

## Evaluation of NOCOSYSTEM® efficacy in disinfecting surfaces by air

Angelo Sala, Cristina Pianetta, Silvia Bracco, Francesco Luzzaro

Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Azienda Ospedaliera Ospedale "A. Manzoni" Lecco

**Key words:** Decontamination, Dry fog, Atomization, Hydrogen peroxide, Bacterial eradication

**Valutazione di efficacia del sistema NOCOSYSTEM® nella disinfezione di superfici per via aerea**

### SUMMARY

**Introduction:** NOCOSYSTEM® (NS) is a disinfection system composed by NOCOSPRAY® diffuser and NOCOLYSE® disinfectant (stabilized hydrogen peroxide and silver atoms) based on a patented technology of atomization (dry fog). This system is designed to prevent infections by surface decontamination by air. Our study tested NS efficacy in disinfecting a 45m<sup>3</sup> room (without aeration) contaminated with increasing concentrations of ATCC bacterial strains (*Staphylococcus aureus* 29213, *Escherichia coli* 25922, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Enterococcus faecalis* 29212).

**Methods:** Volumes of bacterial suspensions at different concentrations (10<sup>4</sup>, 10<sup>5</sup>, 10<sup>6</sup> CFU/ml) were distributed with a sterile spatula on selected surfaces (area 50-200 cm<sup>2</sup>): floor, wall, doorway, counters, and shelves. Thereafter, the room was treated with NS, delivering NOCOLYSE® for 3' at the highest concentration (4 ml/m<sup>3</sup>). After 30' the surfaces were brushed with moistened sterile swabs, that were immediately inoculated on blood agar plates (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France).

**Results:** After aerobically incubation at 35°C for 18-24 h, bacterial grown measured as total colony numbers was significantly lower than controls. In case of low inocula, bacterial grown was 100% inhibited on floors, counters and shelves, whereas this percentage dropped to 80% with an inoculum of 10<sup>6</sup> CFU/ml. On walls and door the percentage of reduction of bacterial contamination was 100% regardless of the initial bacterial number.

**Conclusions:** Our data confirm the efficacy of NS to determine eradication for low bacterial inocula and significant reduction when using high concentrations, allowing to appreciate the real decrease of surface contamination at different inocula.

### INTRODUZIONE

NOCOSYSTEM® (NS) è un dispositivo medicale brevettato per la disinfezione ambientale ed è composto dal nebulizzatore NOCOSPRAY®, che funziona a portata costante erogando la soluzione disinfettante NOCOLYSE-OneShoot (costituita da perossido di idrogeno stabilizzato e ioni argento). Il sistema si prefigge la disinfezione delle superfici per via aerea in relazione ad un ampio spettro di microrganismi, quali batteri (incluse le spore), funghi e virus. Per tale ragione i settori di applicazione di NOCOSYSTEM® risultano già numerosi, comprendendo quello industriale, agro-alimentare, zootecnico, veterinario e farmaceutico. In ambito sanitario, e più specificatamente in ambito ospedaliero, la sua applicazione riguarderebbe la sanificazione di aree critiche per il rischio infettivo (1, 2, 3). Scopo del nostro studio è stato quello di verificare l'efficacia del sistema nella disinfezione di diverse superfici, contaminate con concentrazioni crescenti di differenti specie batteriche.

### MATERIALI E METODI

L'efficacia del sistema è stata valutata confrontando le cariche batteriche di ceppi batterici selezionati rilevate su superfici volutamente contaminate prima e dopo il trattamento di disinfezione. A tale scopo, sono stati impiegati sia ceppi batterici ATCC (*S. aureus* 29213, *E. coli* 25922, *P. aeruginosa* 27853, *E. faecalis* 29212) sia ceppi di recente isolamento ottenuti da campioni clinici: *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* produttore di beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL) e *Acinetobacter baumannii complex* multiresistente. Per ogni ceppo è stata allestita una sospensione microbica 0.5 McFarland (1.5 x 10<sup>8</sup> UFC/ml); successivamente ciascuna sospensione è stata diluita in soluzione fisiologica sterile in modo da ottenere inoculi inferiori (10<sup>4</sup>, 10<sup>5</sup>, 10<sup>6</sup> UFC/ml). Per la contaminazione della cabina di sicurezza è stata usata la concentrazione massima di 10<sup>8</sup> UFC/ml, anziché quella di 10<sup>6</sup> UFC/ml.

