



ACCESO ABIERTO

Publicado: 30 de junio de 2023

Cita: Georgiou G, Kotzé A, et al., 2023. Erradicación de *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *A. baumannii* y *P. aeruginosa* resistentes a los antibióticos con dióxido de cloro in vitro, *Medicina Archivos de investigación*, [en línea] 11(6).

<https://doi.org/10.18103/mra.v11i7.2.4218>

Copyright: © 2023 Sociedad Europea de Medicina. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la licencia de atribución de Creative Commons, que permite el uso, la distribución y la reproducción sin restricciones en cualquier medio, siempre que se acredite al autor original y la fuente.

DOI

<https://doi.org/10.18103/mra.v11i7.2.4218>

ISSN: 2375-1924

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Erradicación de *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *A. baumannii* y *P. aeruginosa* resistentes a los antibióticos con dióxido de cloro in vitro

George Georgiou - Investigador Principal - [admin@docgeorge.com](mailto:admin@docgeorge.com)

Agnieszka Kotzé – Investigadora - [aggie.kotze@gmail.com](mailto:aggie.kotze@gmail.com)

#### ABSTRACTO

La resistencia bacteriana a los antibióticos (RAM) es un problema en todas las regiones, con seis patógenos que representan el 73,4 % de las muertes atribuibles a la RAM bacteriana, a saber, *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) y *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). La Organización Mundial de la Salud instituyó un Plan de acción global sobre la RAM en 2021, que aún está activo: los costos de atención médica para la RAM ascienden a muchos miles de millones de dólares en todo el mundo. Una revisión sobre la resistencia a los antimicrobianos encargada por el gobierno británico argumentó que la RAM podría matar a 10 millones de personas por año para 2050 y se ha convertido en una de las mayores amenazas para la salud pública del siglo XXI. Solo un patógeno AMR, *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (MRSA), causó más de 100,000 muertes en todo el mundo, y los otros cuatro patógenos cubiertos en esta investigación causaron la misma cantidad de muertes nuevamente. Esta investigación se ha centrado en estudiar la eficacia del dióxido de cloro para erradicar cinco bacterias AMR diferentes in vitro como un tratamiento novedoso y eficaz. Este estudio utilizó diferentes concentraciones de dióxido de cloro con cinco bacterias resistentes a los antibióticos, con concentraciones de 1 a 7 ppm. Los estudios de desinfección se compararon con controles y los resultados demostraron una desinfección superior al 95 % con concentraciones de 7 ppm. El dióxido de cloro es un agente antimicrobiano de tamaño selectivo que puede matar organismos del tamaño de una micra rápidamente, pero no causa daño real a organismos mucho más grandes como animales o humanos, ya que no puede penetrar profundamente en sus tejidos vivos. Es seguro cuando se usa en bajas concentraciones por períodos cortos. Se deben realizar ensayos clínicos para ganar experiencia en las mejores dosis y protocolos para erradicar del cuerpo los microorganismos resistentes a los antibióticos.

## Introducción

Las cinco bacterias resistentes a los antibióticos que incorporamos en este estudio de investigación incluyeron *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*.

El Grupo del Banco Mundial en 2017<sup>1</sup> advirtió que 2050

Las infecciones resistentes a los medicamentos podrían causar daños económicos globales en comparación con la crisis financiera de 2008. La RAM también amenaza el logro de varios de los objetivos de desarrollo sostenible de las Naciones Unidas, en particular los objetivos de buena salud y bienestar.<sup>2</sup>

Los costes hospitalarios se estimaron en más de 900 millones de euros en 2007.<sup>3</sup> Los costes ambulatorios fueron de 10 millones, y la pérdida de productividad del trabajo fue de 150 millones de euros. Además, la pérdida de productividad debido a la mortalidad por infección se estimó en aproximadamente 450 millones de euros al año. Estos costos económicos serán considerablemente más altos utilizando las cifras reportadas en la Carga global de resistencia bacteriana a los antimicrobianos en el informe de 2019.

4

Dada la naturaleza generalizada de las bacterias AMR en todo el mundo y que los antibióticos son cada vez menos efectivos, es esencial encontrar otras formas más naturales y novedosas de erradicar estos asesinos.

El dióxido de cloro es una forma segura y eficaz de eliminar estas bacterias AMR sin crear más resistencia.

El descubrimiento de nuevos agentes antibacterianos de origen natural con nuevos mecanismos de acción sigue siendo una alta prioridad a nivel mundial.<sup>5</sup>

Post-tratamiento de bacterias resistentes a los antibióticos Se han desarrollado más de 150 antibióticos desde el descubrimiento de la penicilina en 1940, y para la mayoría de los antibióticos disponibles, ha surgido resistencia a las bacterias que se tratan.<sup>6</sup> Sobre esta base, para 2050, el número de muertos podría ser asombroso: una persona cada tres segundos. Las bacterias han resistido casi todos los antibióticos desarrollados en los últimos 50 años.<sup>4</sup>

Existe una correlación positiva entre el uso y la prevalencia de antibióticos con tasas más altas en los países con mayor uso.

### 6 Inapropiado

Prescripción por médicos que prescriben incorrectamente antibióticos para otras infecciones, como infecciones virales o fúngicas, en lugar de infecciones bacterianas. Existe la hipótesis de que el uso excesivo de antibióticos se correlaciona con la prescripción y administración inadecuadas de la terapia antibiótica.<sup>7</sup> El uso irresponsable de antibióticos es el problema central de la resistencia a los antibióticos.

La influencia de los antibióticos ahora se está desvaneciendo debido al aumento progresivo de la resistencia observado entre todos los medicamentos antimicrobianos.<sup>8</sup> El aumento de la resistencia a los antibióticos se debe a una combinación de gérmenes expuestos a

antibióticos y la propagación de esos gérmenes y sus mecanismos de resistencia. Los antibióticos no solo se están volviendo menos efectivos, sino que su uso también puede causar disbiosis, especialmente en los intestinos o en lugares de infecciones secundarias. Los efectos sobre la salud humana pueden ser catastróficos: se ha demostrado que la reutilización excesiva de antibióticos destruye la mayor parte de la flora intestinal natural.<sup>9</sup>

Las empresas farmacéuticas tampoco están dispuestas a invertir en el desarrollo de antibióticos por varias razones, entre ellas bajos rendimientos en el mercado, restricciones en el uso de antibióticos, dificultades científicas en el desarrollo de antibióticos y el entorno regulatorio existente.<sup>3</sup> El camino para encontrar nuevos antibióticos y convertirlos en medicamentos es largo y costoso. Llevar un nuevo fármaco al mercado cuesta entre 800 y 1000 millones de dólares; en promedio, se tarda más de diez años en ingresar a la clínica.<sup>8</sup> Debido a la presión del tiempo que enfrentamos en la batalla contra la AMR, se necesita un enfoque diferente para explorar alternativas a la terapia con antibióticos.

En comparación con todas las causas subyacentes de muerte en el Estudio de Carga Global de Enfermedades, Lesiones y Factores de Riesgo (GBD) 2019, la resistencia a los antimicrobianos (AMR) habría sido la tercera causa principal de muerte GBD Nivel 3 en 2019, según el contrafactual de sin infección; sólo la cardiopatía isquémica y los accidentes cerebrovasculares representaron más muertes que 10 además, muchos patógenos nosocomiales pueden

año.

no ser eliminado por la limpieza habitual; Por lo tanto, pueden sobrevivir durante períodos prolongados en hospitales, aire interior y superficies y contribuir a la transmisión de infecciones.<sup>11</sup>

Los tratamientos alternativos representan un campo de investigación prometedor. Por lo tanto, es imperativo buscar tratamientos nuevos y novedosos para las RAM, y esta es la base de esta investigación: utilizar sustancias naturales para erradicar las RAM como MRSA, *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* y *P. aeruginosa*, que no creen más resistencia.

El descubrimiento de nuevos agentes antibacterianos de origen natural con nuevos mecanismos de acción sigue siendo una alta prioridad a nivel mundial.<sup>5</sup>

Los antimicrobianos naturales se han utilizado con éxito en el tratamiento de bacterias<sup>12</sup> y han sido la principal fuente de medicamentos a lo largo de la existencia humana, que no se debe olvidar. Los productos naturales, incluidas las plantas medicinales, siguen siendo muy populares en la actualidad, ya que aproximadamente el 80 % de la población mundial depende de los productos a base de hierbas y suplementos relacionados como parte de su régimen de atención médica.<sup>13</sup>

Productos naturales como *Rosmarinus officinalis*<sup>12</sup> y *Mangifera indica* L., *Anacardiaceae*,<sup>14</sup>

Los péptidos antimicrobianos, los aceites esenciales de plantas y sus combinaciones han demostrado ser bastante efectivos para inhibir una amplia selección de patógenos bacterianos. incluidas las cinco bacterias AMR en este estudio.<sup>15</sup>

Esta investigación examina la erradicación de MRSA, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a los antibióticos con ampollas de CDSpure que contienen 2990 ppm por ampolla de 5 ml/16 de dióxido de carbono in vitro.

Importancia de los cinco resistentes a los antimicrobianos bacterias

*Acinetobacter baumannii*

*Acinetobacter baumannii* comprende bacterias gramnegativas, estrictamente aerobias, no fermentadoras, no fastidiosas, no móviles, catalasa positivas y oxidasa negativas. 22.23

Aunque *A. Baumannii* representa un porcentaje relativamente bajo de los casos de bacteriemia en general, la resistencia a múltiples fármacos es un problema global para estos 24 A nivel mundial, más del 71% son especies de múltiples fármacos. resistente. 25 En los Estados Unidos, el 27 % de los pacientes con ventilación mecánica estaban colonizados con *A. baumannii* resistente a múltiples fármacos. 26 *A. baumannii* causa

resistencia

Estrategias, incluidas las  $\beta$ -lactamasas cromosómicas, las bombas de expulsión y las enzimas modificadoras de aminoglucósidos. Después de la exposición a la albúmina sérica humana, *A. baumannii* aumenta la transcripción de las  $\beta$ -lactamasas, lo que indica mecanismos de resistencia antimicrobiana potencialmente inherentes en el suero. 27

Debido a la prevalencia de infecciones y brotes causados por *A. baumannii* multiresistente, pocos antibióticos son efectivos para tratar las afecciones causadas por este patógeno. 28. Muchos informes han demostrado que *A. baumannii* desarrolla rápidamente resistencia a los antimicrobianos y se han aislado cepas multiresistentes. 29 La Organización Mundial de la Salud (OMS) también ha asignado a *A. baumannii* como un patógeno de prioridad crítica que representa una amenaza significativa para la salud humana y para el cual se necesitan con urgencia nuevos antibióticos. 30 *Escherichia coli*

*E. coli* frecuentemente resiste múltiples clases de antimicrobianos entre las cepas que causan UTI y bacteriemia superior al 50%. 32 *E. coli* es una de las principales causas de enfermedades diarreicas, peritonitis, colitis, bacteriemia, mortalidad infantil e infecciones del tracto urinario en todo el mundo, cuyo tratamiento cuesta miles de millones de dólares y mata a aproximadamente 2 millones de seres humanos al año. 33

*E. coli* es una bacteria Gram-negativa versátil, fácil de encontrar y susceptible de alteración genética natural y aleatoria. 34 Tiene un tamaño de 1-3 x 0,4-0,7  $\mu$ m y 0,6 a 0,7  $\mu$ m en volumen. 35

*Klebsiella pneumoniae* K. Las cepas de *pneumoniae* se clasifican comúnmente como oportunistas, hipervirulentas (hyKp) o resistentes a múltiples fármacos (MDR). 36 Mientras que la clásica *K. pneumoniae* (ckp) consiste en cepas oportunistas frecuentemente asociadas con enfermedades nosocomiales.

Infecciones, las cepas hipervirulentas se consideran bacterias adquiridas en la comunidad que pueden infectar a personas de todas las edades, incluidas las personas sanas. 37,38 La rápida propagación de cepas de *K. pneumoniae* resistentes a múltiples fármacos es una importante amenaza para la salud mundial, ya que estas cepas son responsables de muchas infecciones hospitalarias con alta morbilidad y mortalidad.

*Klebsiella pneumoniae*, se describe como una bacteria gram negativa, encapsulada e inmóvil. 39

*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA)

MRSA se considera uno de los patógenos nosocomiales más peligrosos que causan muchas infecciones difíciles de tratar en los hospitales y se denominó Hospital Associated MRSA (HA-MRSA). 40 En los últimos 20-25 años, MRSA se aisló de entornos comunitarios y, por lo tanto, ha surgido Community Associated MRSA (CA MRSA). 40

MRSA puede causar varias infecciones específicas de órganos, siendo las más comunes la piel y los tejidos subcutáneos, seguidas de infecciones invasivas como osteomielitis, meningitis, neumonía, absceso pulmonar y empiema. La endocarditis infecciosa causada por MRSA se asocia con una mayor morbilidad y mortalidad en comparación con otros organismos y está relacionada con el abuso de drogas por vía intravenosa. 41

El *Staphylococcus* resistente a la meticilina (MRSA) *aureus* es un coco grampositivo que es tanto catalasa como coagulasa positivo. 42

*Pseudomonas aeruginosa*

*P. aeruginosa* se encuentra entre las cinco principales causas de bacteriemia nosocomial, que con frecuencia conduce a sepsis. 43

*P. aeruginosa* es un patógeno oportunista gramnegativo importante que causa muchas infecciones agudas y crónicas graves con altas tasas de morbilidad y mortalidad de hasta el 40%. Lo que hace de *P. aeruginosa* un patógeno particularmente desafiante es su alta resistencia intrínseca y adquirida a muchos de los antibióticos disponibles. 44

Es un patógeno humano oportunista capaz de causar muchas infecciones agudas y crónicas que amenazan la vida, particularmente en pacientes con defensa inmunológica comprometida. Es particularmente importante ya que es la principal causa de morbilidad y mortalidad en pacientes con fibrosis quística (FQ). es uno de los mejores patógenos nosocomiales que afectan a pacientes hospitalizados mientras que son intrínsecamente resistentes a una amplia gama de antibióticos. 45

Dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) Antimicrobiano El dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) es un gas amarillo a amarillo rojizo que puede descomponerse rápidamente en el aire. 48

El dióxido de cloro tiene un peso molar de 67.452

g/mol, y la solubilidad en agua a nivel del mar es de 3,01 g/L (3000 ppm) a 25 °C y 34,5 mm Hg.<sup>49,50,51</sup> Es un biocida eficaz en concentraciones tan bajas como 0,1 ppm y en un amplio rango de pH. Incluso en agua fría, es diez veces más soluble que el cloro.<sup>52</sup> El dióxido de cloro tiene un potencial de oxidación más bajo que el ozono y el cloro. El pH óptimo está entre pH 6,0 y pH 10,0 y generalmente es más eficaz contra los microorganismos a un pH superior a 8,0 que el cloro.<sup>53</sup>

Cuando reacciona en el agua, forma iones de clorito, un químico muy reactivo que puede matar bacterias y microorganismos en cualquier solución.

El dióxido de cloro mata rápidamente bacterias, virus y Giardia y es efectivo contra Cryptosporidium.<sup>52</sup> El dióxido de cloro también mejora el sabor y el olor, destruye el sulfuro y los fenoles, controla las algas y neutraliza los iones de hierro y manganeso. Es un biocida eficaz en concentraciones tan bajas como 0,1 ppm y en un amplio rango de pH.

#### Dióxido de cloro, biopelículas y resistencia

El dióxido de cloro es más adecuado para uso terapéutico ya que puede penetrar y eliminar el biofilm.

Según Simpson et al. (1993)<sup>54</sup> El dióxido de cloro puede eliminar biopelículas rápidamente porque es altamente soluble en agua. A diferencia del ozono, no reacciona con los polisacáridos extracelulares del biofilm. De esta manera, el dióxido de cloro puede penetrar las biopelículas rápidamente para alcanzar y matar los microbios que viven dentro de la película. La penetración de biopelículas para erradicar microorganismos es un verdadero desafío tanto para la medicina natural como para la alopática.

El biofilm es una estructura tridimensional formada por células microbianas que se adhieren a superficies bióticas o abióticas bajo diversos factores fisiológicos y ambientales que aún necesitan ser identificados. Además, estas células se multiplican continuamente y producen sustancias poliméricas extracelulares (EPS), formando una matriz que encierra a estos microbios.

Las biopelículas son agregados de células microbianas envueltas por matrices de exopolisacáridos de producción propia en superficies bióticas o abióticas. Las biopelículas demuestran una protección considerable contra los antibióticos, la defensa inmunitaria del huésped y las condiciones ambientales adversas que las células de vida libre.<sup>55</sup> Se estima que entre el 65% y el 80% de las infecciones humanas son causadas por bacterias formadoras de biopelículas.<sup>56</sup> Se estima que las biopelículas son 1000 veces más resistentes a los antibióticos que las células de vida libre.<sup>57</sup> La interacción entre las células bacterianas y los factores ambientales desencadena la formación de biopelículas. El dióxido de cloro puede penetrar y erradicar las biopelículas, una ventaja significativa sobre muchos antibióticos que no pueden hacer esto.

Otra ventaja muy significativa del uso terapéutico del dióxido de cloro frente a los antibióticos

es que no puede crear resistencia a los antibióticos en las bacterias.<sup>58</sup> La presencia de los cuatro aminoácidos (cisteína, metionina, tirosina y triptófano) y especialmente la cisteína y los tioles biológicos juegan un papel crucial en todos los sistemas vivos, incluidos los microbios, para que ningún microbio pueda desarrollar una resistencia contra el dióxido de cloro.<sup>59</sup>

El dióxido de cloro penetra en las paredes de las células bacterianas y reacciona con los aminoácidos vitales en el citoplasma de la célula para matar el organismo. El subproducto de esta reacción es el clorito, que no se sabe que presente riesgos significativos para el medio ambiente o la salud humana.

#### Seguridad y eficacia del dióxido de cloro

En 1967, la EPA de EE. UU. registró por primera vez la forma líquida de dióxido de cloro para su uso como desinfectante y sanitizante.

<sup>49</sup> El dióxido de cloro es un agente antimicrobiano de tamaño selectivo que puede matar organismos del tamaño de una micra rápidamente, pero no puede dañar organismos mucho más grandes como animales o humanos, ya que no puede penetrar profundamente en sus tejidos vivos.<sup>59</sup> El dióxido de cloro no puede penetrar profundamente en los tejidos de los organismos más grandes, y la circulación de los organismos más grandes proporciona un suministro constante de antioxidantes que ofrecen protección contra

los efectos de los oxidantes del dióxido de cloro.<sup>60</sup> Otra investigación ha demostrado que el dióxido de cloro, un oxidante fuerte, puede inhibir o destruir microorganismos en concentraciones que van de 1 a 100 ppm, produciendo una potente actividad antiviral, inactivando > o igual al 99,9 % de los virus en 15 segundos para la sensibilización.<sup>61,62,63,64</sup> Georgiou (2021)<sup>65</sup> demostró con éxito la eficacia del dióxido de cloro frente a MRSA in vitro, con una inhibición del crecimiento del 99,99 %-100 % incluso en pequeñas concentraciones.

La investigación en curso en la Innerlight Biological Research Foundation ha estado investigando el uso clínico del dióxido de cloro, incluidas esporas, bacterias y virus no específicos, durante muchos años.

aplicaciones durante más de veinticinco años.<sup>66</sup>

Amplias aplicaciones clínicas del dióxido de cloro al virus de Epstein-Barr (EBV), citomegalovirus (CMV); virus de la hepatitis A; B; El VIH (virus del SIDA) y otros se utilizan continuamente.<sup>66</sup> El 14 de

octubre de 2020, el parlamento de BOLIVIA aprobó un proyecto de ley (ley 1351)<sup>67</sup> que permite el uso del dióxido de cloro como medicamento contra el COVID 19. El dióxido de cloro se ha utilizado con éxito en países como Bolivia, México, Perú, Brasil y Colombia. En Bolivia, la Ley No. 1351 de 2020 (Gaceta Oficial de Bolivia, 2020) que autorizó la preparación, comercialización, suministro y uso de la solución de dióxido de cloro para

prevención y tratamiento ante la pandemia del COVID 19.

Más recientemente, en 2021, se realizó un estudio de Insignares Carrione<sup>58</sup> para determinar la efectividad del dióxido de cloro oral en el tratamiento COVID-19 demostró que el dióxido de cloro es eficaz en el tratamiento de COVID-19.

el dióxido de cloro tiene tres átomos; Los científicos llaman a este enlace ion "inestable" o "cargado negativamente".<sup>69</sup>

Cuando este enlace de átomos se separa, crea un pulso de energía subatómico muy pequeño. Este pulso ocurre cuando el dióxido de cloro evita los patógenos en el cuerpo. Solo ataca microbios "ácidos" y "anaeróbicos" (virus, bacterias, hongos o parásitos) en el cuerpo y no dañará el microbioma. Estas bacterias sobreviven sólo sin

oxígeno e incluyen muchos organismos patógenos.

66

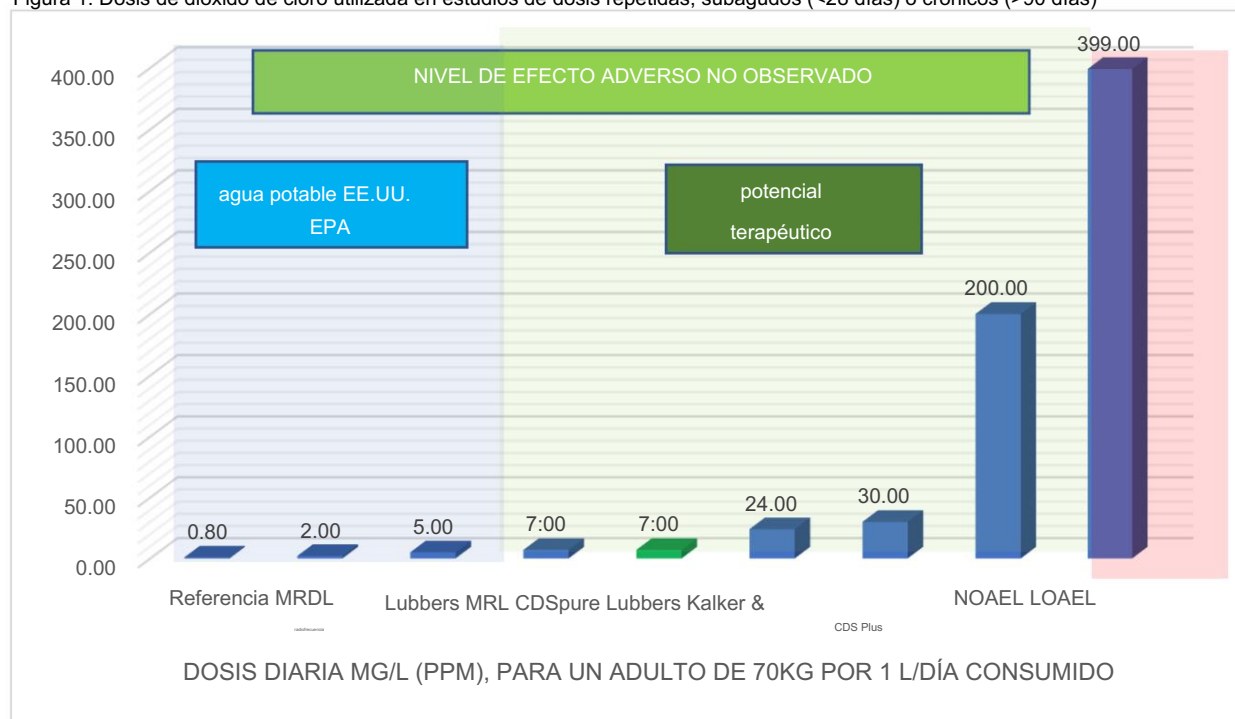
Los organismos anaerobios no han desarrollado defensas adecuadas contra el ataque de oxígeno, particularmente el oxígeno naciente, y rápidamente sucumben a su acción letal. Todas las células sanas que necesitan oxígeno para vivir o que son "alcalinas" están a salvo.<sup>69</sup>

Toxicología del dióxido de cloro

La Figura 1 ilustra los niveles de referencia para la desinfección del agua potable de la Agencia de Protección Ambiental de EE.

UU. (zona azul). los niveles de la eficacia terapéutica potencial en animales de prueba con toxicidad cero se muestra en la zona verde. Los niveles tóxicos se muestran en la zona roja (por encima de 399 ppm). El nivel de 5 ppm que erradicó el 99 % o más de las bacterias resistentes a los antibióticos en este estudio está dentro del área azul/verde de toxicidad cero.

Figura 1. Dosis de dióxido de cloro utilizada en estudios de dosis repetidas, subagudos (<28 días) o crónicos (>90 días)



El dióxido de cloro se agrega al agua potable para proteger a las personas de bacterias dañinas y otros 49 La mayoría de las personas están expuestas a microorganismos. pequeñas cantidades de dióxido de cloro y clorito al beber agua tratada, incluidos los alimentos, ya que se utiliza como desinfectante en la industria alimentaria.

No hay evidencia de que el dióxido de cloro o el clorito afecten la reproducción en humanos. Los estudios reproductivos en animales machos no demuestran consistentemente alteraciones en los índices espermatogénicos, morfología anormal o motilidad; sin embargo, los efectos informados aparecen en dosis más altas que los efectos adversos del desarrollo.

De manera similar, se producen alteraciones en los parámetros hematológicos a dosis más altas. No se localizó información

con respecto a la muerte en humanos después de la exposición oral al dióxido de cloro.<sup>49,69.</sup>

En un estudio de Scatina, 70 voluntarios humanos bebieron dióxido de cloro en una solución de hasta 24 ppm y no mostraron efectos adversos.

metodología  
Materiales y métodos

Este estudio utilizó cinco bacterias resistentes a los antibióticos: E coli, S aureus, K pneumoniae, S pneumoniae, A baumannii y P aeruginosa.

Todos fueron obtenidos de un laboratorio certificado.

(ATTC, Alemania)<sup>71</sup> en un vial congelado y cultivado en placas de agar sangre.

Se tomó una muestra de cada bacteria de los cultivos aislados utilizando un asa esterilizada en un recipiente de seguridad.





Gabinete Clase II de las placas de cultivo y colocado en tubos estériles con 5 ml de Caldo Tryptic Soy (TSB).

Estos tubos de cultivo se incubaron a 37 grados centígrados en una incubadora Heraeus. Una vez en un conteo razonable, los tubos se congelaron y luego se almacenaron en nitrógeno líquido a -176 grados centígrados hasta su uso.

#### Contando bacterias

Al cuantificar bacterias en laboratorios, es común contar las unidades formadoras de colonias, que es un método simple que da una buena idea general de la viabilidad celular. Una desventaja importante es que lleva días obtener resultados, que diferirían de un técnico a otro según las técnicas y condiciones de preparación de la muestra.

Este estudio obtuvo recuentos de bacterias utilizando el contador de células microbianas QUANTOM Tx™ de Logos Biosystems.72 Es un contador de células automatizado basado en imágenes que puede identificar y contar recuentos de bacterias individuales en minutos. El QUANTOM Tx enfoca, captura y analiza automáticamente múltiples imágenes de células teñidas con fluorescencia para detectar células bacterianas con alta sensibilidad y precisión. Contiene un sofisticado algoritmo de detección y eliminación de células que puede

identifique células bacterianas individuales incluso en los grupos más reducidos. En estos experimentos, utilizamos el kit de tinción de células viables para detectar células vivas o viables frente a células muertas.

Para preparar la muestra para el contador QUANTOM se tomaron 10 microlitros ( $\mu$ l) del medio de cultivo con una pipeta electrónica DLAB previamente calibrada y se colocaron en un tubo Eppendorf esterilizado de 1,5 ml. A esto se añadieron 2  $\mu$ l de Viable Cell Staining Dye, que se incubó en un incubador Heraeus a 37 grados centígrados durante 30 minutos.

A esta muestra, agregamos 8 l de tampón para mejorar la señal fluorescente.

#### Preparación de solución de dióxido de cloro

Para preparar el dióxido de cloro, se utiliza una ampolla de 5 ml de dióxido de cloro denominada CDS Pure® que contiene exactamente 2990 ppm de dióxido de cloro (CAS 10049-04-41) fabricado por AQARIUS pro-life se utilizó para los experimentos.

Esta es una solución de dióxido de cloro esterilizada, lista para usar, en una ampolla de vidrio sellada que es nanofiltrada de alta pureza, pH neutro y libre de cloro.

La solución de dióxido de cloro (agua desmineralizada, dióxido de cloro) no contiene residuos, iones de plata ni nanopartículas.

Dado que cada ampolla de 5 ml contiene exactamente 2.900 ppm de dióxido de cloro, es fácil determinar cuántos mililitros se necesitan. Las concentraciones utilizadas variaron entre 1 y 7 ppm de

Dióxido de cloro. Las cantidades utilizadas para cada uno = 1.667 fue de 1 ppm = 3,344  $\mu$ l; 3 ppm  $\mu$ l CDS Pure®; 2 la concentración ppm = 5016  $\mu$ l; 4 ppm = 6688  $\mu$ l; 5 ppm = 8336  $\mu$ l; 6 ppm = 10.032  $\mu$ l y 7 = 11.704  $\mu$ l. El tiempo de exposición fue irrelevante. ppm

ya que la desinfección fue inmediata, en cuestión de segundos. A estos tubos se les añadió dióxido de cloro a diferentes concentraciones. La concentración de 5 ml de CDS de dióxido de cloro utilizada en el experimento osciló entre 1.667  $\mu$ l (1 ppm) y 11.704  $\mu$ l (7 ppm), se añadió a los tubos con una pipeta electrónica DLAB y se mezcló suavemente para cada bacteria.

También se preparó un tubo control a partir del mismo medio de cultivo para cada tubo experimental.

De acuerdo con la cantidad de dióxido de cloro aplicada al tubo experimental, se agregó la misma cantidad de agua destilada al tubo de control para mantener constante el factor de dilución.

De estos tubos de control y experimentales, se tomaron 6  $\mu$ l de la muestra con una pipeta electrónica y se colocaron en los portaobjetos de recuento de células M50. Los portaobjetos se colocaron en la centrifuga QUANTOM durante 8 minutos a 300 RCF (fuerza centrífuga relativa) y luego se colocaron en el contador de células microbianas QUANTOM para tomar una medida de referencia (control) y otra medida del tubo experimental.

Los ajustes óptimos del contador de células microbianas QUANTOM para las distintas bacterias se establecieron de acuerdo con la forma y el tamaño de las distintas bacterias para optimizar el recuento.

#### resultados

Para evaluar el potencial de desinfección del dióxido de cloro en los cinco tipos de bacterias resistentes a los antibióticos en este estudio, ampollas de 5 ml de CDSpure se utilizaron en todo momento, ya que estas ampollas contienen una concentración estandarizada de 2990 ppm. Las concentraciones fueron desde 1 ppm hasta 7 ppm, en incrementos de 1 ppm.

Las muestras de control y experimentales a las diversas concentraciones se realizaron por triplicado, para lo cual se tomó un promedio para cada una. Estos valores se compararon con la muestra de control sin la

CD-Track dióxido de cloro.

En general, con los cinco estudios de bacterias, hubo una desinfección superior al 95 % a la concentración máxima de 7 ppm de dióxido de cloro, y algunas especies se erradicaron a concentraciones más bajas de 4 a 7 ppm (prueba t,  $p < 0,01$ ).

Examinemos cada especie de bacteria individualmente en las tablas y figuras a continuación.

Desinfección *Acinetobacter baumannii*

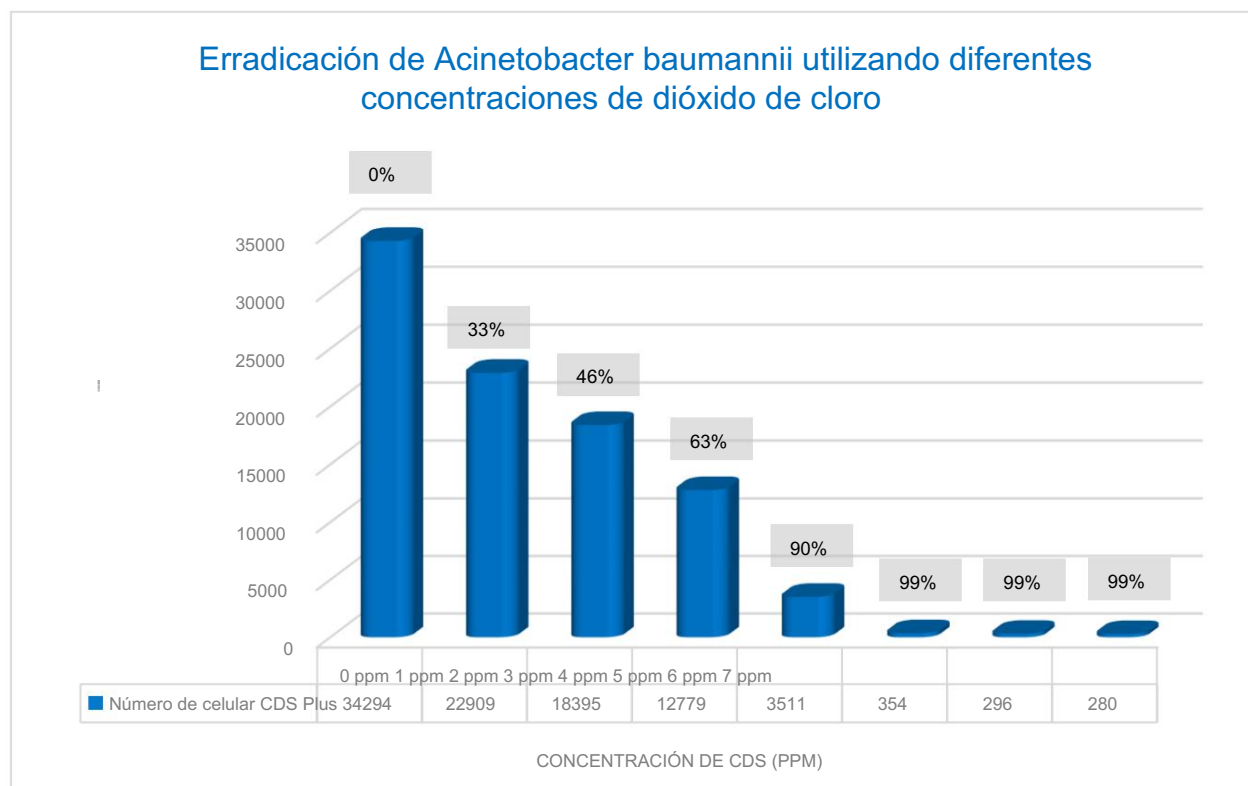
Con *Acinetobacter baumannii*, hubo una desinfección del 99% a concentraciones de dióxido de cloro de 5, 6 y 7 ppm (t-test,  $p < 0.01$ ) (Tabla 1, Figura 2).

Tabla 1: Comparación de recuentos bacterianos de *Acinetobacter baumannii* antes y después de la exposición al dióxido de cloro.

Concentración de CDS (ppm)	Concentración de CDS (µl)	concentración celular (células por ml)		Tamaño (µm)		Numero de celular		Diferencia en el número de celdas	% de diferencia en el número de celdas
		C	mi	CE		C	mi		
0 ppm	0	1.19E+09	1.19E+09	1.1		1.1	34293	34293	0
1 ppm	1.67	1.19E+09	7.95E+08	1.1		22909	11384	1.134293	18395
2 ppm	3.34	1.19E+09	6.39E+08	1.1		1.134293	12779	21514	1.19E+09
3 ppm	5.02	1.19E+09	4.44E+08	1.1		1.22E+08	1.109	34293	3511
4 ppm	6.69	1,19E+09	1,23E+07	1,1	0,8	34293	353	1,19E+09	1,03E+07
5 ppm	8.36	295	1,19E+09	4,21E+07	1,1	0,7	34293	279	
6 ppm	03/10								33998
7 ppm	11.71								34014

C = control; E = experimental

Figura 2. Comparación de Control vs Experimental de *Acinetobacter baumannii* coli Utilizando Dióxido de Cloro a Diferentes Concentraciones



desinfección de *Escherichia coli*

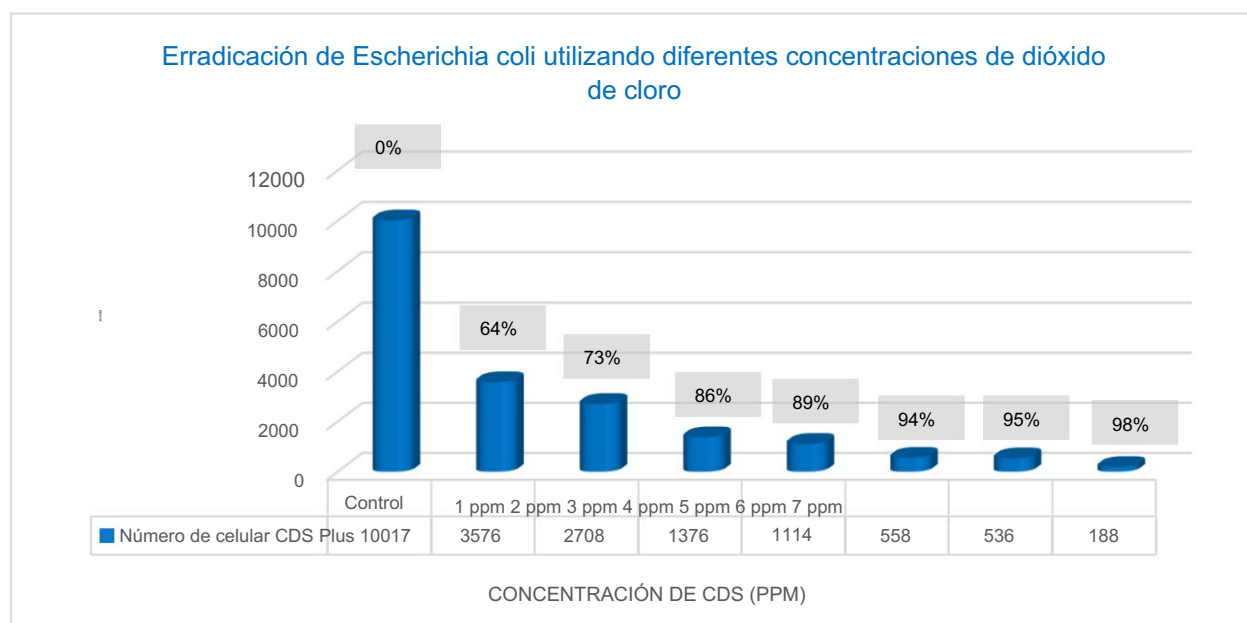
Con *E. coli*, hubo > 98 % de desinfección a una concentración de cloro de 7 ppm (prueba t, p<0,01) (Tabla 2, Figura 3).

Tabla 2: Comparación de recuentos bacterianos de *Escherichia coli* antes y después de la exposición al dióxido de cloro.

Concentración de CDS (ppm)	Concentración de CDS (µl)	concentración celular (células por ml)		Tamaño (µm)		Numero de celular		Diferencia en el número de celda	% diferencia en número de celular
		C	mi	C	mi	C	mi		
0 ppm	0	4.16E+00	4.16E+00	1.8	1.8	10017	10017	0	0
1 ppm	1.67	1.8	10017	3576	6441	4.16E+00	6.16E+07	1.8	64.30
2 ppm	3.34	4.16E+00	3.18E+07	1.8	1.9	10017	1376	8641	72.96
3 ppm	5.02	10017	1114	8903					86.27
4 ppm	6.69								88.88
5 ppm	8.36	4.16E+00	1.14E+07	1.8	1.9	10017	558		94.43
6 ppm	03/10	4.16E+00	3.82E+06	1.8	1.9	10017	536	4.16E+00	94.65
7 ppm	11.71	1.8	1.8	10017	188				98.12

C = control; E = experimental

Figura 3. Comparación de Control vs Experimental de Escherichia coli Usando Dióxido de Cloro a Diferentes Concentraciones



#### Desinfección de Klebsiella pneumoniae

Con la bacteria *K. pneumoniae* hubo una desinfección > 94% a una concentración de cloro de 6 y 7 ppm (t-test,  $p < 0.01$ ) (Tabla 3, Figura 4).

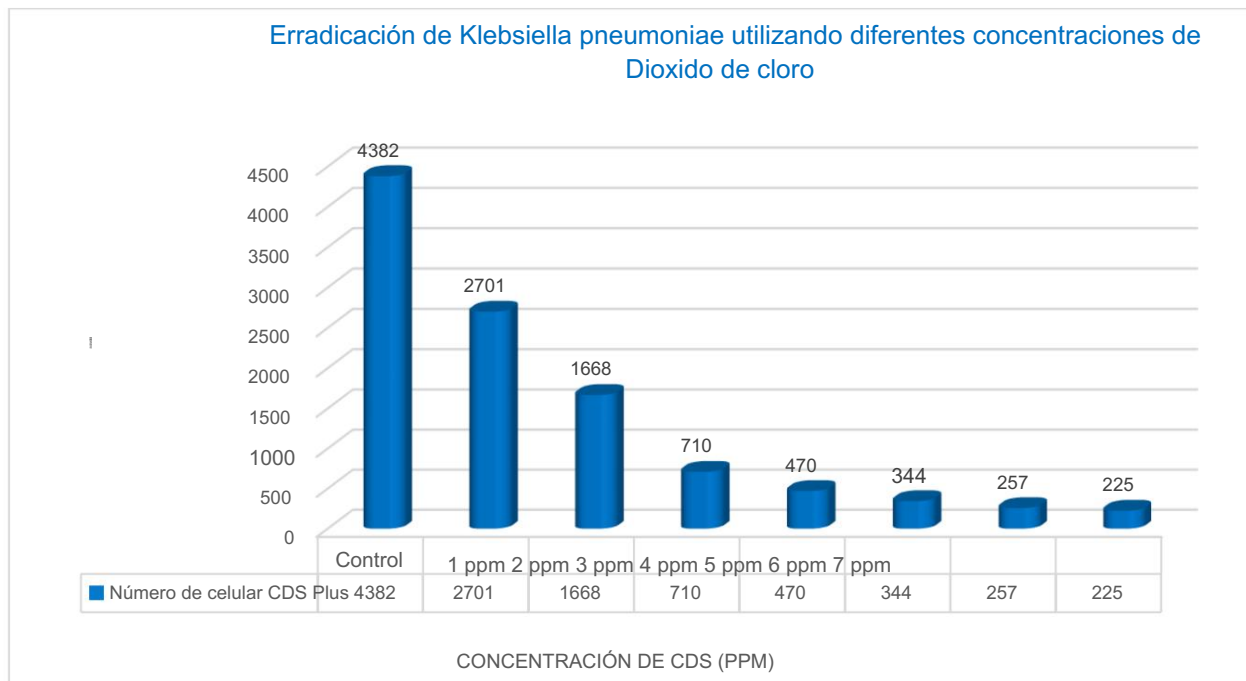
Tabla 3: Comparación de recuentos bacterianos de *Klebsiella pneumoniae* antes y después de la exposición al dióxido de cloro.

Concentración de CDS (ppm)	Concentración de CDS (µl)	Celula concentración (células por ml)		Tamaño (µm)		Numero de celular		Diferencia en el número de celda	% de diferencia en el número de celdas
		C	mi	CE		C	mi		
0 ppm	0	1.03E+08	1.03E+08	1.1	1.1	4382	4382	0	0
1 ppm	1.67	1.03E+08	6.25E+07	1.1	1.1	4382	2701	1681	38.36
2 ppm	3.34	1.03E+08	3.86E+07	1.1	1.2	4382	1668	2714	61.94
3 ppm	5.02	1.03E+08	1.64E+07	1.1	1.2	4382	710	3672	83.80
4 ppm	6.69	1.03E+08	1.06E+07	1.1	1.1	4382	470	3912	89.27
5 ppm	8.36	1.03E+08	6.72E+06	1.1	0.9	4382	344	4038	92.15
6 ppm	03/10	1.03E+08	5.97E+06	1.1	0.8	4382	257	4125	94.14
7 ppm	11.71	1.03E+08	3.82E+06	1.1	0.8	4382	225	4157	94.87

C = control; E = experimental



Figura 4. Comparación de Control vs Experimental de Klebsiella pneumoniae Utilizando Dióxido de Cloro a Diferentes Concentraciones



Desinfección de Staphylococcus Aureus resistente a la metilina (MRSA)

Con el MRSA, hubo una desinfección > 99 % a una concentración de cloro de 4 - 7 ppm (prueba t,  $p < 0,01$ )

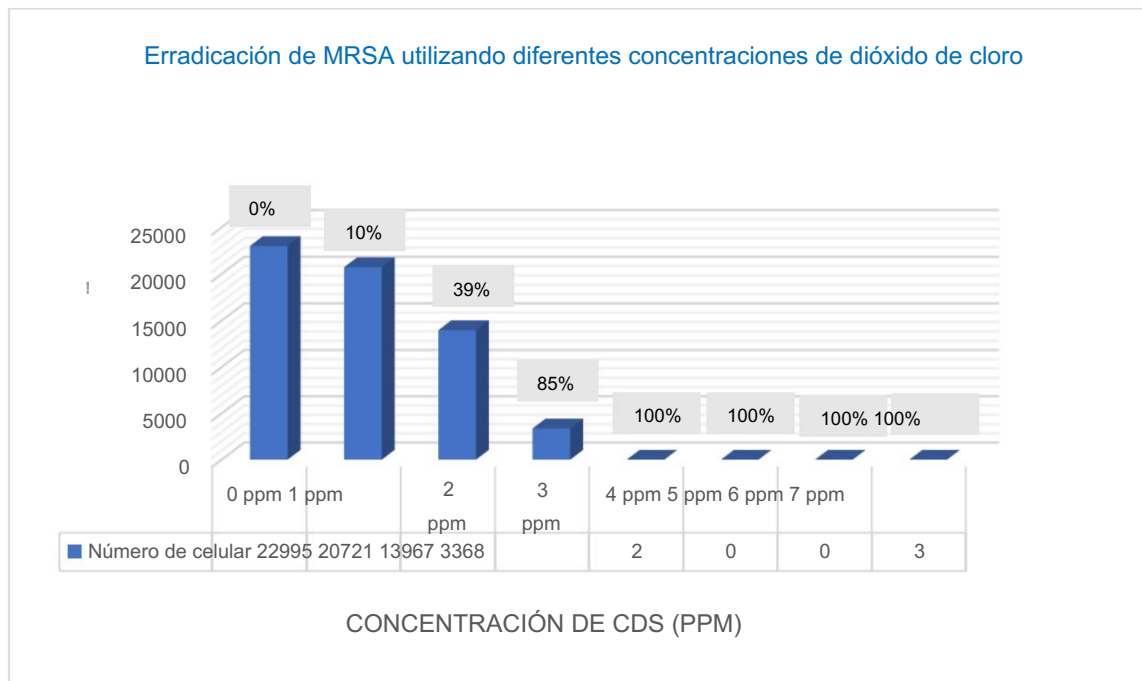
(Cuadro 4, Figura 5).

Tabla 4: Comparación de recuentos bacterianos de MRSA antes y después de la exposición al dióxido de cloro

Concentración de CDS (ppm)	Concentración de CDS ( $\mu$ l)	Concentración celular (células por ml)				Tamaño ( $\mu$ m)		Numero de celular		Diferencia en el número de celda	% diferencia en número de celular
		C	mi	C	mi	C	mi				
0 ppm	0	5,32E+08	5,32E+08	2,6	2,6	22995	22995	0			0
1 ppm	1.67	5,32E+08	4,80E+08	2,6	2,1	22995	20721	2274			9.89
2 ppm	3.34	5,32E+08	3,24E+08	2,6	1,6	22995	13967	9028			39.26
3 ppm	5.02	5,32E+08	7,80E+07	2,6	1,1	22995	3368	19627			85.35
4 ppm	6.69	5,32E+08	3,47E+04	2,6	0,8	22995	2		22993		99.99
5 ppm	8.36	5,32E+08	0,00E+00	2,6	0,0	22995	0		22995		100.00
6 ppm	03/10	5,32E+08	0,00E+00	2,6	0,0	22995	0		22995		100.00
7 ppm	11.71	5,32E+08	6,95E+04	2,6	1,1	22995	3		22992		99.99

C = control; E = experimental

Figura 5. Comparación de control vs experimental de MRSA usando dióxido de cloro en diferentes concentraciones

**Desinfección de Pseudomonas aeruginosa**

Con la bacteria *P. aeruginosa* hubo una desinfección >95% a una concentración de cloro de 7 ppm (prueba t,  $p < 0.01$ ) (Tabla 5, Figura 6). Esta investigación indica que la solución de dióxido de cloro es una sustancia natural eficaz que puede erradicar todos

las especies de bacterias resistentes a los antibióticos analizadas.

