parametrycznego dla wszystkich rozmieszczonych testów po procesie dezynfekcji H₂O₂ uzyskano całkowite wyjałowienie nośników, także tych umieszczonych w trudno dostępnych przestrzeniach. Po procesie dekontaminacji nie zaobserwowano żadnych osadów na powierzchniach wyposażenia, nie stwierdzono zniszczeń i odbarwień. Żadne z urządzeń elektronicznych znajdujących się podczas testu w pomieszczeniu, takich jak komputer, waga elektroniczna czy mikroskop, nie zostało uszkodzone. Podczas dekontaminacji pomieszczenia o kubaturze 495 m³ w cyklu czasowym podczas procesu dostrzeżono wizualnie wykraplanie się perhydroflu na powierzchniach, takich jak okna czy przeszklone drzwi. Po procesie dekontaminacji podobnie jak w przypadku testu metody „suchej” zebrano wcześniej rozmieszczone w pomieszczeniach testy mikrobiologiczne w celu ich inkubacji oraz dokładnie

sprawdzono pomieszczenie pod kątem ewentualnych zniszczeń. Bezpośrednio po procesie nie stwierdzono zniszczeń, przebarwień czy osadów w pomieszczeniu, jednakże po upływie kilku tygodni w uprzednio dekontaminowanym pomieszczeniu pojawiły się pęknięcia i odspojenia powłok malarskich (spowodowane wykropleniem się nadtlenu wodoru i utlenieniem podkładu stanowiącego wiązanie pomiędzy farbą a betonem). Ponadto uszkodzeniu uległa powłoka lakiernicza drzwi chłodni (farba nanoszona proszkowo) oraz powłoka lakiernicza samego generatora. Wykonano pomiar temperatury powierzchni, na których zaobserwowano skroplenie się nadtlenu, różnica wynosiła od 1,5°C do 1,8°C.

Porównanie obu metod dekontaminacji przy użyciu dwóch znacząco różniących się od siebie pod względem technologicznym urządzeń, jest pierwszym tego rodzaju badaniem w Polsce. Uzyskane informacje o sposobie prowadzenia procesów oraz ich skutkach pozwalają jednoznacznie stwierdzić skuteczność perhydroflu jako środka dezynfekcyjnego.

Podsumowanie

Zarówno metoda sucha, jak i metoda mokra zapewniają bardzo wysoką efektywność dekontaminacji. Dużą zaletą obu metod jest ich doskonały profil bezpieczeństwa oraz przyjazność środowisku, produktami końcowymi są nietoksyczne substancje, takie jak tlen i woda. Oba systemy dekontaminacji są systemami mobilnymi i kompaktowymi, łatwymi w transporcie.

W wyniku przeprowadzonych testów obu metod stwierdzono w przypadku generatora Bioquell Z firmy Bioquell UK, że optymalizacja procesu mająca za zadanie utrzymanie warstwy mikrokondensacji jest możliwa wyłącznie przy dekontaminacji pomieszczeń o kubaturze 250 m³. Powyżej tej kubatury generator nie optymalizuje procesu, odparowuje perhydroflu w ilości zaprogramowanej przez użytkownika. Oznacza to, że prowadzony w ten sposób proces musi być walidowany i ustalany każdorazowo przez serwis Bioquell UK. Należy pamiętać, że walidacja powinna być przeprowadzona przy różnych temperaturach i wilgotności. Zmiana jednego z parametrów może spowodować przekroczenie punktu rosy i niebezpieczne wykroplenie się H₂O₂, które może wpłynąć negatywnie na wyposażenie laboratorium. Ponadto producent urządzenia podaje, że różnica temperatur (gwarantująca zachowanie fazy mikrokondensacji) pomiędzy powierzchniami w dekontaminowanym obszarze wynosi 5°C. Podczas obecnych testów stwierdzono, że różnica temperatur, przy której nastąpiło skroplenie się nadtlenu wodoru wyniosła od 1,5°C do 1,8°C.

Wadą urządzenia jest również niedokładny pomiar stężenia H₂O₂. Zainstalowany w korpusie generatora sensor H₂O₂ o zakresie pomiarowym od -10 do 1000 ppm wykonuje dokładny pomiar w promieniu kilku metrów od urządzenia. Przy dekontaminacji kubatury powyżej 200 m³ w najbardziej oddalonych od urzą-

dzenia punktach występują znaczne różnice w stężeniach. Poważną wadą urządzenia jest również sam system programowania generatora, do którego operator wprowadza zbyt wiele informacji, przez co sam proces przygotowania urządzenia do pracy znacznie się wydłuża. Pomimo istniejących wad urządzenie firmy Bioquell posiada wiele zalet. Jedną z najistotniejszych jest czas dekontaminacji dzięki szybkiemu uzyskaniu odpowiedniego stężenia nadtlenu wodoru w pomieszczeniu.

Podczas testów wykorzystujący metodę suchą generator firmy ARD 1000 firmy Steris nie wykazywał problemów z wykraplaniem się nadtlenu wodoru (głównie z powodu zastosowanego przed procesem osuszania powietrza). Zastosowane dwa zewnętrzne sensory nadtlenu wodoru o zakresie 10-1000 ppm połączone z urządzeniem za pomocą kabla i umieszczone w pewnej odległości od generatora gwarantują wiarygodny i dokładny pomiar stężenia przy dekontaminacji pomieszczeń o dużej kubaturze. Wadą meto-

dy suchej jest powolne odparowanie perhydrolu, co wydłuża proces dekontaminacji.

Trudno jednoznacznie stwierdzić, który z systemów – mokry czy suchy – jest systemem lepszym. Wybór systemu powinien opierać się na głębokiej analizie potrzeb użytkownika, znajomości materiałów wykorzystanych do budowy laboratoriów oraz czasie, w którym powinien przebiegać proces dekontaminacji.

Piśmiennictwo

1. *Anon.*: Bioquell user manual Hydrogen Peroxide Vapour Generator system. Mat. inf. firmy Bioquell UK Company 2011.
2. *Anon.*: Mat. inf. Firmy Steris. 2011.
3. *McDonnell G., Grignol G., Antloga K.*: Vapour phase hydrogen peroxide decontamination of food contact surfaces. Dairy Food Environ. 2002, 22, 23-28.
4. *McDonnell G., Russell A. D.*: Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. Clin. Microbiol. 1999, 12, 147-179.
5. *Krajewska M., Skorupski A., Lipiec M.*: Dekontaminacja pomieszczeń laboratoryjnych z wykorzystaniem gazowej formy nadtlenu wodoru. Życie Wet. 2011, 86, 385-338.

Adres autora: mgr inż. Adrian Skorupski, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy