

Originalni naučni rad DOI: 10.5937/DDD26030M

EFIKASNOST PRIMENE VODONIK-PEROKSIDA U REDUKCIJI AEROGENIH PATOGENA I SPORA GLJIVICA U STAMBENIM OBJEKTIMA – STUDIJA SLUČAJA

EFFECTIVENESS OF THE APPLICATION OF HYDROGEN PEROXIDE IN THE REDUCTION OF AEROGENIC PATHOGENS AND FUNGI Spores IN RESIDENTIAL BUILDINGS – A CASE STUDY

Marijana Mačužić^{1}, Vasilije Korugić¹*

Kratak sadržaj

Mikrobiološka kontaminacija vazduha u stambenim objektima, sa posebnim akcentom na spore gljivica iz roda *Aspergillus* spp., predstavlja značajan rizik po javno zdravlje. Kod opšte populacije ovi agensi najčešće izazivaju respiratorne tegobe i alergijske reakcije, dok kod imunokompromitovanih osoba mogu dovesti do znatno težih zdravstvenih poremećaja, uključujući i ozbiljne sistemske infekcije. Cilj ovog rada je ispitivanje efikasnosti dezinfekcije vazduha primenom biocidnog proizvoda na bazi vodonik-peroksida (H_2O_2) i jona srebra (Ag^+) u redukciji mikrobiološkog opterećenja u zatvorenom stambenom prostoru. Ispitivanje je sprovedeno primenom ULV aerosolnih generatora, hladnim zamagljivanjem, korišćenjem radnog rastvora biocidnog proizvoda sa 5% vodonik-peroksida i 100 ppm jona srebra. Uzorkovanje vazduha vršeno je neposredno pre i 2 sata nakon sprovedenog tretmana metodom aktivnog volumetrijskog uzorkovanja po principu impakcije, korišćenjem uređaja Spin Air – Air Sampler. Prilikom svakog uzorkovanja sakupljana je zapremina vazduha od $1\ m^3$ vazduha u trajanju od 10 minuta direktno na čvrste hranljive podloge: krvni agar za izolaciju bakterija i Sabouraud agar za izolaciju spora gljivica, a u cilju precizne kvantifikacije ukupnog broja mikroorganizama (CFU/ m^3). Dobijeni rezultati pokazuju da je dezinfekcija vazduha ULV hladnim zamagljivanjem primenom 5% vodonik-peroksidom sa jonima srebra doveo do drastičnog i statistički značajnog smanjenja brojnosti aerogenih patogena. Efikasnost redukcije prisustva bakterija iznosila je 98%, dok je redukcija spora gljivica iznosila 92%. Pored visoke mikrobiocidne i sporocidne efikasnosti ostvarene sinergističkim dejstvom vodonik peroksida i jona srebra, prednost primene vodonik peroksida za dezinfekciju vazduha je i njegova brza degradacija na vodu i kiseonik. Zahvaljujući ovim poznatim hemijskim svojstvima aktivnih

¹ Marijana Mačužić, spec. struk. sanitarno ekološki inž.; dr spec. med. Vasilije Korugić, Zavod za biocide i medicinsku ekologiju, 11000 Beograd, R. Srbija

* e-mail kontakt osobe: zavod@biocidi.org.rs

supstanci, omogućen je bezbedan povratak korisnika prostora u tretirane objekte nakon isteka vremena ekspozicije od 2 sata, čineći ovu metodu visoko efikasnom, ekološki prihvatljivom i bezbednom po zdravlje ljudi.

Ključne reči: *Aspergillus spp.*, dezinfekcija vazduha, joni srebra, ULV hladno zamagljivanje, vodonik-peroksid