Las concentraciones de dióxido de cloro requeridas para lograr una desinfección del 95 % o más para las cinco bacterias resistentes a los antibióticos es de 4 a 7 ppm, que se encuentran dentro de los límites potencialmente seguros (consulte la Figura 1).

Figura 6. Comparación de Control vs Experimental de Pseudomonas aeruginosa Utilizando Dióxido de Cloro a Diferentes Concentraciones

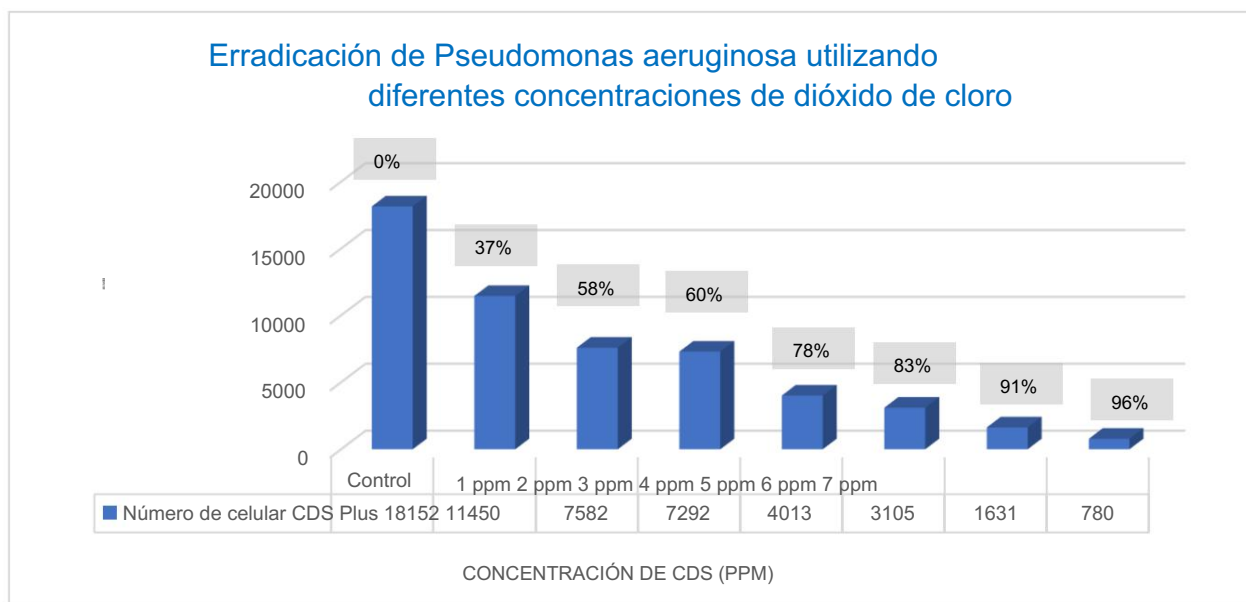


Tabla 5: Comparación de recuentos bacterianos de *Pseudomonas aeruginosa* antes y después de la exposición al dióxido de cloro.

Concentración de CDS (ppm)	Concentración de CDS (µl)	Concentración celular (células por ml)		Tamaño (µm)		Número de celular		Diferencia en el número de celda	% diferencia en número de celular	
		C	mi	C	mi	C	mi			
0 ppm	0	4,26E+08	4,26E+08	2,5	2,5	18152	18152	0	0	
1 ppm	1.67	4,26E+08	2,66E+08	2,5	2,5	18152	11450	6702	36.92	
2 ppm	3.34	4,26E+08	1,76E+08	2,5	2,6	18152	7582	10570	58.23	
3 ppm	5.02	4,26E+08	1,60E+08	2,5	2,5	18152	7292	10860	59.83	
4 ppm	6.69	4,26E+08	8,67E+07	2,5	2,5	18152	4013	14139	77.89	
5 ppm	8.36	4,26E+08	5,28E+07	2,5	2,3	18152	3105	15047	82.89	
6 ppm	03/10	4,26E+08	3,68E+07	2,5	2,2	18152	1631		16521	91.01
7 ppm	11.71	4,26E+08	1,80E+07	2,5	2,4	18152	780		17372	95.70

C = control; E = experimental

### Discusión

El aumento de bacterias resistentes a los antibióticos plantea una amenaza importante para la salud pública en todo el mundo. Estas resistentes bacterias han desarrollado resistencia a los antibióticos, sean cada vez lo que hace que las infecciones convencionales más difíciles de tratar y conducen a una

aumento de las tasas de mortalidad y mayores costos de atención médica.

Se prevé que la tasa de mortalidad anual notificada supere los 10 millones para 2050 por enfermedades resistentes a los antibióticos, superando en número a las muertes por cáncer.<sup>1,2,3,4</sup> Esto representa una grave amenaza para la salud mundial, ya que las infecciones que antes se controlaban rápidamente ahora pueden provocar enfermedades prolongadas. , lo que genera mucho sufrimiento y una carga para el sistema de salud.

No se puede subestimar el impacto de la investigación de enfoques alternativos para erradicar las bacterias resistentes a los antibióticos. Esta investigación puede salvar vidas a escala mundial a través de

lo siguiente:

1. Resultados mejorados para los pacientes: las estrategias alternativas pueden tratar eficazmente las infecciones que antes se consideraban intratables. Al dirigirse con éxito a las bacterias resistentes a los antibióticos, estos enfoques pueden mejorar los resultados de los pacientes, reducir las tasas de morbilidad y mortalidad y devolver la esperanza a las personas afectadas por infecciones resistentes.
2. Reducción de la carga de atención médica: la creciente carga de infecciones resistentes a los antibióticos ejerce presión sobre los sistemas de atención médica en todo el mundo. Al encontrar formas alternativas de combatir la resistencia, se puede aliviar la carga de los recursos de atención médica, lo que resulta en una mayor eficiencia, una reducción de las estancias en el hospital y una disminución de los costos de atención médica.
3. Prevención de epidemias: si no se controlan, las bacterias resistentes pueden causar epidemias generalizadas. La investigación sobre enfoques alternativos ofrece la oportunidad de prevenir la aparición y propagación de cepas resistentes, salvaguardando en última instancia la salud pública y evitando brotes a gran escala.

4. Diversificación de opciones de tratamiento: los tratamientos novedosos y naturales brindan alternativas

enfoques para combatir la resistencia a los antibióticos.

Amplían la gama de opciones de tratamiento disponibles para los proveedores de atención médica, asegurando que tengan múltiples herramientas para combatir las infecciones resistentes. Esta diversificación aumenta las posibilidades de resultados de tratamiento exitosos y ayuda a abordar las limitaciones de los antibióticos convencionales.

5. Superación de los mecanismos de resistencia: las bacterias sofisticadas antibióticas desarrollan mecanismos resistentes para evadir los efectos de los antibióticos tradicionales. Los tratamientos nuevos y naturales ofrecen el potencial de atacar las bacterias a través de diferentes vías, eludiendo o superando los mecanismos de resistencia existentes, brindando un nuevo enfoque para combatir las cepas resistentes y reduciendo la probabilidad de falla del tratamiento.
6. Efectos secundarios y toxicidad reducidos: muchos antibióticos convencionales tienen efectos secundarios asociados y pueden ser tóxicos para el cuerpo, principalmente cuando se usan durante períodos prolongados. Los tratamientos naturales, como el dióxido de cloro, pueden ofrecer perfiles de toxicidad más bajos y efectos secundarios reducidos. Esto es particularmente ventajoso para las poblaciones vulnerables, como los niños, las mujeres embarazadas y los ancianos, que pueden ser más susceptibles a los efectos adversos de los antibióticos convencionales.
7. Preservación de la microbiota intestinal: 9 Los antibióticos convencionales a menudo alteran el equilibrio de las bacterias beneficiosas en el intestino, lo que provoca disbiosis y posibles consecuencias para la salud a largo plazo. Los tratamientos novedosos y naturales pueden ofrecer enfoques específicos que eliminen selectivamente las bacterias dañinas mientras preservan la diversidad y la función de la microbiota intestinal. Esta preservación es crucial ya que un microbioma intestinal saludable juega un papel vital en la función inmunológica, la digestión y el bienestar general.

