



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Evaluación de la eficacia de la liberación de radicales hidroxilo para la desinfección del aire y las superficies en la consulta odontológica

Anaïs Paños Crespo

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

Programa de Doctorat en Medicina i Recerca Translacional

---

**“Evaluación de la eficacia de la liberación de radicales hidroxilo para la desinfección del aire y las superficies en la consulta odontológica”**

Memoria de tesis doctoral presentada por

**Anaïs Paños Crespo**

para optar al grado de doctora por la Universitat de Barcelona.

Dirigida por:

**Prof.<sup>a</sup> Dra. M<sup>a</sup> Àngels Sánchez Garcés**

**Prof. Dr. Cosme Gay Escoda**

Departament d'Odontostomatologia

Facultat de Medicina i Ciències de la Salut

Universitat de Barcelona

**Febrero de 2024**



A mis padres, Aurelio y Maria Dolores

A mi hermana Almudena



*Nuestras convicciones más arraigadas, más indubitables son las más sospechosas. Ellas constituyen nuestro límite, nuestros confines y nuestra prisión.*

José Ortega y Gasset.



# **Agradecimientos**



La realización de este proyecto ha sido posible gracias a la colaboración de múltiples personas y entidades. Para mi ha sido un gran honor trabajar con cada una de ellas.

En primer lugar, me gustaría destacar mi agradecimiento a los directores de la presente tesis doctoral; la Profa Dra. M<sup>a</sup> Àngels Sánchez Garcés, Profesora Agregada de la Universitat de Barcelona, y el Prof. Dr. Cosme Gay Escoda, Catedrático de la Universitat de Barcelona.

A la Profa Dra. M<sup>a</sup> Àngels Sánchez Garcés por ser el *alma mater* de este proyecto. Su constante inquietud en la búsqueda de nuevas vías de investigación me ha dado la motivación que, en ocasiones, no encontraba. Gracias por ser la primera en confiar en mis capacidades y por todos los consejos que me ha brindado desde el cariño. Es un ejemplo como docente, investigadora, cirujana y mujer.

Al Prof. Dr. Cosme Gay Escoda, referente de la Cirugía Bucal a nivel nacional e internacional. Gracias por su inestimable contribución al desarrollo científico de las nuevas generaciones. Su ética y rigor en el ejercicio de la profesión es una fuente de inspiración constante. Ha sido, es y será siempre un orgullo poder aprender de usted.

Al Dr. Jordi Morató Farreras, director de la cátedra UNESCO de Sostenibilidad de la Universitat Politècnica de Catalunya (UPC) por poner a nuestra disposición el equipo y los medios para la realización de este proyecto.

Al Prof. Pere Monagas Asensio, doctor en Ingeniería Biomédica. Sin su ayuda no hubiera podido llegar a comprender el funcionamiento de los radicales hidroxilo.

Al Prof. Dr. Jorge Toledano Serrabona, la palabra exacta en el momento adecuado. Tengo el honor de poder llamarte amigo.

A Eva Capdevila, por su inestimable ayuda y cariño durante estos últimos 4 años de mi carrera académica.

Al Prof. José María Sanchis Bielsa, estomatólogo y docente de la Universitat de Valencia. Gracias a él descubrí mi pasión por la Cirugía Bucal. Su dirección durante la elaboración de mi trabajo de final de grado supuso mis inicios en el mundo de la investigación. Le estaré eternamente agradecida por apoyarme cuando solamente era una alumna de pregrado.

A los alumnos de distintas promociones del Máster de Cirugía Bucal e Implantología Bucofacial de la Universitat de Barcelona. Primero compañeros, luego amigos y ahora familia. Gracias por todos los momentos vividos.

A todos los profesores del Máster de Cirugía Bucal e Implantología Bucofacial de la Universitat de Barcelona. Gracias por inculcarme la pasión por nuestra profesión y por transmitirme, con una paciencia infinita, todos vuestros conocimientos.

A mis primas y a mis amigas. Mujeres inteligentes y llenas de talento. Gracias por apoyarme en todas mis inquietudes académicas, por entender las ausencias y por recordarme que lo más importante de la vida está más allá de los libros. A Ainoha y Beatriz, quienes han vivido de cerca el largo camino recorrido en la elaboración de esta tesis doctoral. Gracias por respetar mis tiempos y espacios de trabajo, sois casa.

A mi tío Antonio. A mi familia paterna y materna por su apoyo. A mis abuelos, Antonio y Gerardo, y abuelas, Manuela y Mercedes; gente sencilla que empezó desde cero para que yo no tuviera que hacerlo.

A mi hermana, Almudena. Gracias por creer en mí más que yo misma. Eres mi referente y el mejor regalo de mi vida. A mis padres, Aurelio y María Dolores. Gracias por inculcarme el valor de la honradez, la humildad y la constancia en el trabajo. Por vuestra entrega sin límites para que pueda alcanzar mis metas y arrojarme en cada éxito y fracaso. No encuentro palabras para expresar mi gratitud. No hay mayor riqueza que saber que os tengo. Os quiero.

Concluyo con una frase que me ha inspirado durante los años que ha durado la elaboración de este proyecto: “Cuando hay voluntad, hay camino”.

# Financiación

El estudio que compone la presente tesis doctoral ha sido financiado con:

**Organismo:** Universitat de Barcelona.

**Convocatoria:** XXIV Convocatòria d'ajuts per a la recerca per a estudiants de doctorat i/o postgraus i màsters de la Unidad de Formación e Investigación de Odontología.

**Duración:** 2021-2022.

**Financiación:** 4.000 €.

**Organismo:** Colegio de Odontólogos y Estomatólogos de Cataluña (COEC).

**Convocatoria:** I Convocatoria Premios al mejor proyecto de investigación original e inédito en el campo de la Odontoestomatología.

2º Premio al mejor proyecto.

**Duración:** 2021-2022.

**Financiación:** 5.000 €.



# Índice

1. ARTÍCULOS DE LA TESIS .....	Pág:29
2. RESUMEN .....	Pág:33
3. INTRODUCCIÓN.....	Pág:39
3.1. Antecedentes y contextualización.....	Pág:41
3.2. Microorganismos nosocomiales en Odontología.....	Pág:44
3.3. Desinfección.....	Pág:46
3.4. Métodos tradicionales de desinfección de superficies.....	Pág:47
3.5. Métodos tradicionales de desinfección del aire.....	Pág:51
3.6. Tecnología basada en la liberación de radicales hidroxilo.....	Pág:55
3.6.1. Definición y mecanismo de acción.....	Pág:55
3.6.2. Producción de radicales hidroxilo.....	Pág:57
3.6.3. Ventajas y desventajas.....	Pág:61
3.7. Justificación.....	Pág:64
4. HIPÓTESIS.....	Pág:69
5. OBJETIVOS.....	Pág:73
6. MATERIAL Y MÉTODO.....	Pág:77
6.1. Diseño del estudio.....	Pág:79

6.2. Muestras de estudio.....	Pág:80
6.3. Material.....	Pág:80
6.3.1. Dispositivo generador de radicales hidroxilo.....	Pág:80
6.3.2. Medios de cultivo de las muestras del aire y superficies.....	Pág:83
6.4. Recogida y preparación de las muestras.....	Pág:84
6.5. Análisis estadístico.....	Pág:91
7. RESULTADOS.....	Pág:93
7.1. Análisis de resultados para el muestreo de superficies.....	Pág: 95
7.2. Análisis de resultados para el muestreo del aire.....	Pág:97
8. DISCUSIÓN.....	Pág:101
9. CONCLUSIONES.....	Pág:115
10. REFERENCIAS.....	Pág:119
11. ANEXOS.....	Pág:133

# Abreviaturas y acrónimos

OMS	Organización Mundial de la Salud	OSEMIA	Odontología Segura con Minimización de Aerosoles
UV	Radiación ultravioleta	O <sub>3</sub>	Ozono
OH <sup>•</sup>	Radical hidroxilo	µm	Micrómetro
HEPA	High Efficiency Particle Arresting	UFC	Unidades formadoras de colonias
ARN	Ácido ribonucleico	ADN	Ácido desoxirribonucleico
RT-PCR	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction; Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa	RODAC	Replicate Organism Detection And Counting
L	Litros	UFC/ml	Unidades formadoras de colonias/mililitro
SRAG	Síndrome Respiratorio Agudo Grave	BOE	Boletín Oficial del Estado
Orden SND	Orden del Sistema Nacional de Discapacidad	FDI	Federación Dental Internacional (World Dental Federation)
VIH/SIDA	Virus de la Inmundeficiencia Humana/Síndrome de la Inmundeficiencia Humana Adquirida	CDCP	Center for Disease Control and Prevention
NaClO <sub>2</sub>	Clorito sódico	UFC/m <sup>3</sup>	Unidades formadoras de colonias/metro cúbico
nm	Nanómetro	TiO <sub>2</sub>	Dióxido de titanio
mW/cm <sup>2</sup>	Milivatios/centímetro cuadrado	J/m <sup>2</sup>	Julio/metro cúbico
mJ/cm <sup>2</sup>	Milijulio/centímetro cuadrado	O <sub>2</sub>	Oxígeno
ppm	Partes por millón	mg/m	Miligramo/metro
SESA	Sociedad Española de Sanidad Ambiental	UNE	Asociación Española de Normalización
UNE-EN	Una Norma Española-Norma Europea	ISO	International Organization for Standardization
µm	Micrómetro	HCoV	Coronavirus Humano
CPC	Cloruro de cetilpiridino	HVE	Sistema de Evacuación de Alto Volumen
mm	Milimetro	m <sup>3</sup>	Metro cúbico
PCO	Photocatalytic Oxidation	C=C	Enlace covalente doble de carbono
CIE	Comisión Internacional de Iluminación	H <sub>2</sub> O	Agua
moléculas/cm <sup>3</sup>	Moléculas /centímetro cúbico	CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
AOP	Proceso de Oxidación Avanzada	-OH	Radicales alcohólicos
RH	Ácido graso	•OH	Especie Reactiva del Oxígeno
ROO <sup>•</sup>	Radical peroxilo libre	ROOH	Lipohidroperóxido
V	Voltios	mg	Miligramo
L mol <sup>-1</sup>	Volumen molar	ml/cm <sup>2</sup>	Mililitro/centímetro cuadrado
e <sup>-</sup>	Electrón	R <sup>•</sup>	Radical alquilo libre
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nitrato	hν	Constante de Plank
•NO <sub>2</sub>	Dióxido de nitrógeno	OONO <sup>•</sup>	Peroxinitrito
OONO <sup>•</sup>	Ácido perioxinitroso	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Anión nitrito
•NO	Óxido nítrico	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrógeno
Hg	Mercurio	HO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	Hidroperoxilo
OAF	Open Air Factor	H <sup>+</sup>	Catión hidrógeno
k	Constante de velocidad	cm <sup>3</sup>	Centímetro cúbico
molécula <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup>	Unidad de medida de la velocidad de una reacción: molécula superficie.	HONO	Ácido nitroso
h+	Hueco en la banda de valencia	COVs	Compuestos orgánicos volátiles
O <sub>2</sub> <sup>••</sup>	Radical superóxido	Fe	Hierro
Fe <sup>2+</sup>	Catión ferroso	Fe <sup>3+</sup>	Catión férrico
Cu <sup>2+</sup>	Catión cúprico	Fe <sup>III</sup>	Óxido férrico
FeOH <sup>2+</sup>	Hidróxido de hierro	L	Número cuántico secundario
EDTA	Etilendiaminotetraacético	L+	Ligando orgánico

kHZ	Kilohercio	MHz	Megahercio
H <sup>•</sup>	Radical hidrógeno	UVU	Radiación ultravioleta de vacío
Ti <sup>III</sup>	Titanio grado III	Ti <sup>IV</sup>	Titanio grado IV
O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	Dióxido	OAF	Open Air Factor
ERO	Especie Reactiva del Oxígeno	g/h	Gramo/hora
ppb	Partes por billón	mg/m <sup>3</sup>	Miligramo/metro cúbico
CNE	Centro Nacional de Epidemiología	ISCCIII	Instituto de Salud Carlos III
ECD	Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades	SiVIRA	Sistema de vigilancia centinela de la infección respiratoria aguda
VRS	Virus Respiratorio Sincital	UCI	Unidad de Cuidados Intensivos
Kg	Kilogramo	W/h	Vatios/hora
molec·cm <sup>-3</sup> ·s <sup>-1</sup>	Moléculas por centímetro cúbico por segundo	dB	Decibelios
TSA	Trypto Casein Soy Agar	TBX	Tryptone Bile X-Glucuronide
VRBG	Violet Red Bile Glucose agar	SARS-CoV	Coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave
°C	Grado centígrado	m <sup>3</sup> /min	Metro cúbico/minuto
mg/g	Miligramo/gramo	cm	Centímetro
cm <sup>2</sup>	Centímetro cuadrado	M	Metro
OR	Odds Ratio	RIC	Rango intercuartílico
DE	Desviación Estándar	Log	Logaritmo (reducción logarítmica)
MYP	Manitol Yema de huevo Polimixina (agar)	ESPII	Emergencia de Salud Pública de Importancia Internacional
RENAVE	Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica	FPP2	Filtering Face Pieces ≥ 94%
ADA	Asociación Dental Americana	HEPA	High Efficiency Particulate Air
OH <sup>-</sup>	Aniones hidróxido	mg/h	Miligramo/hora
mL/día	Mililitro/día	NO <sub>x</sub>	Óxidos de nitroso
FDA	Federación Dental Americana	OSHA	Administración de Seguridad y Salud Ocupacional
PCA	Plate Count Agar	m/s	Metro/segundo
ECA	Enzima conversiva de la angiotensina 2	Log 10	Logaritmo de base 10
MERS-CoV-2	Coronavirus causante del síndrome respiratorio de Oriente Medio	SARS-CoV	Coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave
HVAC	Heating, Ventilation and Air-Conditioning systems	Células MDCK	Madin-Darby canine kidney cells: células de riñón de Madin-Darby
μl	Microlitro	m <sup>2</sup>	Metro cuadrado
g/h	Gramo/hora	HEPR	Health Emergency Preparedness, Response and Resilience

# Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Macroestructura de las bacterias Gram positivo (izquierda) y Gran negativo (derecha).....	45
<b>Figura 2.</b> Degradación de los OH <sup>*</sup> en compuestos orgánicos no dañinos.....	56
<b>Figura 3.</b> Peroxidación lipíca producida por los radicales hidroxilo sobre las membranas celulares de los patógenos.....	57
<b>Figura 4.</b> Evolución temporal de la producción de OH <sup>*</sup> en ausencia ( línea discontinua) y presencia (línea continua) del dispositivo WellisAir Disinfection Wadu02 <sup>®</sup> .....	62
<b>Figura 5.</b> Estructura macromolecular de virus no-envueltos (izquierda) y envueltos (derecha).....	64
<b>Figura 6.</b> Informe nº 99. Situación COVID-19 en España a 6 de Octubre de 2021. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Fuente: CNE, ISCIII.....	64
<b>Figura 7.</b> Tasas de incidencia semanal de IRAs (SARS-CoV-2, gripe y VRS). SiVIRA, temporada 2021-22, España. Fuente: CNE.ISCIII. Sistema centinela de Vigilancia de Gripe en España. A (H1N1) pdm09: virus de la gripe A (H1N1) pdm09. C: virus de la gripe C. VRS: virus respiratorio sincitial. A (H3N2): virus de la gripe A (H3N2). IRAs: infección respiratoria aguda. ANS: virus de la gripe ANS. B: virus de la gripe B.....	65
<b>Figura 8.</b> Consulta odontológica dónde se llevó a cabo el estudio.....	79
<b>Figura 9.</b> Dispositivo liberador de OH <sup>*</sup> (WellisAir Disinfection Wadu02 <sup>®</sup> ).....	81
<b>Figura 10.</b> Dimensiones del dispositivo liberador de OH <sup>*</sup> (WellisAir Disinfection Wadu02 <sup>®</sup> ). A: Vista frontal. Anchura del dispositivo y de la base de soporte. B: Vista lateral. Altura del dispositivo con base de soporte. C: Vista lateral. Altura y profundidad del dispositivo sin base de soporte. D: Vista trasera del dispositivo. Dimensiones del cartucho. Dimensiones del auxiliar para pared.....	81

<b>Figura 11.</b> Inserción del cartucho consumible emisor de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> en el dispositivo liberador de OH <sup>•</sup> (WellisAir Disinfection Wadu02 <sup>®</sup> ).....	82
<b>Figura 12.</b> Sensor en tiempo real que indica la calidad del aire a través de una gama de colores en el dispositivo liberador de OH <sup>•</sup> (WellisAir Disinfection Wadu02 <sup>®</sup> ).....	82
<b>Figura 13.</b> Modo noche en el dispositivo liberador de OH <sup>•</sup> (WellisAir Disinfection Wadu02 <sup>®</sup> ) en el que el ruido producido por el dispositivo es inferior a 30 decibelios (dB).....	83
<b>Figura 14.</b> Captador de aire empleado para el muestreo del aire.....	84
<b>Figura 15.</b> Demostración de las líneas de 30 corriente de las rejillas verticales de impulsión. Este perfil también cubre toda la consulta odontológica y es el responsable de la trayectoria seguida por los radicales hidroxilo.....	85
<b>Figura 16.</b> Demostración del camino que siguen las 25 líneas de corriente de los radicales hidroxilos impulsados por el dispositivo WellisAir Disinfection Wadu02 <sup>®</sup> . En general, el perfil de velocidades sigue un camino que cubre prácticamente toda la consulta odontológica.....	85
<b>Figura 17.</b> Demostración de la mezcla del aire acondicionado con los radicales hidroxilos en un régimen estabilizado.....	86
<b>Figura 18.</b> Pared lateral izquierda y frontal del gabinete (*).....	87
<b>Figura 19.</b> Placas RODAC. a) Violet Red Bile Dextrose Agar (VRDB Agar), b) Tryptic Soy Agar (TSA), c) Sabouradud Chloramphenicol Agar, d) Manito Salt Agar, e) Microinstant Tryptone Bile Glucuronic A (TBX Agar), f) Cetrimide Agar, g) Bacillus cereus Selective Agar.....	88
<b>Figura 20.</b> Autoclave.....	88
<b>Figura 21.</b> Incubadoras celulares.....	89
<b>Figura 22.</b> Toma de muestras sobre pantalla facial protectora del operador.....	89

<b>Figura 23.</b> Protocolo recomendado para detección de SARS-CoV-2 en superficies industriales u hospitalarias.....	90
<b>Figura 24.</b> Efecto de la tecnología liberadora de radicales hidroxilo en la reducción de bacterias aerobias totales (agar TSA) en superficies.....	96
<b>Figura 25.</b> Efecto de la tecnología liberadora de radicales hidroxilo en la reducción de bacterias aerobias totales (Agar TSA) en superficies: a) sillón dental, b) paredes del gabinete y c) pantalla facial protectora del operador.....	96
<b>Figura 26.</b> Ejemplo de resultados de PCR (Polymerase Chain Reaction)- RT (real time) para detectar la presencia de SARS-CoV-2 en la superficie de la pantalla facial protectora del operador.....	7
<b>Figura 27.</b> Crecimiento microbiológico expresado en unidades formadoras de colonias (UFC) en agar TSA para bacterias aerobias totales en aire durante los días control y test.....	98
<b>Figura 28.</b> Crecimiento microbiológico expresado en unidades formadoras de colonias (UFC) en agar Manitol para <i>Staphylococcus sp.</i> en aire durante los días control y test.....	98
<b>Figura 29.</b> Crecimiento microbiológico expresado en unidades formadoras de colonias (UFC) en agar Sabouraud para hongos y levaduras en aire durante los días control y test.....	99
<b>Figura 30.</b> Efecto de la tecnología liberadora de radicales hidroxilo en la reducción de bacterias aerobias totales (agar TSA), <i>Staphylococcus sp.</i> (agar Manitol) y hongos y levaduras (agar Sabouraud) en aire.....	99



# Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Métodos de protección disponibles para el control de infecciones cruzadas.....	54
<b>Tabla 2.</b> Resultados del test de eficacia del dispositivo WellisAir Disinfection Wadu02 <sup>®</sup> con limoneno (Airtècnics, Castellar del Vallès, Barcelona, España) como biocida frente a diferentes microorganismo.....	63
<b>Tabla 3:</b> Medios de cultivo empleados para el estudio microbiológico.....	83
<b>Tabla 4.</b> Descripción de las variables de estudio.....	92
<b>Tabla 5:</b> Número de placas usadas en el muestreo de cada ambiente.....	95



## **1.Artículos de la tesis**



- Tesis en formato clásico con 2 artículos.
- La tesis consta de 4 objetivos y 2 artículos.

- Paños-Crespo A, Toledano-Serrabona J, Sánchez-Garcés MÁ, Gay-Escoda C. Evaluation of the efficacy of hydroxyl radical (OH<sup>·</sup>) release for disinfection of the air and surfaces in the dental clinic: An in vitro study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2023;20:26157.

- Publicado en *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. pISSN 1698-4447 eISSN:1698-6946.
- Journal Citation Reports-Science. Edition 2022.
  - Factor de impacto: 2,2.
  - Tercer cuartil (Q3).
- Scimago Journal & Country Rank (SJR) 2022.
  - Factor de impacto: 0,59.
  - Segundo cuartil (Q2).



- Paños-Crespo A, Traboulsi-Garet B, Sánchez-Garcés MÁ, Gay-Escoda C. Disinfection of the air and surfaces in the dental clinic using hydroxyl radical (OH<sup>·</sup>) based technology: A systematic review. *J Clin Exp Dent*. 2023;15(6):494-504.

- Publicado en *J Clin Exp Dent*. ISSN 1989-5488.
- Scimago Journal & Country Rank (SJR) 2022.
  - Factor de impacto: 0,45.
  - Segundo cuartil (Q2).





## **2.Resumen**



## **Título**

Evaluación de la eficacia de la liberación de radicales hidroxilo para la desinfección del aire y las superficies en la consulta odontológica.

## **Introducción**

El personal de una clínica odontológica está sometido a unos riesgos inherentes a su profesión debido a su contacto estrecho con los pacientes y a la generación de aerosoles que pueden actuar como un vector de transmisión. Ante este escenario, en 2020 el Consejo General de Dentistas elaboró el documento “Odontología Segura con Minimización de Aerosoles: OSEMIA” dando lugar al análisis de fórmulas emergentes que permitieran una práctica clínica más segura en relación a la climatización y purificación del aire de la clínica dental.

La cavidad bucal es un medio séptico donde se ha detectado la presencia de más de 700 especies de microorganismos. Una de las herramientas útiles para controlar la transmisión de enfermedades es la desinfección. Los principales agentes desinfectantes de superficies utilizados en el gabinete odontológico son compuestos químicos pero también están disponibles otras opciones como la radiación ultravioleta (UV) o el ozono (O<sub>3</sub>) cuyo uso no está exento de controversia ya que pueden producir efectos dañinos para la salud.

En cuanto a la desinfección del aire, debe tenerse en cuenta que la mayoría de las partículas de los aerosoles que se producen en las consultas odontológicas son de un tamaño inferior a 5 µm. Ante este escenario, el uso de barreras físicas de protección son insuficientes por si solas para evitar la inhalación de los núcleos más pequeños y, por este motivo, es necesario emplear otros métodos como los OH<sup>•</sup>, que tienen dos grandes ventajas: ser totalmente inocuos en humanos, lo que permite a los profesionales seguir trabajando durante su uso, y poder ser utilizados en grandes espacios.

## **Hipótesis**

Las hipótesis principales de este estudio fueron que los OH<sup>\*</sup> reducen la presencia de diferentes microorganismos en las superficies y en el aire de la consulta odontológica.

## **Objetivos**

Los objetivos de esta investigación fueron: 1) Determinar la eficacia de los radicales hidroxilo (OH<sup>\*</sup>) como método de desinfección de las superficies y del aire de la consulta odontológica. 2) Cuantificar el crecimiento bacteriano, fúngico y de levaduras en unidades formadoras de colonias (UFC) de las superficies y del aire presentes en una consulta odontológica. 3) Detectar la presencia de SARS-CoV-2 en la superficie de la pantalla facial protectora del operador. 4) Avalar la bioseguridad de las consultas odontológicas.

## **Métodos**

Se propuso un estudio clínico experimental dividido en dos fases. La primera fase se centró en evaluar la eficacia de la tecnología basada en OH<sup>\*</sup> frente a bacterias, hongos y levaduras localizadas en superficies y en el aire de una consulta odontológica y, también, frente al virus SARS-CoV-2 exclusivamente en la superficie de la pantalla facial protectora del operador. La segunda fase, que pretendía estudiar la eficacia de desinfección de los OH<sup>\*</sup> en el aire de la consulta odontológica frente a virus de ADN y ARN, como SARS-CoV-2, quedó supeditada a los resultados obtenidos en la primera fase.

Para el análisis de superficies se recogieron muestras por triplicado mediante placas RODAC, con siete medios de cultivo diferentes. Para el muestreo del aire se emplearon captadores de aire. Las muestras se remitieron al Laboratorio de Microbiología Sanitaria y Medioambiental (MSMLab) de l'Universitat Politècnica de Barcelona.

Para la detección de SARS-CoV-2, se efectuó un muestreo en la pantalla facial protectora del operador y las muestras se procesaron mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR).

El estudio se llevó a cabo en un gabinete odontológico donde previamente se analizó el sistema de ventilación. La primera fase tuvo una duración de 5 días no consecutivos de actividad terapéutica habitual. Durante los 2 primeros días se obtuvieron las muestras control sin el uso del dispositivo liberador de OH<sup>•</sup>. A continuación, se procedió a instalar el dispositivo y se practicó el mismo procedimiento de recogida de las muestras durante 3 días adicionales siempre manteniendo los protocolos habituales de desinfección. Los datos se registraron en una hoja de cálculo de Excel (Microsoft<sup>®</sup>, Redmond, Washington, EE.UU).

## **Resultados**

Lo resultados principales se obtuvieron tras el análisis de 1.260 muestras microbiológicas procedentes de las superficies de la consulta dental, 200 litros (L) de aire del mismo espacio y 14 muestras para la detección de SARS-CoV-2 en la superficie de las pantallas faciales protectoras del operador.

Respecto al muestreo en aire se encontró crecimiento de UFC en los medios de cultivo para hongos y levaduras, para bacterias aerobias totales y para bacterias Gram-positivo del género *Staphylococcus*. Se observó una reducción significativa del 66,7% en las muestras test de hongos y levaduras y del 71,4% en las de *Staphylococcus* tras el uso de los radicales OH<sup>•</sup>.

Respecto al análisis de los resultados obtenidos en superficies, solo se observó crecimiento de bacterias aerobias totales. Entre las tres superficies muestreadas sólo se obtuvieron resultados significativos en la superficie del sillón dental ( $p=0,02$ ) dónde la reducción fue del 76,9% tras el uso de los radicales OH<sup>•</sup>.

Finalmente, no se detectó la presencia del coronavirus SARS-CoV-2 sobre la superficie de las pantallas faciales protectoras del operador, razón por la cual no se procedió a la realización de la segunda fase.

## Conclusiones

1. La tecnología basada en la liberación de radicales hidroxilo reduce significativamente la presencia hongos y levaduras y de *Staphylococcus* en el aire.
2. La tecnología basada en la liberación de radicales hidroxilo reduce la presencia de bacterias aerobias totales en las superficies de la consulta odontológica. Sobre superficies, la reducción sólo fue significativa en el sillón dental.
3. Las bacterias aerobias totales se cuantificaron en 48 UFC/100 mL en aire y en 45,24 UFC/placa RODAC en superficies. Se encontraron 7 UFC/100 mL de *Staphylococcus* en aire y 6 UFC/100 mL de hongos y levaduras en aire.
4. No se detectó la presencia de SARS-CoV-2 en la superficie de la pantalla facial protectora del operador.
5. En las condiciones del estudio efectuado puede afirmarse que las consultas odontológicas son ambientes bioseguros para los pacientes y los profesionales cuando se aplica un protocolo de desinfección eficaz.

## **3.Introducción**



### 3.1. Antecedentes y contextualización

A finales del 2019 las autoridades de Wuhan (Hubei, China) informaron sobre la aparición de algunos casos de neumonía de etiología desconocida. Posteriormente se demostró que el agente causal era un nuevo virus de la familia *Coronaviridae* llamado SARS-CoV-2 (1,2). La familia *Coronaviridae* incluye cuatro géneros (alfa, beta, delta y gammacoronavirus) así como subgéneros y especies siendo el SARS-COV-2 un nuevo miembro del género betacoronavirus. El cuadro clínico asociado a este virus se ha denominado COVID-19. Esta enfermedad puede producir un amplio abanico de sintomatología siendo la fiebre, la tos seca y la disnea los síntomas más frecuentes. También se han asociado otros síntomas como la fatiga, la diarrea, la anorexia, la anosmia o la ageusia e incluso neumonía, síndrome respiratorio agudo grave (SRAG) y/o fallo renal. Todas ellas situaciones que pueden conducir a la muerte de los pacientes (3). La COVID-19 se propagó por todo el mundo causando millones de contagios y muertes (4), lo que provocó que el 11 de marzo del 2020 la Organización Mundial de la Salud (OMS) declarara el brote de Coronavirus como pandemia.

La transmisión del virus se lleva a cabo entre persona-persona a través de las secreciones de los pacientes infectados y suele deberse al contacto directo con las gotas respiratorias generadas al toser, al estornudar o al hablar, o bien, a través de fómites (5). Además, también se han sugerido otras vías de propagación como la orofecal o la ocular, sin embargo, éstas últimas aún no se han demostrado (6). En relación con los fómites, Van Doremalen y cols. (7) analizaron la estabilidad de SARS-CoV-2 y SARS-CoV-1 en aerosoles y sobre varias superficies. El estudio consistía en nebulizar las preparaciones víricas en el interior de una cámara Goldberg y se realizaron un total 10 experimentos por triplicado sobre aerosol, plástico, acero inoxidable, cobre y cartón. La presencia de SARS-CoV-2 fue detectada hasta 3 horas después en aire, 6,8 horas en plástico, 5,6 horas en acero inoxidable, 4 horas en cobre y hasta 24 horas en cartón.

Debe tenerse en cuenta que, como todos los profesionales de la salud, los facultativos y el personal que trabajan en una consulta de Odontología y/o de Cirugía Maxilofacial pueden actuar como un vector de transmisión. Por lo que es de especial interés reducir el riesgo de infección cruzada para evitar la propagación de la enfermedad a la población (8).

Tras la declaración del estado de alarma, en España se publica en el Boletín Oficial del Estado (BOE) la Orden SND/310/2020 por la que se establecen como servicios esenciales determinados centros, servicios y establecimientos sanitarios entre los que se encuentran las clínicas dentales. En agosto de 2020, la Federación Dental Internacional (FDI) publica una declaración bajo el nombre “Considerations for the provision of essential oral health services in the context of COVID-19” (9) en el que se alienta a la población a acudir al odontólogo con toda seguridad y a hacer uso de los servicios de salud bucodental. No obstante, declaran que es absolutamente esencial llevar a cabo más investigaciones sobre la transmisión del virus SARS-CoV-2 incluyendo consideraciones específicas para la práctica odontológica.

En líneas generales, el personal sanitario presenta un mayor riesgo de infección y este hecho favorece su diseminación comunitaria. Un estudio publicado en Estados Unidos de América (EE.UU.) y en el Reino Unido estimó que el riesgo de infección por SARS-CoV-2 para el personal sanitario era 3,4 veces mayor en comparación con la población general (10). Estos datos varían según el país así en Francia el riesgo era del 2,2%, en Grecia del 7,5%, en Alemania del 3,12%, Italia hacía referencia a un 11%, Portugal a un 11,8% y en Polonia los registros fueron de un 17%. Entre marzo y julio del 2020 se realizó una revisión sistemática y un metaanálisis a escala internacional. De los 46 estudios incluidos, 31 se llevaron a cabo en países europeos, 9 en Estados Unidos y Canadá y 6 en países asiáticos. La prevalencia global de COVID-19 en personal sanitario medida a través de confirmación con reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) fue del 11%, con una tasa de mortalidad del 0,5%. En España los datos demostraron que, en ese momento, de los 250.273 casos confirmados, 40.961 se correspondían con personal sanitario, lo que supuso el 7-8% del total de casos (11,12).

En cuanto a la prevalencia específica entre el personal odontológico mundial, en Estados Unidos de América (EE.UU.) se practicó una encuesta a 2.195 dentistas obteniéndose una prevalencia del 0,9%. Algunos de los datos disponibles sobre China mostraron que, en la Facultad de Odontología de Wuhan, de los 1.098 miembros del personal y los 828 estudiantes, solo se infectaron 9 personas. Únicamente Croacia, Letonia y Portugal disponían de un registro específico de dentistas afectados por la

COVID-19, que ascendía a un total de 23 positivos entre los 3 países y sólo 4 de esos 23 casos fueron atribuibles a la asistencia clínica (13).

Desde el Consejo Europeo de Dentistas, que representa a más de 31 países, se monitorizó la situación de la Odontología europea en esos momentos contabilizando en España unos 40.000 colegiados en activo trabajando en más de 21.628 clínicas durante la declaración del estado de alarma (13). El personal de la clínica dental está sometido a unos riesgos inherentes a su profesión, debido a su contacto estrecho con los pacientes y a la generación de aerosoles durante el tratamiento pero, a pesar de esto, lo que también demostraban las cifras publicadas es que durante la pandemia existió un mayor grado de protección entre los dentistas respecto al resto del personal sanitario.

No es la primera vez que la comunidad odontológica se enfrenta a situaciones de riesgo sanitario. La epidemia del virus de la inmunodeficiencia humana/síndrome de inmunodeficiencia adquirida (VIH/SIDA) en la década de los 80 creó una gran alarma y aceleró la adopción de medidas de protección universales reforzando las medidas para conseguir una eficiente desinfección y esterilización (14,15). Todo ello ha contribuido a crear espacios más seguros para los trabajadores y sus pacientes ayudando a minimizar el riesgo de infección cruzada durante el ejercicio de la profesión.