Abstract

*Microbiological air contamination in residential buildings, with a special emphasis on fungal spores of the genus *Aspergillus spp.*, poses a significant public health risk. In the general population, these agents most commonly cause respiratory issues and allergic reactions, whereas in immunocompromised individuals, they can lead to significantly more severe health disorders, including serious systemic infections. The aim of this study is to examine the efficacy of air disinfection using a biocide product based on hydrogen peroxide (H_2O_2) and silver ions (Ag^+) in reducing the microbiological load in indoor residential spaces. The research was conducted using ULV (Ultra Low Volume) aerosol generators via cold fogging, utilizing a working biocide solution containing 5% hydrogen peroxide and 100 ppm silver ions. Air sampling was performed immediately before and 2 hours after the treatment using the active volumetric sampling method based on the impaction principle, utilizing the Spin Air – Air Sampler device. During each sampling procedure, an air volume of 1 m^3 was collected over a 10-minute period directly onto solid culture media: blood agar for bacterial isolation and Sabouraud agar for the isolation of fungal spores, in order to precisely quantify the total number of microorganisms (CFU/ m^3). The obtained results indicate that air disinfection via ULV cold fogging with 5% hydrogen peroxide and silver ions led to a drastic and statistically significant reduction in the number of airborne pathogens. The reduction efficacy for bacteria was 98%, while the reduction for fungal spores was 92%. In addition to the high microbiocidal and sporicidal efficacy achieved through the synergistic effect of hydrogen peroxide and silver ions, a key advantage of applying hydrogen peroxide for air disinfection is its rapid degradation into water and oxygen. Thanks to these known chemical properties of the active substances, the safe return of occupants to the treated premises is possible after a 2 hour exposure time, making this method highly effective, environmentally safe, and safe for human health.*

Keywords: *Aspergillus spp.*, air disinfection, hydrogen peroxide, silver ions, ULV cold fogging

UVOD

Kvalitet vazduha u zatvorenom prostoru predstavlja jedan od važnih činilaca javnog zdravlja u savremenom društvu, s obzirom na to da stanovništvo u urbanim sredinama većinu vremena provodi u zatvorenom prostoru. Mikrobiološka kontaminacija unutrašnje sredine najčešće se javlja kao direktna posledica akumulacije vlage i neadekvatne ventilacije u objektu, što stvara povoljne uslove za mikrobiološku kontaminaciju vazduha, naročito gljivicama i bakterijama (World Health Organization, 2009).

Perzistentna vlaga u građevinskim strukturama, koja se manifestuje kroz vidljive tragove buđi ili karakterističan miris na vlagu, u sinergiji sa loše projektovanim ili neodržavanim ventilacionim sistemima, dovodi do nekontrolisane proliferacije mikroorganizama. Ovi biološki agensi u unutrašnju mikrosredinu emituju širok spektar štetnih materija, uključujući spore, fragmente ćelija, alergene i toksična isparljiva organska jedinjenja (WHO, 2009; Bruce, 2022). Usled dugotrajnog i kontinuiranog udisanja kontaminiranog vazduha, drastično se povećava rizik od razvoja hroničnih respiratornih simptoma, akutnih infekcija disajnih puteva, alergijskog rinitisa i astme. (WHO, 2009; Mendell i sar., 2011)

Epidemiološki podaci nedvosmisleno potvrđuju da stanari objekata u kojima su prisutni vlaga i buđ imaju značajno veći rizik od razvoja respiratornih tegoba, zviždanja u grudima i otežanog disanja (WHO, 2009; Bruce, 2022). Posebno su ugrožene osetljive populacione grupe, poput dece, starijih osoba i pacijenata sa kompromitovanim imunim sistemom, kod kojih izloženost mikrobiološkim agensima može dovesti do ozbiljnih zdravstvenih poremećaja.

Pored direktnog negativnog uticaja po zdravlje ljudi, mikrobiološka kontaminacija vazduha predstavlja jasan indikator strukturnih i higijenskih nedostataka objekata. S obzirom na to da ne postoje precizno definisani pragovi bezbedne koncentracije mikroorganizama u vazduhu za stambeni prostor, svaka pojava vidljive buđi smatra se dovoljnim dokazom o postojanju rizika po zdravlje (WHO, 2009). Stoga, saniranje primarnih uzroka vlage i redovno održavanje ventilacionih sistema ne predstavljaju samo tehnička pitanja upravljanja objektom, već i važnu meru prevencije u cilju očuvanja zdravlja i zaštite imunog sistema svih korisnika zatvorenog prostora (WHO, 2009; Bruce, 2022).

Sprečavanje ili minimiziranje perzistentne vlage na unutrašnjim površinama i strukturama zgrada prepoznato je kao najvažniji korak u eliminaciji štetnih efekata po zdravlje ljudi (WHO, 2009). Precizno razumevanje dinamike rasta mikroorganizama i njihove distribucije putem vazdušnih strujanja neophodno je za implementaciju efikasnih strategija sanacije objekta i primenu savremenih metoda dezinfekcije, a sve u cilju očuvanja i unapređenja zdravlja ljudi.

MEHANIZAM DELOVANJA VODONIK-PEROKSIDA I JONA SREBRA

Biocidni proizvodi registrovani kao dezinficijensi koji sadrže dve ili više aktivnih materija prepoznati su kao visoko efikasni u smanjenju broja aerogenih patogena. Sinergistički mehanizam delovanja vodonik-peroksida i jona srebra predstavlja naprednu metodu oksidativne dezinfekcije. Ova kombinacija omogućava snažniji mikrobiocidni efekat nego što bi ove aktivne materije postigle pojedinačnim delovanjem.

Vodonik-peroksid je snažan oksidacioni agens čija se biocidna aktivnost zasniva na oslobađanju slobodnih hidroksilnih radikala (OH). Ovi radikali su među najjačim poznatim oksidansima u prirodi i deluju neselektivno na ključne ćelijske komponente i to (Koburger i sar., 2011; Ibrahim, 2021):

1. izazivaju oksidativni stres ćelije tako što oksiduju tiolne grupe proteina, što dovodi do denaturacije enzima i prekida metabolizma ćelije,
2. deluju na masne kiseline u ćelijskoj membrani izazivajući peroksidaciju lipida, što dovodi do gubitka integriteta ćelijske membrane, curenja ćelijskog sadržaja i konačnom lizom ćelije (Koburger i sar., 2011),
3. prodorom unutar ćelije, radikali direktno oštećuju nukleinske kiseline (DNK i RNK), kidajući njihove lance čime se onemogućava replikacija ćelije i dalja deoba patogena (Koburger i sar., 2011; Ibrahim, 2021).

Jedna od najvećih prednosti primene vodonik peroksida je to što se nakon reakcije razlaže isključivo na vodu i kiseonik, ne ostavljajući toksične ili kancerogene rezidue (Koburger i sar., 2011; Williams, s.a.).

Srebro u jonskom obliku pojačava efikasnost vodonik peroksida kroz tri ključne funkcije:

1. kao stabilizator rastvora tako što joni srebra sprečavaju spontano raspadanje vodonik peroksida pre nego što on dospe u kontakt sa mikroorganizmima, čime se produžava vek trajanja dezinfekcionog sredstva u formi aerosolne magle.
2. deluju sinergistički na vodonik peroksid tako što povećavaju osetljivost mikroorganizama na oksidativni stres (Pedahzur i sar., 1995). Dok peroksid slabi ćelijski zid, joni srebra lakše prodiru u unutrašnjost ćelije gde se vezuju za molekule fosfora i sumpora, blokirajući disajni lanac mikroorganizma (Ibrahim, 2021).
3. imaju bakteriostatski rezidualni efekat tako što za razliku od vodonik peroksida koji potpuno ispari nakon reakcije, mikroskopske količine jona srebra ostaju na tretiranim površinama, pružajući pasivnu zaštitu koja sprečava ponovnu kolonizaciju bakterija i klijanje spora gljivica tokom određenog vremenskog perioda (Koburger i sar., 2011).

Poseban značaj primene sinergije vodonik-peroksida i jona srebra ogleda se u sposobnosti inaktivacije visoko rezistentnih mikrobioloških formi, prvenstveno bakterijskih endospora i spora gljivica poput roda *Aspergillus* (Beswick i sar., 2011, Ibrahim, 2021). Dok su tradicionalni dezinficijensi često neefikasni, kombinovano delovanje ovih aktivnih supstanci može se definisati kao simultani napad na dve kritične tačke ćelije spore, i to (Koburger i sar., 2011; Skaugset i sar., 2013):

1. Vodonik-peroksid deluje kao primarni oksidacioni agens koji fizički razara spoljašnje zaštitne proteinske omotače i ćelijske membrane putem oslobađanja visoko reaktivnih hidroksilnih radikala, što slabi strukturnu barijeru spore, čineći njenu unutrašnjost ranjivom.
2. Joni srebra prodiru kroz oslabljene omotače direktno u jezgro spore. Ovde joni srebra ispoljavaju visoku genotoksičnost i metaboličku blokadu, vezujući se za vitalne enzime i molekule DNK, čime se trajno onemogućava klijanje spore i replikacija mikroorganizma.