Successivamente, 200 µl delle sospensioni dei sette microrganismi ad inoculo variabile sono stati uniformemente distribuiti con spatola sterile su superfici selezionate (area 50-200

cm<sup>2</sup>). In particolare, sono state scelte differenti superfici di un locale di circa 40 m<sup>3</sup> in assenza di aerazione: pavimento con rivestimento melamminico, parete, porta d'accesso, tavolo da laboratorio in vitrosteeel® (materiale simil-ceramica, Arredi Villa) e piano di lavoro in acciaio inox di una cabina di biosicurezza a flusso laminare verticale (FLV) in classe II.

Si è proceduto poi al campionamento delle superfici individuate con ansa calibrata da 1 µl e alla semina quantitativa su piastre Petri di agar sangue Columbia (bioMérieux) e McConkey agar (Oxoid), in modo da poter calcolare l'effettiva carica batterica iniziale.

Le dispensazioni sono state fatte essiccare per 30' prima di procedere all'erogazione per nebulizzazione del disinfettante NOCOLYSE-OneShoot al 12% alla concentrazione di 2 ml/m<sup>3</sup> e con tempo pari a circa 3' (tempo di esposizione e concentrazione del disinfettante sono stati determinati sulla base delle indicazioni fornite dall'Azienda produttrice). Dopo 30', tempo necessario per lasciare asciugare la soluzione erogata, ciascuna area precedentemente contaminata è stata umidificata con 200 µl di soluzione fisiologica per poter procedere al campionamento delle superfici individuate con ansa calibrata da 1 µl e successiva semina quantitativa su piastre di agar sangue Columbia (bioMérieux) e McConkey agar (Oxoid).

Tutte le piastre sono state incubate in aerobiosi a 37°C. Dopo 18-24 h sono state contate le colonie per ciascun microrganismo ed è stata infine eseguita l'analisi comparativa delle cariche microbiche osservate prima e dopo il trattamento.

### RISULTATI

Sulla base dell'analisi comparativa delle piastre seminate prima e dopo il trattamento di disinfezione con NS, la carica batterica totale post-trattamento è risultata significativamente più bassa rispetto ai controlli. La riduzione del numero totale di colonie pre e post trattamento non variava in relazione al microrganismo o al suo grado di resistenza agli antibiotici, mentre si osservavano alcune differenze in rapporto all'inoculo. In particolare, la percentuale di abbattimento della carica batterica per le superfici di pavimento, banconi e

**Corresponding author: Angelo Sala**

Via Isola, 20B - 23900 Lecco

Tel.: +39 338 6377135

E-mail: angelosala2@alice.it

ripiani è risultata pari al 100% con bassi inoculi, mentre con un inoculo pari a 10<sup>6</sup> UFC/ml tale percentuale si è ridotta

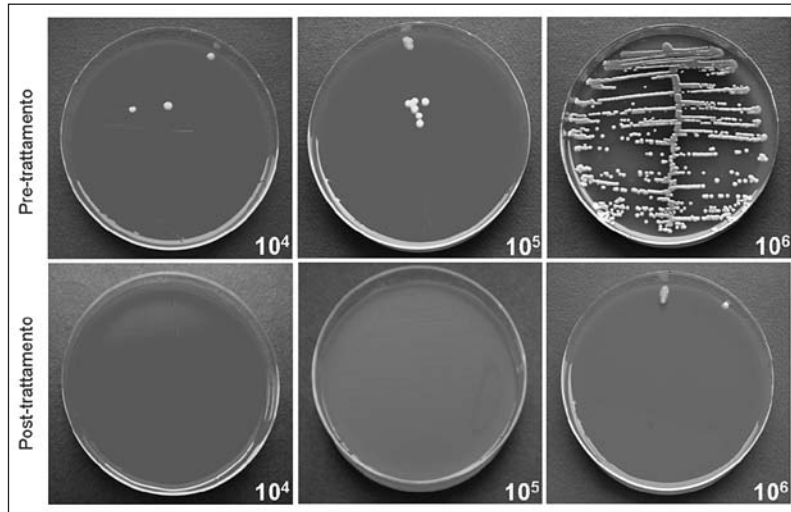
all'80%. A livello delle pareti e della porta, la percentuale di abbattimento è risultata pari al 100% indipendentemente dalla carica batterica iniziale.

Per quanto riguarda la cabina di biosicurezza, abbiamo osservato una completa attività battericida in riferimento ai ceppi di *Serratia marcescens*, *K. pneumoniae* e *A. baumannii* anche con carica microbica di 10<sup>8</sup> UFC/ml.