Sin embargo, aunque en la consulta dental se siguen tradicionalmente estrictos protocolos de limpieza, la imposibilidad de garantizar el contagio cero de SARS-CoV-2 ha creado la necesidad de extremar aún más las medidas y aplicar las recomendaciones oficiales de asepsia, esterilización y desinfección. La protección frente a enfermedades de transmisión aérea en un gabinete dental debería ser exhaustiva, sobre todo durante el desarrollo de procedimientos quirúrgicos y/o generadores de aerosoles, garantizando condiciones cercanas a las de un quirófano de cirugía ambulatoria.

Casi todos los procedimientos dentales conllevan un alto riesgo teórico de infección debido a la propagación de aerosoles. Como consecuencia, las agencias de Salud Pública y las Asociaciones Dentales Internacionales (16–20) han emitido pautas para mejorar el control de la infección en un marco epidemiológico con riesgos persistentes. El Ministerio de Sanidad español publicó las “Recomendaciones de operación y mantenimiento de los sistemas de climatización y ventilación de edificios y locales para

la prevención de la propagación del SARS-CoV-2” (21), donde se especificaba que la transmisión por aerosoles se produce a través de partículas que permanecen suspendidas en el aire durante un tiempo variable, que se propagan a una distancia mayor de 2 metros y, especialmente, en lugares cerrados con escasa ventilación.

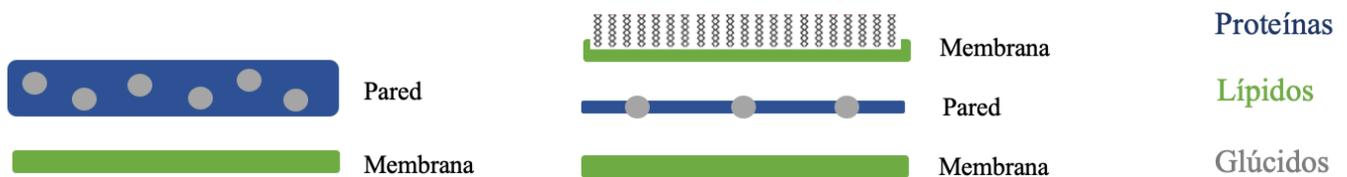
En este contexto parece razonable analizar fórmulas emergentes que permitan la práctica más segura basada en la minimización de la generación de aerosoles. De ahí surge el concepto de Odontología Segura con Minimización de Aerosoles (OSEMIA). La OSEMIA es innovadora y responde a los requisitos de una emergencia pandémica y post pandémica actual, donde el riesgo de transmisión aérea sigue siendo alto pero donde se precisa la continuidad en la prestación de los servicios dentales. A colación de ésto fueron publicadas las aclaraciones en relación con la climatización, purificación del aire y aireación en el área clínica dental en las que se recomienda la instalación de algún sistema de ventilación y/o purificación del aire que garantice una tasa de renovación de aire de 6 volúmenes/hora (sin reciclaje) (20).

A pesar de la diversidad de ofertas en este campo, no existen estudios que comparen la eficacia y las ventajas de los sistemas entre sí, que evalúen las variables y condiciones de un gabinete dental como tampoco de los efectos secundarios y riesgos inherentes a su uso. Debido a la falta de estudios comparativos aplicados al campo de la Odontología, y a la dinámica de la oferta del mercado en estos momentos, muchos de los protocolos internacionales recomiendan prudencia a la hora de seleccionar y adoptar un sistema de purificación del aire ambiental. Estos sistemas funcionan a través de técnicas de atrapamiento o mediante técnicas de oxidación pero ninguno presenta avales científicos suficientes ni ninguno puede sustituir al resto de medidas de protección utilizadas habitualmente.

### **3.2. Microorganismos nosocomiales en Odontología**

La cavidad oral es un medio séptico donde se ha detectado la presencia de más de 700 especies de microorganismos procedentes de las mucosas y de la saliva (22). Las primeras bacterias colonizadoras son principalmente del género *Streptococcus mitis* y *Actinomyces* y se adhieren al esmalte de los dientes gracias a las glucoproteínas

salivales. Posteriormente, y de forma progresiva, se incorporan otras bacterias Gram-positivo y Gram-negativo, formándose una matriz extracelular que favorece su cohesión. Gracias a esto, y a la comunicación intermolecular a través del *quorum sensing* o percepción de cuórum, se crea un biofilm estructurado con una alta capacidad patógena (23). En la figura 1 se observa la macroestructura de las bacterias Gram positivo y Gram negativo (23).



**Figura 1:** Macroestructura de las bacterias Gram positivo (izquierda) y Gram negativo (derecha)(23).

La proliferación del biofilm dental está influenciada por diversos factores locales entre los que destaca la dieta. La ingesta excesiva de carbohidratos aumenta la presencia de bacterias Gram-positivo fermentadoras que causan la desmineralización del esmalte favoreciendo el inicio y desarrollo de la caries (23). Entre los microorganismos causantes de esta enfermedad destacan las bacterias del género *Streptococcus mutans* y *sobrinus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Atopobium*, *Propionibacterium*, *Scardovir*, *Abiotrophia* y *Selenomonas*. Cuando la lesión de caries progresa hacia el tejido pulpar éste se necrosa y proliferan bacterias proteolíticas Gram-negativo anaerobias como *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Eubacterium*, *Parvimona*, *Campylobacter*, *Treponema*, *Dialister*, *Olsenella* y *Enterococcus faecalis* (23).

La microbiota gingival está compuesta mayoritariamente por bacterias anaerobias con un metabolismo proteolítico entre las que destacan *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*. En 1998, Socransky y cols. (24) describieron la microbiota periodontal basándose en sus asociaciones interespecies y los catalogaron en base a un código de colores. El complejo amarillo engloba aquellos microorganismos que son compatibles con la salud periodontal como el *Actinomyces naeslundii*. Los complejos violeta y verde hacen referencia a microorganismos presentes en estadios iniciales de la enfermedad periodontal como *Veillonella parvula*, *Actinomyces odontolyticus*,

*Eikenella corrodens*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y diferentes especies de *Capnocytophaga*. Sin embargo, en la etiología de la enfermedad periodontal principalmente se involucran patógenos del complejo naranja y rojo como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y otras especies más complejas como *Parvimonas*, *Filifactor*, *Dialister*, *Granilucateella* y *Synergistes* (24).

Es importante resaltar que todos estos microorganismos pueden extenderse más allá de la cavidad oral desencadenando bacteriemias y desarrollando patologías sistémicas como la endocarditis bacteriana (23) y, además, pueden difundirse en el ambiente a través de los aerosoles generados durante los tratamientos odontológicos. En este sentido, Zemouri y cols. (25) estudiaron el aire de una consulta odontológica encontrando bacterias Gram-negativo del género *Acinetobacter wolfflii*, *Legionella* o *Pseudomonas aureus* y Gram-positivo como *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus pumilus*, *Diphtheroids*, *Corynebacteria* y *Bacillus*, así como hongos del género *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* y del tipo *Bortyitis*, *Geotrochum*, *Monocilim indicum*, *Modocitys glauca*, *Pencilium*, *Stemphylium* y *Ulocladium alternarie* (25).

Por todo lo expuesto anteriormente, los protocolos de desinfección no solo deben aplicarse frente a la reciente presencia de SARS-CoV-2 si no también frente a los microorganismos nosocomiales clásicos que, generalmente, residen en superficies, fómites y aire ambiental.

### **3.3. Desinfección**

La *infección cruzada* se define como la transmisión de agentes infecciosos entre pacientes y personal sanitario (26) que puede producirse tanto por contacto indirecto con las superficies donde se han depositado los fómites o aerosoles, como directo con las mucosas del tracto respiratorio superior, generalmente de la boca y la nariz, como es el caso del coronavirus SARS-CoV-2 (22).

El proceso de desinfección se basa en la destrucción de los gérmenes patógenos en estado vegetativo o no esporulante (27,28) que puede conseguirse mediante múltiples métodos. La desinfección, tanto del aire ambiental como de las superficies, es fundamental en todos los ámbitos sanitarios y tiene una relevancia destacable en las consultas odontológicas donde se implementan diariamente tratamientos que emiten grandes cantidades de aerosoles y donde el contacto entre el facultativo y el paciente es muy cercano y directo (22). Por este motivo, los profesionales de la Odontología tienen un papel fundamental en la prevención de la transmisión de infecciones víricas, bacterianas y fúngicas (5). El periodo de incubación de las infecciones bacterianas y víricas oscila entre 2 y 14 días y, dado que durante esta fase los pacientes permanecen asintomáticos, todos deben ser considerados como una fuente potencial de infecciones (22).

Según la guía sobre el control de las infecciones en la práctica odontológica publicada en 1993 por Centers for Disease Control and Prevention (29), agencia de los EE.UU. integrada en el Departamento de Salud y Servicios Humanos, las superficies en ambientes odontológicos se clasifican en críticas, semicríticas o no críticas en función de la necesidad de desinfección o esterilización. Las críticas son aquellas que precisan ser esterilizadas por su alto riesgo de infección como, por ejemplo, el instrumental quirúrgico. Las superficies u objetos semicríticos incluyen el instrumental rotatorio de alta o baja velocidad que entra en contacto directo con las mucosas o la piel del paciente. Mientras que, aquellas que no entran en contacto con la piel, serían catalogadas como no críticas, por ejemplo, el equipo informático, el suelo o las paredes del gabinete odontológico (30).

### **3.4. Métodos tradicionales de desinfección de superficies**

Los principales agentes desinfectantes utilizados en el gabinete odontológico son químicos. A continuación se describen algunos de los más empleados (31).

1. Los desinfectantes alcoholes tienen un efecto bactericida superior a su capacidad bacteriostática. Son efectivos contra hongos, contra el virus causante de la hepatitis B o contra *Herpes Simplex 1 y 2* pero no son efectivos contra esporas.

Destacan el alcohol isopropílico al 70% que desnaturaliza las proteínas y lípidos celulares y el etanol que es más efectivo cuando se diluye en agua al 60-90%.

2. El peróxido de hidrógeno al 6% que actúa contra el ácido desoxirribonucleico (ADN) del patógeno gracias a la formación de radicales hidroxilo (OH<sup>•</sup>) que, tras alterar las cadenas polipeptídicas, fragmentan las proteínas del material genético celular. Presenta buenas propiedades desinfectantes contra bacterias, virus, esporas, levaduras y hongos.
3. Entre el grupo de los aldehídos destacan el formaldehído y el glutaraldehído. El primero actúa sobre las proteínas celulares del patógeno y es altamente efectivo contra los virus causantes de la tuberculosis y la *Salmonella*. Sin embargo, para la erradicación de las esporas es más efectivo el glutaraldehído ya que altera el ARN, el ADN y/o los grupos aminos de los microorganismos mediante alcalinización. También es eficaz contra bacterias y hongos pero debe diluirse en agua, tiene una alta toxicidad y un elevado coste económico.
4. Entre los desinfectantes hipocloritos el más empleado es el cloro que, dependiendo de su concentración, ejerce un efecto biocida sobre bacterias en estado vegetativo o actúa destruyendo esporas en 5 minutos. Su rápida actuación no se ve alterada en ambientes húmedos y es capaz de eliminar la biopelícula de las superficies sin dejar residuos tóxicos. Un estudio realizado por Palcsó y cols. (32) evaluó el efecto antibacteriano del clorito sódico (NaClO<sub>2</sub>) frente a *Enterococcus faecalis* demostrando que conseguía una reducción media de hasta  $1,67 \pm 2,87$  unidades formadoras de colonias (UFC)/placa después de 24 horas.
5. Las soluciones yodadas que actúan sobre los ácidos nucleicos y las proteínas estructurales de la célula del agente patógeno siguen siendo altamente eficaces como bactericidas, microbactericidas y viricidas. Sin embargo, necesitan estar en contacto con la superficie o el objeto durante un largo período de tiempo (hasta 5 minutos) para conseguir resultados satisfactorios.

6. El ácido peracético que desnaturaliza las proteínas y altera la permeabilidad de bacterias Gram-positivo y Gram-negativo, hongos y levaduras.
7. Los amonios cuaternarios, también conocidos como QACS o quacs, se dividen en cinco generaciones. La primera generación tiene como compuesto el cloruro de alquil dimetil bencil amonio (ADBAC). La segunda generación está compuesta por el cloruro de alquil dimetil etilbencil amonio (ADEBAC), la tercera es una combinación de ambos (ADBAC+ADEBAC), la cuarta tiene como compuesto el cloruro de alquil dimetil amonio (DDAC) y la quinta usa la combinación de DDAC+ADBAC. Ejercen su acción desinfectante actuando sobre las enzimas, proteínas y los lípidos celulares del agente patógeno, principalmente sobre bacterias en estado vegetativo y hongos. Tienen una actividad de superficie elevada que les permite ser empleados junto con otros desinfectantes (31).

Algunos de los desinfectantes mencionados anteriormente han sido evaluados por Moccia y cols. (33). En su estudio se impregnaron toallas de poliéster y nylon con soluciones de alcohol al 70%, cloro al 5%, sales de amonio cuaternario al 10% y soluciones fenólicas y se desinfectaron hasta 14 superficies en las estancias hospitalarias. Se concluyó que todos los desinfectantes químicos conseguían una eliminación del 90% de UFC/11cm<sup>3</sup> en superficies.

Otros agentes desinfectantes utilizados en el gabinete odontológico son físicos. Por ejemplo, la radiación ultravioleta (UV) que se clasifica en función de su longitud de onda: UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm) y UV-C (200-280 nm) y, también, según el tipo de lámpara empleada: lámpara de Mercurio, de luz pulsada, de Deuterio, tecnología Excimer o UV-C LEDS (34). Yamaguchi y cols. (35) publicaron un estudio aplicando radiación UV-A sobre una capa de óxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) con una longitud de onda de 365 nm y una intensidad de 0.15 mW/cm<sup>2</sup>. Se determinó su efecto antimicrobiano reduciendo hasta un 40% la supervivencia de *Escherichia coli*. Sin embargo, a pesar de su eficacia demostrada, su uso no está exento de controversia ya que puede producir eritema cutáneo y fotoqueratitis impidiendo su empleo mientras el equipo médico y el paciente están en la consulta. Para una longitud de onda de 270 nanómetros (nm) la exposición a la radiación UV no debe exceder los 30 J/m<sup>2</sup> (34). Ésta

es una gran diferencia con la tecnología basada en la liberación de  $\text{OH}^{\bullet}$  que puede emplearse sin interrumpir la actividad asistencial.

En cuanto a la eficacia de la radiación UV frente a SARS-CoV-2 la evidencia disponible todavía es escasa (34). Su efecto se basa en dañar el ácido desoxirribonucleico (ADN) y ácido ribonucleico (ARN) del virus formando dímeros de pirimidina y, aunque todavía no existe un consenso sobre la dosis eficaz de aplicación, los valores oscilan entre los 1000-2000  $\text{mJ}/\text{cm}^2$ . La eficacia de la radiación UV contra los virus es menor que frente a bacterias ya que el patógeno debe estar expuesto directamente a la radiación. Además, no se aconseja su uso en la desinfección de grandes estancias ya que las superficies que no reflejen la luz o que estén más alejadas de la fuente recibirán menos dosis. A pesar de que la literatura disponible sugiere que la radiación UV podría inactivar la familia de coronavirus de forma rápida y sencilla, la falta de homogeneidad en los estudios publicados hace que se plantee su indicación como coadyuvante y no como reemplazo de la desinfección manual de superficies (34).

Otro de los métodos más empleados tradicionalmente ha sido el ozono ( $\text{O}_3$ ) que se obtiene a partir del gas oxígeno ( $\text{O}_2$ ) al exponerse a un campo eléctrico. Se trata de una molécula gaseosa inorgánica que se comercializa a bajas concentraciones. Sus características antivirales se basan en la oxidación del recubrimiento proteico y lipídico del agente patógeno, en la oxidación directa de la pared celular y en el daño de las purinas y pirimidinas de los ácidos nucleicos. Se ha demostrado que con una exposición de 110 ppm durante 30 minutos es capaz de destruir el ARN de virus simples, coronavirus, rinovirus y poliovirus, sin embargo, no tiene eficacia contra esporas bacterianas ni hongos, es corrosivo en contacto con algunos metales que generalmente se encuentran en áreas hospitalarias y/o odontológicas y, tras su aplicación, la estancia siempre debe ventilarse debido a que su uso podría producir efectos secundarios perjudiciales sobre el sistema respiratorio del tipo irritación faríngea, tos, disnea, dolor torácico, vasoconstricción e, incluso, puede llegar a ser mortal si se inhala. Por todo esto, los valores de exposición al  $\text{O}_3$  se encuentran regulados. A priori, solo niveles de  $\text{O}_3$  mayores o iguales a 5 ppm están considerados como un riesgo inmediato para la salud. The National Institute for Occupational Safety and Health (36) recomienda un límite de exposición de 0,1 ppm que correspondería a 0,2  $\text{mg}/\text{m}^3$  y la Administración de Salud y Seguridad Ocupacional de EE.UU. ha establecido los límites de uso en 0,1 ppm

durante 8 horas o 0,3 ppm durante 15 minutos. Los dispositivos médicos generadores de ozono están clasificados por la Unión Europea dentro del grupo IIb y deben aplicarse teniendo en cuenta la humedad relativa de la estancia ya que, según el estudio de Sato y cols. (37) se necesita una humedad mínima  $\geq 80\%$  para que el virus se inactive.

En cuanto al uso del O<sub>3</sub> frente al virus SARS-CoV-2 no se dispone de evidencia científica para garantizar su eficacia y seguridad en ambientes hospitalarios. Tampoco se conoce su eficacia como virucida ni las dosis óptimas de aplicación. Por tanto, la Sociedad Española de Sanidad Ambiental (SESA) desaconseja su uso como desinfectante (34).

Por otro lado, en el estudio in vitro de Marchesi y cols. (38) se evaluó la eficacia del vapor seco frente a varios virus en forma de suspensiones consiguiendo una inactivación del 99,99% de varias especies víricas.

Actualmente, el cloro, el álcali y el álcali-alcohol-amina son los tres tipos principales de desinfectantes químicos que más ampliamente se emplean para eliminar la contaminación microbiana. Sin embargo, presentan algunos inconvenientes ya que son altamente selectivos, su tiempo de procesamiento oscila entre 0,5 - 1 hora debido a su baja tasa de reacción química y, además, tienen un altísimo valor de dosificación letal. Esto implica una contaminación secundaria severa e imposibilita su uso en grandes espacios (39,40).

### **3.5. Métodos tradicionales de desinfección del aire**

La normativa UNE-EN 13098:2019 (41), que adopta la normativa internacional ISO, estandariza la medición de microorganismos y compuestos microbianos en suspensión en el aire basándose en el número de microorganismos capaces de crecer y formar colonias en un medio sólido tras una incubación aerobia de 30°C.

El Consejo General de Dentistas del Reino Unido clasificó como tratamientos generadores de aerosoles el uso del instrumental rotatorio de alta y baja velocidad, los ultrasonidos, las jeringas de aire a presión, aeropulidores, y, también, el drenaje de infecciones odontogénicas. A esta lista la OMS añadió el cementado de restauraciones

fijas, la extracción quirúrgica de dientes y la cirugía de implantes dentales. Incluso la toma de radiografías intraorales o de impresiones de las arcadas dentarias han sido catalogadas como potenciales generadoras de aerosoles ya que pueden inducir la náusea o el estornudo del paciente (22).

Los aerosoles se diferencian según el tamaño de sus partículas. Las salpicaduras tienen un tamaño superior a 50  $\mu\text{m}$  y son transportadas por el aire para acabar asentándose en el suelo y/o superficies de la consulta odontológica. Se habla de gotas cuando el tamaño oscila entre los 11 y los 50  $\mu\text{m}$  y permanecen en el aire hasta que consiguen evaporarse. Respecto a los núcleos de gotas, su tamaño es  $\leq 10 \mu\text{m}$  y pueden permanecer suspendidas en el aire entre 30 y 90 minutos. La mayoría de los aerosoles que se producen en las consultas odontológicas tienen un tamaño inferior a 5  $\mu\text{m}$  (42,43).

Ante este escenario, el uso de barreras físicas de protección, como las pantallas faciales, son de gran ayuda pero insuficientes por sí solas para proteger al facultativo, al personal y al paciente de la inhalación de los núcleos más pequeños (44).

La estratificación de las técnicas de protección frente a aerosoles se ordenan en diferentes niveles (Tabla 1) (42):

1. Uso de barreras físicas de protección como la mascarilla, guantes y gafas de protección (44) .
2. Técnicas que previenen la contaminación de los aerosoles en la cavidad bucal. Principalmente consisten en que el paciente realice previamente al procedimiento odontológico un enjuague bucal que reduzca la concentración de microorganismos patógenos en saliva (45). En el estudio de O`Donnell y cols. (46) se demostró que la clorhexidina reducía potencialmente la transmisión del SARS-CoV-2 al provocar la disrupción de la membrana lipídica del virus. También en el estudio de Meyers y cols. (47) se demostró que era eficaz hasta en un 99,9% para inactivar coronavirus humano (HCoV) con un tiempo de contacto de sólo 30 segundos. En los últimos años, se ha ido implementado en las consultas odontológica el uso de cloruro de cetilpiridino (CPC), un compuesto que pertenece al grupo de amonios cuaternarios catiónicos y que

posee una gran capacidad antiséptica. Así ha quedado demostrado en el estudio clínico aleatorizado de Máximo y cols. (48) donde se comparaban la clorhexidina 0,12%, los aceites esenciales y el cloruro de cetilpiridino 0,07% frente a un grupo control a base de hidroalcohol al 0,5%. Se concluyó que el CPC consigue la mayor reducción de bacterias en pacientes con enfermedad periodontal.

3. Aspiración de bajo volumen para evitar la salida de fómites contaminados fuera de la cavidad oral. Los eyectores de saliva son los más empleados en Odontología (49–51).
4. Técnicas de ventilación local, como los sistemas de evacuación de alto volumen (HVE), que evitan que los aerosoles contaminados vayan más allá de la zona operatoria (42). Son sistemas capaces de aspirar un gran volumen de aire en periodos de tiempo cortos. Los más empleados en Odontología tienen una apertura principal de unos 8 mm que debe mantenerse a una distancia entre 6 y 15 mm de la fuente principal de aerosol y están unidos a un sistema de aspiración que puede eliminar hasta 2,8 m<sup>3</sup> de aire (52).
5. Ventilación general a través de los filtros High Efficiency Particle Arrester (HEPA) capaces de eliminar hasta el 99,95% de las partículas menores de 0,3 µm. En Odontología deben usarse los de categoría H13 o superior que tienen una eficacia de retención  $\geq 99,95\%$  (53–55).
6. La última fase de la desinfección sería la descontaminación directa del aerosol (22) mediante radiación UV-C, ozonización (54), fumigación mediante formaldehído o nebulización mediante peróxido de hidrógeno (56–58).

<i>Primera línea</i>	Barreras de protección física	Bata, mascarilla, guantes, gafas de protección	Filtran entre 60-95% de los aerosoles
<i>Segunda línea</i>	Prevención de la contaminación de aerosoles en la cavidad oral	Enjuagues bucales preoperatorios	Reducción de la concentración y recuento de patógenos
<i>Tercera línea</i>	Técnicas que previenen la dispersión de aerosoles más allá de la cavidad oral	Eyectores de saliva	Reducen la concentración de aerosoles contaminados
<i>Cuarta línea</i>	Técnicas de ventilación local	Sistemas de evacuación de alto volumen	
<i>Quinta línea</i>	Técnicas de ventilación general	Filtros HEPA, ionización.	
<i>Sexta línea</i>	Descontaminación directa del aerosol	Radiación UV, ozonización	Reducen la contaminación en aerosoles

**Tabla 1:** Métodos de protección disponibles para el control de infecciones cruzadas. HEPA: High Efficiency Particle Arresting. UV: ultravioleta (42).

Al igual que ocurre con la desinfección de superficies, el uso de rayos UV para la descontaminación del aire es controvertido. Han sido empleados durante muchos años en los sistemas de ventilación para controlar la formación de biopelículas y para reducir la propagación de agentes infecciosos a través del aire gracias a una oxidación fotocatalítica o Photocatalytic Oxidation (PCO) que se demuestra muy eficaz en la neutralización de los patógenos aerotransportados al alterar su material genético e impedir su reproducción. Por otro lado, su uso está regulado por la Especificación UNE 0068 y debe utilizarse con cuidado ya que, a longitudes de onda entre 200 y 280 nm, puede tener efectos perjudiciales sobre la piel (35,42,54,59).

El ozono (O<sub>3</sub>) ataca la membrana celular de las bacterias a través de la ozonólisis de los enlaces covalentes dobles C=C presentes en los lípidos de la membrana provocando la lisis celular (60). En concentraciones superiores a 100 ppm se ha demostrado su alta capacidad virucida contra virus de ARN (37). Sin embargo, al igual que ocurre sobre las superficies, su uso no está exento de controversia ya que puede suponer un riesgo para el sistema respiratorio de los profesionales sanitarios y los pacientes. Tanto es así que la Sociedad Española de Sanidad Ambiental (SESA), la OMS y la Comisión Internacional

de Iluminación (CIE) desaconsejaron el uso del dióxido de cloro y de O<sub>3</sub> frente al coronavirus SARS-CoV-2. Del mismo modo, el Ministerio de Sanidad, en su informe sobre productos virucidas autorizados en España, no incluye el ácido hipocloroso.

La fumigación mediante formaldehído ha demostrado su eficacia frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp*, *Escherichia coli* and *Aspergillus spp*, aunque hoy en día no se utiliza debido a sus efectos carcinógenicos (56).

Por tanto, entre las opciones disponibles, los sistemas de presión negativa o alta presión asociado a filtros HEPA y los sistemas generadores de radicales hidroxilo (OH<sup>•</sup>) parecen tomar fuerza como método de desinfección principal del aire por su eficacia y su inocuidad.

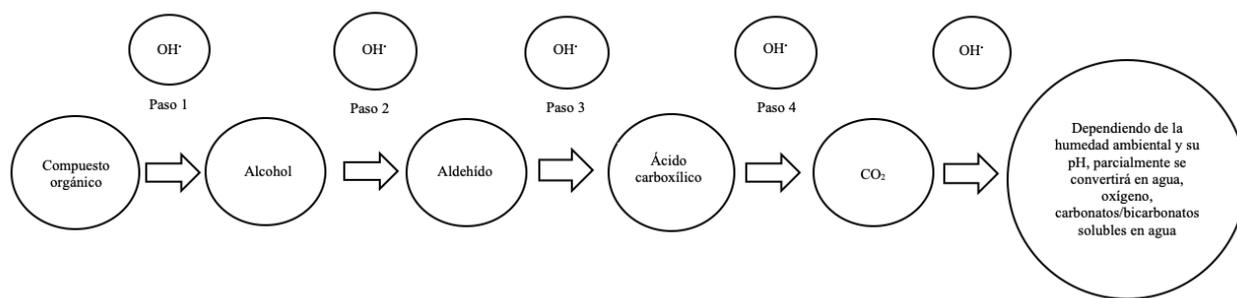
Todos los métodos descritos anteriormente han sido ampliamente empleados en las consultas odontológicas, sin embargo, como se concluye en nuestra revisión sistemática sobre los métodos de desinfección disponibles, ninguno puede considerarse el estándar de oro y ninguno puede reemplazar las medidas físicas de protección (61).

### **3.6. Tecnología basada en la liberación de radicales hidroxilo (OH<sup>•</sup>)**

Tras la situación sanitaria que se produjo en 2020 la preocupación sobre la calidad del aire ambiental ha crecido exponencialmente y, por tanto, el interés por las nuevas tecnologías capaces de reducir la contaminación ambiental microbiana (62).

#### **3.6.1. Definición y mecanismo de acción:**

Los radicales hidroxilo (OH<sup>•</sup>) son el oxidante natural más importante y eliminan algunos gases causantes del efecto invernadero. Son un oxidante verde que se descomponen en agua (H<sub>2</sub>O) y oxígeno (O<sub>2</sub>) sin oxidantes residuales dañinos después de sus reacciones bioquímicas (figura 2)(63). Estos radicales están presentes de forma natural en la troposfera en una concentración aproximada de 0,05 ppm que varía según la estación del año, el momento del día y la posición en el globo terrestre (de 10<sup>5</sup> a 10<sup>7</sup> moléculas por cm<sup>3</sup>). En interiores la concentración suele estar alrededor de 10<sup>5</sup> moléculas por cm<sup>3</sup> aunque puede aumentar hasta 10<sup>6</sup> moléculas por cm<sup>3</sup> (63,64).

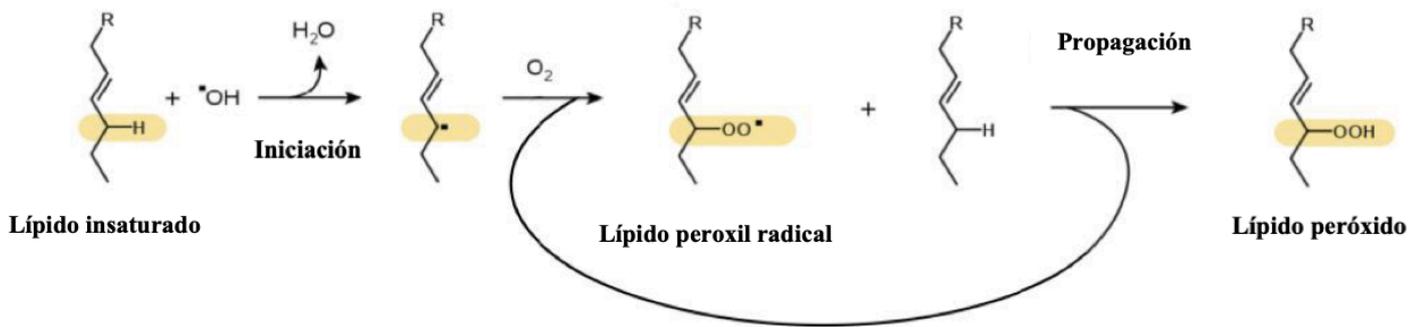


**Figura 2:** Degradación de los  $\text{OH}^\bullet$  en compuestos orgánicos no dañinos (63).

Su carácter biocida se basa en un proceso de oxidación avanzada (AOP) que se produce en las membranas, lípidos y enlaces sulfhidrilo de las proteínas y nucleótidos del ARN vírico mediante varios procesos diferentes (65):

- Peroxidación lipídica. Los ácidos grasos insaturados de las membranas celulares reaccionan con los  $\text{OH}^\bullet$  por dos vías: por adición, rompiendo los dobles y triples enlaces generando radicales alcohólicos ( $-\text{OH}$ ), o por abstracción de un hidrógeno generando alquilo, peroxilo y finalmente hidroperóxidos. La mineralización y la peroxidación de las membranas lipídicas modifican su distribución espacial y en consecuencia su estructura (figura 3) (66).
- Pérdida de la conformación proteica. Las proteínas están compuestas por aminoácidos y los  $\text{OH}^\bullet$  pueden alterar sus cargas por transferencia de electrones. Esto modifica su estructura 3D, conduce a la fragmentación de proteínas y puede formar enlaces disulfuro entre aminoácidos lo que resulta en enlaces intra e interproteicos. En ambos casos las proteínas forman agregados y pierden su correcta estructura tridimensional.

Estas alteraciones estructurales irreversibles creadas en lípidos y proteínas a través de la oxidación promovida por  $\text{OH}^\bullet$  conducen a la pérdida de la integridad de las estructuras que envuelven a los microorganismos y, consecuentemente, a la pérdida de su viabilidad y funcionalidad. Sin embargo, algunos autores han descrito la capacidad de ciertos microorganismos para revertir las consecuencias de este proceso oxidativo. Por ejemplo, *Escherichia coli* o *Staphylococcus aureus* emplean tres metaloenzimas para neutralizan los oxidantes y reducir el daño oxidativo (67,68).



**Figura 3:** Peroxidación lipídica producida por los radicales hidroxilo sobre las membranas celulares de los patógenos. RH: ácido graso,  $\cdot\text{OH}$ : especie reactiva del oxígeno,  $\text{H}_2\text{O}$ : agua,  $\text{O}_2$ : oxígeno,  $\text{ROO}\cdot$ : radical peróxido libre,  $\text{ROOH}$ : lipohidroperóxido (66).

La tecnología basada en la liberación de  $\text{OH}\cdot$  tiene un potencial oxidativo de 2,8 voltios (V) (inferior al del flúor que es de 3,08 V) lo que hace que su selectividad sea prácticamente nula. Gracias a esto puede destruir la gran mayoría de agentes patógenos con una concentración de 0,8 mg, lo que equivaldría a 10 milésimas partes de la dosis de los desinfectantes químicos convencionales. Tiene un tiempo de procesamiento de 4 segundos ya que la velocidad a la que se produce su reacción química es superior a  $10^9 \text{ L mol}^{-1}$ . Mediante pulverización su capacidad de dispersión es de  $22 \text{ ml/cm}^2$ , lo que representa una milésima parte de otros desinfectantes como el ozono ( $\text{O}_3$ ). Todas estas reacciones generan como productos de deshecho compuestos no dañinos debido a que los  $\text{OH}\cdot$  se descomponen en  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{O}_2$  sin generar oxidantes residuales citotóxicos. Es importante resaltar que los  $\text{OH}\cdot$  destruyen los microorganismos, no los concentran ni los transfieren al ambiente (69,70).

### 3.6.2. Producción de radicales hidroxilo:

Los  $\text{OH}\cdot$  reaccionan con los compuestos orgánicos de 3 formas diferentes (71):

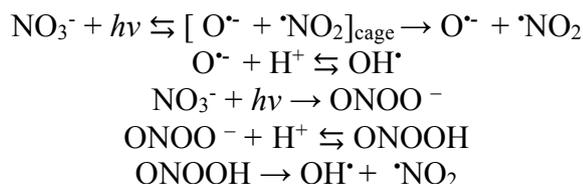
- 1) Por transferencia de electrones ( $e^-$ ) desequilibrando la carga y formando nuevos enlaces. Ésto se produce gracias a que los radicales libres tienen  $e^-$  desapareados (fenómeno conocido como desequilibrio de espín).
- 2) Por adición a anillos aromáticos o a enlaces dobles y/o triples de los hidrocarburos insaturados, rompiéndolos y generando un radical alcohol que se incorporará a la vía de oxidación clásica.