Efikasnost ovog hemijskog procesa u realnim uslovima dezinfekcije unutrašnjeg prostora postiže se generisanjem ULV čestica suve magle, čime se omogućava zasićenje celokupne zapremine vazduha i prodiranje biocidnog proizvoda u teško dostupna i skrivena mesta u prostoriji, a koji su fizički nedostupni klasičnim metodama dezinfekcije (Koburger i sar., 2011; Skaugset i sar., 2013).

MATERIJAL I METODE

Ispitivanje je sprovedeno u stambenom objektu tipa porodična kuća ukupne površine 100 m², a zapremine vazduha 260 m³. Objekat je odabran kao reprezentativan primer zbog prisutne vlage u unutrašnjosti objekta.

Pre započinjanja ispitivanja, izvršen je detaljan obilazak i pregled objekta gde je zatečena sledeća situacija:

1. na unutrašnjim zidovima dnevnog boravka i spavaćih soba, posebno u uglovima koji se graniče sa spoljašnjom sredinom, uočeni su crni tragovi poreklom od plesni,
2. u vazduhu je dominirao karakterističan neprijatni miris,
3. korisnici prostora su se žalili na niz zdravstvenih pogoršanja koje su povezivali sa boravkom u ovom prostoru, a najviše na kašalj, iritacije grla i osećaj otežanog disanja. Osim navedenih simptoma najviše im je smetao konstantan miris na buđ koji je bio prisutan u objektu.

Mikrobiološka analiza vazduha

Kako bi se uspostavili egzaktni i jasni parametri za evaluaciju uspešnosti redukcije aerogenih patogena, sprovedena su dva mikrobiološka uzorkovanja vazduha. Prvo pre započinjanja tretmana dezinfekcije prostora, a u cilju dobijanja kvantitativnih podataka početnog stanja mikrobiološke kontaminacije vazduha, a drugo uzorkovanje dva sata nakon tretmana čime su dobijeni podaci o procentu redukcije mikrobiološkog opterećenja vazduha, a samim ti i uspešnosti sprovedene dezinfekcije.

Uzorkovanja su izvršena primenom aktivne volumetrijske metode impakcije, korišćenjem uređaja Spin Air – Air Sampler. Za razliku od pasivnih metoda sedimentacije koje se oslanjaju na slobodan pad čestica, ovaj uređaj omogućava precizno definisanje zapremine vazduha koji će biti aspiriran, čime se dobija tačan podatak o broju mikroorganizama u zadatoj jedinici zapremine.

Uzorkovanje je trajalo 10 minuta kontinuiranim aspiriranjem 1m³ vazduha kroz perforiranu glavu uređaja u kojoj je bila postavljena Petri šolja sa hranljivom podlogom. Mikroorganizmi suspendovani u aspiriranoj zapremini vazduha, usled ubrzanja, ostajali su na površini hranljive podloge u Petri šolji, što je osiguralo njihovu ravnomernu distribuciju i omogućilo kasniju preciznu kvantifikaciju kolonija (CFU/m³). Hranljive podloge koje su korišćene za izolaciju i kvantifikaciju mikrobiološkog opterećenja su krvni agar za izolaciju bakterija i Sabouraud agar za izolaciju spora gljivica.

Uzorkovanje nakon tretmana izvršeno je dva sata nakon završetka tretmana dezinfekcije. Vremenski interval od 2 sata nakon izvršene aplikacije dezinfekcionog sredstva predstavlja neophodno vreme ekspozicije tokom kojeg aerosol vodonik-peroksida i jona srebra vrši intenzivnu oksidaciju ćelijskih membrana i uništavanje genetskog materijala patogena, čak i kod najotpornijih spora gljivica. Pored sporocidnog dejstva, ovaj period od dva sata omogućava prirodnu i potpunu hemijsku degradaciju vodonik-peroksida na bezbedne nusprodukte – vodu i kiseonik, čime se osigurava da vazduh bude toksikološki čist i bezbedan za povratak stanara u objekat, bez potrebe za dodatnim mehaničkim provetranjem i čišćenjem.