La Figura I mostra la crescita batterica su piastre di agar sangue nelle due modalità (prima e dopo il trattamento) relativamente al ceppo di *K. pneumoniae* disseminato sul piano di lavoro in VITROSTEEL® con i tre diversi inoculi.

Le Tabelle 1 e 2 riportano il numero di colonie osservate pre e post trattamento con NS utilizzando i ceppi della routine (Tabella 1) ed i ceppi ATCC (Tabella 2).

La Tabella 3 mostra la percentuale di abbattimento della carica microbica sulle diverse superfici in rapporto all'inoculo utilizzato.



**Figura I.** Comparazione delle cariche microbiche di *K. pneumoniae* pre e post trattamento sul piano in VITROSTEEL®.

**Tabella 1.** Numero di colonie su pavimento e bancone e sul piano di lavoro della cappa FLV

Microrganismo	Inoculo	N° medio di colonie su pavimento e bancone		N° di colonie sul piano di lavoro della cappa FLV	
		Pre trattamento	Post trattamento	Pre trattamento	Post trattamento
<i>K. pneumoniae</i>	10 <sup>4</sup>	3	0	5	0
	10 <sup>5</sup>	23	1	10	0
	10 <sup>6</sup> - 10 <sup>8</sup>	193	39	210	35
<i>S. marcescens</i>	10 <sup>4</sup>	5	0	3	0
	10 <sup>5</sup>	40	1	30	0
	10 <sup>6</sup> - 10 <sup>8</sup>	183	33	200	28
<i>A. baumannii</i>	10 <sup>4</sup>	3	0	3	0
	10 <sup>5</sup>	32	0	35	0
	10 <sup>6</sup> - 10 <sup>8</sup>	177	37	200	30

**Tabella 2.** Numero medio di colonie di ceppi ATCC su pavimento e bancone.

Microrganismo	Inoculo	N° medio di colonie su pavimento e bancone	
		Pre trattamento	Post trattamento
ATCC 29213 <i>S. aureus</i>	10 <sup>4</sup>	6	0
	10 <sup>5</sup>	48	0
	10 <sup>6</sup>	187	35
ATCC 25922 <i>E. coli</i>	10 <sup>4</sup>	4	0
	10 <sup>5</sup>	20	0
	10 <sup>6</sup>	190	34
ATCC 27853 <i>P. aeruginosa</i>	10 <sup>4</sup>	3	0
	10 <sup>5</sup>	32	0
	10 <sup>6</sup>	180	38
ATCC 29212 <i>E. faecalis</i>	10 <sup>4</sup>	4	0
	10 <sup>5</sup>	33	0
	10 <sup>6</sup>	199	29

**Tabella 3.** Numero medio di colonie sulle diverse superfici.

Inoculo	N° medio di colonie ± DS		% Abbattimento
	Pre trattamento	Post trattamento	
10 <sup>4</sup>	3.9 ± 1.1	0 ± 0	100
10 <sup>5</sup>	30.3 ± 10.6	0.2 ± 0.4	99.3
10 <sup>6</sup> -10 <sup>8</sup>	191.9 ± 10.4	33.8 ± 3.8	82.4

**CONCLUSIONI**

I risultati della sperimentazione dimostrano una elevata capacità disinfettante di NOCOSYSTEM®.

Il sistema si è rivelato efficace nella disinfezione per via aerea di un locale di circa 40 m<sup>3</sup> a carico di superfici costituite da materiali differenti, azzerando le cariche più basse e riducendo dell'80% quelle più elevate, indipendentemente

dal tipo di microrganismo in esame e dalla sua resistenza agli antibiotici.

Tale risultato appare particolarmente importante in considerazione della elevata capacità di sopravvivenza nell'ambiente di alcuni dei microrganismi studiati, quali *A. baumannii* e *S. marcescens*. In merito al piano di lavoro della cabina di sicurezza, la disinfezione è stata osservata in modo assoluto

anche per la carica di  $10^8$  UFC/ml. Lo studio conferma la capacità battericida di NS ed indica che tale apparecchiatura può rappresentare un utile strumento per la disinfezione per via aerea di superfici in ambito sanitario.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Menguy D, Bobin-Dubreux S, Demarque A, Galland M. Disinfection masks and tubes for the assisted breathing with NOCOSPRAY / NOCOLYSE. *Breas Medical Sarl*, 2002.
2. Palermo C, Rampinelli G, Adami A, Carrassi A. Setting odontoiatrico: uno studio pilota per valutare l'efficacia di NOCOSPRAY / NOCOLYSE nello studio odontoiatrico. *Dental Clinics*, 2009.
3. <http://www.nocosystem.com>