- 3) Por abstracción de un hidrógeno de los hidrocarburos saturados dando como resultado una molécula de agua (H<sub>2</sub>O) y un radical alquilo libre (R·) que inicia el proceso de peroxidación causante de daños irreversible en la molécula del microorganismo patógeno.

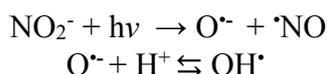
Todos estos procesos suceden de forma natural en la atmósfera pero, además, los radicales OH· también pueden obtenerse en un laboratorio bajo condiciones controladas a través de múltiples formulaciones tanto en fase acuosa como gaseosa.

En fase acuosa los radicales OH· pueden producirse mediante las siguientes técnicas (72):

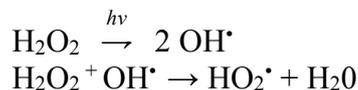
- 1) Fotólisis del nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) cuando absorbe radiación ultravioleta (UV) C y B superior a 340 nm.



- 2) Fotólisis del anión nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) cuando absorbe radiación UV C y A. En este caso la producción de OH· varía en función de la longitud de onda.

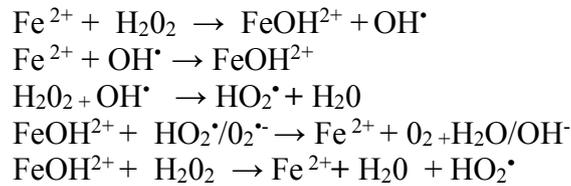


- 3) Fotólisis del peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) con una irradiación UV C y una emisión lineal de mercurio (Hg) de 253.6 nm.



- 4) Reacción de Fenton: Deriva de la reacción de Haber-Weiss descrita en 1930. Está catalizada con hierro (Fe) y se basa en la reacción del peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en una solución ácida con iones metálicos, principalmente los

iones ferrosos ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ) y cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ). La secuencia de la reacción de Fenton es la siguiente:

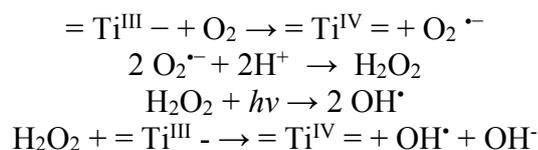


- 5) Tecnología Foto-Fenton: Se basa en la combinación de dos reacciones ( $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{FeOH}^{2+} + \text{OH}^\bullet$  seguida de la reacción  $\text{Fe}^{\text{III}} - \text{L} + h\nu \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{L}^\bullet$ ) en un pH igual a 3. En ocasiones se pueden usar otras fuentes diferentes al  $\text{Fe}^{\text{III}}$  como oxalato, citrato o ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).
- 6) Ozonización: El  $\text{O}_3$  es un desinfectante eficaz que tiene una alta reactividad con los alquenos, las aminas y los compuestos aromáticos ricos en  $e^-$  pero reacciona poco con los compuestos orgánicos saturados aumentando la posibilidad de que se formen compuestos intermedios dañinos. Este inconveniente se subsana gracias a la producción de  $\text{OH}^\bullet$  ya que disminuyen la demanda química de  $\text{O}_2$  y del carbono orgánico total de las aguas residuales permitiendo, incluso, su mineralización.
- 7) Sonolisis del agua mediante la aplicación de ultrasonidos de alta frecuencia (entre 100 kHz y 1 MHz). Esto aumenta la temperatura y produce la pirolisis del  $\text{H}_2\text{O}$  produciendo radicales  $\text{OH}^\bullet$  y  $\text{H}^\bullet$  principalmente a través de la siguiente reacción:  $\text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{sonolisis}} \text{OH}^\bullet + \text{H}^\bullet$ .
- 8) Fotolisis del agua: La radiación ultravioleta de vacío (VUV) contempla longitudes de onda en un rango  $< 190$  nm y es capaz de producir  $\text{OH}^\bullet$  mediante fotolisis del agua mediante el siguiente proceso:  $\text{H}_2\text{O} + h\nu \rightarrow \text{H}^\bullet + \text{OH}^\bullet$ .

La producción de OH• en fase gaseosa puede producirse mediante las siguientes técnicas (72):

- 1) Ozonólisis de alquenos: es la principal fuente de producción de OH• en interiores. En los años 60 se acuñó el término Open Air Factor (OAF) haciendo referencia a las propiedades germinicidas del aire de zonas rurales atribuible a lo que hoy en día se conoce como alqueno o hidrocarburo con dobles enlaces. Años más tarde, Dark y Nash (73) comprobaron que la adición de ozono (O<sub>3</sub>) a ese alqueno ataca su doble enlace y genera un ozónido primario inestable que evoluciona generando iones híbridos de peróxido conocidos como birradicales de Criegee. Los birradicales pueden descomponerse a través de tres vías pero es la vía remanente la que se considera la fuente principal de OH•.
- 2) Fotólisis del peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se fotoliza con pulsaciones de láser excimer de 248 nm. Los radicales OH• generados reaccionan con el exceso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> con la tasa constante  $k = 1,7 \times 10^{-12} \text{ cm}^3 \text{ molécula}^{-1} \text{ s}^{-1}$ .
- 3) Fotólisis del ácido nitroso (HONO) a longitudes de onda por debajo de 400 nm. Sin embargo, la concentración de OH• que se puede producir mediante esta reacción es insuficiente, sobre todo, en presencia de COVs.
- 4) Fotocatálisis basada en el dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>). El TiO<sub>2</sub> actúa como semiconductor (fotocalizador) absorbiendo la radiación UV A y B y promoviendo la migración de e<sup>-</sup> desde la banda de valencia donde dejan huecos positivos (h<sup>+</sup>) hasta la banda de conducción. A este proceso se le conoce con el nombre de “par electrón-hueco”. El hueco positivo (h<sup>+</sup>) oxida los contaminantes produciendo OH• y éstos a su vez degradarán los compuestos orgánicos. Además, los electrones de la banda de conducción producen radicales superóxido (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>) y otros grupos reactivos.

Estas reacciones de oxidación y reducción son el mecanismo fundamental de la fotocatalisis.



Todos los métodos enumerados anteriormente son válidos para la producción de  $\text{OH}^{\bullet}$  y, por tanto, para la descontaminación de ambientes acuosos y/o gaseosos. Hoy en día, los  $\text{OH}^{\bullet}$  están considerados el agente activo del OAF y en el dispositivo empleado en nuestro estudio *in vitro* se generan a través de los reactantes del peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

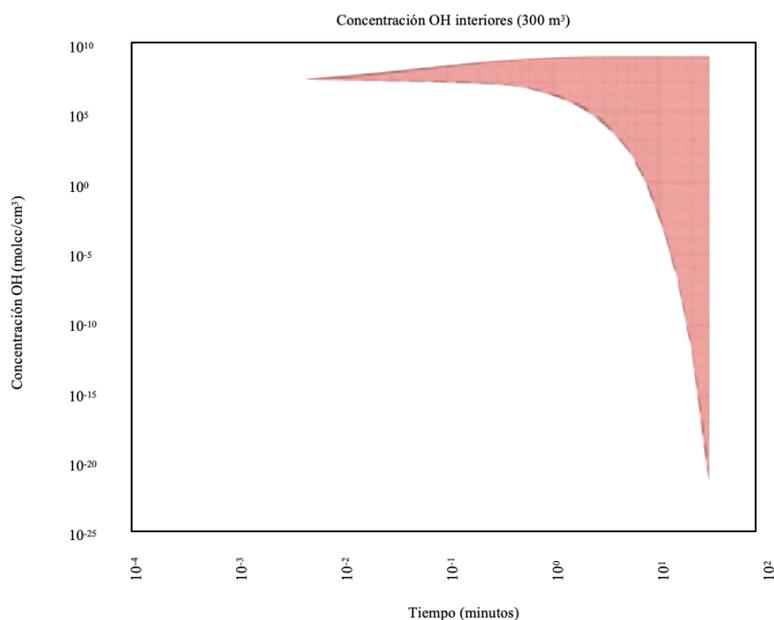
### 3.6.3. Ventajas y desventajas

Para la generación de  $\text{OH}^{\bullet}$  se necesita un catalizador que inicie el proceso de oxidación avanzada. Tradicionalmente se han empleado la reacción de Fenton, la fotocatalisis y el  $\text{O}_3$ , pero todos tienen grandes desventajas ya que ofrecen poca concentración de  $\text{OH}^{\bullet}$  y, además, necesitan grandes cantidades de reactivos químicos, lo que supone un alto coste económico (74–78). Actualmente, el óxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) es el fotocatalizador más empleado para generarlos pero también tiene desventajas ya que su tasa de fotocatalisis es baja, da lugar a productos de deshecho intermedios tóxicos y necesita irradiación UV (79). Todo esto supone un inconveniente cuando se necesita emplear los  $\text{OH}^{\bullet}$  en grandes espacios.

Ante este problema, surge la idea de un dispositivo (WellisAir Disinfection Wadu02®-Airtècnics, Castellar del Vallès, Barcelona, España) que consigue generar los  $\text{OH}^{\bullet}$  evaporando en su interior dos especies reactivas de oxígeno (ERO): el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y el d-limoneno. Al evaporarse, las ERO reaccionan con una concentración interna de  $\text{O}_3$  inferior a 0,02 ppm, muy por debajo del límite de 0,05 ppm establecido por la OMS en el año 2000 (80). Se emplean estas dos ERO por diversos motivos. El  $\text{H}_2\text{O}_2$  tiene una alta capacidad oxidativa y no se asocia a efectos teratogénicos, cancerígenos, mutagénicos y/o cromosómicos en humanos (69). El d-limoneno es una alternativa natural que también es susceptible de oxidación. Se trata de un monoterpeno extraído de los aceites esenciales de la cáscara de frutas cítricas que se

caracteriza por tener un bajo peso molecular, una alta volatilidad y estar compuesto por enlaces covalentes dobles C=C (81–84).

El dispositivo generador de OH<sup>•</sup> evapora el d-limoneno en concentraciones de 0,4g/24h y su emisión es < 2 ppb. En el caso del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> los límites establecidos hacen referencia a emisiones de 10 mg/m<sup>3</sup> (que equivalen a 7 ppm) para evitar daños en el aparato respiratorio y de 20 mg/m<sup>3</sup> y los efectos dermatológicos indeseados. La emisión de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en el dispositivo es de 0,9 mg/m<sup>3</sup>, que equivale a 0,64 ppm. Por otro lado, la emisión de O<sub>3</sub> es inferior a 0,02 ppm (68). En la figura 4 (70) se puede observar la producción de OH<sup>•</sup> en ausencia (línea discontinua) y presencia (línea continua) del dispositivo WellisAir Desinfection Wadu02<sup>®</sup>- Airtècnics, Castellar del Vallès, Barcelona, España.



**Figura 4:** Evolución temporal de la producción de OH<sup>•</sup> en ausencia (línea discontinua) y presencia (línea continua) del dispositivo WellisAir Desinfection Wadu02<sup>®</sup> (70).

Sin embargo, estas dos ERO no están exentas de controversia ya que, en su interacción con el O<sub>3</sub>, pueden generar compuestos orgánicos volátiles (COV) que a su vez pueden dar lugar a la formación de formaldehídos y partículas en suspensión ambos considerados contaminantes atmosféricos secundarios. Ante esto, y con el fin de garantizar la bioseguridad del dispositivo, se analizó su eficacia en la reducción de

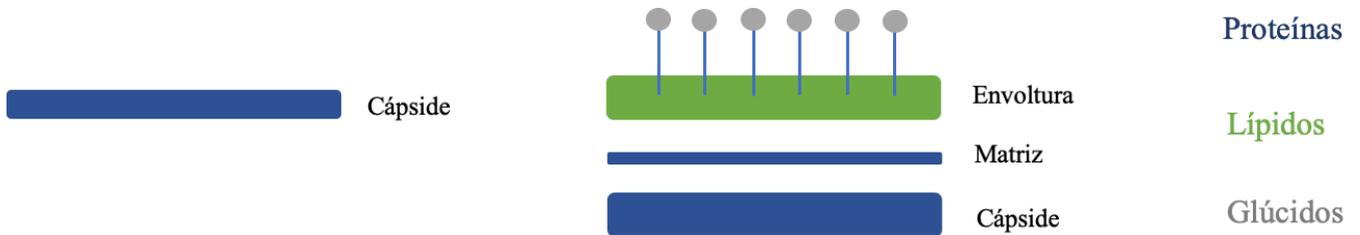
formaldehídos y COV mediante el método de ensayo SPS-KACA002-132:2016 en condiciones de temperatura y humedad controladas ( $21\pm 1^{\circ}\text{C}$  y  $45\pm 5\%$  de humedad relativa, respectivamente).

Por lo que respecta a su eficacia antibacteriana, por ejemplo, se ha demostrado una reducción del 99,9% de *Escherichia coli* en la primera hora de exposición al proceso de oxidación avanzada en superficies y a los 20 minutos en aire (tabla 2)(68).

Patógeno	Medio	Exposición	Eficacia %
<i>Staphylococcus aureus</i>	Superficie	1h	52,3
	Superficie	4h	99,9
	Aire	1h	99,9
<i>Staphylococcus aureus resistente (MRSA)</i>	Superficie	4h	99,9
	Aire	4h	99,9
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Superficie	4h	99,9
<i>Enterobacterspecies: Escherichia coli.</i>	Superficie	1h	99,9
	Superficie	4h	99,9
	Aire	20 mins	99,9
<i>Influenzavirus</i>	Húmedo	30 mins	86
	Seco	30 mins	38
<i>Respiratory Syncytial Virus (VRS)</i>	Húmedo	2h	99
	Seco	2h	92
<i>Rotavirus</i>	Húmedo	2h	37
	Seco	2h	99

**Tabla 2:** Resultados del test de eficacia del dispositivo WellisAir Disinfection Wadu02<sup>®</sup> con limoneno (Airtècnics, Castellar del Vallès, Barcelona, España) como biocida frente a diferentes microorganismos. Mins: minutos (68).

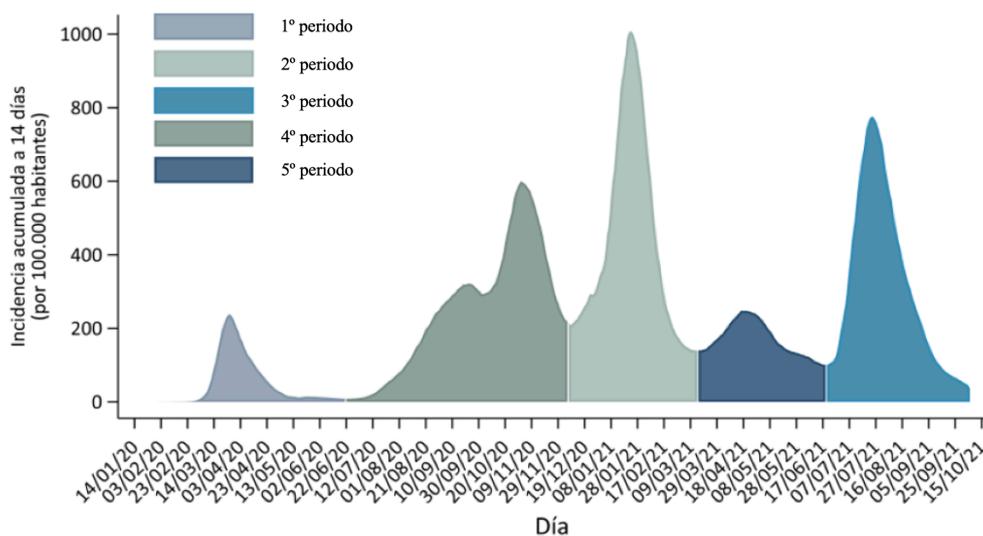
En cuanto a su eficacia frente a virus, ésta depende de las condiciones de humedad relativa del ambiente y de la morfología del patógeno (virus envueltos o no envueltos)(figura 5) (69).



**Figura 5:** Estructura macromolecular de virus no envueltos (izquierda) y envueltos (derecha). (69).

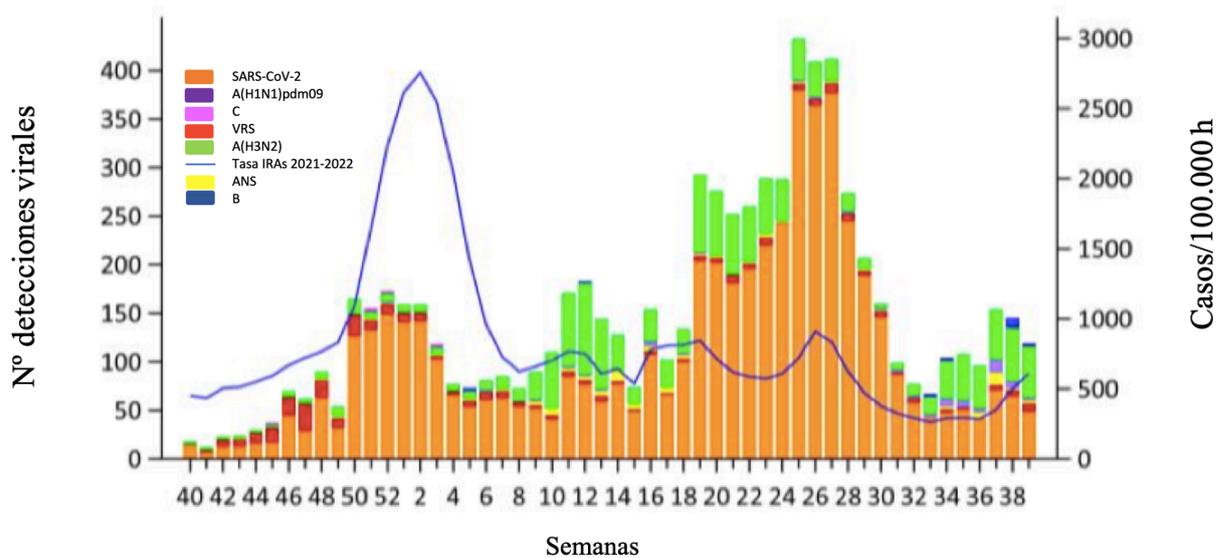
### 3.7. Justificación

Debido al contexto socio-sanitario que se vive desde que la OMS declarara el brote de virus SARS-CoV-2 como pandemia, el estudio de los microorganismos patógenos y de los métodos para evitar su propagación ha aumentado exponencialmente. Por ésto, la primera fase de nuestro estudio se desarrolló durante los meses de septiembre y octubre de 2023 en el transcurso de la quinta ola pandémica de la COVID-19 (semanas de la 37 a la 40) (figura 6)(93).



**Figura 6:** Informe nº 99. Situación COVID-19 en España a 6 de Octubre de 2021. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Fuente: CNE, ISCIII (93).

Como sociedad nos enfrentamos de manera constante a otros patógenos potencialmente pandémicos y/o epidémicos estacionales. Tanto es así que el Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC) recomendó la implantación de un sistema de vigilancia centinela de la Infección Respiratoria Aguda (SiVIRA) en atención primaria (IRAs) y en hospitales (IRAG) que incluye el SARS-CoV-2, la gripe y el virus respiratorio sincitial (VRS) (85). En la figura 7 se puede observar la tasa de incidencia de IRAs durante los años 2021-2022 en España (86).



**Figura 7:** Tasas de incidencia semanal de IRAs (SARS-CoV-2, gripe y VRS). SiVIRA, temporada 2021-22. España Fuente: CNE.ISCIII. Sistema centinela de Vigilancia de Gripe en España. A(H1N1) pdm09: virus de la gripe A (H1N1)pdm09. C: virus de la gripe C. VRS: virus respiratorio sincitial. A(H3N2): virus de la gripe A(H3N2). IRAs: infección respiratoria aguda. ANS: virus de la gripe ANS. B: virus de la gripe B (86).

La gripe es una enfermedad vírica aguda producida por el virus influenza concretamente por los tipos A (subtipos H1N1, H3N2) y B (linaje B/Yamagata y B/Victoria) que suele afectar entre los meses de otoño e invierno. Según la OMS, en los años 2019-2020, se registraron más de 27.000 hospitalizaciones, 1.800 ingresos en la unidad de cuidados intensivos (UCI) y 3.900 muertes. Las personas con mayor riesgo de padecer la enfermedad son los ancianos, las embarazadas, los niños menores de 59 meses, los pacientes con enfermedades crónicas y/o inmunodeprimidos y los profesionales sanitarios que, a su vez, actúan de vehículo de transmisión a otras personas vulnerable (87–89).

Por otro lado, durante el periodo 2022-23, también se ha observado una tendencia creciente del virus respiratorio sincitial (VRS). Según el SiVIRA durante la semana 41/2022 la tasa de VRS en atención primaria se situó en 14,4 casos por 100.000 habitantes y en hospitales en 1,2 casos por 100.000 habitantes, afectando principalmente a los grupos de población entre los 0-4 años y a los mayores de 65 años (90).

Recientemente se ha iniciado en Europa el brote de viruela del mono ‘*mpox*’ que se define como una enfermedad zoonótica viral endémica en países de África. Fue detectada por primera vez en humanos en la República Democrática del Congo en 1970, sin embargo, llegó a Europa en mayo de 2022. En España, a fecha de abril de 2023, se confirmaron 7.549 casos estando el 66,8% de los afectados en un rango de edad entre los 30 y 49 años. El 40,6% de los confirmados eran, además, portadores del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), 81 casos estaban inmunodeprimidos, el 4% requirió hospitalización y el 8% presentó alguna complicación (91).

Todo lo descrito anteriormente supone una gran carga asistencial, social y económica que también ha ocasionado una alta presión en las consultas dentales donde el riesgo de infecciones cruzadas entre profesionales y pacientes es muy elevado. Esto se debe a dos particularidades de los tratamientos odontológicos entre las que destacan, la gran cantidad de aerosoles que se generan con el uso del instrumental rotatorio de alta velocidad que actúan como reservorios de microorganismos y el estrecho contacto del profesional con la boca del paciente y sus fluidos.

Por tanto, a pesar de la urgencia sanitaria generada por el SARS-CoV-2, los esfuerzos dirigidos para garantizar una correcta desinfección y esterilización deben contemplar todas las variantes de microorganismos que pueden estar presentes en las superficies, objetos y aire de una consulta odontológica.

Actualmente, no existen estudios de alta calidad metodológica sobre cómo evitar la contaminación microbiana a través de aerosoles en una clínica dental. De ahí surge la necesidad de demostrar qué medidas pueden ser efectivas.

Este trabajo, por lo tanto, pretende llevar a cabo el primer estudio experimental, con el objetivo de determinar el efecto desinfectante de los radicales hidroxilo ( $\text{OH}^{\bullet}$ ) en los consultorios odontológicos.



## **4.Hipótesis**



En esta tesis doctoral se plantean las siguientes hipótesis de trabajo:

- **Hipótesis principal:** Los radicales hidroxilo ( $\text{OH}^{\bullet}$ ) reducen la presencia de bacterias, hongos, levaduras y virus en las superficies de la consulta odontológica.
- **Hipótesis secundaria:** Los radicales hidroxilo ( $\text{OH}^{\bullet}$ ) reducen la presencia de bacterias, hongos y levaduras en el aire de la consulta odontológica.



## **5.Objetivos**



Los objetivos de este estudio son los siguientes y todos corresponden al artículo publicado:

1. **Objetivo principal:** Determinar la eficacia de los radicales hidroxilo ( $\text{OH}^{\bullet}$ ) como método de desinfección de las superficies y del aire de una consulta odontológica.

2. **Objetivos secundarios:**

- Cuantificar el crecimiento bacteriano, fúngico y de levaduras en unidades formadoras de colonias (UFC) de las superficies y del aire presentes en una consulta odontológica.
- Determinar la presencia de SARS-CoV-2 en la superficie de la pantalla facial protectora del operador.
- Verificar la bioseguridad de las consultas odontológicas.



## **6.Material y Método**



## 6.1. Diseño del estudio

Se propuso un modelo de estudio clínico experimental “in vitro” que fue realizado en una consulta odontológica del Centro Médico Teknon (Barcelona, España) (figura 8), empleando un dispositivo liberador de radicales hidroxilo (OH<sup>•</sup>). El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación con Medicamentos (CEIm) del grupo hospitalario Quirónsalud-Catalunya con el código de protocolo 2022/54-ODO-CMT.



**Figura 8:** Consulta odontológica dónde se llevó a cabo el estudio.

El diseño del estudio se dividió en dos fases:

- La primera fase se centró en evaluar la eficacia de la tecnología basada en OH<sup>•</sup> frente a bacterias, hongos y levaduras localizadas en superficies y en el aire de la consulta odontológica y, también, frente al virus SARS-CoV-2 exclusivamente en la superficie de la pantalla facial protectora del operador.

- La segunda fase estuvo supeditada a los resultados obtenidos en la primera fase, pretendía evaluar la eficacia de desinfección de los OH<sup>\*</sup> en el aire de la consulta odontológica frente a virus de ARN, como el SARS-CoV-2, y de ADN.

## **6.2.Muestras de estudio**

Durante el desarrollo del estudio no se aplicó ningún tipo de intervención sobre pacientes salvo los tratamientos bucales programados. El objeto de estudio fueron las muestras recogidas del aire y de las siguientes superficies: dos paredes del gabinete odontológico, el respaldo, reposabrazos y brazo fijo del sillón dental y la pantalla facial protectora del operador. Quedaron excluidas aquellas muestras contaminadas o que no se pudieron analizar por el laboratorio de microbiología.

El presente estudio se planteó como un experimento exploratorio en el que se buscaron diferencias de:

- Carga microbiana en el gabinete odontológico.
- Diferencias significativas en diferentes grupos microbianos.
- Diferencias entre el grupo control y el experimental.

Al plantearse dos condiciones diferentes, con varias superficies y grupos microbianos, en microbiología los muestreos se toman por duplicado o triplicado para poder realizar una estadística descriptiva básica.

## **6.3.Material**

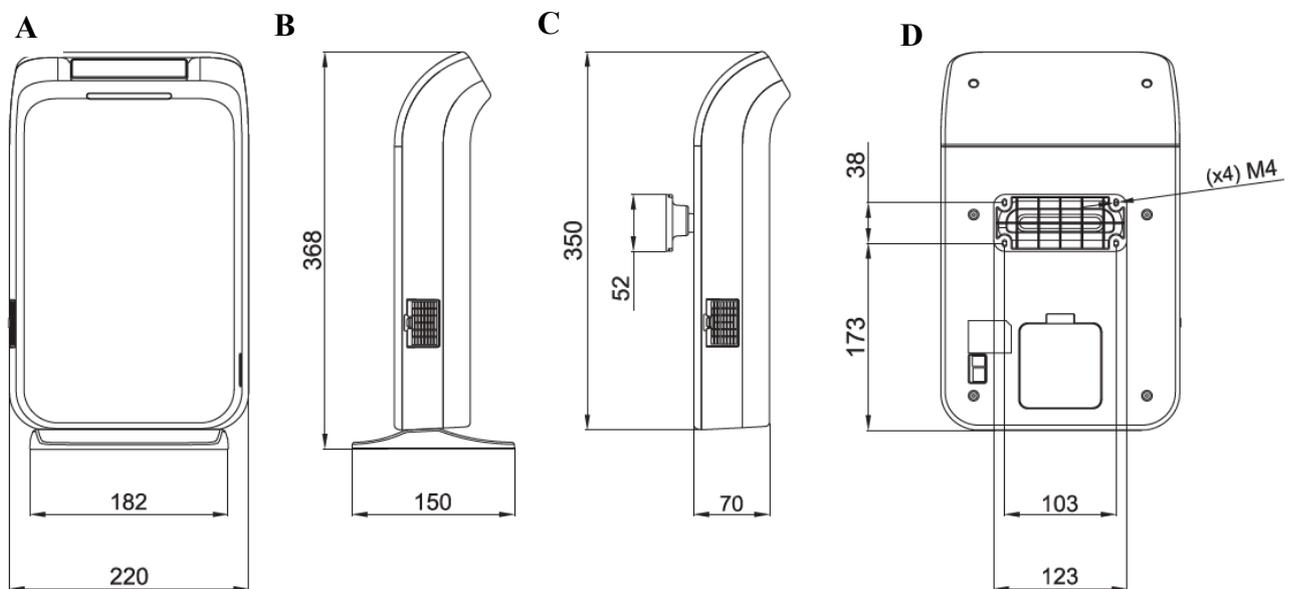
### **6.3.1.Dispositivo generador de radicales hidroxilo**

El dispositivo empleado liberador de radicales hidroxilo (OH<sup>\*</sup>) (WellisAir Disinfection Wadu02<sup>®</sup>- Airtècnics, Castellar del Vallès, Barcelona, España) (figura 9), tiene unas dimensiones de 220 mm de ancho por 370 mm de alto y 150 mm de profundidad, pesa alrededor de 1,9 kg y su consumo eléctrico es de 3,6 W/h (figura 10). Contiene un cartucho consumible emisor de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) que debe ser reemplazado cada 3 meses (figura 11), no tiene filtros y consta de un sensor en tiempo real que indica

la calidad del aire a través de una gama de colores (figura 12) y un modo noche en el que el ruido producido por el dispositivo es inferior a 30 decibelios (dB) (figura 13).



**Figura 9:** Dispositivo liberador de OH<sup>\*</sup> (WellisAir Disinfection Wadu02<sup>®</sup>).



**Figura 10:** Dimensiones del dispositivo liberador de OH<sup>\*</sup> (WellisAir Disinfection Wadu02<sup>®</sup>). A: Vista frontal. Anchura del dispositivo y de la base de soporte. B: Vista lateral. Altura del dispositivo con base de soporte. C: Vista lateral. Altura y profundidad del dispositivo sin base de soporte. D: Vista trasera del dispositivo. Dimensiones del cartucho. Dimensiones del auxiliar para pared.



**Figura 11:** Inserción del cartucho consumible emisor de  $H_2O_2$  en el dispositivo liberador de  $OH^*$  (WellisAir Disinfection Wadu02<sup>®</sup>).



**Figura 12:** Sensor en tiempo real que indica la calidad del aire a través de una gama de colores en el dispositivo liberador de  $OH^*$  (WellisAir Disinfection Wadu02<sup>®</sup>).



**Figura 13:** Modo noche en el dispositivo liberador de OH<sup>-</sup> (WellisAir Disinfection Wadu02<sup>®</sup>) en el que el ruido producido por el dispositivo es inferior a 30 decibelios (dB).

### 6.3.2. Medios de cultivo de las muestras del aire y de las superficies

Para el análisis microbiológico de bacterias, hongos y levaduras se emplearon siete medios de cultivo diferentes que están descritos en la tabla 3.

Grupo bacteriano	Medio cultivo	Temperatura incubación	Días incubación
<i>Bacterias aerobias</i>	Tryptic Soy Agar (TSA) (Eur. Pharm.)	37 °C	1
<i>Hongos y levaduras</i>	Sabouraud Chloramphenicol Agar	25 °C	2
<i>Bacillus spp</i>	Bacillus cereus Selective Agar	35 °C	1
<i>Staphylococcus</i>	Manitol salt agar (Chapman)	37 °C	1
<i>Escherichia coli</i>	Microinstant Tryptone Bile Glucuronic A. (TBX Agar)	44 °C	1
<i>Pseudomonas</i>	Cetrimide Agar (Eur. Pharm.)	37 °C	1
<i>Enterobacterias totales</i>	Violet Red Bile Dextrose Agar (VRBD Agar)	37 °C	1

**Tabla 3:** Medios de cultivo empleados para el estudio microbiológico.

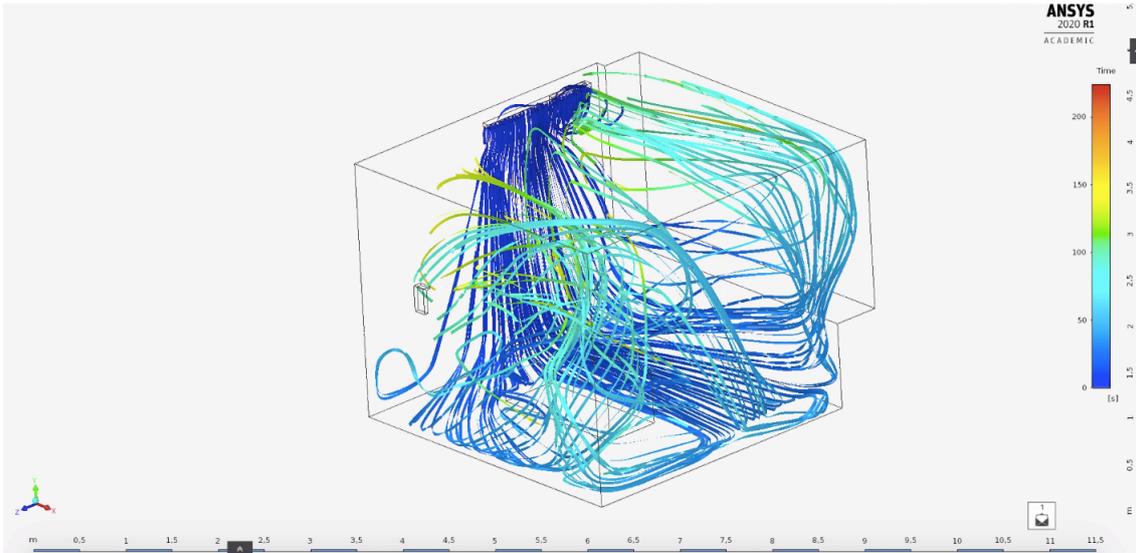
Para el análisis del aire se emplearon tres captadores (figura 14) que permitieron obtener las muestras de toda la consulta odontológica por triplicado al mismo tiempo.