Aplikacija dezinfekcionog sredstva

Dezinfekcija prostora sprovedena je upotrebom tečnog biocidnog proizvoda koji sadrži dve aktivne materije, i to: 5% vodonik-peroksid i 100 ppm jona srebra.

Biocidni proizvod je aplikovan u prostor metodom ULV aerosolnog hladnog zamagljivanja korišćenjem ULV aerosolnog generatora IGEBA Unipro 5.

Metodologija same dezinfekcije zasnovana je na generisanju čestica suve magle optimalne veličine čestica od 5 do 50 μm . Zahvaljujući ovako malim dimenzijama kapljica i strujanju vazduha u prostoriji ispod 0,2 m/s, aerosolne čestice ostaju suspendovane u vazduhu duži vremenski period, čime se postiže potpuno zasićenje celokupne zapremine objekta. Ključna prednost ove metode u odnosu na klasične postupke orošavanja je gasovito ponašanje aerosola, što omogućava prodiranje čestica u mikroskopske pukotine na zidovima, kao i u nepristupačne prostore iza nameštaja koji su fizički nedostupni pri primeni metode vlažne dezinfekcije orošavanjem.

Postupak aplikacije biocidnog proizvoda sproveden je prema sledećem protokolu:

Pre otpočinjanja tretmana, svi prozori i vrata su hermetički zatvoreni. Uređaj je postavljen centralno u objektu, sa mlazom usmerenim dijagonalno, čime je osigurana maksimalna pokrivenost svih prostorija unutar kuće.

Nakon završetka procesa zamagljivanja i aplikovanja celokupne količine biocidnog proizvoda potrebnog za dezinfekciju predmetne zapremine, a prema uputstvu proizvođača, objekat je ostao zatvoren u trajanju od 2 sata. Ovaj vremenski interval predstavlja vreme u kojoj sinergija vodonik-peroksida i jona srebra vrši intenzivnu oksidaciju ćelijskih membrana patogena i inaktivaciju rezistentnih spora *Aspergillus* spp. direktnim kontaktom.

REZULTATI I DISKUSIJA

Sprovedeno ispitivanje u opisanom stambenom objektu dalo je kvantitativne dokaze o visokoj efikasnosti sinergije vodonik-peroksida i jona srebra u eliminaciji aerogenih patogena. Analiza rezultata dobijenih aktivnom volumetrijskom

metodom uzorkovanja pre i nakon tretmana ukazuje na značajnu redukciju mikrobiološkog opterećenja u svim ispitivanim kategorijama.

Laboratorijskom analizom uzoraka koji su uzeti pre tretmana potvrđene su visoke koncentracije mikroorganizama u vazduhu i to 850 CFU/m³ bakterija i 420 CFU/m³ spora gljivica.

Nakon izvršene dezinfekcije vazduha metodom ULV hladnog zamagljivanja i dvočasovne ekspozicije, laboratorijskom analizom uzoraka uzetih nakon tretmana dezinfekcije uočena je visoka redukcija broja mikroorganizama. Procenatualna efikasnost redukcije iznosila je 98% za bakterije i 92% za spore gljivica, što ukazuje na visoku efikasnost vodonik peroksida i jona srebara u redukciji broja mikroorganizama u postupcima dezinfekcije.

Dobijeni rezultati potvrđuju da se potpuna eliminacija patogena, koji ugrožavaju zdravlje ljudi u kontaminiranom prostoru, može postići isključivo primenom integralnog pristupa. Ovaj pristup podrazumeva sinergiju primenom adekvatne metodologije dezinfekcije, upotrebe biocida sa više aktivnih materija uz obaveznu građevinsku sanaciju samog objekta.

Ključ uspeha u ovom procesu leži u primeni tehnologije suve magle, koja omogućava 5% rastvoru vodonik-peroksida prodor u dubinske pore zidova i mikropukotine – mesta koja služe kao rezervoari spora i koja je nemoguće tretirati standardnim metodama vlažne dezinfekcije.