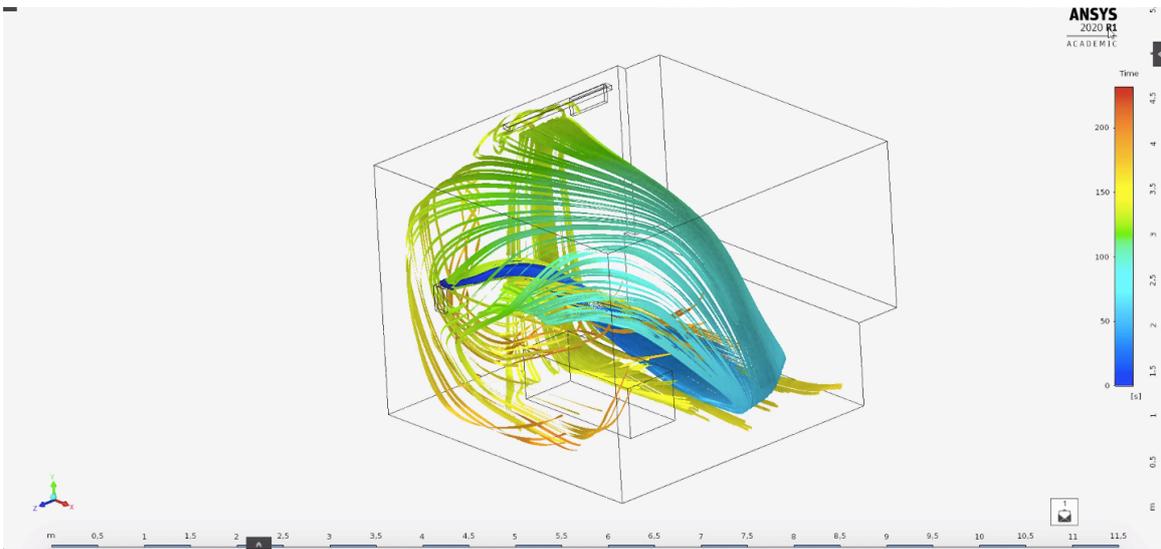
**Figura 14:** Captador de aire empleado para el muestreo del aire.

#### **6.4. Recogida y preparación de la muestra**

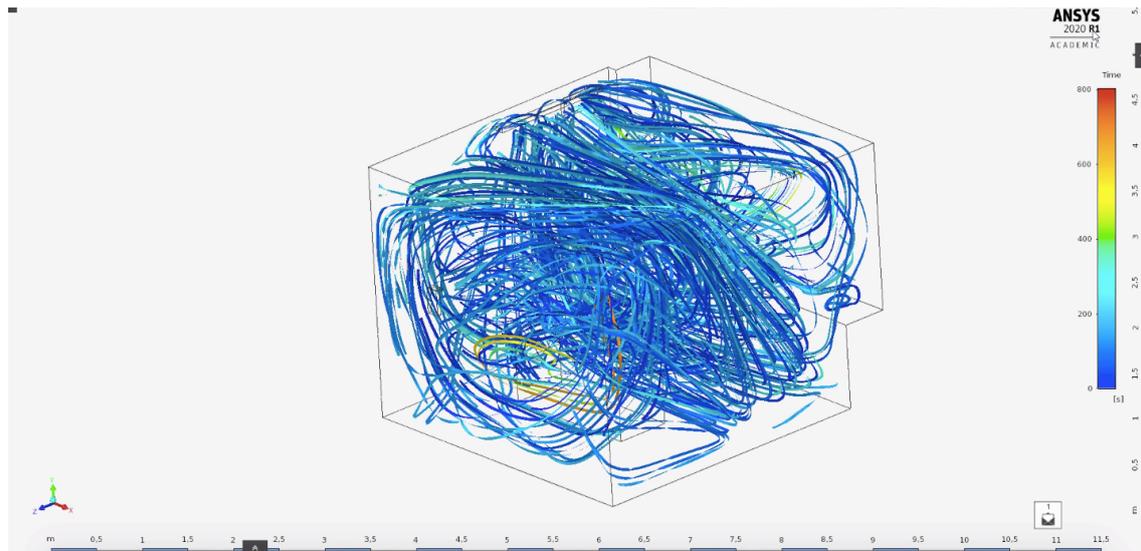
El estudio se llevó a cabo en un gabinete odontológico con una superficie útil de 10,92 m<sup>2</sup>. Previamente a su ejecución, se estudió el sistema de ventilación teniendo en cuenta sus dimensiones geométricas, el caudal de los flujos del aire acondicionado y, también, la salida y retorno de aire. A continuación, se estimó el caudal volumétrico circulante a partir del flujo total emitido (20 m<sup>3</sup>/min) por la máquina de aire acondicionado de la consulta teniendo en cuenta cómo se repartían los flujos para cada elemento de impulsión (figuras 15-17).



**Figura 15:** Demostración de las líneas de 30 corriente de las rejillas verticales de impulsión. Este perfil también cubre toda la consulta odontológica y es el responsable de la trayectoria seguida por los radicales hidroxilo.



**Figura 16:** Demostración del camino que siguen las 25 líneas de corriente de los radicales hidroxilos impulsados por el dispositivo WellisAir Disinfection Wadu02<sup>®</sup>. En general, el perfil de velocidades sigue un camino que cubre prácticamente toda la consulta odontológica.



**Figura 17:** Demostración de la mezcla del aire acondicionado con los radicales hidroxilos en un régimen estabilizado.

La primera fase se desarrolló durante 5 días no consecutivos durante los meses de septiembre y octubre de 2021. Durante los 2 primeros días se obtuvieron las muestras control sin el uso del dispositivo liberador de  $\text{OH}^{\bullet}$ . Se atendieron 6 pacientes y se realizaron 5 procedimientos periodontales con empleo de ultrasonidos y una intervención quirúrgica con uso de material rotatorio. A continuación, se procedió a instalar el dispositivo y se practicó el mismo procedimiento de recogida de las muestras durante 3 días más. En este periodo se atendieron 8 pacientes, se practicaron 5 procedimientos de terapéutica dental con uso de turbina y 3 procedimientos periodontales con uso de ultrasonidos. Siempre se mantuvieron los procedimientos habituales de desinfección de superficies basados en el uso de un espray a base de 550 mg/g de etanol al 99,5%, propionato de N,N-didecil-N-metil-polioxietil amonio y 1,1 mg/g de perfume (Instrunet Inibsa<sup>®</sup> Spray, Laboratorios Inibsa S.A., Lliçà de Vall, Barcelona, España).

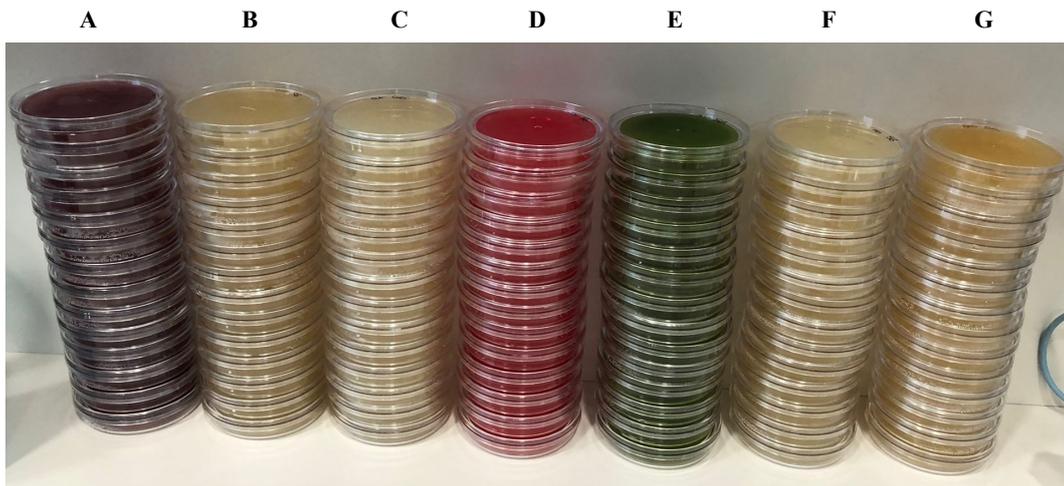
La recogida de muestras se efectuó en 3 tiempos distribuidos al inicio de la jornada laboral, al finalizar un tratamiento y después de un procedimiento dental donde se esperaba la máxima producción de aerosoles. Todos los procedimientos terapéuticos practicados en diferentes días fueron equivalentes en cuanto a tiempo de tratamiento. El muestreo de bacterias localizadas en las superficies se realizó de 2 paredes del gabinete concretamente de la pared lateral izquierda y frontal del gabinete (figura 18)

por ser las más próximas al sillón dental y por presentar mayor superficie muestreable. También se tomaron muestras del respaldo, reposabrazos y brazo fijo del sillón dental y de la pantalla facial protectora del operador. El muestreo se obtuvo mediante placas RODAC (diámetro de 6,5 cm y superficie de 33,16625 cm<sup>2</sup>) (figura 19) por triplicado en 7 medios de cultivo diferentes (6 para indicadores de bacterias y 1 como indicador de la presencia de hongos y levaduras) (tabla 3).

Para el muestreo del aire se emplearon 3 captadores para poder obtener muestras de todo el consultorio por triplicado al mismo tiempo.



**Figura 18:** Paredes del gabinete muestreadas en la evaluación de superficies. PLI: Pared lateral izquierda. PF: pared frontal del gabinete.



**Figura 19:** Placas RODAC. A) Violet Red Bile Dextrose Agar (VRDB Agar), B) Tryptic Soy Agar (TSA), C) Sabouradud Chloramphenicol Agar, D) Manito Salt Agar, E) Microinstant Tryptone Bile Glucuronic A (TBX Agar), F) Cetrimide Agar, G) Bacillus cereus Selective Agar.

Los dispositivos se situaron a una distancia mínima de 1 metro respecto al sillón dental y a una altura de 1,5 metros y en su interior se introdujeron las placas de Petri. Las muestras se remitieron al Laboratorio de Microbiología Sanitaria y Medioambiental (MSMLab) de l'Universitat Politècnica de Barcelona (UPC) para su incubación y posterior recuento de colonias (figuras 20,21).



**Figura 20:** Autoclave.



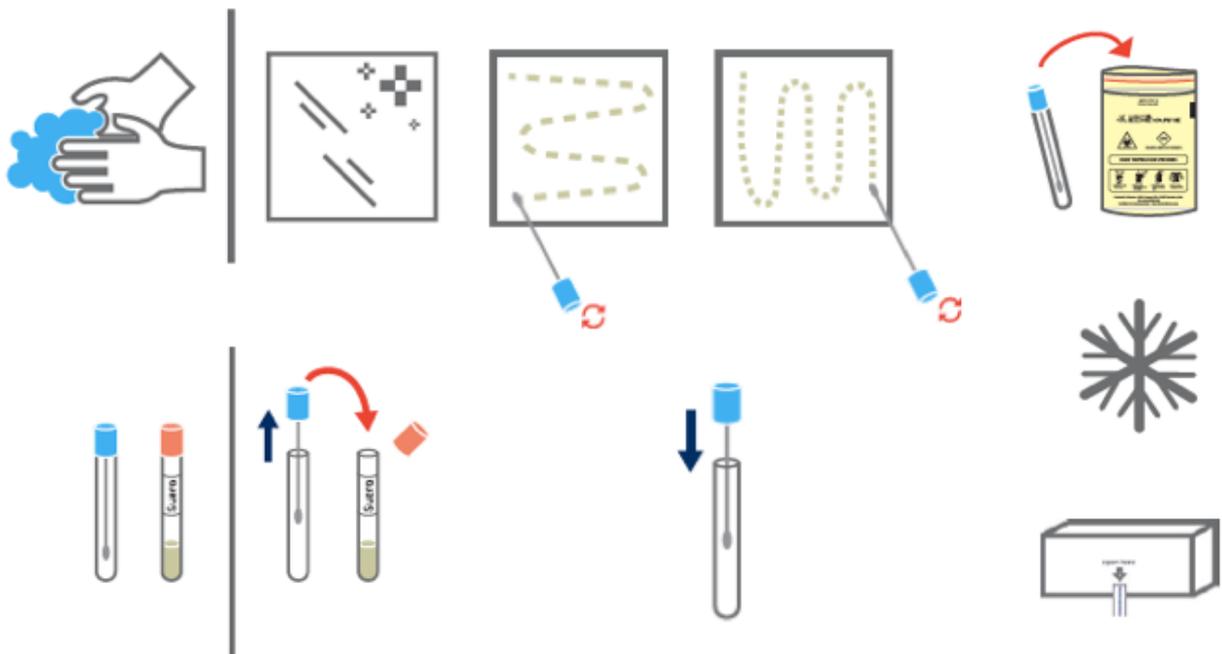
**Figura 21:** Incubadoras celulares.

Para la detección de SARS-CoV-2, se efectuó un muestreo en la pantalla facial protectora del operador con un área de 20x100 cm<sup>2</sup> (figura 22), según el protocolo recomendado para su detección en superficies industriales u hospitalarias (Laboratorios Echevarne. División Industrial. Barcelona, España).



**Figura 22:** Toma de muestras sobre pantalla facial protectora del operador.

Se empleó un kit compuesto por 2 tubos, uno de ellos con un escobillón y otro con suero salino. La punta de escobillón se introdujo dentro del tubo con suero salino para humedecerla asegurándose de que quedaba totalmente inmersa. Tras eliminar el exceso de líquido de la punta del escobillón, presionándola sobre las paredes interiores del tubo, se hizo el muestreo sobre la superficie de la pantalla protectora del facultativo frotando el escobillón de un lado a otro mientras se rotaba la punta. Se hicieron dos pasadas, una de izquierda a derecha y otra de arriba hacia abajo. Al finalizar, se introdujo de nuevo el escobillón en su tubo sin líquido (figura 23). Las muestras se conservaron refrigeradas hasta su procesamiento mediante la técnica de Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) para virus RNA.



**Figura 23:** Protocolo recomendado para detección de SARS-CoV-2 en superficies industriales u hospitalarias.

## 6.5. Análisis estadístico

Todos los datos se registraron en una hoja de cálculo de Microsoft Excel® (Microsoft Corp., Redmond, Washington, EE.UU.) y, posteriormente, se importaron al software STATA 14.2 (StataCorp®, College Station, EE. UU.) para su depuración y procesado.

Para la depuración de los datos se emplearon pruebas de lógica, rango y de consistencia de los resultados. Adicionalmente, se obtuvo la distribución de valores desconocidos y de las variables de estudio descritas en la tabla 4.

Para las variables categóricas se efectuó un análisis descriptivo basado en tablas de medidas de frecuencias absolutas y relativas y bivariadas con una prueba de Chi-cuadrado (o test exacto de Fisher cuando no se cumplían las condiciones de aplicación). Se usaron odds ratio (OR) con un intervalo de confianza del 95% (IC 95%) como medida de asociación.

Para las variables de escala (unidades formadoras de colonias - UFC) se comprobó la normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk y el análisis visual de los diagramas de caja y gráficos P-P. Cuando no se cumplió la normalidad, se realizó el rango intercuartílico (RIC) y la mediana. Cuando la distribución fue compatible con la normalidad, se utilizaron la media y la desviación estándar (DE).

La asociación entre variables categóricas se evaluó con la prueba de  $\chi^2$  de Pearson ó la prueba exacta de Fisher. Se usó la OR como medida de asociación con un intervalo de confianza del 95% (IC 95%).

Para analizar el efecto del dispositivo sobre la reducción de UFC, se empleó un ANOVA de un factor por cada uno de los medios de cultivo. El cumplimiento de los supuestos de aplicación se verificó mediante las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas (pruebas de Shapiro-Wilk y de Levene, respectivamente).

En todos los casos, el nivel de significación se fijó en  $P < 0,05$ .

<b>Variable categórica</b>	Tipo de muestra: superficie/aire.
	Tipo de intervención: Odontología restauradora/Cirugía bucal /Periodoncia.
	Presencia de SARS-CoV-2 en la pantalla facial protectora del operador: sí/no.
	Taxonomía: bacteria/virus/hongo-levaduras
<b>Variable de escala</b>	Unidades formadoras de colonias (UFC).

**Tabla 4:** Descripción de las variables de estudio.

## **7.Resultados**



Durante la primera fase se recogieron un total de 1.260 muestras para el análisis microbiológico en superficies y aire. La tabla 5 muestra el total de placas empleadas para cada uno de los medios de cultivo y de los ambientes muestreados.

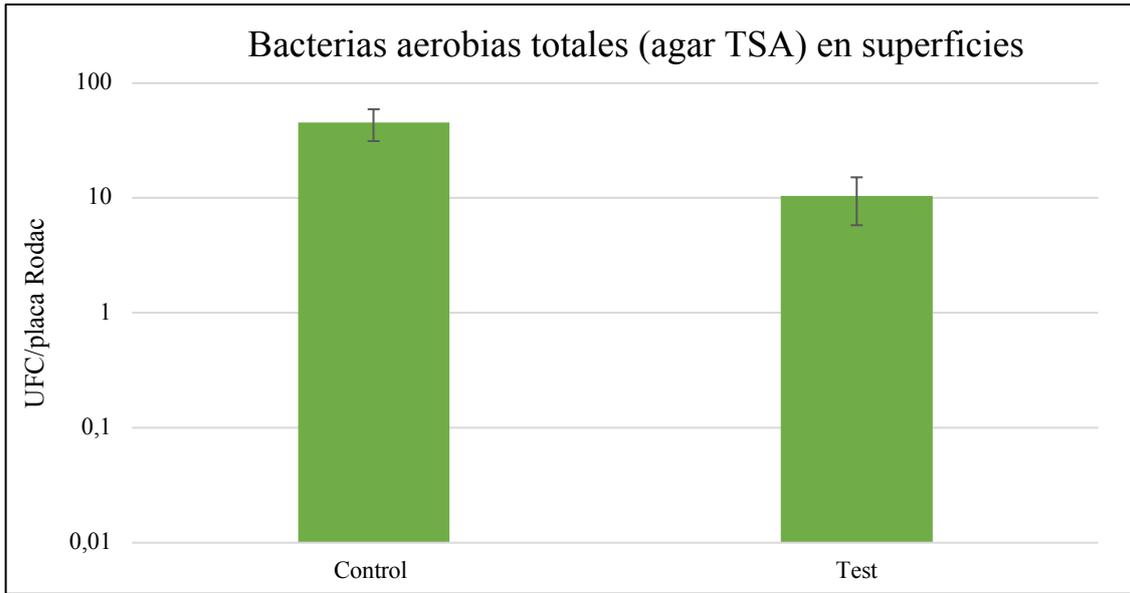
	<b>Paredes del box</b>	<b>Sillón dental</b>	<b>Pantalla facial protectora</b>	<b>Aerosol</b>
Cantidad	1	1	1	1
Réplicas	3	3	3	3
Medios de cultivo	7	7	7	7
Muestras por día	3	3	3	3
Días control	2	2	2	2
Días test	3	3	3	3
Subtotal de muestras	315	315	315	315
<b>Total de muestras</b>	1260			

**Tabla 5:** Número de placas usadas en el muestreo de cada ambiente.

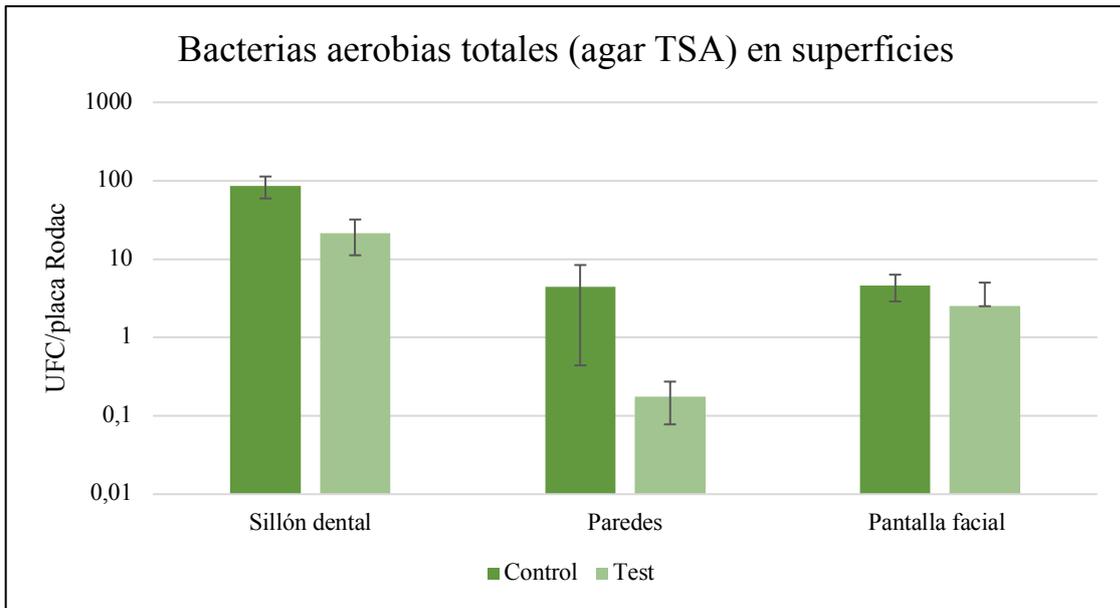
### 7.1. Análisis de resultados para el muestreo de superficies

Respecto al análisis de los resultados obtenidos en superficies no se cuantificó ningún crecimiento, 0 UFC por placa RODAC, en los medios de cultivo para *Staphylococcus*, hongos y levaduras, *Escherichia coli*, Enterobacterias totales, *Bacillus spp.* y *Pseudomonas*. Sólo se observó crecimiento en las placas del agar TSA para bacterias aerobias totales donde la reducción fue del 76,9% en las muestras test ( $p=0,01$ ) (figura 24).

En la figura 25 se observa el efecto de la tecnología liberadora de radicales hidroxilo sobre bacterias aerobias totales en cada una de las tres superficies analizadas. Sólo se obtuvieron resultados significativos en el sillón dental ( $p=0,02$ ). Respecto a las paredes del gabinete y la pantalla facial protectora del operador no se observaron diferencias significativas ( $p$  valor de 0,15 y 0,27, respectivamente). Sin embargo, aunque el efecto de reducción sobre el sillón dental fue significativo, fue inferior a 1 Log.



**Figura 24:** Efecto de la tecnología liberadora de radicales hidroxilo en la reducción de bacterias aerobias totales (agar TSA) en superficies.



**Figura 25:** Efecto de la tecnología liberadora de radicales hidroxilo en la reducción de bacterias aerobias totales (Agar TSA) en superficies: a) sillón dental, b) paredes del gabinete y c) pantalla facial protectora del operador.

Respecto a la presencia del coronavirus SARS-CoV-2 sobre la superficie de las pantallas faciales protectoras del operador no se detectó en ninguna de las 14 muestras recogidas en la primera fase (figura 26).

Parámetro	Resultado <sup>1</sup>
Método-Técnica	
SARS-COV-2 PCR	SARS-Cov-2 No detectado
GVIRCoV2-PCR	
<sup>1</sup> El Laboratorio tiene a disposición del cliente la incertidumbre de medida de los ensayos cuantitativos acreditados.	
Método: GVIRCoV2: Método interno basado en VIRSeek RNA Extractor food y VIRSeek SARS-CoV-2 Screen	
Técnica: PCR: PCR (Polymerase Chain Reaction) Tiempo real	

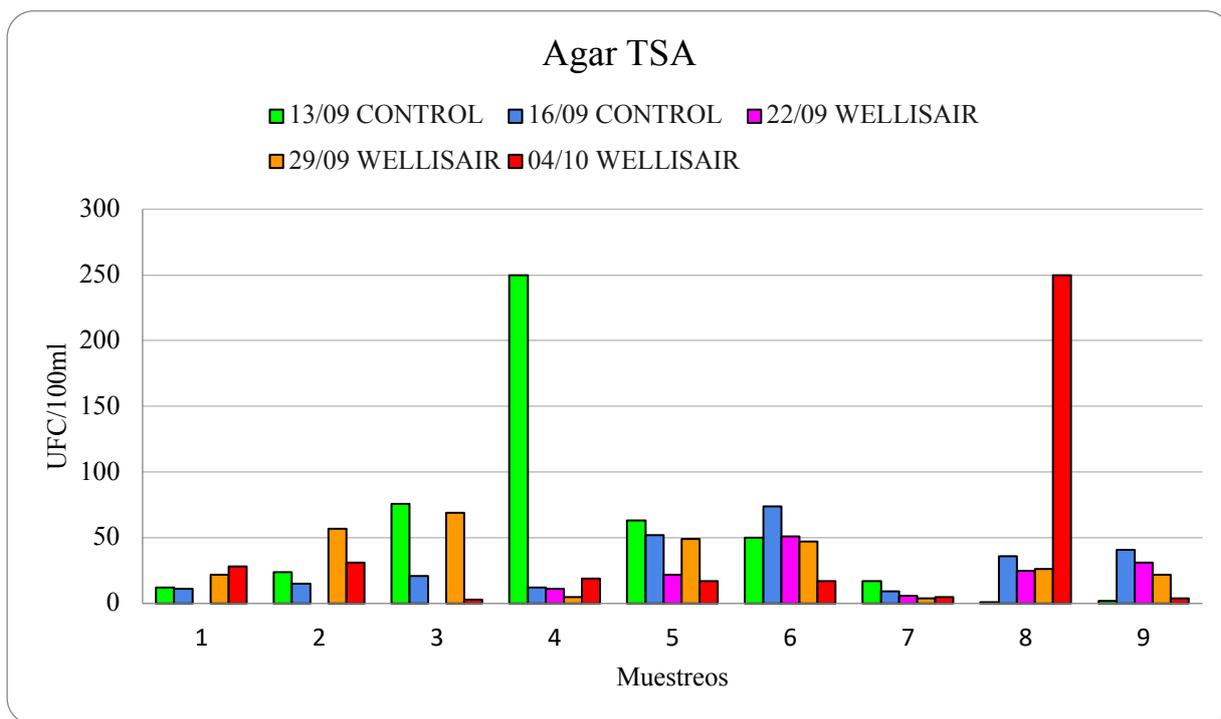
**Figura 26:** Ejemplo de resultados de PCR (Polymerase Chain Reaction)- RT (real time) para detectar la presencia de SARS-CoV-2 en la superficie de la pantalla facial protectora del operador.

## 7.2. Análisis de resultados para el muestreo del aire

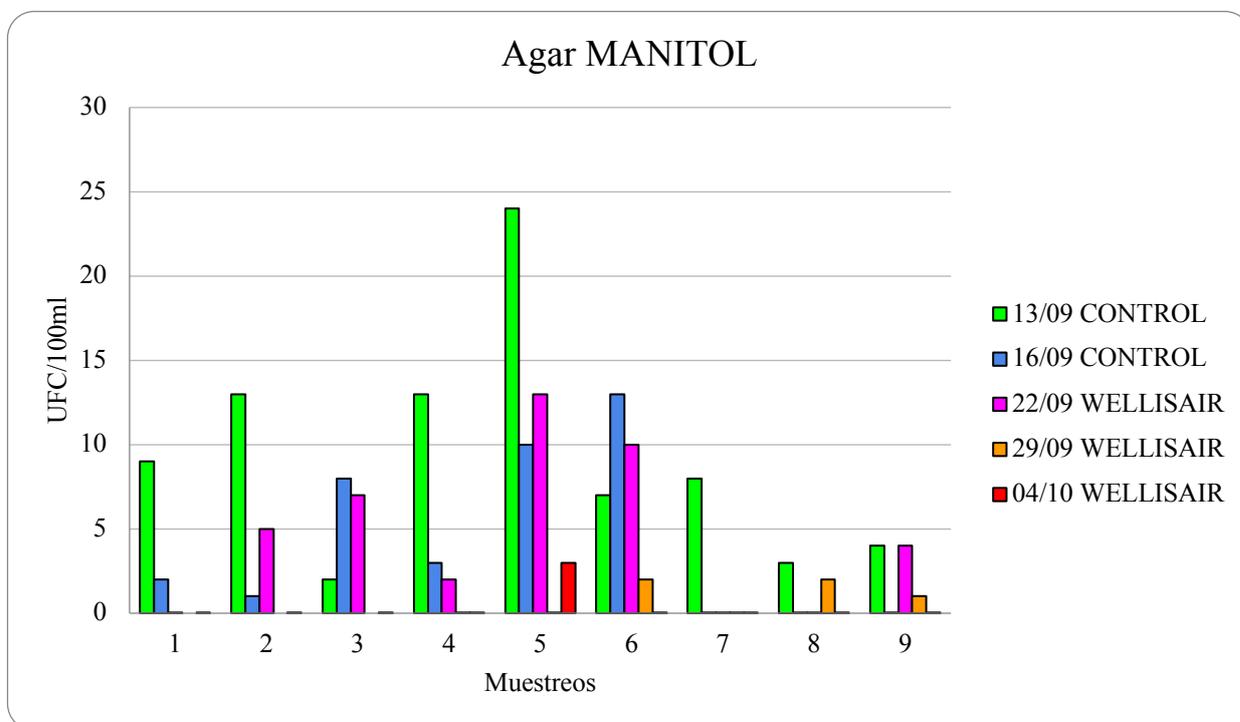
Se muestrearon un total de 200 litros de aire para cada placa de Petri en los que se detectó crecimiento de UFC en el agar Sabouraud para hongos y levaduras, TSA para bacterias aerobias totales y Manitol para bacterias Gram-positivo del género *Staphylococcus* en las muestras control y test. En las figuras 27-29 se describe el muestreo para cada placa agar durante los cinco días de estudio.

No se observó crecimiento de colonias en las muestras control ni test en el 99% del agar TBX para la bacteria Gram-negativo *Escherichia coli*, tampoco en Cetrimida para *Pseudomonas*, ni en VRBG para enterobacterias totales o en MYP para *Bacillus spp.*

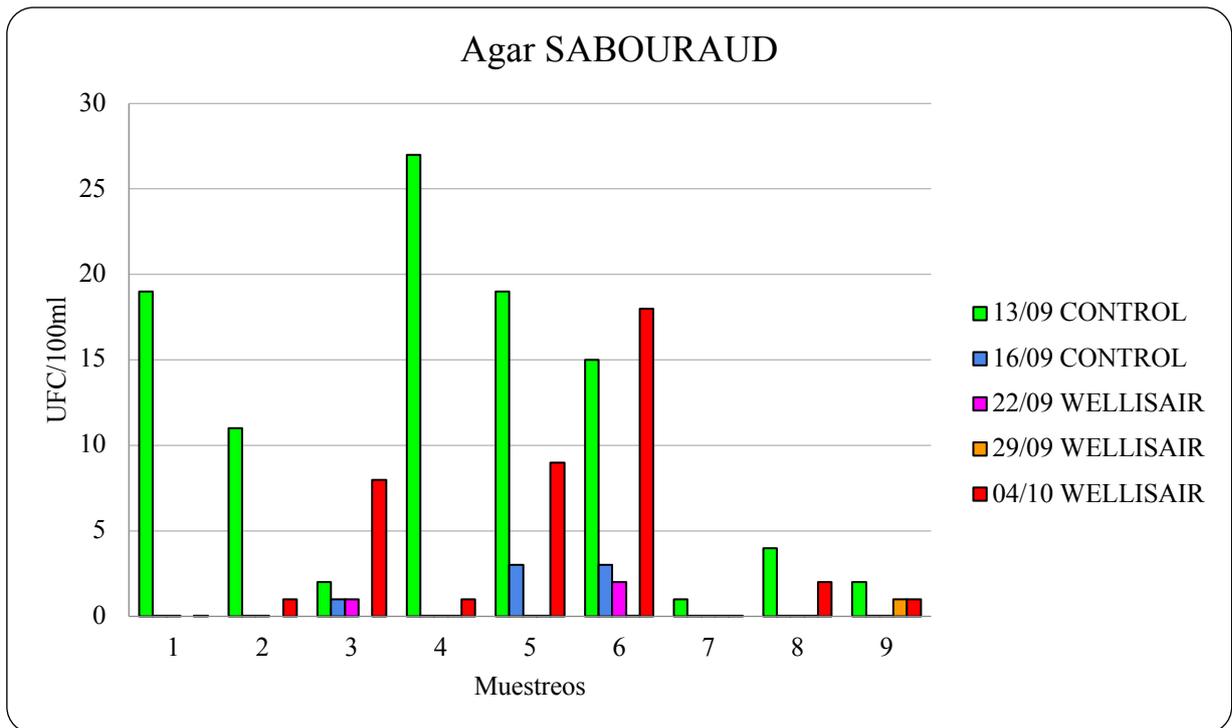
En el agar TSA para bacterias aerobias totales la reducción del crecimiento observado en las muestras test no fue significativo ( $p=0,65$ ). Por el contrario, sí que se observó un efecto positivo de reducción en el agar Manitol para *Staphylococcus* donde se cuantificó una reducción alrededor del 71,4% ( $p=0,001$ ) y en el agar Sabouraud para hongos y levaduras con una reducción del 66,7% en las muestras test ( $p=0,03$ ) (figura 30).



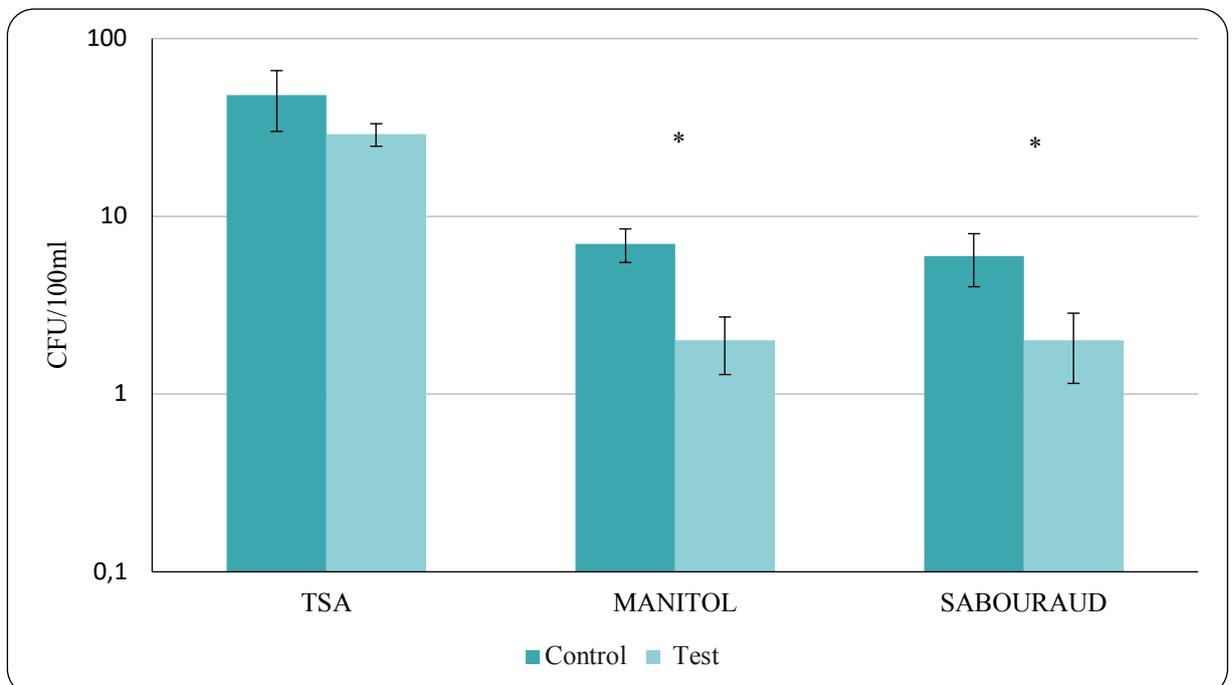
**Figura 27:** Crecimiento microbiológico expresado en unidades formadoras de colonias (UFC) en agar TSA para bacterias aerobias totales en aire durante los días control y test.



**Figura 28:** Crecimiento microbiológico expresado en unidades formadoras de colonias (UFC) en agar Manitol para *Staphylococcus sp.* en aire durante los días control y test.



**Figura 29:** Crecimiento microbiológico expresado en unidades formadoras de colonias (UFC) en agar Sabouraud para hongos y levaduras en aire durante los días control y test.



**Figura 30:** Efecto de la tecnología liberadora de radicales hidroxilo en la reducción de bacterias aerobias totales (agar TSA), *Staphylococcus* sp. (agar Manitol) y hongos y levaduras (agar Sabouraud) en el aire.



## **8.Discusión**

-



El ejercicio de la profesión de odontólogo está sometida a unos riesgos inherentes debido al contacto estrecho entre el facultativo y el paciente y a la elevada producción de aerosoles. Es por ello que, aunque se siguen estrictos protocolos de higiene y asepsia, la imposibilidad de garantizar el contagio cero de infecciones cruzadas hace necesario extremar las medidas de prevención y aplicar las recomendaciones oficiales de asepsia, esterilización y desinfección.

La comunidad odontológica se ha enfrentado a numerosas situaciones de riesgo sanitario. Por ejemplo, la epidemia de VIH/SIDA en la década de los 80 creó una gran alarma y aceleró la adopción de medidas de protección universales (14,15).

La incidencia de COVID-19 directamente atribuible al ejercicio de la profesión odontológica ha sido baja y prueba de ello es que, en mayo de 2020, la incidencia fue solo de 1,4% positivos confirmados mediante prueba de RT-PCR (92). Sin embargo, la pandemia de la COVID-19 ha supuesto un acontecimiento mundial sin precedentes que ha puesto en entredicho la eficacia de todos los métodos tradicionalmente empleados, ya que el coronavirus SARS-COV-2 posee una elevada capacidad de transmisión por vía aérea con un número de reproducción básica R de 2,5 (R indica el número de infecciones que un caso genera en un periodo determinado sobre una población no inmunizada ni infectada) que afecta a toda la población sin patrón ni grupo de riesgo definido y esto ha dado lugar a índices de mortalidad muy elevados. Además la permanencia y supervivencia de virus y bacterias sobre las superficies es elevada pudiendo ser detectados tras largos periodos de tiempo (horas e incluso días) (93). Esto es de vital importancia en el contexto de los centros de atención sanitaria, como las clínicas odontológicas, donde el flujo de pacientes es constante, el intervalo de tiempo entre ellos es reducido y la acción de los agentes desinfectantes puede verse comprometida.

Durante el quinto periodo epidémico, que tiene como fecha de inicio el 20 de junio de 2021, se notificaron a la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) 1.182.201 casos confirmados de COVID-19, 44.593 hospitalizaciones (3,8% de los casos), 4.226 ingresos en UCI (0,4%) y 4.796 defunciones (0,4%). Hasta ese momento, y desde el inicio de la pandemia en 2020, se habían cuantificado 4.969.491 casos y 86.671 defunciones (94).

Durante las semanas 37 a la 39, correspondiente a la quinta ola de la pandemia, el número de casos confirmados en Cataluña fue 919.606 con una incidencia acumulada (casos/100.000 habitantes) de 44,7 en la semana 37. A nivel nacional, la cifra ascendía a 4.969.491 con una incidencia acumulada de 35,4 (94).

Los centros sanitarios fueron el ámbito de principal exposición en 55.628 casos de los 60.228 casos de COVID-19 confirmados en personal sanitario que se notificaron a la RENAVE a partir del 22 de junio de 2021 (94).

La transmisión del coronavirus SARS-CoV-2 por vía hospitalaria o sociosanitaria fue de mucha menor envergadura si se compara con la transmisión entre familiares convivientes o por relaciones sociales. Esto queda muy bien reflejado en los resultados encontrados en nuestro estudio donde no se detectó la presencia de coronavirus SARS-CoV-2 en la pantalla facial protectora del operador a pesar de que se sitúa a una corta distancia respecto al paciente y a que recibe el primer impacto de los aerosoles. Podría afirmarse que, incluso realizándose el muestreo durante la quinta ola de la pandemia, las medidas de cribaje de los pacientes, la desinfección rutinaria y los desinfectantes utilizados son eficaces respecto al control del virus SARS-CoV-2.

Tras 3 años de emergencia sanitaria y millones de muertes reportadas a nivel mundial, el pasado mes de mayo de 2023 la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró el fin de la emergencia sanitaria provocada por la pandemia de la COVID-19 (91). Actualmente, el 89% de los profesionales sanitarios, el 82% de la población adulta mundial y, aproximadamente, el 66% del resto de la población han recibido una pauta de vacunación completa contra el coronavirus SARS-CoV-2. Gracias a esto la presión sanitaria está remitiendo (95). Tanto es así que el 5 de mayo de 2023 la OMS determinó que la COVID-19 ya no constituía una emergencia de salud pública de importancia internacional (ESPII). En España, a principios de 2023, se apreció un descenso medio de la incidencia del 0,8%, los indicadores de gravedad también mostraron niveles muy bajos y estables y la ocupación hospitalaria oscilaba entre el 1,06 % y el 0,99%. Por tanto, el 4 de julio de 2023 se publicó en el Boletín Oficial del Estado (BOE) la Orden SND 726/2023 en la que se derogó la obligatoriedad del uso de la mascarilla tanto en la población general como en los centros sanitarios (Ley 2/2021) (96). No hay evidencia directa disponible que avale el uso de la mascarilla quirúrgica

convencional ni la tipo FPP2, que en teoría protege frente a partículas de aerosol < 1 µm, como medida de protección eficaz frente al coronavirus SARS-CoV-2 ni frente a otros virus respiratorios susceptibles de transmisión en la consulta odontológica (97,98). Por lo tanto, la desinfección del aire es un complemento imprescindible y se recomienda su aplicación durante todo el tiempo de la atención clínica.

Ante este nuevo escenario, la OMS ha elaborado un nuevo plan estratégico para los 2 próximos años (2023-2025) basado en 3 objetivos fundamentales (95):

- Reducir y controlar la incidencia del SARS-CoV-2 en poblaciones vulnerables y de alto riesgo.
- Reducir la mortalidad, la morbilidad y las secuelas a largo plazo.
- Fortalecer la gestión de la enfermedad COVID-19.

El nuevo plan estratégico de la OMS denominado “Preparación, respuesta y resiliencia ante emergencias sanitarias” (de las siglas en inglés HEPR) está basado en cinco pilares fundamentales y pretende mantener una vigilancia colaborativa que garantice una atención mediante el diagnóstico precoz, el tratamiento y la atención sanitaria en poblaciones de riesgo, la integración de la vacunación contra la COVID-19 en los servicios de atención primaria, la protección de los profesionales sanitarios y el rastreo tanto de las variantes conocidas del coronavirus SARS-CoV-2 como de la aparición de otros patógenos respiratorios que puedan constituir una nueva amenaza pandémica (95).

La afectación mundial por la COVID-19 ha cambiado la forma en que trabajamos y nos socializamos. Aunque se haya decretado el fin de la emergencia sanitaria, el esfuerzo global debe ir encaminado hacia el mantenimiento de los logros alcanzados para garantizar un acceso equitativo a todas las herramientas que puedan reforzar el sistema sanitario de cada país (95).

Ni la Asociación Dental Americana (ADA) ni el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (Center for Disease Control and Prevention, CDC) han publicado recomendaciones oficiales para la desinfección del aire en las clínicas odontológicas durante la pandemia de la COVID-19 más allá del consenso sobre el uso de filtros recogedores de partículas con una alta eficacia,  $\geq 99,995\%$ , correspondiente a las siglas en inglés “Portable High Efficiency Particulate Air” (HEPA). En condiciones no

pandémicas, la tasa de renovación del aire en la consulta odontológica debe ser  $\geq 1,5$  cambios de aire/hora, sin embargo, en la situación de riesgo sanitario provocada por la COVID-19, la tasa de ventilación debía aumentarse a 6 cambios de aire/hora (93).

Los radicales hidroxilo ( $\text{OH}^\bullet$ ) fueron descubiertos por Haber y Weiss en 1934 y se definen como un agente oxidante inestable con un potencial oxidativo de 2,80 voltios y una vida media de  $10^{-9}$  segundos. Los  $\text{OH}^\bullet$  forman parte de las especies reactivas del oxígeno (ERO) junto con los aniones hidróxido ( $\text{OH}^-$ ) o el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), entre otros. Todos ellas generan especies precursoras de inestabilidad que dan lugar a un entorno oxidante que se propaga de molécula en molécula (71).

Los  $\text{OH}^\bullet$  están considerados los principales iniciadores de los procesos oxidativos que suceden en la atmósfera dónde su síntesis, degradación y concentración dependen de las especies presentes a su alrededor como el ozono ( $\text{O}_3$ ), los óxidos de nitroso ( $\text{NO}_x$ ) o los compuestos orgánicos volátiles (COVs) con las que reacciona de forma rápida y no selectiva. Su concentración estacionaria suele ser del valor de  $10^6$  moléculas/ $\text{cm}^3$  (72).

En nuestro estudio (99), para que la generación de  $\text{OH}^\bullet$  fuese similar a su producción natural, el reactante empleado fue el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) obtenido por evaporación de 35 ml de peróxido líquido en contacto con una mecha de poliéster. Sin embargo, la producción de  $\text{OH}^\bullet$  no sólo puede alcanzarse a través del uso del  $\text{H}_2\text{O}_2$  como reactante, si no también empleando dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) como catalizador ya que es barato, muy estable, eficaz a bajas concentraciones, no es tóxico y es fácilmente degradable. A este proceso se le conoce como oxidación fotocatalítica, correspondiente a las siglas en inglés PCO, y sus principales efectos se consiguen aplicando radiación UV sobre el  $\text{TiO}_2$  lo que da lugar a la producción de los  $\text{OH}^\bullet$ .

García-Raurich y cols. (71) analizaron dos modelos de estudio en laboratorio, uno estequiométrico y otro cinético, para conocer el funcionamiento exacto de la generación de  $\text{OH}^\bullet$  a través del dispositivo empleado en nuestro estudio in vitro (99). El dispositivo contenía 35 ml de solución a base de 0,04 mg/h de ozono ( $\text{O}_3$ ) y de  $\text{H}_2\text{O}_2$  que se evaporaba constantemente con un flujo de 0,39 ml/día. El modelo estequiométrico tenía tres objetivos: en primer lugar, establecer un modelo teórico de emisión de  $\text{OH}^\bullet$  midiendo la capacidad de reacción entre el  $\text{O}_3$  y el  $\text{H}_2\text{O}_2$  en estado gaseoso, en segundo

lugar determinar la eficacia de la reacción y, por último, cuantificar la cantidad de residuos generados.

En cuanto a la eficacia de la reacción se considera eficacia teórica cuando la emisión de  $\text{OH}^\bullet$  es máxima y se considera optimizada cuando la presencia de residuos reactivos es baja. Es importante recordar que los límites establecidos por las leyes de las organizaciones internacionales (OMS, OSHA y FDA) son 1 ppm para el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y 0,05 ppm para el ozono ( $\text{O}_3$ ) en un máximo de 8 horas (73,81,100,101). La eficacia de la emisión de  $\text{OH}^\bullet$  varía en función de la pureza del  $\text{H}_2\text{O}_2$  empleado, la concentración inicial de  $\text{O}_3$  y el volumen de la estancia donde tiene que tener lugar la reacción. Para grandes volúmenes (aproximadamente  $300 \text{ m}^3$ ) se debe utilizar un  $\text{H}_2\text{O}_2$  del 17,95% de pureza y para volúmenes pequeños (alrededor de  $8 \text{ m}^3$ ) un  $\text{H}_2\text{O}_2$  del 4,95% de pureza. De esta manera se consiguen los valores de eficacia altos con valores de residuos más bajos. Además, el estudio cinético (71) también pretendía evaluar la evolución temporal de la concentración  $\text{OH}^\bullet$  sin el dispositivo activo y con la presencia de una fuente externa que aportaba  $2,84 \cdot 10^7 \text{ molec} \cdot \text{cm}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$  de  $\text{OH}^\bullet$  adicional en una estancia de diferentes volúmenes que, inicialmente, estaba vacía y luego ocupada por personas. Los resultados demostraron que, gracias a esa fuente externa, se aumentaba y mantenía la producción de  $\text{OH}^\bullet$  en torno a  $10^8 \text{ molec}/\text{cm}^3$ . Ésto se explica porque, en espacios donde no existe renovación del aire, todo el  $\text{OH}^\bullet$  se consume en las reacciones ambientales y la producción es igual a cero.

En cuanto a la influencia de la presencia de personas sobre la concentración de  $\text{OH}^\bullet$  se concluyó que cuanto menor sea el número de personas, mayor era la concentración de  $\text{OH}^\bullet$ , ya que la exhalación de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) es menor y, en consecuencia, la caída de radicales es más tardía. Concretamente se estimó que a partir de los 10 minutos con la presencia de una sola persona la emisión de  $\text{OH}^\bullet$  era 6,3 veces mayor.

Respecto a la cantidad de residuos generados, el riesgo que siempre se asocia a las reacciones de oxidación entre el  $\text{O}_3$  y los compuestos orgánicos, principalmente terpenos presentes en productos de limpieza de superficies, es la producción de COVs. Sin embargo, ésto no debe ser un impedimento en el uso de esta tecnología ya que son mineralizados por los  $\text{OH}^\bullet$  impidiendo su acumulación en interiores. Por ejemplo, los  $\text{OH}^\bullet$  pueden mineralizar el formaldehído en 1,2 días mientras que el  $\text{O}_3$  tardaría en

hacerlo más de 4,5 años (71). Un ejemplo claro es el estudio de Mohamed y Awad (102) donde uno de los objetivos fue evaluar los cambios en la concentración de tolueno demostrando que los OH<sup>•</sup>, derivados de la fotooxidación bajo radiación UV, redujeron el 97% del tolueno degradándolo en H<sub>2</sub>O y CO<sup>2</sup>. Son, por tanto, productos que garantizan la bioseguridad de los ambientes donde se emplean.

Según los resultados obtenidos en nuestro estudio *in vitro* (99), la tecnología basada en la liberación de OH<sup>•</sup> tiene una eficacia más destacable en la reducción de un tipo de microorganismo patógeno muy concreto y, por el contrario, no alcanza resultados estadísticamente significativos en la reducción de otros. Concretamente, el sistema liberador de OH<sup>•</sup> obtuvo reducciones significativas del 71,4% frente al género *Staphylococcus* que son bacterias Gram positivo. Para entender por qué a pesar de actuar de forma no selectiva la acción de la tecnología basada en OH<sup>•</sup> es altamente eficaz contra una especie concreta es necesario conocer la estructura macromolecular de los patógenos. Los OH<sup>•</sup> son altamente reactivos sobre microorganismos muy sensibles a la oxidación y ésto depende de la estructura de sus ácidos nucleicos, lípidos y proteínas. Por ejemplo, las bacterias del género *Staphylococcus* son menos susceptible al ataque de los OH<sup>•</sup> porque están compuestas por una pared muy gruesa de peptidoglucanos. En cambio las bacterias Gram negativo, como *Escherichia Coli*, tienen una pared celular mucho más delgada formada por fosfolípidos, lipopolisacáridos y lipoproteínas que las hace más susceptibles al ataque de las especies reactivas del oxígeno (ERO).

En aquellos casos en los que se emplea como reactante el TiO<sub>2</sub>, su fotocatalisis produce la lisis celular del microorganismo patógeno degradando su pared celular y su membrana citoplasmática. Sin embargo, la eficacia del proceso de desinfección depende de muchos factores como la configuración del reactor, la fuente de luz, los componentes del medio ó el tipo de microorganismo. Es un método de desinfección que, al igual que la tecnología empleada en nuestro estudio, también ha sido estudiado frente a bacterias Gram positivo y negativo (mayoritariamente frente a *Escherichia coli*), hongos, algas, protozoos y virus, aunque no frente al coronavirus SARS-CoV-2 (102,103).

Precisamente en el estudio de Yamaguchi y cols. (35) se pretendía evaluar la capacidad bactericida fotocatalítica del dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Las bacterias fueron irradiadas con radiación ultravioleta A (UV-A) aplicada con una longitud de onda de 365 nanómetros (nm) durante 12 horas con una

intensidad de  $0,15 \text{ mW/cm}^2$ . Los resultados evidenciaron dos hechos destacables. El primero de ellos es que, en ambos casos, la tasa de supervivencia de las dos bacterias se redujo. Sin embargo, el efecto sobre *Escherichia coli* fue mayor alcanzándose una reducción del 100% en 3 horas. Ésto se explica porque, como se ha comentado anteriormente, la pared de las bacterias Gram negativo es mucho más fina y, por tanto, susceptible. En segundo lugar, se descubrió que el efecto bactericida conseguido se basaba en la fotólisis y fotocátalisis de las bacterias gracias a la generación de  $\text{OH}^\bullet$  derivados de la aplicación de la radiación luz ultravioleta (UV).

También en el estudio in vitro de Yang y cols. (104) se empleó un nuevo método de desinfección puesto a prueba contra cinco especies bacterianas entre las que también se encontraban *Escherichia coli* y *Staphylococcus epidermidis*, entre otras, y que estaba basado en la aplicación de una lámpara de radiación ultravioleta C (UV-C) para conseguir una irradiación ultravioleta germinicida (UVGI- inducida) dentro de los conductos de un sistema de calefacción, ventilación y de aire acondicionado (correspondiente a las siglas en inglés HVAC). Los resultados mostraron eficacia destacable del 76,1% frente a *Staphylococcus epidermidis* que está considerada la bacteria más resistente a la radiación UV-C.

Ambos estudios (35,104) evidencian un gran inconveniente y es que durante el proceso de desinfección con radiación UV-A y UV-C, necesaria para activar la fotocátalisis del  $\text{TiO}_2$ , la estancia clínica debe estar vacía debido a los efectos dermatológicos adversos que se le atribuyen (como cáncer de piel o la fotoconjuntivitis, entre otros). Ésto no ocurrió en nuestro estudio (99) donde el sistema liberador de  $\text{OH}^\bullet$  se activó simultáneamente al desarrollo de la actividad asistencial obteniendo reducciones significativas del 71,4% frente al género *Staphylococcus* sin ningún daño perjudicial sobre la salud de las personas presentes.

Por otro lado, también en el estudio de Mohamed y Awad (102) ya comentado anteriormente, se evaluó el efecto de la oxidación fotocatalítica del  $\text{TiO}_2$  sobre los microorganismos patógenos en el aire. Los resultados mostraron que se redujo la presencia de microorganismos al 100%, esto es 0 UFC, después de 300 minutos de aplicación de la fotocátalisis del  $\text{TiO}_2$ . Sin embargo, en este estudio no se especifica

qué microorganismo han sido evaluados lo que impide la comparación de sus resultados con otros estudios como el nuestro.

La oxidación fotocatalítica también ha sido estudiada en sinergia con los filtros HEPA, dando lugar a una tecnología conocida como “filtros HEPA fotocatalíticos”. En el estudio de Chotigawin y cols.(105) se consiguieron los filtros fotocatalíticos mediante recubrimiento de inmersión de un filtro HEPA en una suspensión de  $\text{TiO}_2$ . La tecnología fue evaluada en una cámara in vitro de  $8\text{m}^3$  y en una sala hospitalaria de diálisis de  $259,2\text{m}^3$ , que es un volumen similar al área de una consulta odontológica. Además se aplicó radiación UV-A para potenciar la reacción oxidativa y conseguir mayor efecto desinfectante. Los resultados mostraron que la desinfección en el interior de la cámara in vitro osciló entre el 72,4% y 88,5% tras 10 horas de irradiación poniendo de manifiesto un efecto más notable sobre *Staphylococcus Epidermis*, que se redujo en un 83,4%. Sin embargo, en condiciones reales y hospitalarias, la desinfección fue menor. Las bacterias se redujeron en un 63,5%, en un 23,9% y en un 28,2% para distancias de 2 metros, 6,5 metros y 8 metros, respectivamente. Los autores atribuyen estas diferencias tan notables a que la humedad relativa (HR) en la sala de diálisis era excesivamente alta (alrededor del 73,75%). Ésto supone una desventaja ya que cuando los valores de HR son altos las moléculas de agua cubren la superficie del filtro HEPA fotocatalítico ocupando el espacio reservado para la producción de los radicales y, en consecuencia, reduciendo su eficacia. Para que la oxidación sea eficaz la HR debe oscilar entre el 40 y el 70% siendo óptima en el 50%, aunque también afectan a los resultados las dimensiones útiles de la estancia y la distancia entre las superficies y el aire respecto a la posición del purificador. Por tanto, no parece ser una tecnología especialmente útiles cuando se trata de alcanzar una desinfección óptima de estancias de grandes volúmenes.

La mayor parte de los estudios se centran en la desinfección de bacterias aerobias totales pero las infecciones nosocomiales también están causadas por más agentes patógenos. Respecto a los hongos y levaduras sus macroestructuras están formadas por una pared de quitina y glucanos de la que sobresalen las glucoproteínas. Estas características anatómicas los convierte en microorganismos patógenos muy susceptibles a la acción de algunas tecnologías de desinfección como el  $\text{O}_3$  o los  $\text{OH}^\cdot$ . Sin embargo, no todas las tecnologías de desinfección disponibles son útiles frente a ellos ya que como puede observarse en el estudio de Chotigawin y cols. (105) los

hongos y levaduras no son susceptibles al efecto desinfectante de los filtros HEPA fotocatalíticos ya que sus membranas celulares carecen de moléculas fotosensibles.

El uso del O<sub>3</sub> frente a hongos y levaduras se evaluó en el estudio de Moccia y cols. (106) mediante un dispositivo que liberaba 3.2 ppm de O<sub>3</sub> en 1 hora. Los resultados mostraron una reducción superior al 90% en los medios PCA y Sabouraud, medio de cultivo que también ha sido empleado en nuestro estudio, tanto en superficies como en el aire. Sin embargo, es importante resaltar que su uso es incompatible con el desarrollo de la actividad clínica diaria debido a que, al inhalarse, puede producir disminución de la función pulmonar y aparición de irritaciones cutáneas (106).

También en el estudio de Bergeron y cols. (107) se evaluó el efecto de una nueva tecnología electroestática con reactores de plasma no térmicos. La tecnología fue aplicada en dos estancias hospitalarias de alta riesgo: un quirófano con una superficie útil de 118 m<sup>3</sup> y una sala de hematología pediátrica. El estudio se centró en la reducción de microorganismos mesófilos, que son aquellos capaces de crecer en temperaturas oscilantes entre los 25°C y los 40°C, y de hongos como *Aspergillus fumigatus*. Los resultados del quirófano mostraron una descontaminación biológica del aire del 90% a una velocidad de 1,5 metro/segundo (m/s) de partículas mayores a 0,5 micrometros (µm) reduciendo la presencia de hongos a niveles indetectables. En la sala de hematología, los hongos se redujeron de forma significativa en un 75% para las especies oportunistas y en un 82% para las especies no patógenas. Por otro lado, también en nuestro estudio *in vitro* (99) se obtuvo una reducción significativa del 66,7% en el medio Sabouraud, dónde crecen hongos y levaduras, para las muestras del aire. Nuestros valores, aunque son inferiores a los obtenidos con la tecnología electroestática con reactores de plasma no térmicos y a la tecnología que emplea el O<sub>3</sub>, tienen un valor añadido y es que se han conseguido mientras los pacientes y los facultativos estaban presentes. Esto no puede ocurrir mediante la aplicación del O<sub>3</sub> y, a día de hoy, todavía se desconoce si es compatible la actividad clínica asistencial con la aplicación simultánea de la tecnología basada en los reactores de plasma.

En cuanto a los virus, desde un punto de vista de la anatomía macromolecular, se clasifican en no envueltos, que presentan una cápside proteica, o envueltos, que tienen

una bicapa lipídica con glucoproteínas. La nucleocápside está formada en los virus envueltos por la cápside y el ADN/ARN mientras que en los virus no envueltos está formada por el ácido nucleico más la cápside de capsómeros. Concretamente, el SARS-CoV-2 pertenece a la familia Coronaviridae. Los coronavirus (CoV) son un grupo de virus de ARN monocatenario de sentido positivo y origen zoonótico. Se pueden dividir en 4 géneros:  $\alpha$ -CoV,  $\beta$ -CoV,  $\gamma$ -CoV y  $\delta$ -CoV. Todos los coronavirus tienen  $\geq 4$  proteínas estructurales: S (pico) que es la responsable de la fusión entre el virus y las células del hospedador durante la infección, E (envoltura), M (membrana) y N (nucleocápside). El SARS-CoV-2 pertenece al subgrupo  $\beta$ -CoV y tiene un diámetro de 0,125  $\mu\text{m}$ , lo que le permite penetrar a través de los poros de la mayoría de las mascarillas que forman parte de los equipos de protección individual (EPI). Tiene un genoma idéntico en un 79,6% al SARS-CoV (coronavirus de síndrome respiratorio agudo grave) y en un 96% al murciélago *Rhinolophus affinis*, que podría considerarse su hospedador natural (93). El SARS-CoV-2 es un virus estable a 4°C, sin embargo, es muy sensible al calor: a 70°C se inactiva en 5 minutos, a 56°C en 30 minutos y a 37°C tarda hasta 2 días.

La estabilidad del SARS-CoV-2 es muy elevada y puede permanecer durante horas en aerosoles y hasta días en superficies (7,108). La entrada del SARS-CoV-2 en el organismo hospedador se produce a través de la unión de la proteína espiga trimétrica del virus con la enzima conversiva de la angiotensina 2 (ECA2). Esta unión se produce gracias a la gran afinidad que presenta el dominio C-terminal de la proteína espiga de SARS-CoV-2 con el ECA2 humano (109). Tras la entrada, el SARS-CoV-2 se aloja en los tejidos pulmonares y se dirige contra los neumocitos I- II y contra los macrófagos alveolares pudiendo llegar a generar hasta 3 veces más partículas infecciosas que el SARS-CoV (110).

A pesar de que la saliva y los aerosoles generados en los procedimientos odontológicos pueden tener un papel crucial en la transmisión del coronavirus SARS-CoV-2 (111), no se ha detectado su presencia en ninguna de las muestras obtenidas de la pantalla facial protectora del operador de nuestro estudio (99) hecho que impide comprobar la eficacia de los radicales OH $\cdot$  frente a este tipo de patógenos. Ésto podría justificarse por el cribaje protocolizado de pacientes que se implementa en las clínicas odontológicas de forma sistemática desde que la OMS declarase en 2020 el estado de pandemia.

El uso de la tecnología basada en OH<sup>•</sup> no ha sido evaluada frente a SARS-CoV-2 en ambiente hospitalario, sin embargo, en estudios publicados sí se ha demostrado la eficacia de otros métodos de desinfección frente a virus con estructuras similares al SARS-CoV-2. Entre ellos destaca el uso del vapor seco que en el estudio de Marchesi y cols. (38) mostró una eficacia del 99,99% frente al *coronavirus OC43 (HCoV)* mediante cultivo de células HCT-8, el *Virus Influenza Humano* (subtipo A/H1N1/WSN/33) con cultivo de células Vero y el *Echovirus 7* (ATCC VR37) a través del cultivo de células MDCK, lo que corresponde a un factor  $\geq 4 \text{ Log}_{10}$ .

También la radiación ultravioleta (UV), que son ondas electromagnéticas que se clasifican según su longitud de onda en UV-A (315–380 nm), UV-B (280–315 nm) y UV-C (200 a 280 nm) y que se emite a través de lámparas germinicidas es una tecnología que ha demostrado ser eficaz frente a virus como SARS-CoV y MERS-CoV (93). Respecto a su eficacia frente a SARS-CoV-2, en el estudio de Ge y cols. (112) se evaluó en la unidad de cuidados intensivos (UCI) del hospital universitario de Zhejiang (China) donde se ingresaron 3 pacientes positivos de COVID-19. La desinfección del aire se realizó mediante flujo constante de plasma combinado con radiación UV y para la desinfección de las superficies se emplearon toallitas cloradas aplicadas 6 veces al día. Las muestras de superficies se obtuvieron 2 horas después de la desinfección mediante escobillones y fueron procesadas mediante la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (qRT-PCR). Sólo en 2 de las 105 muestras se encontró RNA para SARS-CoV-2 concluyendo que el conjunto de procedimientos desinfectantes empleados (radiación UV+ toallitas cloradas) eran eficaces en la reducción del potencial riesgo de infección cruzada en el ámbito hospitalario.

También en el estudio de Han y cols. (113) se comprobó el efecto que la radiación UV tiene sobre la desinfección de microorganismos patógenos de tipo vírico.

Concretamente, en el estudio se evaluó un filtro fotocatalítico de apatita de titanio (correspondiente a las siglas en inglés PTAF) como método de desinfección frente a SARS-CoV. Los primeros resultados mostraron una eficacia del 99,99% a las 6 horas de aplicación alcanzando el 100% de inactivación del virus cuando el filtro se irradiaba con radiación UV. Por tanto, dada que el SARS-CoV tiene condiciones estructurales similares al SARS-CoV-2, podría pensarse que la tecnología PTAF también sería eficaz en la inactivación de este último.

Uno de los objetivos establecidos en nuestro estudio in vitro (99) fue cuantificar el crecimiento de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) y determinar la presencia de coronavirus SARS-CoV-2. El promedio de bacterias en aire fue de 48 UFC/100 ml y de 45,24 UFC/placa RODAC en superficies. Respecto a los hongos y levaduras sólo crecieron en el aire con un promedio de 6 UFC/100 ml. La cuantificación del crecimiento de microorganismos patógenos fue útil para comprobar que, tal como se planteó en las hipótesis propuestas, la tecnología basada en la liberación de  $\text{OH}^{\bullet}$  aplicada sobre superficies reduce la presencia de bacterias siendo su efecto más significativo sobre *Staphylococcus*, hongos y levaduras. Esto nos permite confirmar que, efectivamente, los  $\text{OH}^{\bullet}$  son eficaces como método de desinfección y que, además, las consultas odontológicas son ambientes clínicos seguros donde el riesgo de infección cruzada es prácticamente cero.

Nuestro estudio (99) es el primero desarrollado en condiciones clínicas reales con un flujo constante de pacientes y la implementación de tratamientos odontológicos generadores de aerosoles. Además fue llevado a cabo durante la quinta ola pandémica permitiendo valorar la eficacia de la tecnología liberadora de  $\text{OH}^{\bullet}$  en condiciones reales de riesgo sanitario con alta probabilidad de infección cruzada. Sin embargo, los resultados del estudio se basan en un tamaño muestral muy pequeño que no permite extrapolar los resultados a consultas odontológicas con un mayor número de gabinetes operativos y, por tanto, con un gran volumen de pacientes. Además, la distribución de los procedimientos en el grupo control/ test no fue aleatorizada ni la duración de los tratamientos era igual. Todo esto pone en evidencia la necesidad de efectuar nuevos estudios más protocolizados, a doble ciego, aleatorizados y con un tamaño muestral mayor.

## **9. Conclusiones**



1. La tecnología basada en la liberación de radicales hidroxilo reduce significativamente la presencia hongos y levaduras y de *Staphylococcus* en el aire.
2. La tecnología basada en la liberación de radicales hidroxilo reduce la presencia de bacterias aerobias totales en las superficies de la consulta odontológica. Sobre superficies, la reducción sólo fue significativa en el sillón dental.
3. Las bacterias aerobias totales se cuantificaron en 48 UFC/100 mL en aire y en 45,24 UFC/placa RODAC en superficies. Se encontraron 7 UFC/100 mL de *Staphylococcus* en aire y 6 UFC/100 mL de hongos y levaduras en aire.
4. No se detectó la presencia de SARS-CoV-2 en la superficie de la pantalla facial protectora del operador.
5. En las condiciones del estudio efectuado puede afirmarse que las consultas odontológicas son ambientes bioseguros para los pacientes y los profesionales cuando se aplica un protocolo de desinfección eficaz.



## **10.Referencias**



1. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: Classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.*2020;5:536-44.
2. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.*2020;395:497-506.
3. Lei S, Jiang F, Su W, Chen C, Chen J, Mei W, et al. Clinical characteristics and outcomes of patients undergoing surgeries during the incubation period of COVID-19 infection. *E Clinical Medicine.*2020;21:100331.
4. Lai CC, Liu YH, Wang CY, Wang YH, Hsueh SC, Yen MY, et al. Asymptomatic carrier state, acute respiratory disease, and pneumonia due to severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): Facts and myths. *J Microbiol Immunol Infect.* 2020;54:404-12.
5. Peng X, Xu X, Li Y, Cheng L, Zhou X, Ren B. Transmission routes of 2019-nCoV and controls in dental practice. *Int J Oral Sci.* 2020;12:1-6.
6. Hung LS. The SARS epidemic in Hong Kong: What lessons have we learned? *J R Soc Med.* 2003;96:374-8.
7. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med.* 2020;382:1564-7.
8. Abramovitz I, Palmon A, Levy D, Karabucak B, Kot-Limon N, Shay B, et al. Dental care during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak: Operatory considerations and clinical aspects. *Quintessence Int.* 2020;51:418-29.
9. World Health Organization. Considerations for the provision of essential oral health services in the context of COVID-19. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/who-2019-nCoV-oral-health-2020.1> (acceso 3 agosto 2022).
10. European Centre for Disease Prevention and Control. Epidemiology of COVID-19. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/infectious-disease-topics/z-disease-list/covid-19/factsheet-covid-19> (acceso 11 julio 2022).
11. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Centro Nacional de Epidemiología. Centro Nacional de Microbiología (Instituto de Salud Carlos III). Equipo covid-19. Análisis de los casos de COVID-19 en personal sanitario notificados a la RENAVE hasta el 10 de mayo en España. Informe a 29 de mayo de 2020. Disponible en: <https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/Enfermedad>

[desTransmisibles/Documents/INFORMES/Informes%20COVID-19/COVID-19%20en%20personal%20sanitario%2029%20de%20mayo%20de%202020.pdf](#) (acceso 10 abril 2022).