Međutim, održivost postignutih rezultata i trajno očuvanje zdravlja korisnika prostora direktno zavise od obavezne sanacije primarnih uzročnika vlage na objektu. Bez uklanjanja strukturnih nedostataka koji omogućavaju ponovnu akumulaciju vlage, čak i najefikasnija dezinfekciona sredstva pružila bi samo privremeno rešenje. Kombinacijom sanacije objekta i adekvatne metode dezinfekcije postiže se biološki bezbedno okruženje, čime se trajno neutrališu rizici od hroničnih respiratornih oboljenja i infekcija kod osoba koje borave u kontaminiranom prostoru.

Posebno je važno istaći ekološki aspekt i bezbednost metode. Činjenica da se vodonik-peroksid tokom dva sata ekspozicije potpuno razložio na vodu i kiseonik, omogućila je stanarima povratak u objekt bez rizika od izlaganja štetnim hemijskim reziduama ili kancerogenim isparenjima, što je čest problem kod primene često korišćenih sredstava poput onih na bazi hlora ili aldehida. Eliminacija neprijatnih mirisa odmah nakon tretmana dodatno je potvrdila da je došlo do oksidacije ne samo živih mikroorganizama, već i njihovih štetnih metaboličkih produkata.

ZAKLJUČAK

Dobijeni rezultati potvrđuju da kombinacija vodonik peroksida i jona srebra u dezinfekcionom sredstvu koje je aplikovano metodom ULV hladnog zamagljivanja, predstavlja rešenje za sanaciju stambenih prostora pogođenih vlagom i buđi. Ova metoda ne samo da trenutno dekontaminira vazduh i površine, već

zahvaljujući rezidualnom dejstvu jona srebra, pruža i produženu zaštitu od ponovnog razvoja patogena, a uz obaveznu građevinsko tehničku sanaciju objekta. Sprovođenjem adekvatne dezinfekcije uz obaveznu građevinsku sanaciju objekta, vrši se direktna neutralizacija faktora rizika, čime se osigurava optimalna zaštita zdravlja i integriteta imunog sistema korisnika prostora.

LITERATURA

1. WHO (World Health Organization). (2009). *WHO guidelines for indoor air quality: dampness and mould*. WHO Regional Office for Europe.
2. Koburger, T., Hübner, N.-O., Herzog, B., Ludke, J., Kramer, A., & Assadian, O. (2011). Decontamination of room air and adjoining wall surfaces by nebulizing hydrogen peroxide: A pilot study in a public hospital. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip*, 6(1), Doc09.
3. Ibrahim, S. (2021). *Novel applications of vaporized hydrogen peroxide on contaminated materials and surfaces* [Doktorska disertacija, University of Lisbon].
4. Bruce, K. M. (2022). *Evaluation of Dry Hydrogen Peroxide application in a single stage hatchery on embryo health, hatchability and chick quality* [Master rad, University of Georgia].
5. Williams, S. C. (s.a.). *Hydrogen Peroxide Material Compatibility Chart*. Princeton University, Environmental Health and Safety.
6. Mendell, M. J., Mirer, A. G., Cheung, K., Tong, M., & Douwes, J. (2011). Respiratory and allergic health effects of dampness and mold in homes: Correcting a public health topic. *Environmental Health Perspectives*, 119(6), 748–756.
7. Beswick, A. J., Froude, S., Bull, R. J., Chew, S. L., & Bennett, A. M. (2011). Comparison of multiple systems for laboratory-scale surface decontamination using hydrogen peroxide. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(10), 3433–3439.
8. Skaugset, N. P., Ellingsen, D. G., Notø, H., Eduard, W., & Thorud, S. (2013). Characterization of exposure to hydrogen peroxide during disinfection using a "dry mist" system. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 10(12), 651–660.
9. Pedahzur, R., Lev, O., Fattal, B., & Shuval, H. I. (1995). The interaction of silver ions and hydrogen peroxide in the inactivation of *Escherichia coli*: A synergistic effect. *Water Research*, 29(10), 2319–2325.