12. Ministerio de Sanidad de España. Estrategia de vacunación COVID-19 en España, líneas maestras. Disponible en:

<https://www.sanidad.gob.es/gabinetePrensa/notaPrensa/pdf/24.11241120144431769.pdf> (acceso 10 abril 2022).

13. Consejo Dentistas. Organización colegial de dentistas de España. Resultados de la encuesta del Consejo Europeo de Dentistas (CED) sobre la situación de la Odontología europea en tiempos de COVID-19. Disponible en: <https://consejodentistas.es/resultados-de-la-encuesta-del-consejo-europeo-de-dentistas-ced-sobre-la-situacion-de-la-odontologia-europea-en-tiempos-de-covid-19/> (acceso 11 abril 2022).

14. De Paola LG. Managing the care of patients infected with bloodborne diseases. J Am Dent Assoc.2003;134:350-8.

15. Harte JA. Standard and transmission-based precautions: An update for dentistry. J Am Dent Assoc.2010;141:572-81.

16. Direcao Geral da Saude. Directrices para Medicina Dentaria. Mayo 2020. Disponible en: [https://www.sns.min-saude.pt/wp-content/uploads/2023/07/DE\\_Relatorio\\_Saude-Oral.pdf](https://www.sns.min-saude.pt/wp-content/uploads/2023/07/DE_Relatorio_Saude-Oral.pdf) (acceso abril 2022).

17. Sociedad Suiza de Odontología. Recommandations et protocoles pour les chirurgiens dentistes. Disponible en: [https://fdiworlddental.org/sites/default/files/2020-11/aclaraciones\\_con\\_relacion\\_a\\_climatizacion\\_purificacion\\_del\\_aire\\_y\\_aireacion\\_en\\_are\\_a\\_clinica\\_dental\\_0.pdf](https://fdiworlddental.org/sites/default/files/2020-11/aclaraciones_con_relacion_a_climatizacion_purificacion_del_aire_y_aireacion_en_are_a_clinica_dental_0.pdf) (acceso 5 mayo 2022).

18. Asociación Dental de Canadá. Pandemic interim protocol update. Disponible en: <https://www.cda-adc.ca/newsletters/covid-19/2020/april/2020-04-17-CDA-COVID-UPDATE.html> (acceso 17 abril 2022).

19. Association Dentaire Française. Recommandations d'experts pour la prise en charge des patients nécessitant des soins bucco-dentaires en période de deconfinement dans le cadre de l'épidémie de COVID-19. Disponible en: [https://ordre-chirurgiens-dentistes-covid19.cloud.coreoz.com/files/Recommandations%20d%C3%A9confinement%20\(1\).pdf](https://ordre-chirurgiens-dentistes-covid19.cloud.coreoz.com/files/Recommandations%20d%C3%A9confinement%20(1).pdf) (acceso 5 mayo 2022).

20. American Dental Association. Interim Guidance for Minimizing Risk of COVID-19 Transmission. Disponible en: [https://ordre-chirurgiens-dentistes-covid19.cloud.coreoz.com/files/Recommandations%20d%C3%A9confinement%20\(1\).pdf](https://ordre-chirurgiens-dentistes-covid19.cloud.coreoz.com/files/Recommandations%20d%C3%A9confinement%20(1).pdf)

(acceso 1 abril 2022).

21. Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. Ministerio de Sanidad. Recomendaciones de operación y mantenimiento de los sistemas de climatización y ventilación de edificios y locales para la prevención de la propagación del SARS–COV-2. Disponible en:

[https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Recomendaciones\\_de\\_operacion\\_y\\_mantenimiento.pdf](https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Recomendaciones_de_operacion_y_mantenimiento.pdf) (acceso 30 julio 2022).

22. Kumbargere Nagraj S, Eachempati P, Paisi M, Nasser M, Sivaramakrishnan G, Verbeek JH. Interventions to reduce contaminated aerosols produced during dental procedures for preventing infectious diseases. *Cochrane Database Syst Rev.*2020, Issue 10. CD013686. DOI: 10.1002/14651858.CD013686.pub2.

23. Larsen T, Fiehn NE. Dental biofilm infections - an update. *APMIS.* 2017;125:376-84.

24. Socransky SS, Haffajee AD, Gugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.*1998;25:134-44.

25. Zemouri C, de Soet H, Crielaard W, Laheij A. A scoping review on bio-aerosols in healthcare and the dental environment. *PLoS One.* 2017;12(5).e0178007.

26. McCarthy GM. Risk of transmission of viruses in the dental office. *J Can Dent Assoc.*2000;66:554-7.

27. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med.* 2020;382:1199-207.

28. Backer JA, Klinkenberg D, Wallinga J. Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China. *Eur Commun Dis Bull.* 2020;25:1-6.

29. Recommended infection-control practices for dentistry. *Morb Mortal Wkly Rep.*1993;42:1-12.

30. Araujo MW, Andreana S. Risk and prevention of transmission of infectious diseases in dentistry. *Quintessence Int.* 2002;33:376-82.

31. Mupparapu M, Kothari KRM. Review of surface disinfection protocols in dentistry: A 2019 update. *Quintessence Int.* 2019;50:58-65.

32. Palcsó B, Kazsoki A, Herczegh A, Ghidán Á, Pinke B, Mészáros L, et al. Formulation of chlorine dioxide releasing nanofibers for disinfection in humid and CO<sub>2</sub>-rich environment. *Nanomater.*2022;12:1481-91.

33. Moccia G, Motta O, Pironti C, Proto A, Capunzo M, De Caro F. An alternative approach for the decontamination of hospital settings. *J Infect Public Health*. 2020;13:2038-44.
34. García Carpintero E, Cardaba Arranz M, Sánchez Gómez L. Revisión bibliográfica sobre la eficacia y seguridad de la luz ultravioleta y ozono para la desinfección de superficies. Ministerio de Sanidad. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias del Instituto de Salud Carlos III. Disponible en: [https://redets.sanidad.gob.es/documentos/AETS\\_ISCIII\\_2020\\_UV\\_Ozono\\_Covid-19\\_actualizacion.pdf](https://redets.sanidad.gob.es/documentos/AETS_ISCIII_2020_UV_Ozono_Covid-19_actualizacion.pdf) (acceso 3 junio 2022).
35. Yamaguchi M, Abe H, Ma T, Tadaki D, Hirano-Iwata A, Kanetaka H, et al. Bactericidal activity of TiO<sub>2</sub> nanotube thin films on Si by photocatalytic generation of active oxygen species. *Langmuir*. 2020;36:12668-77.
36. The National Institute for Occupational Safety and Health. Pocket guide to chemical hazards. Disponible en: <https://www.cdc.gov/niosh/npg/npgd0476.html> (acceso 17 junio 2022).
37. Sato H, Wananabe Y, Miyata H. Virucidal effect of ozone treatment of laboratory animal viruses. *Jikken Dobutsu*. 1990;39:223-9.
38. Marchesi I, Sala A, Frezza G, Paduano S, Turchi S, Bargellini A, et al. In vitro virucidal efficacy of a dry steam disinfection system against human Coronavirus, human Influenza virus, and Echovirus. *J Occup Environ Hyg*. 2021;18:541-6.
39. Raber E, Jin A, Noonan K, McGuire R, Kirvel RD. Decontamination issues for chemical and biological warfare agents: How clean is clean enough? *Int J Environ Health Res*. 2001;11:128-48.
40. Raber E, McGuire R. Oxidative decontamination of chemical and biological warfare agents using L-Gel. *J Hazard Mater*. 2022;93:339-52.
41. Atmósferas en el lugar de trabajo. Medición de microorganismos y compuestos microbianos en suspensión en el aire. Requisitos generales (Ratificada por la Asociación Española de Normalización en noviembre de 2019). Disponible en <https://tienda.aenor.com/norma-une-en-13098-2019-n0062676> (acceso 24 junio 2023).
42. Harrel SK, Molinari J. Aerosols and splatter in dentistry: A brief review of the literature and infection control implications. *J Am Dent Assoc*. 2004;135:429-37.
43. James R, Mani A. Dental aerosols: A silent hazard in dentistry. *Int J Sci Res*. 2016;5:1761-3.

44. Verbeek JH, Rajamaki B, Ijaz S, Sauni R, Toomey E, Blackwood B et al. Personal protective equipment for preventing highly infectious diseases due to exposure to contaminated body fluids in healthcare staff. *Cochrane Database of Syst. Rev.* 2020, Issue 4. Art. No:CD011621. [DOI:10.1002/14651858.CD011621.pub4].
45. Sethi KS, Mamajiwala A, Mahale S, Raut CP, Karde P. Comparative evaluation of the chlorhexidine and cinnamon extract as ultrasonic coolant for reduction of bacterial load in dental aerosols. *J Indian Soci Periodontol.* 2019;23:226-33.
46. O'Donnell VB, Thomas D, Stanton R, Maillard JY, Murphy RC, Jones SA et al. Potential role of oral rinses targeting the viral lipid envelope in SARS-CoV-2 infection. *Function.* 2020;1:1-12.
47. Meyers C, Robison R, Milici J, Alam S, Quillen D, Goldenberg D, et al. The transmission and spread of human coronavirus. *J Med Virol.* 2021;93:1605-12.
48. Máximo PM, Cortelli SC, Aquino DR, de Miranda TB, Costa FO, Cortelli JR. Preoperative mouthwash in subjects with different periodontal status: A randomised controlled clinical trial. *Oral Health Prev Dent.* 2020;18(1):433-40.
49. Holloman JL, Mauriello SM, Pimenta L, Arnold RR. Comparison of suction device with saliva ejector for aerosol and spatter reduction during ultrasonic scaling. *J Am Dent Assoc.* 2015;146:27-33.
50. Graetz C, Bielfeldt J, Tillner A, Plaumann A, Dörfer CE. Spatter contamination in dental practices – how can it be prevented? *Rev Med Chir Soc Med Nat Lasi.* 2014;118:1122-34.
51. Jacks ME. A laboratory comparison of evacuation devices on aerosol reduction. *J Dent Hyg.* 2002;76:202-6.
52. Avasthi A. High volume evacuator (HVE) in reducing aerosol – an exploration worth by clinicians. *J Dent Health Oral Disord Ther.* 2018;9:165-6.
53. European Standard. High efficiency air filters (EPA, HEPA and ULPA) EN 1822-1:2009. Disponible en: <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/cen/46f566b7-2405-4a14-988c-8436402d0975/en-1822-1-2009> (acceso 13 marzo 2023).
54. Yadav N, Agrawal B, Maheshwari C. Role of high-efficiency particulate arrester filters in control of air borne infections in dental clinics. *J Dent Sci.* 2015;6:240-2.
55. Veeck AC. Types of HEPA filters. En: Robert H. Avery, Stephen W. Nicholas, NAFA Guide to Air Filtration. 3 edición. Middleton: National Air Filtration Association; 2001.

56. Bali R, Sharma P, Nagrath S, Gupta P. Microbial isolations from maxillofacial operation theatre and its correlation to fumigation in a teaching hospital in India. *J Maxillofac Surg.* 2014;13:128-32.
57. Stockwell RE, Ballard EL, O'Rourke P, Knibbs LD, Morawska L, Bell SC. Indoor hospital air and the impact of ventilation on bioaerosols: A systematic review. *J Hosp Infect.* 2019;103:175-84.
58. McDonnell G. Hydrogen peroxide fogging/fumigation. *J Hosp Infect.* 2006;62:385-6.
59. Alvarenga M, Veloso S, Bezerra A, Trindade B, Gomes A, Monteiro G. COVID-19 outbreak: Should dental and medical practices consider uv-c technology to enhance disinfection on surfaces? - A systematic review. *J Photochem Photobiol.* 2022;9:100096.
60. Gurley B. Ozone: A pharmaceutical sterilant of the future? *J Parenter Sci Technol.* 1985;39:256-61.
61. Paños-Crespo A, Traboulsi-Garet B, Sánchez-Garcés MA, Gay-Escoda C. Disinfection of the air and surfaces in the dental clinic using hydroxyl radical (OH<sup>-</sup>) based technology: A systematic review. *J Clin Exp Dent.* 2023;15(6):e494-504.
62. Wong V, Staniforth K, Boswell TC. Environmental contamination and airborne microbial counts: A role for hydroxyl radical disinfection units? *J Hosp Infect.* 2011;78:194-9.
63. Stone D, Whalley LK, Heard DE. Tropospheric OH and HO<sub>2</sub> radicals: Field measurements and model comparisons. *Chem Soc Rev.* 2012;41:6348-404.
64. Gómez Alvarez E, Amedro D, Afif C, Gligorovski S, Schoemaeker C, Fittschen C, et al. Unexpectedly high indoor hydroxyl radical concentrations associated with nitrous acid. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013;110:13294-99.
65. Huttunen J. Free radicals and antioxidants. Advantages of antioxidants in clinical medicine, truth or fiction? *Duodecim.* 1994;110:1606-8.
66. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Júnior O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J.* 1995;6:85-90.
67. Hao J, Qiu S, Li H, Chen T, Liu H, Li L. Roles of hydroxyl radicals in electrolyzed oxidizing water (EOW) for the inactivation of *Escherichia coli*. *Int J Food Microbiol.* 2012;155:99-104.
68. Zhang Q, Ma R, Tian Y, Su B, Wang K, Yu S, Zhang J, Fang J. Sterilization Efficiency of a novel electrochemical disinfectant against *Staphylococcus aureus*. *Environ Sci Technol.* 2016;50:3184-92.

69. Martínez-Vimbert R, Arañó-Loyo M, Custodio-Sánchez D, García-Raurich J, Monagas-Asensio P. Evidence of OH radicals effect for an indoor air and surfaces disinfection in a harmless for humans method. *Int J Eng Sci.*2020;6:1-13.
70. Mindong Bai, Zhitao Zhang, Yiping Tian, Mindi Bai. Rapidly eliminating pathogenic microorganisms in large air space using spraying OH• radicals. *J Air Waste Manag Assoc.*2012;62:393-7.
71. García-Raurich J, Torres-Lerma JA, Monagas-Asensio P, Martínez-Vimbert R, Arañó-Loyo M, Martínez-Roldán M. Stoichiometry and kinetics of hydroxyl radicals in air quality. *Int J Environ Agric Res.* 2023;9:1-24.
72. Gligorovski S, Strekowski R, Barbati S, Vione D. Environmental Implications of Hydroxyl Radicals ( $\bullet\text{OH}$ ). *Chem Rev.* 2015;115:13051-92.
73. Dark FA, Nash T. Comparative toxicity of various ozonized olefins to bacteria suspended in air. *J Hyg.* 1970;68:245-52.
74. Shreya S, Boris D, Vishal S. Development of a new approach for microbial decontamination of water using modified Fenton's reaction. *Environ Pollut.* 2007;148:674-8.
75. Veressinina GY, Trapido M. Degradation of salicylic acid by Fenton and modified Fenton treatment. *Chem Eng J.*2018;143:1-9.
76. Maurizio A, Vincenzo A. Oxidation of oxalate ion in aqueous suspensions of  $\text{TiO}_2$  by photocatalysis and ozonation. *Catal Today.* 2005;107:612-8.
77. Naoyuki K, Yukako M. Advanced oxidation effect of ozonation combined with electrolysis. *Water Res.*2005;39:4661-72.
78. Nick S, Satoshi H. Microwaves in advanced oxidation processes for environmental applications. *J Photochem Photobiol C Photochem Rev.*2010;11:114-31.
79. Gargori C, Galindo R, Llusar M, Tena MA, Monrós G, Badenes JA. Photocatalytic degradation of Orange II by titania addition to sol-gel glasses. *Sci and Tech.*2009;50:314-20.
80. Guías de la calidad del aire de la OMS relativas al material particulado, el ozono, el dióxido de nitrógeno y el dióxido de azufre. Disponible en: <http://www.euro.who.int/Document/E87950> (acceso 26 abril 2023 ).
81. Castellanos, FE. Biotransformación de limoneno y aceites esenciales de naranja y mandarina empleando *Aspergillus niger*. Chemical master degree thesis. Universidad industrial de Santander. 2007.

82. Nøjgaard JK, Bilde M, Stenby C, Nielsen OJ, Wolkoff P. The effect of nitrogen dioxide on particle formation during ozonolysis of two abundant monoterpenes indoors. *Atmos Environ.* 2006;40:1030-42.
83. Weschler CJ. Ozone's impact on public health: Contributions from indoor exposures to ozone and products of ozone-initiated chemistry. *Environ Health Perspect.* 2006;114:1489-96.
84. Wells JR, Forester CD. Yields of carbonyl products from gas-phase reactions of fragrance compounds with OH radical and ozone. *Environ Sci Technol.* 2009; 43:3561-8.
85. Instituto de Salud Carlos III. Carga de enfermedad de la gripe estacional e impacto de la vacuna antigripal. Disponible en:  
<https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Paginas/Infografias.aspx>.
86. Instituto de Salud Carlos III. Vigilancia centinela de infección respiratoria aguda en atención primaria (IRAs) y en hospitales (IRAG) en España. Gripe, COVID-19 y otros virus respiratorios. Semana 39/2022. Nº 100. 6 de octubre de 2022. Disponible en:  
[https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/GRIPE/Informes%20semanales/Temporada\\_2022-23/Informe%20semanal\\_SiVIRA\\_302023.pdf](https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/GRIPE/Informes%20semanales/Temporada_2022-23/Informe%20semanal_SiVIRA_302023.pdf) (acceso 25 mayo 2023).
87. Organización Mundial de la Salud. Gripe (estacional). Disponible en:  
[https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)) (acceso 26 mayo 2023).
88. Organización Mundial de la Salud. Estrategia Mundial contra la gripe 2019-2030. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/detail/11-03-2019-who-launches-new-global-influenza-strategy> (acceso 1 junio 2023).
89. Centro Nacional de Epidemiología, Centro Nacional de Microbiología, CIBERESP. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Instituto de Salud Carlos III. Protocolo para la vigilancia centinela de infección respiratoria aguda grave (IRAG) en hospitales en España. 4 de febrero de 2022. Disponible en:  
[https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/Protocolos\\_SiVIRA/Protocolo%20vigilancia%20IRAG%20en%20Espa%C3%B1a\\_v04%20de%20febrero2022.pdf](https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/Protocolos_SiVIRA/Protocolo%20vigilancia%20IRAG%20en%20Espa%C3%B1a_v04%20de%20febrero2022.pdf) (acceso 1 junio 2023).
90. Centro Nacional de Epidemiología y Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Informe de situación sobre la circulación del virus respiratorio sincitial al inicio de la temporada 2022-2023. 20 de octubre de 2022. Disponible en:

<https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/GRIPE/Informes%20de%20situaci%C3%B3n/2022-23/Informe%20de%20situaci%C3%B3n%20sobre%20la%20circulaci%C3%B3n%20de%20%20VRS%2020102022.pdf> (acceso 1 junio 2023).

91. Centro Nacional de Epidemiología y Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Situación epidemiológica de los casos de viruela del mono en España. Datos extraídos del SiViES el 18/04/2023 a las 7:45h. Disponible en:

<https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/archivos%20A-Z/MPOX/SITUACION%20EPIDEMIOLOGICA%20DE%20LOS%20CASOS%20DE%20VIRUELA%20DEL%20MONO-18042023.pdf> (acceso 2 junio 2023).

92. Consejo General de Dentistas de España. Prevalencia de test y de COVID en dentistas en España. 17 noviembre 2020. Disponible en: [https://icoec.es/wp-content/uploads/2020/12/Análisis\\_de\\_las\\_4\\_encuestas\\_COVID-19\\_en\\_dentistas\\_en\\_Espana.pdf](https://icoec.es/wp-content/uploads/2020/12/Análisis_de_las_4_encuestas_COVID-19_en_dentistas_en_Espana.pdf) (acceso 2 junio 2023).

93. Tysiąc-Miśta M, Dubiel A, Brzoza K, Burek M, Pałkiewicz K. Air disinfection procedures in the dental office during the COVID-19 pandemic. *Med Pr.* 2021;72:39-48.

94. Centro Nacional de Epidemiología, Instituto de Salud Carlos III. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Informe nº 99. Situación COVID-19 en España a 6 de Octubre de 2021. Disponible en:

<https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/INFORMES/Informes%20COVID-19/INFORMES%20COVID-19%202021/Informe%20n%C2%BA%2099%20Situaci%C3%B3n%20de%20COVID-19%20en%20Espa%C3%B1a%20a%206%20de%20octubre%20de%202021.pdf> (acceso 18 junio 2023).

95. World Health Organization. From emergency response to long-term COVID-19 disease management: sustaining gains made during the COVID-19 pandemic. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-WHE-SPP-2023>. (acceso 22 mayo 2023).

96. Boletín Oficial del Estado. Orden SND/726/2023, de 4 de julio, por la que se publica el Acuerdo del Consejo de Ministros de 4 de julio de 2023, por el que se declara la finalización de la situación de crisis sanitaria ocasionada por la COVID-19. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/o/2023/07/04/snd726> (acceso 4 agosto 2023).

97. Barbato L, Bernardelli F, Braga G, Clementini M, Di Gioia C, Littarru C, et al. Surface disinfection and protective masks for SARS-CoV-2 and other respiratory viruses: A review by SIDP COVID-19 task force. *Oral Dis.* 2022;28:2317-25.
98. Pal M, Berhanu G, Desalegn C, Kandi V. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2): An Update. *Cureus.* 2020.26;12:e7423.
99. Paños-Crespo A, Toledano-Serrabona J, Sánchez-Garcés MÁ, Gay-Escoda C. Evaluation of the efficacy of hydroxyl radical (OH<sup>·</sup>) release for disinfection of the air and surfaces in the dental clinic: An in vitro study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2023.20:26157.
100. Occupational safety and health administration. Occupational chemical database. Disponible en: <https://osha.gov/chemicaldata/> (acceso 11 febrero 2022).
101. FDA, “Food and Drug Administration`s CFR. Title 21- Chapter I-Subchapter H-part 801- Subpart H-801.415.”. Disponible en: <https://www.ecfr.gov/current/title-21/chapter-I/subchapter-H/part-801/subpart-H/section-801.415> (acceso 11 febrero 2020).
102. Mohamed EF, Awad G. Photodegradation of gaseous toluene and disinfection of airborne microorganisms from polluted air using immobilized TiO<sub>2</sub> nanoparticle photocatalyst-based filter. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2020;27:24507-17.
103. Foster HA, Ditta IB, Varghese S, Steele A. Photocatalytic disinfection using titanium dioxide: Spectrum and mechanism of antimicrobial activity. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011;90:1847-68.
104. Yang Y, Zhang H, Nunayon S, Chan V, Lai A. Disinfection efficacy of ultraviolet germicidal irradiation on airborne bacteria in ventilation ducts. *Indoor Air.* 2018: 28;806-17.
105. Chotigawin R, Sribenjalux P, Supothina S, Johns J, Chareerntanyarak L, Chuaybamroong P. Airborne microorganism disinfection by photocatalytic HEPA filter. *Environ Asia.* 2010;3:1-7.
106. Moccia G, De Caro F, Pironti C, Boccia G, Capunzo M, Borrelli A, et al. Development and improvement of an effective method for air and surfaces disinfection with ozone gas as a decontaminating agent. *Medicina (Kaunas).* 2020;56:578-86.
107. Bergeron V, Reboux G, Poirot JL, Laudinet N. Decreasing airborne contamination levels in high-risk hospital areas using a novel mobile air-treatment unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2007;28:1181-6.

108. Chin AWH, Chu JTS, Perera MRA, Hui KPY, Yen HL, Chan MCW, Peiris M, Poon LLM. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *Lancet Microbe The*. 2020 May;1:e10.
109. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*. 2020;367(6485):1444-8.
110. Chu H, Chan JF, Wang Y, Yuen TT, Chai Y, Hou Y, et al. Comparative replication and immune activation profiles of SARS-CoV-2 and SARS-CoV in human lungs: An ex vivo study with implications for the pathogenesis of COVID-19. *Clin Infect Dis*. 2020;71:1400-9.
111. Sabino-Silva R, Jardim ACG, Siqueira WL. Coronavirus COVID-19 impacts to dentistry and potential salivary diagnosis. *Clin Oral Investig*. 2020;24:1619-21.
112. Ge T, Lu Y, Zheng S, Zhuo L, Yu L, Ni Z, et al. Evaluation of disinfection procedures in a designated hospital for COVID-19. *Am J Infect Control*. 2021;49:447-51.
113. Han W, Zhang PH, Cao WC, Yang DL, Taira S, Okamoto Y, Arai JI, Yan XY. The inactivation effect of photocatalytic titanium apatite filter on SARS virus. *Prog Biochem Biophys*;31(11):982-5.



## **11. Anexos: artículos originales**



Journal section: Biomaterials and Bioengineering in Dentistry  
 Publication Types: Review

doi:10.4317/jced.60461  
<https://doi.org/10.4317/jced.60461>

## Disinfection of the air and surfaces in the dental clinic using hydroxyl radical (OH<sup>•</sup>) based technology: A systematic review

Anais Paños-Crespo <sup>1</sup>, Bassel Traboulsi-Garet <sup>1</sup>, Maria-Ángeles Sánchez-Garcés <sup>2</sup>, Cosme Gay-Escoda <sup>3</sup>

<sup>1</sup> DDS, Master in Oral Surgery and Buccofacial Implantology. Faculty of Medicine and Dentistry, University of Barcelona. Barcelona (Spain)

<sup>2</sup> MD, DDS, MS, PhD, EBOS. Associate Professor of Oral Surgery. Faculty of Medicine and Dentistry, University of Barcelona. Researcher of the IDIBELL Institute. Barcelona (Spain)

<sup>3</sup> MD, DDS, MS, PhD, EBOS, OMFS. Chairman of Oral and Maxillofacial Surgery. Faculty of Medicine and Dentistry, University of Barcelona. Director of the Master in Oral Surgery and Buccofacial Implantology (EFHRE International University / FUCSO). Coordinator / Researcher of the IDIBELL Institute. Head of the Department of Oral Surgery, Buccofacial Implantology and Maxillofacial Surgery. Teknon Medical Center. Barcelona (Spain)

### Correspondence:

Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Escola d'Odontologia  
 Campus de Bellvitge, Universitat de Barcelona  
 C/Feixa Llarga, s/n; Pavelló Govern, 2<sup>a</sup> planta, Despacho 2.9  
 08907 L'Hospitalet de Llobregat; Barcelona  
[anaispanoscrespo@gmail.com](mailto:anaispanoscrespo@gmail.com)

Paños-Crespo A, Traboulsi-Garet B, Sánchez-Garcés MA, Gay-Escoda C. Disinfection of the air and surfaces in the dental clinic using hydroxyl radical (OH<sup>•</sup>) based technology: A systematic review. J Clin Exp Dent. 2023;15(6):e494-504.

Received: 27/02/2023  
 Accepted: 28/03/2023

Article Number: 60461 <http://www.medicinaoral.com/odo/indice.htm>  
 © Medicina Oral S. L. C.I.F. B 96659336 - eISSN: 1989-5488  
 eMail: [jced@jced.es](mailto:jced@jced.es)  
**Indexed in:**  
 Pubmed  
 Pubmed Central® (PMC)  
 Scopus  
 DOI® System

### Abstract

**Background:** A systematic review was carried out to compare the disinfectant capacity of hydroxyl radicals (OH<sup>•</sup>) versus other products commonly used for disinfecting the air and surfaces.

**Material and Methods:** A literature search was made of the Cochrane Library, PubMed (MEDLINE) and Scopus databases. “*In vitro*” studies evaluating disinfection methods applicable to several surfaces and room air were included in the search. The search was carried out in April 2022, with no restrictions in terms of language or publication date.

**Results:** Of the 308 articles identified from the initial search, 8 were included for the quantitative analysis. All publications corresponded to experimental “*in vitro*” studies. Seven of them evaluated biocidal action against bacteria, and only two assessed activity against viral loads. The generation of contaminants secondary to application of the disinfectants was only analyzed in one of the studies, with the conclusion that the production of peroxy radicals (RO<sub>2</sub>) derived from the oxidation of volatile organic compounds (VOCs) is greater when chemical surface disinfectants are used versus air disinfection systems.

**Conclusions:** The disinfection capacities of the currently available methods are similar, and none of them are able to replace the use of additional physical protection measures.

**Key words:** Disinfection methods, hydroxyl radical, environment, surfaces, dentistry.

## Introduction

Disinfection is a fundamental procedure characterized by the elimination of pathogenic microorganisms from surfaces, the air and inert objects (1). In contrast to sterilization, however, disinfection does not destroy spores (2).

Since the World Health Organization (WHO) declared the state of alarm due to the pandemic caused by the SARS-CoV-2 virus in 2020, concern about the quality of room air has increased exponentially, and thus also interest in new technologies capable of reducing environmental contamination, with the aim of avoiding the spread of cross-infections (3).

The disinfection of both room air and surfaces is of great importance in dental clinics, where routine practice is characterized by the important generation of aerosols, and where contact between the professional and the patient is direct (4). Accordingly, dental professionals play a key role in preventing the transmission of bacterial, viral and fungal infections (5).

The incubation period of the infections ranges between 2-14 days. During this prodromal phase, patients remain asymptomatic; all patients therefore should be regarded as potential sources of risk (6). The environment moreover plays an important role in the chain of transmission, since many microbiological agents are able to survive for prolonged periods of time on inert surfaces (7).

An adult inhales an average of 700 liters of air per hour, and patients undergoing dental treatment moreover typically experience hyperventilation (4). On the other hand, the oral cavity constitutes an ecological niche for over 700 species of bacteria – many of which are resistant to antimicrobials (8). All this implies that the bidirectional spread of infections is very high (4).

Cross-infection may occur through indirect contact with surfaces on which fomites and aerosols have been deposited, as well as through direct contact with the mucous membranes of the upper airway (generally the nose), as in the case of SARS-CoV-2 (3). In this respect, the best way to avoid exposure to aerosols is to prevent them from ejecting from the oral cavity. However, in the great majority of cases this is not possible, due to the duration of the treatments and the amounts of aerosols they generate (3).

In some cases, disinfection procedures are not entirely effective due to human error in applying them, or because in general, assessment of the efficacy of the procedure is based simply on visual inspection. This was evidenced in the study published by Whiteley *et al.* (1), where 74% of the surfaces analyzed after disinfection presented less than 100 colony-forming units (CFUs) – a measure that counts the number of viable microorganisms in a liquid or solid sample, and which determines the degree of microbiological contamination of a given environment.

On the other hand, the room air in the dental clinic may

be contaminated not only from external but also from internal sources. The evidence suggests that the secondary contaminants, derived from oxidation of the primary contaminants - fundamentally volatile organic compounds (VOCs) - are the cause of the described adverse effects upon the health of patients and healthcare staff (9). In other words, the use of certain disinfectants could pose an added occupational risk. Hence the importance of choosing innocuous products, such as agents based on hydroxyl radicals (OH<sup>•</sup>), that protect the health of the professional.

In order for the disinfection process to be effective, we must take a number of factors into account, such as the optimum concentration of the disinfectant used, its application time, and the efficacy range. In this respect, the efficacy of disinfectants is defined by their antimicrobial spectrum (10).

The present systematic review was carried out to determine which methods for disinfecting the air and surfaces are most effective against the microorganisms present in healthcare environments, and to assess the current role in this respect of technology based on hydroxyl radicals (OH<sup>•</sup>).

## Material and Methods

The present systematic review was carried out following the preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses (PRISMA) statement (11) and it was registered in PROSPERO: CRD42021265224.

-Selection criteria

The key question raised in this study was: “Do hydroxyl radicals (OH<sup>•</sup>) achieve a greater decrease in microbial counts on surfaces and in room air compared with other disinfection methods?”

The review thus selected all those studies that included the items of the following PICO (patient, intervention, comparison, outcome) question:

- (P) Patient: dental clinic and/or hospital setting.
- (I) Intervention: use of hydroxyl radicals (OH<sup>•</sup>) as main disinfection method.
- (C) Comparison: comparison with at least one traditional disinfection method.
- (O) Outcome: the primary outcome variable was the bacteria colony-forming units (CFUs) on surfaces and in air. The secondary outcome variables were viral presence on surfaces and in air, and quantification of the volume of contaminated aerosols.

-Inclusion and exclusion criteria

We included “*in vitro*” studies on the disinfection methods used in the dental clinic and/or hospital setting, applied to both surface and room air.

Studies with missing data that could not be retrieved through contact with the authors were excluded.

-Search strategy

Two independent examiners (A.P-C and B.T-G) conduc-

ted the search in the Cochrane Library (Wiley), PubMed (MEDLINE) and Scopus databases in April 2022, with no restrictions in terms of language or publication date.

The following search strategy was used:

- PubMed: (“disinfection methods” OR “hydroxyl radical” [Mesh]) AND (“environment” [Mesh]) AND (“surfaces”) AND (“dentistry” [Mesh]).

- Cochrane Library and Scopus: (“disinfection methods” OR “hydroxyl radical”) AND (“environment”) AND (“surfaces”) AND (“dentistry”).

A search was also made in OpenGrey and www.greylit.org to identify grey literature. Likewise, ClinicalTrial.gov was explored to detect unpublished studies of relevance. Lastly, a manual search was made in the following journals specialized in the field: Journal of Clinical Biochemistry, Quintessence International, International Journal of Engineering Science, Indoor Air, Nutrition, and Journal of Hospital Infection, covering the period corresponding to the last 10 years.

-Selection of studies

The two independent examiners (A.P-C., B.T-G.) first selected the articles based on the inclusion criteria. A third reviewer (M.S-G) did not have to be consulted to resolve any discrepancies. Cohen’s kappa coefficient was used to assess agreement between the reviewers regarding the selected articles.

Based on the PRISMA statement (11), a first evaluation was made of the study title, followed by the abstract. Only those publications that met all the inclusion criteria subsequently underwent full-text evaluation.

-Data extraction

The information obtained from the articles was entered into tables, with inclusion of the following data: author/s, year of publication, country, study design, evaluated disinfection method, and results of interest. In the case of any missing relevant information, the examiners contacted the authors of the publication.

-Risk of bias and quality assessment

A modification of the Cochrane risk of bias tool (RoB 2.0) was used to assess the methodological quality of the “*in vitro*” studies (12). Based on this, the evaluation focused on the following domains: randomization process, protocolization of the disinfection method, description of the environment to be disinfected (area, volume), bias in measurement of the results, and protocolization of the statistical analysis. The quality assessment was carried out independently by two authors (A.P-C and B.T-G) and, in the event of disagreement, consensus was reached through discussion with a third reviewer (M.S-G).

## Results

-Search findings

The initial electronic search identified 308 articles. Following the removal of duplicates and of irrelevant articles based on the title and abstract, a total of 29 pu-

blications were subjected to full-text review. As can be seen in Figure 1, 20 articles were excluded due to the following reasons: 8 articles were excluded on the basis of their design (2-4,6,7,13-18), three due to the impossibility of full-text access (19,20), 5 because they did not investigate air and surface disinfection methods (1,21-25), and one because of the impossibility of accessing the results of the randomized clinical trial (26).

A total of 8 articles were finally included in the qualitative synthesis (9,27-33). Only three of them (29,30,33) were realized in hospital environment and no one in dental clinics. Inter-examiner agreement was excellent with a kappa coefficient of 1.

-Data extraction

-Qualitative synthesis

The 8 studies included in the review (9,27-33) were “*in vitro*” experimental studies. Two of them (28,33) used technology based on the release of OH<sup>-</sup> radicals. The study of Moccia *et al.* (29) evaluated an ozone (O<sub>3</sub>) releasing device, while Marchesi *et al.* (27) used a dry steam-based method. The studies of Moccia *et al.* (30) and Palcso *et al.* (31) evaluated different chemical surface disinfectants, specifically alcohol, chlorine, phenols, polyphenols, quaternary ammonium salts, tertiary amines, chlorhexidine gluconate and sodium chlorite (NaClO<sub>2</sub>).

Six of the included studies (28-33) evaluated the bactericidal effects of the disinfectants. The study of Martinez-Vimbert *et al.* (28) cultured *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), as well as *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, *Klebsiella* and *Escherichia coli*. The study of Palcso *et al.* (31) evaluated biocidal activity against *Enterococcus faecalis*, while Wong *et al.* (33) evaluated activity against bacteriophage MS-2 and *Staphylococcus epidermidis*. Lastly, Yamaguchi *et al.* (32) selected culture media for the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Only two of the included studies (27,28) evaluated the effects of the disinfection methods in application to viral loads, specifically *Human Influenza virus*, *Respiratory Syncytial virus* (RSV), *Rotavirus*, *Echovirus 7* and *Coronavirus OC43* (HCoV). Only one of the studies (9) evaluated contaminating waste products (OHx and volatile organic compounds [VOCs]) generated after the application of a surface disinfectant based on glutaraldehyde and benzisothiazolinone and a hydroxyl radical (OH<sup>-</sup>) releasing device for the disinfection of room air (Table 1) show the methodological characteristics of the included studies.

-Risk of bias and quality of the included studies

The methodological quality of the included “*in vitro*” studies was assessed using a modification of the Cochrane risk of bias tool (RoB 2.0) (12). The general quality of the studies was rated as low (Table 2). None of the “*in vitro*” studies designs involved randomization. One

**Table 1.** Studies included in the qualitative analysis: OH<sup>-</sup> (hydroxyl radicals), OH<sup>•</sup> (hydroxyl), OH<sub>2</sub> (hydroperoxyl), VOCs (volatile organic compounds), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hydrogen peroxide), RO<sub>2</sub> (peroxy radical), O<sub>3</sub> (ozone), ppb (parts per billion), ppm (parts per million), HCT-8 cells (human epithelial cell line), MDCK cells (Madin-Darby kidney cells), CFU (colony forming units), Log10 (log units), µl (microliter), cm (centimeters), ml (milliliters), cm<sup>2</sup> (square centimeter), NaClO<sub>2</sub> (sodium chlorite), ClO<sub>2</sub> (chlorine dioxide), m<sup>3</sup> (cubic meter), CO<sub>2</sub> (carbon dioxide), H<sub>2</sub>O (water), TSA (tryptic soy agar), TVC/m<sup>3</sup> (total viable count per cubic meter), nm (nanometer), mW/cm<sup>2</sup> (milliwatts per square centimeter), UV-A (ultraviolet radiation A), TiO<sub>2</sub> NT (titanium dioxide nanotubes), ESR (electron spin resonance).

Authors	Year of publication	Country	Study design	Disinfection method; time and form of application	Response variables, Effect quantification method	Sample	Results
Carshaw <i>et al.</i>	2017	United Kingdom	<i>In vitro</i>	Surface disinfectant: Glutaraldehyde, benzisothiazolinone + different essential oils. Air disinfectant: device (ACD) for generating OH <sup>-</sup> (reaction of O <sub>3</sub> in presence of D-limonene).	Concentrations of chemical contaminants (OH, OH <sub>2</sub> and VOCs) derived from disinfectant use. Detection of HO <sup>•</sup> , OH <sup>•</sup> /molecule/cm <sup>3</sup> . Detection of RO <sub>2</sub> (VOCs); % total.	Detection of OH and OH <sub>2</sub> ; all samples obtained during 8 hours, 4 days. Detection of VOCs: 18 samples at intervals of 15-20 minutes.	Increase of OH and OH <sub>2</sub> following use of the surface disinfectant and ACD. OH <sup>•</sup> : 4x10 <sup>7</sup> /molecule/cm <sup>3</sup> OH <sub>2</sub> : 4x10 <sup>7</sup> /molecule/cm <sup>3</sup> OH: 2x10 <sup>7</sup> /molecule/cm <sup>3</sup> OH <sub>2</sub> : 6x10 <sup>7</sup> /molecule/cm <sup>3</sup> (respectively). RO <sub>2</sub> : 96% increase after surface disinfectant and 80% during use of ACD.
Martinez-Vimbert <i>et al.</i>	2020	Spain	<i>In vitro</i>	Wadt O <sub>2</sub> <sup>28</sup> ; OH radical releasing device (reaction of 0.5% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> or D-limonene with <0.050 ppm O <sub>3</sub> ).	Production of O <sub>2</sub> (ppb) Biocidal effect (mg/l) against Gram- and Gram+ bacteria and against <i>Influenza Virus</i> , <i>Respiratory Syncytial Virus</i> (RSV) and <i>Rotavirus</i> .	Five readings during 2 hours. Samples obtained with exposure for 20 minutes - 4 hours.	Emission of O <sub>2</sub> : < 0.020 ppm (< 20 ppb). Efficacy 92-99%.
Marchesi <i>et al.</i>	2021	Italy	<i>In vitro</i>	Dry steam against: - Coronavirus OC43 (HCoV); HCT-8 cell culture. - Human influenza virus (subtype A/H1N1/WSN/33); Vero cell culture. - Echovirus 7 (ATCC VR37); MDCK cell culture.	Laminar flow chamber with viral suspension. 100 µl of each viral suspension applied 20 minutes on an area of 2.5x2.5 cm in 2 panels (40x40 cm) of stainless steel, polypropylene and cotton. Count in CFU/ml.	Two panels of each material (control versus test). Three experiments per virus. Sampling in duplicate during 4 seconds with wiper.	Reduction ≥ 4 log <sub>10</sub> of all 3 viruses = 99.99% inactivation.
Moccia <i>et al.</i>	2020	Italy	<i>In vitro</i>	Disposable microfiber cloths (polyester + nylon) impregnated with 70% ethanol.	Public healthcare center (2 rooms) and private center (3 rooms). Application of the cloth to the surfaces (one per room). Surface air drying for 10 minutes. Bacterial reduction measured in CFU/11 cm <sup>2</sup> .	63 samples (public healthcare center) and 39 in private center. Samples obtained before and after traditional disinfection and study method. (control versus test). 10-14 different environments per room. Samples in triplicate.	Mean ± SD: On surface (desk): 1x1 Floor: 10x7 and 3x3 (rooms public center). 10±5 (private center). Reduction on floor > 42-10 CFU/cm <sup>2</sup> . Elimination on surfaces 90% CFU/11cm <sup>2</sup> and reduction on floor 65% CFU/11cm <sup>2</sup> .

**Table 1.** Studies included in the qualitative analysis: OH (hydroxyl radicals), OH (hydroxyl), OH<sub>2</sub> (hydroperoxyl), VOCs (volatile organic compounds), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hydrogen peroxide), RO<sub>2</sub> (peroxy radical), O<sub>3</sub> (ozone), ppb (parts per billion), ppm (parts per million), HCT-8 cells (human epithelial cell line), MDCK cells (Madin-Darby kidney cells), CFU (colony forming units), Log10 (log units), µl (microliter), cm (centimeters), ml (milliliters), cm<sup>2</sup> (cubic centimeter), NaClO<sub>2</sub> (sodium chlorite), ClO<sub>2</sub> (chlorine dioxide), H<sub>2</sub>O (water), TSA (tryptic soy agar), TVC/m<sup>2</sup> (total viable count per cubic meter), nm (nanometer), mW/cm<sup>2</sup> (milliwatts per square centimeter), UV-A (ultraviolet radiation A), TIO2 NT (titanium dioxide nanotubes), ESR (electron spin resonance).

Moccia <i>et al.</i>	2020	Italy	<i>In vitro</i>	O <sub>3</sub> generating device in center of non-operating room (26 m <sup>2</sup> with volume 90 m <sup>3</sup> ) and operating room (36 m <sup>2</sup> with volume 120 m <sup>3</sup> )	Antibacterial effect measured in CFU (CFU/m <sup>3</sup> in air and CFU/plate on surface). Concentration of O <sub>3</sub> using Atrnova sensor.	Surface: before and after application of O <sub>3</sub> . Air: before, during and after application of O <sub>3</sub> . 10-14 samples per surface with RODAC plates with PCA and Sabouraud dextrose agar during 10 seconds. Air capturing unit (SAS 180S) 1000 L/6 min.	Reduction 90% microorganisms. SD: Air: ±1 Surfaces (desk and table): ±1 [O <sub>3</sub> ]: 3.2 ppm in 1 hour. Decrease over the following 5 hours.
Palesó <i>et al.</i>	2022	Switzerland	<i>In vitro</i>	Test group: fibers of 1, 5 and 10 mg loaded with 0.1% NaClO <sub>2</sub> . Control group: fibers of 1, 5 and 10 mg, loaded with ethylene oxide solution containing no active ingredient.	Production ClO <sub>2</sub> : incubation of the fibers in moist medium (5% CO <sub>2</sub> and relative humidity > 95%). Antibacterial effect against <i>Enterococcus faecalis</i> measured in CFU.	--	Production of ClO <sub>2</sub> (ppm/mg) inversely proportional to fiber weight. Increased fiber weight results in increased CFU reduction. No bacterial growth detected with the 10 mg fibers loaded with NaClO <sub>2</sub> .
Wong <i>et al.</i>	2011	United Kingdom	<i>In vitro</i>	Inov8 air disinfection (AD): OH-releasing device. (O <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> O steam catalyzed by olefin).	Antibacterial effect against bacteriophage MS-2 + <i>Staphylococcus epidermidis</i> . Air capturing unit (volume 1 m <sup>3</sup> ) (TSA placed for 15 minutes, during 4 hours). Incubation of TSA 48 -96 h. Total count (TVC)/m <sup>3</sup> .	136 air samples. 320 surface samples. Follow-up for 6 months in 3 settings.	Reduction of both pathogens: mean reduction as % Air: 2.6%, 39%, 55%. (p < 0.001, 95%CI) Surface: 35%, 54%, 62%. (p < 0.001, 95%CI)
Yamaguchi <i>et al.</i>	2020	Japan	<i>In vitro</i>	Application of UV-A 365 nm during 12 h with intensity 0.15 mW/cm <sup>2</sup> on layer of TIO2 NT.	Antibacterial effect of TIO <sub>2</sub> layer upon <i>E. coli</i> and <i>S. aureus</i> . Glass substrate culture of <i>E. coli</i> and <i>S. aureus</i> to assess exclusive effect of UV-A. Production of reactive oxygen species (OH)	10 samples per bacterium. CFU count in medium of <i>E. coli</i> and <i>S. aureus</i> before and after application of UV-A. OH count: ESR and fluorescence testing.	The TIO <sub>2</sub> layer irradiated with UV-A completely inactivates a concentration of 10 <sup>7</sup> CFU/ml of <i>E. coli</i> after 3 hours of irradiation. UV-A radiation reduces <i>E. coli</i> survival by 40% in 3 hours. Lesser effect against <i>S. aureus</i> . The concentration of OH increases exponentially with UV-A application time.

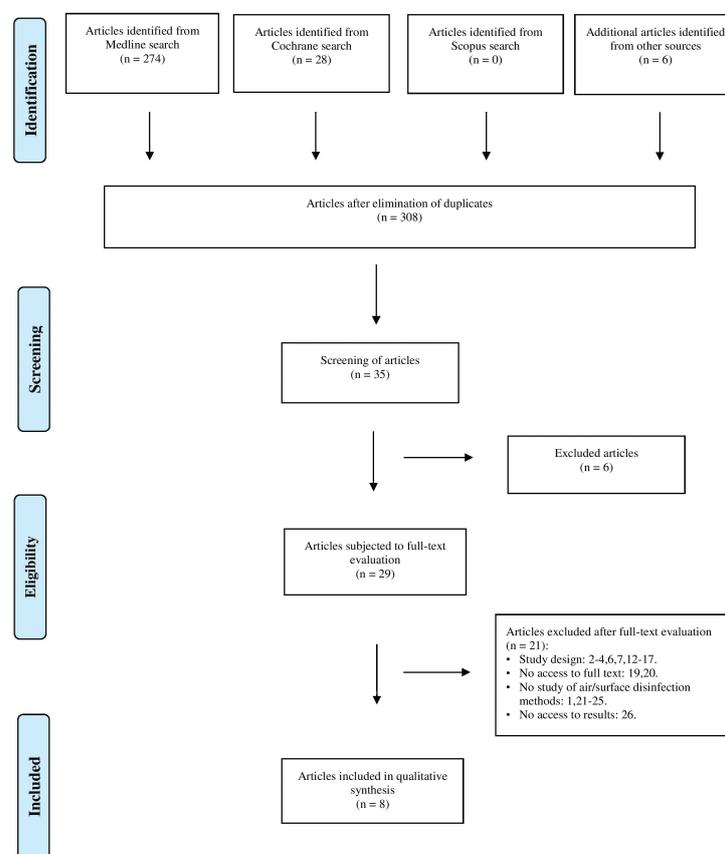


Fig. 1: PRISMA statement flowchart.

of the articles (9) failed to specify the concentration and time of application of the disinfectants used. Two of the studies (30,33) did not indicate the dimensions of the environments in which sampling was performed. Only three “*in vitro*” studies performed a quantitative statistical analysis of the data obtained (29,30,33).

### Discussion

The standard UNE-EN 13098:2019 (36), which also adopts the ISO international standard, determines the measurement of microorganisms and microbial compounds in suspension in the air by counting the number of microorganisms capable of growing and forming colonies in a solid medium following aerobic incubation at 30°.

-Disinfection of contaminated surfaces

According to the guide on the control of infections in dental practice published in 1993 by the United States Centers for Disease Control and Prevention (37), the surfaces in dental treatment settings are classified as critical, semicritical and non-critical, according to their need for disinfection or sterilization. Critical surfaces are those that need to be sterilized due to their high risk of infection, such as surgical instruments. Semicritical surfaces or objects include high or low speed rotary instruments that come into direct contact with the mucous membranes or skin. Those surfaces that do not come into contact with the skin in turn are classified as non-critical (38).

The need to achieve optimal disinfection of surfaces is evident in the study by Riddell *et al.* in which the presence of SARS-CoV-2 was detected for up to 28 days at

Table 2. Risk of bias of the included studies. (+) low risk of bias; (-) high risk of bias.

Authors	Year of publication	Country	Randomization	Protocolization of the disinfection method	Environment to be disinfected	Bias in measurement of the results	Protocolization of the statistical analysis	Final score
Carslaw <i>et al.</i>	2017	United Kingdom	-	-	+	+	-	-
Martínez-Vimbert <i>et al.</i>	2020	Spain	-	+	+	+	-	-
Marchesi <i>et al.</i>	2021	-	-	+	+	+	-	-
Moccia, <i>et al.</i>	2020	Italy	-	+	-	+	+	-
Moccia, <i>et al.</i>	2020	Italy	-	+	+	+	+	-
Palcsó <i>et al.</i>	2020	Switzerland	-	+	+	+	-	-
Wong <i>et al.</i>	2011	United Kingdom	-	+	-	+	+	-
Yamaguchi <i>et al.</i>	2020	Japan	-	+	+	+	-	-

20 °C on surfaces such as glass and stainless steel (39). Marchesi *et al.* (27) evaluated the effectiveness of dry steam against three viruses: coronavirus OC43 (HCoV) as a substitute of SARS-CoV-2, Human Influenza virus (subtype A/H1N1/WSN/33), and Echovirus 7 (ATCC VR37). The authors applied 100 µl of each viral suspension in a constant laminar flow chamber during 20 minutes. The investigators concluded that dry steam is effective in neutralizing the three viral species, with an inactivation rate of 99.99%, which corresponds to factor  $\geq 4 \log_{10}$ .

The quaternary ammonium compounds, also known as QACs or quacs, are divided into 5 generations. These compounds exert their disinfectant effects by acting upon the enzymes, proteins and cell membrane (lipids) of the pathogen – fundamentally bacteria in the vegetative state and fungi. They afford high surface activity and can be used in combination with other disinfectants (17). Some of these disinfectants have been studied by Moccia *et al.* (30). These authors used disposable polyester and nylon cloths impregnated with different disinfectant solutions: 70% alcohol, 5% chlorine, 10% quaternary ammonium salts, 5% chlorhexidine gluconate and phenolic solutions that deactivate the enzyme system of the cell membrane, allowing the penetration of metabolites (17,30). The study concluded that all the chemical disinfectants were effective and were able to eliminate 90% of the surface CFU/11cm<sup>2</sup>. It should be noted that the biocidal effect on the floor was lower (only about 65% reduction of CFU/11cm<sup>2</sup>).

Another traditionally used method has been ozone (O<sub>3</sub>). However, its utilization has not been without some controversy, due to the possible risk of harmful effects for the healthcare staff and patients. In this regard, Moccia *et al.* (29) evaluated an O<sub>3</sub> – generating device. The study was carried out in two hospital rooms: a non-surgical room and an operating room. The response variables were the antibacterial effect of the device upon the surface and air. It was concluded that O<sub>3</sub> is able to reduce the presence of microorganisms in healthcare environments by up to 90%, with no added risk for human health, since the maximum concentration of ozone after the first hour of application was 3.2 ppm, and decreased exponentially over the following 5 hours (29). It is important to note that because of the associated risks, ozone exposure values are regulated. According to the National Institute for Occupational Safety and Health (40), the recommended O<sub>3</sub> exposure limit is 0.1 ppm, which corresponds to 0.2 mg/m<sup>3</sup>. Only O<sub>3</sub> levels  $\geq 5$  ppm are considered to pose an immediate health hazard (39). Regarding the use of ozone against the SARS-CoV-2 virus, there is insufficient scientific evidence regarding its efficacy and safety (41).

Chlorinated compounds have also been traditionally used. Palcsó *et al.* (31) evaluated sodium chlorite (NaClO<sub>2</sub>) impregnated in fibers of different sizes. The res-

ponse variables were the production of chlorine dioxide ( $\text{ClO}_2$ ), which is the compound that really produces the biocidal effect, and antibacterial activity against *Enterococcus faecalis*. It was concluded that chlorine dioxide ( $\text{ClO}_2$ ), under conditions of relative humidity > 95% and 5%  $\text{CO}_2$ , generated on impregnating the fibers with 1 and 5 mg of  $\text{NaClO}_2$ , achieved a mean decrease in CFU/plate of  $1.67 \pm 2.87$  and  $1.00 \pm 1.73$  after 24 hours, respectively.

On the other hand, ultraviolet C radiation (UV-C) radiation has also been traditionally used in healthcare environments as a germicide for the disinfection of nosocomial pathogens in the air and in water. Its use is regulated by Specification UNE 0068, since wavelengths between 200-280 nm can have harmful effects for the skin of healthcare staff and patients (3,41). In this regard, ultraviolet radiation cannot be applied during healthcare working activities, in contrast to technology based on the release of hydroxyl radicals ( $\text{OH}^\cdot$ ), which can be used without having to interrupt healthcare activities. Yamaguchi *et al.* (32) applied ultraviolet A radiation (UV-A) to a  $\text{TiO}_2$  NT surface against *Escherichia coli* (Gram-) and *Staphylococcus aureus* (Gram+). The authors concluded that UV-A radiation reduced the survival of *Escherichia coli* by up to 40% in the first three hours, since its impact upon the  $\text{TiO}_2$  NT surface gave rise to the formation of  $\text{OH}^\cdot$  radicals. The concentration of  $\text{OH}^\cdot$  increased exponentially with the radiation application time. The effect was less pronounced in the case of *Staphylococcus aureus*, due to the composition of its cell membrane. These morphological features cause this species to be less sensitive to the action of reactive oxygen species (ROS) such as  $\text{OH}^\cdot$  radicals. Regarding its efficacy against SARS-CoV-2, the available evidence is scarce and very heterogeneous (41).

-Disinfection of contaminated room air

Clarkson *et al.* (42) determined that aerosol generating dental procedures (AGP) are those that use high and low speed handpieces, air and water syringes, sonic and ultrasonic devices and surgical motors. Aerosols are differentiated according to particle size. Most aerosols produced in the dental clinic are under 5  $\mu\text{m}$  in size (43). In this scenario, the use of physical protection barriers such as face screens is of great help, though such measures alone are unable to protect the dental professional and the patient from the inhalation of the smaller nuclei droplets (6).

Several techniques affording protection against aerosols have been described and are classified according to the timing of their application. On one hand there are techniques that prevent the contamination of aerosols generated within the oral cavity, while others prevent the projection of fomites outside the oral cavity. In turn, ventilation techniques are intended to avoid aerosol spread beyond the operating zone, while other general

ventilatory methods aim to prevent particles from spreading outside the dental office. Direct decontamination of the aerosol corresponds to the last phase of the disinfection process (6).

The first protective barrier against aerosols consists of controlling the endogenous microbiota of the oral cavity of the patient (6,43). Emerging studies demonstrate the importance of the oropharynx and oral salivary glands as sites of replication and transmission of microorganisms. In a study conducted by O'Donnell *et al.* (44) was evaluated the action of mouthwashes, such as chlorhexidine or cetylpyridine chloride (CPC), on the disruption of the lipid membrane of viruses such as SARS-CoV-2. These mouth rinses have been shown to potentially reduce the transmission of SARS-CoV-2 and therefore a mouth rinse prior to dental treatment is recommended to reduce oral microbial load. Also in the study by Meyers *et al.* (45) mouthwashes were shown to be up to 99.9% effective in inactivating human coronavirus (HCoV) with a contact time of only 30 seconds. In recent years, cetylpyridinium chloride (CPC) has been incorporated to use in the dental clinic. This is a cationic quaternary ammonium compound with great antiseptic capacity, as evidenced by the randomized clinical study published by Maximo *et al.* (46) in 2020, in which three test groups (0.12% chlorhexidine, essential oils and 0.07% CPC) were compared against a control group with 0.5% water-alcohol solution. The authors concluded that CPC achieved the greatest decrease in bacteria in patients with periodontal diseases.

Conventional saliva ejectors are essential for preventing particles from escaping from the oral cavity. However, such low-volume aspirators are generally unable to neutralize all the generated aerosols. In this respect, high-volume evacuation (HVE) systems are needed to prevent aerosol dispersion beyond the surgical zone. These systems are able to evacuate up to 2.8 m<sup>3</sup> of air per minute, reducing aerosol presence by up to 90.8% (6). In this regard, Wan Hassan *et al.* (26) are currently conducting a parallel-group randomized clinical trial to evaluate the processing of aerosols generated during dental treatments, in order to avoid cross-infections, comparing the conventional aspiration system of a dental clinic versus a new high-volume evacuation system. Once aerosols escape from the surgical zone and are suspended in the environment of the dental office, the general ventilation system is responsible for neutralizing them. It is important to avoid the use of ventilating fans, since they facilitate recirculation of the contaminated air, maintaining correct ventilation of the dental office by opening the windows. However, and above all, it is necessary to install a high-performance filtering system, involving the use of HEPA filters or high-efficiency particle filters (6).

-Technology based on the release of hydroxyl radicals

(OH.)

In view of the need to develop a rapid and effective method for protecting healthcare environments from cross-infections, an environmental method has been developed for the elimination of pathogenic microorganisms in large spaces and surfaces. This technology is based on the release of reactive oxygen species (ROS) in the form of hydroxyl radicals (OH<sup>•</sup>). The OH<sup>•</sup> radical is the most important natural oxidant in the troposphere, and plays a key role in the elimination of greenhouse effect gases (28). The biocidal actions of OH<sup>•</sup> radicals begin through solar radiation, with the degradation of organic compounds transported in the air into harmless organic compounds. Such radicals are therefore included within the “green oxidant” concept, since they decompose into water (H<sub>2</sub>O) and oxygen (O<sub>2</sub>). Their function is mediated by an advanced oxidation process (AOP) that takes place in the membranes, lipids and hydrosulfide bonds of the proteins and nucleotides of DNA, giving rise to lipid peroxidation, cross-bonding between proteins, and mutations of the genetic material of pathogenic microorganisms (28). This technology affords several advantages with respect to the traditional chemical disinfectants such as chlorinated agents or quaternary ammonium compounds. Firstly, OH<sup>•</sup> radicals are not selective and can eliminate any pathogen with very low doses (0.8 mg/l), with an oxidation potential of 2.8 volts (V). In addition, their processing time is very short (4 seconds), since their reaction velocity is high and constant, specifically 109 L/mol/sec and they have a person-dispersion density of 22 ml/cm<sup>2</sup>, equivalent to a thousandth of that of other disinfectants (28). Since technology based on OH<sup>•</sup> release produces oxidative damage to lipid membranes, with denaturalization of proteins and the modification of nucleic acids of pathogens, its utilization may have adverse side effects.

In this regard, Carlsaw *et al.* (9) evaluated the production of hydroxyl radicals (OHX) generated following the use of a surface disinfectant composed of glutaraldehyde, benzisothiazolinone and a number of essential oils, and with the utilization of an air disinfection device. The first measurements indicated an initial hydroxyl radical and hydroperoxyl (hydrogen superoxide) radical (OH<sub>2</sub>) concentration of 6.5 x 10<sup>5</sup> cm<sup>-3</sup> and 1.3 x 10<sup>7</sup> cm<sup>-3</sup>, respectively. After disinfection of the surfaces, the concentrations of hydroxyl radicals and OH<sub>2</sub> increased to 4 x 10<sup>6</sup> cm<sup>-3</sup> and 4 x 10<sup>8</sup> cm<sup>-3</sup>, respectively. In turn, following activation of the air disinfection device, the concentrations reached 2 x 10<sup>7</sup> cm<sup>-3</sup> and 6 x 10<sup>8</sup> cm<sup>-3</sup>.

An analysis was also made of the production of potentially contaminating secondary chemical species, specifically peroxy radicals (RO<sub>2</sub>), which are generated following the oxidation of volatile organic compounds (VOCs). An increase in RO<sub>2</sub> of between 80-96% was recorded, derived mainly from two types of VOCs: terpe-

nes and aromatic groups. In addition, the production of RO<sub>2</sub> was seen to be greater after applying the chemical surface disinfectant versus the air purifying device. This implies two important things: on one hand, the bactericidal effect of the disinfectants is mediated by highly reactive chemical mechanisms that can also produce secondary chemical agents, and on the other, the disinfectant application medium is a fundamental factor – not only to ensure greater bactericidal effects but also to reduce the production of potentially contaminating secondary compounds (9).

In contrast, Martínez-Vimbert *et al.* (28) concluded that the use of an OH<sup>•</sup> releasing device is entirely safe and innocuous. These authors conducted different laboratory studies with two reactive agents: hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and D-limonene (a natural terpene). The hydrogen peroxide output with the studied device was 0.9 mg/m<sup>3</sup>, which is equivalent to 0.64 ppm, a concentration lower than that considered to be toxic for the respiratory tract. The natural terpene D-limonene has double carbon bonds, allowing it to interact with O<sub>3</sub>, generating OH<sup>•</sup> radicals and other stable products such as ketones or carboxylic acid. It is postulated that the potential harmful effect of D-limonene is due to the fact that this reaction can also generate volatile organic compounds (VOCs), generally glutaraldehyde. However, this is not harmful, due to several reasons. Firstly, the production of D-limonene is 1.84 parts per million (ppm) - a concentration that is lower than the limits established by the regulations of other European countries such as Sweden, with a limit of 27 ppm, or Germany, with 10 ppm. Secondly, its evaporation is below 2 ppb (parts per billion) in a space of 60 m<sup>2</sup>. Furthermore, the emission of O<sub>3</sub> is less than 0.02 ppm.

Another issue related to this technology is its utilization in large spaces. In this regard, Wong *et al.* (33) carried out an “*in vitro*” study using an OH<sup>•</sup> releasing device (Inov8®, Buckingham UK) in different areas of a hospital center. The OH<sup>•</sup> radicals were generated as a result of the reaction of O<sub>3</sub> with water vapor (H<sub>2</sub>O), catalyzed by a terpene (D-limonene). The results were satisfactory, since there was a decrease in bacteriophage MS-2, composed of single-strand RNA, and in *Staphylococcus epidermidis*, a facultative anaerobic Gram+ bacterium. Specifically, the reductions were between 26-55% in air samples and between 35-62% on TSA (Tryptic Soy Agar) plates for total aerobic bacteria, respectively.

## References

- Whiteley G, Glasbey T, Westerway S, Fahey P, Basseal J. A new sampling algorithm demonstrates that ultrasound equipment cleanliness can be improved. *Am J Infect Control.* 2018;46:887-92.
- Miller CH. Cleaning, sterilization and disinfection: Basics of microbial killing for infection control. *J Am Dent Assoc.* 1993;124:48-56.
- Alvarenga M, Veloso S, Bezerra A, Trindade B, Gomes A, Monteiro G. COVID-19 outbreak: Should dental and medical practices consider uv-c technology to enhance disinfection on surfaces? - A systematic

- review. *J Photochem Photobiol.* 2022;9:100096.
4. Cumbo E, Gallina G, Messina P, Scardina GA. Alternative methods of sterilization in dental practices against COVID-19. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17:5736-49.
  5. Peng X, Xu X, Li Y, Cheng L, Zhou X, Ren B. Transmission routes of 2019-nCoV and controls in dental practice. *Int J Oral Sci.* 2020;12:1-6.
  6. Kumbargere Nagraj S, Eachempati P, Paisi M, Nasser M, Sivaramkrishnan G, Verbeek JH. Interventions to reduce contaminated aerosols produced during dental procedures for preventing infectious diseases. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;10:CD013686.
  7. Véliz E, Vergara T, Pearcy M, Dabanch J. Importance of cleaning and disinfection of critical surfaces in dental health services. Impact of an intervention program. *Rev Chil Infectol.* 2018;35:88-90.
  8. Wróblewska M, Strużycka I, Mierzwińska-Nastalska E. Significance of biofilms in dentistry. *Przegl Epidemiol.* 2015;69:739-44,879-83.
  9. Carslaw N, Fletcher L, Heard D, Ingham T, Walker H. Significant OH production under surface cleaning and air cleaning conditions: Impact on indoor air quality. *Indoor Air.* 2017;27:1091-100.
  10. Saccucci M, Ierardo G, Protano C, Vitali M, Polimeni A. How to manage the biological risk in a dental clinic: Current and future perspectives. *Minerva Stomatol.* 2017;66:232-9.
  11. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *Int J Surg.* 2010;8:336-41.
  12. Higgins JPT, Thomas J, Chandler J, Cumpston M, Li T, Page MJ, Welch VA (editors). *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions* version 6.3 (update February 2022). *Cochrane.* 2022. Available from [www.training.cochrane.org/handbook](http://www.training.cochrane.org/handbook).
  13. Clapeau G, Decroix B, Bakayoko R, Varenne B, Dosso-Hien D, Decroix MO. Survey of methods of cleaning, decontamination, disinfection and sterilization in dental health services in tropical areas. *Sante.* 1997;7:323-9.
  14. Kanno T, Nakamura K, Ikai H, Kikuchi K, Sasaki K, Niwano Y. Literature review of the role of hydroxyl radicals in chemically-induced mutagenicity and carcinogenicity for the risk assessment of a disinfection system utilizing photolysis of hydrogen peroxide. *J Clin Biochem Nutr.* 2012;51:9-14.
  15. Matsuda J, Grinbaum R, Davidowicz H. The assessment of infection control in dental practices in the municipality of São Paulo. *Brazilian J Infect Dis an Off Publ Brazilian Soc Infect Dis.* 2011;15:45-51.
  16. McCombs G, Darby M. New discoveries and directions for medical, dental and dental hygiene research: Low temperature atmospheric pressure plasma. *Int J Dent Hyg.* 2010;8:10-5.
  17. Mupparapu M, Kothari KRM. Review of surface disinfection protocols in dentistry: A 2019 update. *Quintessence Int.* 2019;50:58-65.
  18. Smith G, Smith J, Creanor S, Hurrell D, Bagg J, Lappin DF. Survey of the decontamination and maintenance of dental handpieces in general dental practice. *Br Dent J.* 2009;207:160-1.
  19. Podgórska M, Jakimiak B, Röhm-Rodowald E, Chojecka A. Assessment of disinfection and sterilization processes in dental practice as an important factors in prevention of infections. *Przegl Epidemiol.* 2009;63:545-50.
  20. Stephens J, Kiger R, Kettering J. In vitro comparison of the effectiveness of three surface disinfectants. *J Calif Dent Assoc.* 1994;22:40-2,44-6.
  21. Guida M, Gallé F, Di Onofrio V, Nastro RA, Battista M, Liguori R, et al. Environmental microbial contamination in dental setting: A local experience. *J Prev Med Hyg.* 2012;53:207-12.
  22. Jefferson T, Del Mar CB, Dooley L, Ferroni E, Al-Ansary LA, Bawazeer GA, et al. Physical interventions to interrupt or reduce the spread of respiratory viruses. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;11:CD006207.
  23. Lewis D, Boe R. Cross-infection risks associated with current procedures for using high-speed dental handpieces. *J Clin Microbiol.* 1992;30:401-6.
  24. Miller C, Tan C, Beiswanger M, Gaines D, Setcos J, Palenik C. Cleaning dental instruments: Measuring the effectiveness of an instrument washer/disinfectant. *Am J Dent.* 2000;13:39-43.
  25. Ueda T, Ueda K, Ito K, Ogasawara K, Kanetaka H, Mokudai T, et al. Visible-light-responsive antibacterial activity of Au-incorporated TiO<sub>2</sub>(2) layers formed on Ti-(0-10) at Au alloys by air oxidation. *J Biomed Mater Res A.* 2019;107:991-1000.
  26. Clinicaltrials.gov: A randomised controlled trial on the use of a dental aerosol box to prevent microbial transmission during dental procedure. Identifier: NCT05034705.
  27. Marchesi I, Sala A, Frezza G, Paduano S, Turchi S, Bargellini A, et al. In vitro virucidal efficacy of a dry steam disinfection system against human Coronavirus, human Influenza virus, and Echovirus. *J Occup Environ Hyg.* 2021;18:541-6.
  28. Martínez-Vimbert R, Araújo-Loyo M, Custodio-Sánchez D, García-Raurich J, Monagas-Asensio P. Evidence of OH radicals effect for an indoor air and surfaces disinfection in a harmless for humans method. *Int J Eng Sci.* 2020;6:1-13.
  29. Moccia G, De Caro F, Pironi C, Boccia G, Capunzo M, Borrelli A, et al. Development and improvement of an effective method for air and surfaces disinfection with ozone gas as a decontaminating agent. *Medicina (Kaunas).* 2020;56:578-86.
  30. Moccia G, Motta O, Pironi C, Proto A, Capunzo M, De Caro F. An alternative approach for the decontamination of hospital settings. *J Infect Public Health.* 2020;13:2038-44.
  31. Palsó B, Kazsoki A, Herczegh A, Ghidán Á, Pinke B, Mészáros L, et al. Formulation of chlorine dioxide releasing nanofibers for disinfection in humid and CO<sub>2</sub>-rich environment. *Nanomater.* 2022;12:1481-91.
  32. Yamaguchi M, Abe H, Ma T, Tadaki D, Hirano-Iwata A, Kanetaka H, et al. Bactericidal activity of TiO<sub>2</sub> (2) nanotube thin films on Si by photocatalytic generation of active oxygen species. *Langmuir.* 2020;36:12668-77.
  33. Wong V, Staniforth K, Boswell TC. Environmental contamination and airborne microbial counts: A role for hydroxyl radical disinfection units? *J Hosp Infect.* 2011;78:194-9.
  34. Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Parte 1: Recuento de colonias a 30 ° C mediante la técnica de siembra en profundidad. (ISO 4833-1:2013). Disponible en: <https://www.une.org/encuentra-tu-norma/busca-tu-norma/norma/?c=N0052559>.
  35. Microbiology of the food chain- Horizontal method for the enumeration of microorganisms-Part 1: Colony count at 30°C by the pour plate technique. Amendment 1: Clarification of scope. ISO 4833-1:2013/AMD-1:2022. Disponible en: <https://www.iso.org/standard/73329.html>.
  36. Atmósferas en el lugar de trabajo. Medición de microorganismos y compuestos microbianos en suspensión en el aire. Requisitos generales (Ratificada por la Asociación Española de Normalización en noviembre de 2019.) Disponible en <https://tienda.aenor.com/norma-une-en-13098-2019-n0062676>.
  37. Recommended infection-control practices for dentistry. *MMWR Recomm Rep.* 1993;42:1-12.
  38. Araujo MW, Andreana S. Risk and prevention of transmission of infectious diseases in dentistry. *Quintessence Int.* 2002;33:376-82.
  39. Riddell S, Goldie S, Hill A, Eagles D, Drew TW. The effect of temperature on persistence of SARS-CoV-2 on common surfaces. *Viral J.* 2020;17:1-7.
  40. NIOSH Pocket guide to chemical hazards. Disponible en: <https://www.cdc.gov/niosh/npg/npgd0476.html>.
  41. García Carpintero E, Cárdena Arranz M, Sánchez Gómez L. Revisión bibliográfica sobre la eficacia y seguridad de la luz ultravioleta y ozono para la desinfección de superficies. Ministerio de Sanidad. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias del Instituto de Salud Carlos III. Disponible en: [https://redets.sanidad.gob.es/documentos/AETS\\_ISCIII\\_2020\\_UV\\_Ozono\\_Co\\_vid-19\\_actualizacion.pdf](https://redets.sanidad.gob.es/documentos/AETS_ISCIII_2020_UV_Ozono_Co_vid-19_actualizacion.pdf).
  42. Clarkson J, Ramsay C, Richards D, Robertson C, Aceves-Martins M. Aerosol generating procedures and their mitigation in international dental guidance documents- A rapid review. 2020.
  43. Harrel S, Molinari J. Aerosols and splatter in dentistry: A brief review of the literature and infection control implications. *J Am Dent Ass.* 2004;135:429-37.

44. O'Donnell VB, Thomas D, Stanton R, Maillard JY, Murphy RC, Jones SA, et al. Potential role of oral rinses targeting the viral lipid envelope in SARS-CoV-2 infection. *Function*. 2020;1:1-12.
45. Meyers C, Robison R, Milici J, Alam S, Quillen D, Goldenberg D, et al. The transmission and spread of human coronavirus. *J Med Virol*. 2021;93:1605-12.
46. Máximo PM, Cortelli SC, Aquino DR, de Miranda TB, Costa FO, Cortelli JR. Preoperative mouthwash in subjects with different periodontal status: A randomised controlled clinical trial. *Oral Health Prev Dent*. 2020;18:433-40.

**Ethical approval**

This study does not include any articles in which the authors made use of animals or human subjects.

**Source of Funding**

The present study has received no financial support.

**Author's contributions**

Anais Paños-Crespo and Bassel Traboulsi-Garet: study conception, literature search and data acquisition, writing of the article, approval of the final version of the manuscript, acceptance of responsibility for all aspects of the study.

María Angeles Sánchez-Garcés and Cosme Gay-Escoda: study conception, data interpretation, critical review of the article, approval of the final version of the manuscript, acceptance of responsibility for all aspects of the study.

**Conflict of interests**

The authors declare no competing interests.



## Evaluation of the efficacy of hydroxyl radical (OH<sup>•</sup>) release for disinfection of the air and surfaces in the dental clinic: an *in vitro* study

Anais Paños-Crespo <sup>1</sup>, Jorge Toledano-Serrabona <sup>2</sup>, María Ángeles Sánchez-Garcés <sup>3</sup>, Cosme Gay-Escoda <sup>4</sup>

<sup>1</sup> DDS, MS. School of Medicine and Health Sciences, Campus de Bellvitge, University of Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>2</sup> DDS, MS, PhD. Professor of Oral Surgery, School of Medicine and Health Sciences, Campus de Bellvitge, University of Barcelona. Researcher of the IDIBELL Institute, Barcelona, Spain

<sup>3</sup> MD, DDS, MS, PhD, EBOS. Professor of Oral Surgery, School of Medicine and Health Sciences, Campus de Bellvitge, University of Barcelona. Researcher of the IDIBELL Institute, Barcelona, Spain

<sup>4</sup> MD, DDS, MS, PhD, EBOS, OMFS. Chairman of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Medicine and Health Sciences, Campus de Bellvitge, University of Barcelona. Director of the Master in Oral Surgery and Buccofacial Implantology (EFHRE International University / FUCSO). Coordinator / Researcher of the IDIBELL Institute. Head of the Department of Oral Surgery, Buccofacial Implantology and Maxillofacial Surgery. Teknon Medical Center, Barcelona, Spain

*Correspondence:*  
School of Medicine and Health Sciences. Dental School  
Campus de Bellvitge, University of Barcelona  
C/ Feixa Llarga, s/n; Pavelló Govern, 2<sup>a</sup> planta, Despatx 2.9  
08907 - L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain  
anaispanoscrespo@gmail.com

Received: 25/05/2023  
Accepted: 26/06/2023

Please cite this article in press as: Paños-Crespo A, Toledano-Serrabona J, Sánchez-Garcés MÁ, Gay-Escoda C. Evaluation of the efficacy of hydroxyl radical (OH<sup>•</sup>) release for disinfection of the air and surfaces in the dental clinic: an *in vitro* study. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2023. doi:10.4317/medoral.26157

### Abstract

**Background:** Concerning about the quality of room air has increased exponentially. Specially in dental clinics where diary practice is characterized by the important generation of aerosols.

**Material and Methods:** An *in vitro* model was used in which samples were collected from the surfaces and room air of a dental clinic before and after the use of an OH<sup>•</sup> radical generator.

**Results:** A total of 1260 samples were collected for bacteriological analysis and 14 samples for the detection of SARS-CoV-2. Following OH<sup>•</sup> treatment, the tested surface samples showed a decrease in the number of colony forming units (CFUs) of 76.9% in TSA culture medium. The circulating room air samples in turn showed a decrease in CFUs of 66.7% in Sabouraud medium and 71.4% in Mannitol agar medium. No presence of SARS-CoV-2 was observed on the surface of the face shield.

**Conclusions:** The disinfectant technology based on the use of hydroxyl radicals (OH<sup>•</sup>) is effective in reducing the presence of moulds and yeasts and *Staphylococcus* in the air, and in reducing total aerobic bacteria on the tested surfaces.

**Key words:** Disinfection methods, hydroxyl radical, environment, surfaces, dentistry.

## Introduction

The study of pathogenic microorganisms and of methods to avoid their spread has become the focus of many research projects, particularly since the start of the COVID-19 pandemic (1). Efforts to guarantee correct disinfection and sterilization of the dental clinic should consider all types of organisms, since the oral cavity is characterized by the presence of biofilm containing over 700 microbiological species from the mucous membranes and saliva (2). In relation to bacteria, mention must be made of grampositive organisms such as the genus *Streptococcus* and *Staphylococcus aureus*, while most nosocomial fungal infections are attributable to the genus *Candida*. In turn, the most frequent cross-infections due to viruses include human immunodeficiency virus (HIV)(*Retroviridae*), hepatitis B and C viruses (*Hepadnaviridae* and *Flaviviridae*, respectively), herpes simplex virus (HSV) 1 and 2 (*Herpesviridae*), Varicella-Zoster virus (VZV)(*Herpesviridae*) and Epstein-Barr virus (EBV)(*Herpesviridae*), among others (2). Traditionally, the main surface disinfectants used in the dental clinic have been chemical agents such as quaternary ammonia, alcohols, formaldehyde, hypochlorites or iodinated solutions (1,3). However, in the dental clinic, where abundant aerosols are formed, some pathogens may remain suspended in the air for a variable period of time, particularly in closed areas with poor ventilation (4-6). In this regard, the guidelines referred to air conditioning and purification in the dental clinic recommend the use of an air ventilation and/or purification system capable of guaranteeing a renewal of 6 volumes/hour (7). The most widely used methods are based on chlorine dioxide, ozone ( $O_3$ ), ultraviolet radiation (UV) and HEPA (High Efficiency Particulate Air) filters (8,9). However, despite the range of options in this field, no studies have compared their efficacy and advantages or side effects and risks.

On the other hand, techniques have been developed based on the release of hydroxyl radicals ( $OH^\cdot$ ), which constitute the most important natural oxidant agent as an Open Air Factor effect. Their bactericidal action is mediated by an advanced oxidation processes (AOP) that takes place in the membranes (lipids), proteins (amino acids) and genetic material (RNA and DNA nucleotides) of the pathogens. These techniques are able to destroy the great majority of pathogens at a concentration of 0.8 mg/l, i.e., using the equivalent of one ten thousandth of the required dose of conventional chemical disinfectants, with a processing time of four seconds and without producing cytotoxic (harmful) residual compounds. The hydroxyl radical emissions and dispersion capacity through natural chain reaction at RH 50% and 23°C are from  $14,21 \cdot 10^6$  molecule  $cm^3$  per second and  $43,56 \cdot 10^6$  molecule  $cm^3$  per second, very far from the natural emissions (10) that we breath abroad and

equivalent to one thousandth of that of other disinfectants (11-12). This implies two major advantages: the dental professionals are able to continue working while the agent is being used, and it can be employed in large spaces. In other words,  $OH^\cdot$  generators, along with high pressure or negative pressure systems combined with HEPA filters, appear to offer good results and have been postulated as a primary disinfection strategy (2,7,9).

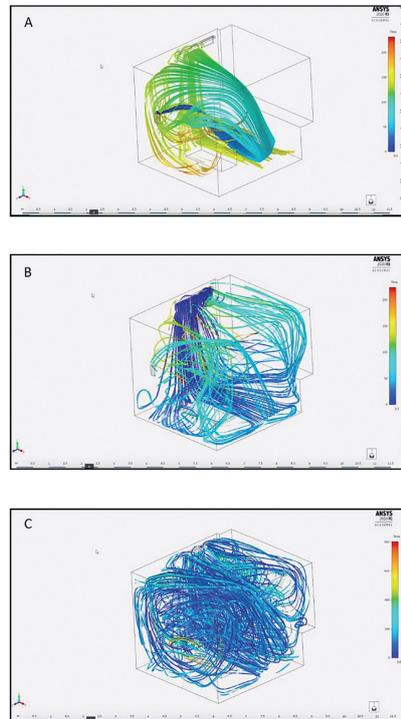
The present study constitutes the first experimental *in vitro* investigation of the efficacy of  $OH^\cdot$  in disinfecting the surfaces and room air of dental clinics.

## Material and Methods

The present *in vitro* study was divided into two phases (Ia and Ib) and involved the use of a hydroxyl radical ( $OH^\cdot$ ) releasing system based on hydrogen peroxide (WellisAir Disinfection Wadu02®- Airtècnics, Castellar del Vallès, Barcelona, Spain). The device measures 220 mm in width, 150 mm in depth and 370 mm in height, with a weight of 1.9 kg and a power rating of 3.6 W/hour. It has no filters but contains a cartridge that generates hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) and must be replaced every three months. It is also equipped with a real-time sensor that reports air quality based on a range of colors, and a night mode in which the noise generated by the device is less than 30 dB.

Study phase Ia was carried out in a dental office of Centro Medico Teknon (Barcelona, Spain), with a useful surface of 10.92  $m^2$ . Prior to the *in vitro* study, an analysis was made of the ventilation system, based on the geometric dimensions of the office, the different air conditioning flows, and air outlet and return. The circulating volumetric flow in the dental office was estimated from the total flow (20  $m^3/min$ ) generated by the main air conditioning machine, taking into account the distribution of the flow lines (Fig. 1).

Phase Ia was carried out over 5 non-consecutive days (13, 15, 22 and 29 September, and 4 October, 2021), evaluating the disinfection capacity of  $OH^\cdot$  against bacteria on the surfaces and in the air of the dental office, and against SARS-CoV-2 on the face shield of the operator. All the studied samples were obtained from the walls of the dental office, the protective face shield of the operator, the surface of the dental chair, and the room air. Samples that were contaminated or could not be analyzed were excluded. We collected control samples during the first two days prior to utilization of the  $OH^\cdot$  generating device. Then, the device was installed and the same sampling procedure was carried out for another three days, always maintaining the routine disinfection measures based on the use of a spray with 550 mg/g of ethanol, N,N-didecyl-N-methyl-polyoxyethyl ammonium propionate and 1.1 mg/g of perfume (Instrunet Inibsa® Spray, Laboratorios Inibsa S.A., Lliçà de Vall, Barcelona, Spain).



**Fig. 1:** A) Flow lines of the hydroxyl radicals ( $\text{OH}^\cdot$ ) generated by the WellisAir Disinfection Wadu02<sup>®</sup> device. B) Flow lines of the vertical air conditioning impulsion grids. This profile covers the entire room and generates the trajectory of the hydroxyl radicals ( $\text{OH}^\cdot$ ). C) Mixing of the air conditioning with the hydroxyl radicals ( $\text{OH}^\cdot$ ) under stabilized conditions.

Sampling of bacteria from the surfaces of two walls of the dental office, the back and arm rest and fixed arm of the dental chair, and the protective face shield of the operator, was performed using RODAC plates in triplicate, with 7 different culture media (6 for bacteria and one for the presence of moulds and yeasts) (Table 1). The samples were sent to the Health and Environmental Microbiology Laboratory (MSMLab) of Barcelona Polytechnic University (UPC) for incubation and the posterior count of colonies.

For the detection of SARS-CoV-2, sampling was made of the protective face shield of the operator with an area of 20 x 100 cm<sup>2</sup>, following the recommended protocol for detecting the virus on industrial or hospital surfaces (Laboratorios Echevarne. División Industrial. Barcelona, Spain). The samples were kept refrigerated until processing with the reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) viral RNA test.

In the case of the air samples, three capturing devices were used in order to obtain samples from the entire office in triplicate at the same time. The devices containing the Petri plates were placed at a distance of at least one meter from the dental chair and at a height of 1.5 meters.

The samples were collected at three timepoints distributed over the start of the work day, at the end of a treatment, and after a dental procedure in which maximum aerosol production was expected to occur. All the treatment procedures performed on different days were equivalent in terms of the type of intervention and its duration. Specifically, 9 periodontal procedures with ultrasound and 6 dental treatments involving the use of a turbine were carried out.

Surface sampling for the detection of SARS-CoV-2 was carried out on the protective face shield of the operator. For this purpose we used a kit composed of two tubes: one containing a swab and the other containing saline solution.

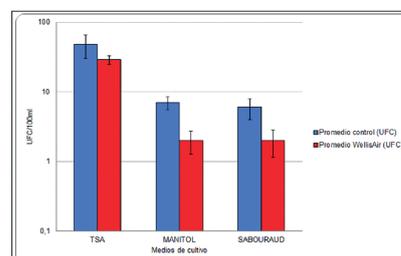
**Table 1:** Culture media used for each of the microbial indicators.

Microorganisms	Culture medium	Reference	Incubation temperature	Days of incubation
<i>Total aerobic bacteria</i>	Tryptic soy agar (TSA) (Eur. Pharm.)	Scharlau 01-200-500	37°C	1
<i>Total moulds and yeasts</i>	Sabouraud chloramphenicol agar	Scharlau 01-166-500	25°C	2
<i>Bacillus spp</i>	Bacillus cereus selective agar	Scharlau 01-487-500	35°C	1
<i>Staphylococcus</i>	Mannitol salt agar (Chapman)	Scharlau 01-116-500	37°C	1
<i>Escherichia coli</i>	Microinstant tryptone bile glucuronic agar. (TBX agar)	Scharlau 01-619-500	44°C	1
<i>Pseudomonas</i>	Cetrimide agar (Eur. Pharm.)	Scharlau 01-160-500	37°C	1
<i>Total enterobacteria</i>	Violet red bile dextrose agar (VRBD agar)	Scharlau 01-295-500	37°C	1

The tip of the swab was fully immersed in the saline solution tube, and the excess liquid was then drained by pressing the swab against the inner walls of the tube. The swab was subsequently used to sample the face shield, rotating and rubbing it in zigzag from one side to the other. This procedure was done twice: from left to right and then from top to bottom of the face shield. Lastly, the swab was returned to its tube, without liquid. The primary study variable was the colony forming unit (CFU) count and the secondary study variable was the presence or absence of SARS-CoV-2 on the protective face shield of the operator. All data was recorded in a Microsoft Excel® (Microsoft Corp., Redmond, Washington, USA) and subsequently imported into STATA 14.2 software (StataCorp®, College Station, USA). For categorical variables, a descriptive analysis was carried out based on tables of absolute and relative and bivariate frequency measurements with a Chi-square test or Fisher's exact test. Odds ratios (OR) with a 95% confidence interval (95% CI) were used as a measure of association. Normality of scale variables (CFU) were explored through Shapiro-Wilk's test and visual analysis of the P-P and box plots. To analyze the effect of the device on the reduction of CFU an ANOVA of one factor was used for each of the culture media. In all cases, the significance level was set at  $P < 0.05$ .

**Results**

During phase Ia of the study we collected a total of 1260 samples for microbiological analysis and 14 samples for the detection of SARS-CoV-2 of the surface of the face shield of the operator. Likewise, a total of 200 liters of room air were sampled per Petri plate. Table 2 shows the total plates used for each of the culture media and sampled environments. The results referred to the air samples evidenced growth in Sabouraud agar for moulds and yeasts, tryptic soy agar (TSA) for total aerobic bacteria, and Mannitol for grampositive bacteria of the genus *Staphylococcus*, in the control and test samples (Fig. 2).



**Fig. 2:** Effect of the hydroxyl radical (OH<sup>•</sup>) releasing device in reducing total aerobic bacteria, *Staphylococcus spp.* (grampositive bacteria), moulds and yeasts.

However, growth was absent in the control and test samples in 99% of the plates with tryptone bile X-glucuronide (TBX) medium for the gramnegative bacterium *Escherichia coli*, in cetrimide medium for *Pseudomonas*, in violet red bile dextrose (VRBG) agar for total enterobacteria, and in Mannitol egg yolk polymyxin (MYP) agar for *Bacillus spp.*

In TSA medium for total aerobic bacteria, the observed decrease in microbial growth was not statistically significant ( $p = 0.65$ ) in the test samples. In contrast, a significant decrease (66.7%) ( $p = 0.03$ ) was recorded in Sabouraud medium for moulds and yeasts in the test samples, and also in Mannitol agar for *Staphylococcus* (71.4%) ( $p = 0.001$ ). Regarding the results corresponding to the surfaces, no growth was observed (0 CFUs per RODAC plate) with the culture media for *Staphylococcus*, moulds and yeasts, *Escherichia coli*, total enterobacteria, *Bacillus spp.* and *Pseudomonas*. Growth was only observed with TSA medium for total aerobic bacteria (Fig. 3), with a decrease of 76.9% in the test samples ( $p = 0.01$ ). Of the different sampled surfaces, significant results were only recorded for the dental chair ( $p = 0.02$ ) (Fig. 4). The results corresponding to the walls of the dental office and the face shield of the operator failed to reach statistical significance ( $p = 0.15$  and  $p = 0.27$ , respectively).

**Table 2:** Number of plates used in sampling each environment. Total number of samples obtained after sampling three types of surface and the room air.

	Walls of the dental office	Dental chair	Protective face shield	Aerosol
Amount	1	1	1	1
Replicates	3	3	3	3
Culture media	7	7	7	7
Samples per day	3	3	3	3
Control days	2	2	2	2
Test days	3	3	3	3
Subtotal samples	315	315	315	315
<b>Total samples</b>	<b>1260</b>			

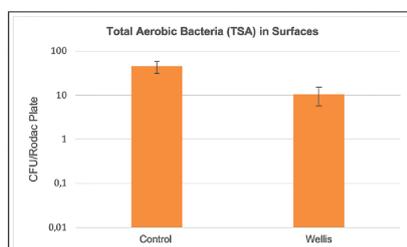


Fig. 3: Effect of the hydroxyl radical (OH<sup>•</sup>) releasing device in reducing total aerobic bacteria (TSA medium).

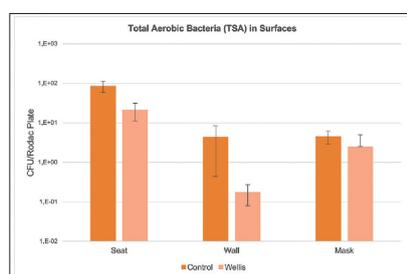


Fig. 4: Effect of the hydroxyl radical (OH<sup>•</sup>) releasing device in reducing total aerobic bacteria (TSA medium) on surfaces.

Lastly, no presence of SARS-CoV-2 was observed in phase Ia of the study in the 14 samples obtained from the surface of the face shield.

### Discussion

The choice of the 7 culture medias was made to assess the growth of the most common nosocomial pathogens in dental practice. However, CFUs were only quantified in the Sabouraud, Mannitol and TSA media.

With regard to moulds and yeasts, disinfection based on OH<sup>•</sup> release yielded a significant decrease exclusively in room air of about 67%. In comparison, in the study published by Moccia *et al.* (13), which evaluated the effect of an ozone (O<sub>3</sub>) releasing device using plate count agar (PCA) for the culture of mesophilic aerobic microorganisms and Sabouraud dextrose agar for moulds and yeasts, the observed reduction was over 90% for both surfaces and air. However, it is important to note that the use of ozone is not compatible with routine clinical practice, since its inhalation can result in serious lung problems and the appearance of skin irritation (13).

In relation to the genus *Staphylococcus*, we recorded a

decrease of 71%, though only in the air samples. This percentage is greater than in the study by Wong *et al.* (14), where the Inov8<sup>®</sup> OH<sup>•</sup> releasing device produced a decrease in *Staphylococcus epidermidis* of 50-60%. When compared with ultraviolet A (UV-A) radiation, OH<sup>•</sup> based disinfection offers a number of advantages, as demonstrated by Yamaguchi *et al.* (15), since UV-A exposure only resulted in a 40% decrease in the presence of *Staphylococcus aureus* on surfaces, and moreover the disinfection process had to be carried out in the absence of both the healthcare professionals and the patients, due to the risk of adverse effects such as skin cancer or retinal photokeratitis. This does not happen with OH<sup>•</sup>, which can be used concomitant to care activity. In the case of total aerobic bacteria, the decrease in CFUs was only seen to be significant in the samples obtained from the dental chair. This can be explained by the direct contact with different patients in the course of the work day, despite the use of conventional antiseptics to disinfect the surfaces between patients.

In the present *in vitro* study, the WellisAir Disinfection Wadu02<sup>®</sup> OH<sup>•</sup> generating device produced reductions over 70% in the counts of *Staphylococcus*. However, growth was absent in the agar TBX for *Escherichia coli*. These are probably attributable to a number of factors. On one hand, the cell wall composition of the bacteria. In effect, grampositive pathogens (such as the genus *Staphylococcus*) have a thick cell wall composed mainly of peptidoglycans, while gramnegative bacteria (such as *Escherichia coli*) are characterized by a much thinner wall composed of phospholipids, lipopolysaccharides and lipoproteins. These structural differences make gramnegative bacteria more vulnerable to attack by reactive oxygen species (ROS) such as OH<sup>•</sup>. On the other hand, our study was the first to perform sampling under non-controlled environmental conditions with the real presence and movement of people, reflecting daily practice in the dental clinic - though this also limited sampling homogeneity. Lastly, the microbiota count in the dental clinic was 1 Log<sub>10</sub> (log units), which is lower than that found in the laboratory experiments. This can probably be attributed to the hygienization and chemical disinfection protocols commonly used in dental practice, and which explain why the observed count reductions were not more significant.

The fact that SARS-CoV-2 was not detected in any of the samples obtained from the protective face shield of the operator prevented us from establishing the efficacy of OH<sup>•</sup> against pathogens of this kind. This situation can probably be explained by the protocolized screening of patients performed on a systematic basis since the World Health Organization (WHO) declared the pandemic state in 2020. Nevertheless, the efficacy of other disinfection methods against viruses with a structure similar to that of SARS-CoV-2 has been demon-

strated. As an example, in a study involving the use of dry steam, Marchesi *et al.* (16) reported an efficacy of over 90% against *coronavirus OC43* (HCoV) or human influenza virus, among others.

Finally, the implementation of phase Ib of the study, which aimed to evaluate the efficacy of OH<sup>•</sup> disinfection against RNA viruses such as SARS-CoV-2 and DNA viruses exclusively in the air of the dental clinic, was not considered to be necessary, since negative readings were obtained for all the samples from the protective face shield of the operator, which are the samples closest to the patient and receive the greatest impact of aerosols.

In contrast to the other abovementioned disinfection strategies, OH<sup>•</sup> based technology has not been tested against SARS-CoV-2 in the hospital setting. In this regard, Ge *et al.* (17) evaluated the disinfection procedures used in the Intensive Care Unit of Zhejiang University Hospital (China), where three SARS-CoV-2 patients were admitted. Disinfection of the air was carried out by means of a constant plasma flow combined with ultraviolet radiation, while surface disinfection was done with chlorinated towels applied 6 times a day. Surface sampling was performed with swabs two hours after disinfection, and sample testing was made using qRT-PCR. In only two out of 105 samples was SARS-CoV-2 RNA detected, leading the authors to conclude that the global disinfection measures adopted were effective in reducing the risk of cross-infection in the hospital setting. Thus, the results of the present study suggest that the main advantage of the WellisAir Disinfection Wadu02® OH<sup>•</sup> generating device is that it can be used with the dentist and the patient present in the dental office, improving the quality of the room air. However, although a statistically significant decrease in the presence of certain microorganisms was observed, the magnitude of the effect was less than expected, and clinical studies are needed involving greater homogeneity of the procedures and randomization of the patients, in order to determine whether the results obtained effectively imply a decrease in the risk of cross-infection.

### Conclusions

The technology based on the release of hydroxyl radicals (OH<sup>•</sup>) can be used in the course of clinical activity in the dental clinic, and reduces the presence of moulds and yeasts and *Staphylococcus* in the air, and of total aerobic bacteria on the surfaces of the clinic.

### References

1. Alvarenga M, Veloso S, Bezerra A, Trindade B, Gomes A, Monteiro G. COVID-19 outbreak: Should dental and medical practices consider uv-c technology to enhance disinfection on surfaces? A systematic review. *J Photochem Photobiol.* 2022;9:100096.

2. Wróblewska M, Strużycka I, Mierzwińska-Nastalska E. Significance of biofilms in dentistry. *Przegl Epidemiol.* 2015;69:739-44
3. Mupparapu M, Kothari KRM. Review of surface disinfection protocols in dentistry: A 2019 update. *Quintessence Int.* 2019;50:58-65.
4. Cumbo E, Gallina G, Messina P, Scardina GA. Alternative methods of sterilization in dental practices against COVID-19. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17:5736-49.
5. Peng X, Xu X, Li Y, Cheng L, Zhou X, Ren B. Transmission routes of 2019-nCoV and controls in dental practice. *Int J Oral Sci.* 2020;12:1-6.
6. Guida M, Gallé F, Di Onofrio V, Nastro RA, Battista M, Liguori R, et al. Environmental microbial contamination in dental setting: A local experience. *J Prev Med Hyg.* 2012;53:207-12.
7. Kumbargere Nagraj S, Eachempati P, Paisi M, Nasser M, Sivaramkrishnan G, Verbeek JH. Interventions to reduce contaminated aerosols produced during dental procedures for preventing infectious diseases. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;10:CD013686.
8. Miller CH. Cleaning, sterilization and disinfection: Basics of microbial killing for infection control. *J Am Dent Assoc.* 1993;124:48-56.
9. Véliz E, Vergara T, Pearcy M, Dabanch J. Importance of cleaning and disinfection of critical surfaces in dental health services. Impact of an intervention program. *Rev Chil Infectol.* 2018;35:88-90.
10. Anglada JM, Martins-Costa M, Ruiz-López MF, Francisco JS. Spectroscopic signatures of ozone at the air-water interface and photochemistry implications. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111:11618-23.
11. Carslaw N, Fletcher L, Heard D, Ingham T, Walker H. Significant OH production under surface cleaning and air cleaning conditions: Impact on indoor air quality. *Indoor Air.* 2017;27:1091-100.
12. Kanno T, Nakamura K, Ikai H, Kikuchi K, Sasaki K, Niwano Y. Literature review of the role of hydroxyl radicals in chemically-induced mutagenicity and carcinogenicity for the risk assessment of a disinfection system utilizing photolysis of hydrogen peroxide. *J Clin Biochem Nutr.* 2012;51:9-14.
13. Moccia G, De Caro F, Pironi C, Boccia G, Capunzo M, Borrelli A, et al. Development and improvement of an effective method for air and surfaces disinfection with ozone gas as a decontaminating agent. *Medicina (Kaunas).* 2020;56:578-86.
14. Wong V, Staniforth K, Boswell TC. Environmental contamination and airborne microbial counts: A role for hydroxyl radical disinfection units?. *J Hosp Infect.* 2011;78:194-9.
15. Yamaguchi M, Abe H, Ma T, Tadaki D, Hirano-Iwata A, Kanetaka H, et al. Bactericidal Activity of TiO<sub>2</sub> nanotube thin films on Si by photocatalytic generation of active oxygen species. *Langmuir.* 2020;36:12668-77.
16. Marchesi I, Sala A, Frezza G, Paduano S, Turchi S, Bargellini A, et al. In vitro virucidal efficacy of a dry steam disinfection system against human Coronavirus, human Influenza virus, and Echovirus. *J Occup Environ Hyg.* 2021;18:541-6.
17. Ge T, Lu Y, Zheng S, Zhuo L, Yu L, Ni Z, et al. Evaluation of disinfection procedures in a designated hospital for COVID-19. *Am J Infect Control.* 2021;49:447-51.

### Funding

The present study was financed by an Odontology UFR grant from the University of Barcelona (UB)(XXIV call) and by aid from the Second Scientific Award for the best original and novel research project in Odontology granted by the School of Odontologists and Stomatologists of Catalonia (COEC).

### Conflict of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest in relation to the present study.

### Ethics

The present study was approved by the Research Ethics Committee of the Grupo Hospitalario QuironSalud-Catalunya, with registry number 2022/54-ODO-CMT.

***Authors contributions***

Anaïs Paños-Crespo, Jorge Toledano-Serrabona: study conception, conduction of the study, writing of the article, acceptance of responsibility for all aspects of the study.

Maria Angeles Sanchez-Garcés and Cosme Gay-Escoda: study conception, critical review of the article, approval of the final version of the manuscript, acceptance of responsibility for all aspects of the study.