8. Soluciones sostenibles y respetuosas con el medio ambiente: la producción y el uso de antibióticos convencionales pueden tener efectos ambientales adversos, incluido el desarrollo de cepas resistentes a los antibióticos en el medio ambiente. Los tratamientos naturales a menudo provienen de fuentes renovables, como plantas o compuestos derivados de microbios, que se pueden producir de manera sostenible. Además, estos tratamientos pueden tener un impacto ambiental mínimo, ya que a menudo se descomponen más fácilmente, lo que reduce el riesgo de daños ecológicos a largo plazo.

9. Potencial para terapias combinadas: los tratamientos naturales se pueden combinar con antibióticos convencionales u otras terapias alternativas para crear efectos sinérgicos y mejorar los resultados del tratamiento. Este enfoque permite regímenes de tratamiento personalizados y adaptados, optimizando los beneficios potenciales de cada modalidad de tratamiento. Las terapias combinadas pueden ser más efectivas para combatir las bacterias resistentes, reducir el tiempo de tratamiento y prevenir un mayor desarrollo de resistencia.

10. Opciones de tratamiento accesibles y asequibles: el acceso a los antibióticos convencionales puede ser limitado o prohibitivo en muchas partes del mundo. Los tratamientos naturales derivados de los recursos disponibles localmente pueden ofrecer opciones más accesibles y asequibles para el tratamiento de infecciones resistentes. Esto puede tener un impacto significativo en la salud mundial, especialmente en entornos con recursos limitados donde la carga de la resistencia a los antibióticos es alta.

En la búsqueda de alternativas eficaces, el dióxido de cloro ha surgido como una solución prometedora para erradicar las bacterias resistentes a los antibióticos. Funciona alterando las estructuras celulares de las bacterias, impidiendo que se multipliquen y causen más daño.

#### Ventajas del dióxido de cloro

El dióxido de cloro se ha convertido en un arma prometedora en la lucha contra estos patógenos resistentes. Su actividad de amplio espectro, efectividad residual, probabilidad reducida de resistencia y seguridad ambiental lo convierten en una herramienta invaluable para erradicar las bacterias resistentes a los antibióticos. Al adoptar el dióxido de cloro como parte de las estrategias integrales de control de infecciones, podemos reducir significativamente las tasas de mortalidad asociadas con estas infecciones, salvaguardar la salud pública y abordar el creciente problema de la resistencia a los antibióticos.

Hay muchas ventajas en el uso de dióxido de cloro en el tratamiento de microorganismos resistentes a los antibióticos, tales como:

Espectro de actividad: el dióxido de cloro ha demostrado eficacia contra muchas bacterias, incluido MRSA

y otras cepas resistentes a los antibióticos. Su capacidad para atacar la pared celular bacteriana e interrumpir los procesos metabólicos esenciales lo distingue como un agente antimicrobiano eficaz.

Eficacia residual: desinfectantes tradicionales, el dióxido de cloro presenta un efecto residual, que protege las superficies incluso después de la aplicación inicial. Esta actividad residual es crucial en entornos de atención médica donde las superficies pueden volverse

Humedezca rápidamente, proporcionando una defensa tenaz contra la colonización y transmisión bacteriana.

Probabilidad reducida de desarrollo de resistencia: El mecanismo de acción del dióxido de cloro reduce la probabilidad de que las bacterias desarrollen resistencia. A diferencia de los antibióticos tradicionales que se dirigen a componentes bacterianos específicos, el dióxido de cloro ataca múltiples estructuras celulares simultáneamente, lo que dificulta que las bacterias desarrollen mecanismos de resistencia. Erradicación de biopelículas: los estudios de investigación han demostrado que el dióxido de cloro penetra y elimina las biopelículas. Se estima que las biopelículas son 1000 veces más resistentes a los antibióticos que las células de vida libre.<sup>57</sup> Seguridad ambiental: El dióxido de cloro es reconocido por su perfil ecológico favorable. Se descompone en subproductos inofensivos, sin dejar residuos tóxicos. Esta característica asegura que su uso con fines de desinfección no contribuya al daño ambiental a largo plazo.

El impacto potencial: La importancia del dióxido de cloro en la erradicación de bacterias resistentes a los antibióticos no se puede exagerar. Al brindar una opción de tratamiento alternativa, el dióxido de cloro puede ayudar a combatir el creciente problema de la resistencia a los antibióticos, reducir las tasas de mortalidad y aliviar la carga de los sistemas de atención médica. Su eficacia contra el MRSA y otras cepas resistentes puede mejorar los resultados de los pacientes, acortar las estancias hospitalarias y reducir los costos sanitarios.

Rentabilidad: la solución de dióxido de cloro es barata y puede reducir significativamente los costos de atención médica de un país con el tiempo.

#### Conclusiones

Esta investigación se ha centrado en estudiar la eficacia del dióxido de cloro in vitro para algunas de las bacterias resistentes a los antibióticos más importantes que causan millones de muertes al año en todo el mundo. Hemos demostrado que la concentración óptima de dióxido de cloro que da como resultado una desinfección in vitro casi completa es de 7 ppm ( $p < 0,01$ ). Esta es una dosis segura de tomar, ya que se trata de la dosis utilizada para los tratamientos de agua.

Lo que se ha observado in vitro muy probablemente se verá en el cuerpo humano. Al igual que la sangre, el dióxido de cloro libera oxígeno cuando encuentra acidez, ya sea del ácido láctico o de la acidez del microorganismo.<sup>58</sup> Cuando el dióxido de cloro se disocia,

libera oxígeno en la sangre, al igual que los eritrocitos (glóbulos rojos), a través del mismo principio (conocido como el Efecto Bohr), que es selectivo para la acidez.

El dióxido de cloro es un agente antimicrobiano de tamaño selectivo que puede matar organismos del tamaño de una micra rápidamente, pero no puede causar daño real a organismos mucho más grandes, como animales o humanos, ya que no puede penetrar profundamente en sus tejidos vivos.<sup>73</sup> Ha habido mucha controversia sobre el uso de dióxido de cloro. Sin embargo, se debe tener en cuenta que, como con cualquier medicamento o suplemento, los efectos de la exposición a cualquier sustancia dependen de la vía de administración (por ejemplo, inhalada, tópica u oral), el estado de la molécula (es decir, gaseoso, o acuosa), concentración de la dosis, duración de la exposición, rasgos y hábitos personales, y si hay otros químicos o impurezas presentes. Destacando que se han realizado muchos estudios toxicológicos a lo largo de los años con dióxido de cloro en humanos y animales, demostrando su seguridad y eficacia ya que se ha utilizado en muchas aplicaciones para garantizar que los humanos estén expuestos a niveles seguros.

Cuando se usa adecuadamente en las dosis bajas requeridas para neutralizar los microbios, se ha demostrado que el dióxido de cloro es seguro. Hubo resultados positivos en ensayos clínicos recientes con dióxido de cloro realizados para COVID-19 por Insignares-Carrione en 2021<sup>58</sup> donde se administró dióxido de cloro CDS ultrapuro (2.990 ppm) por vía intravenosa a pacientes.

Además, las aprobaciones gubernamentales de soluciones de dióxido de cloro para la prevención y el tratamiento de la pandemia de COVID-19 en Bolivia se convirtieron en ley en 2020.<sup>75</sup> Por la cual se constituyó legalmente un comité de ética y avalado por el Ministerio de Salud de Bolivia, que a través de su actuación clínica, científica, y comités éticos de investigación, está realizando sus investigaciones sobre el dióxido de cloro para su uso en diferentes aplicaciones.

Además, amplias aplicaciones clínicas del dióxido de cloro al virus de Epstein-Barr (EBV), citomegalovirus (CMV); virus de la hepatitis A; B; El VIH (virus del SIDA) y otros se utilizan continuamente. Se han realizado más investigaciones sobre el uso clínico del dióxido de cloro, incluidas esporas, bacterias y virus no específicos a lo largo de los años.<sup>66</sup>

Hay cientos de testimonios más sobre el uso de dióxido de cloro por parte de voluntarios que Jim Humble ha recopilado a lo largo de los años para diversas aplicaciones de dióxido de cloro.<sup>76</sup>

Es necesario realizar ensayos clínicos para adquirir experiencia clínica en lo que funcionaría mejor en la práctica clínica. Los médicos que usan infusiones IV pueden usar las ampollas de CDSpure (2,990 ppm) de 5 ml directamente u oralmente cuando se diluyen a los niveles requeridos.

Conflicto de intereses: ninguno

Declaración de financiación: ninguna

## Referencias

- Grupo del Banco Mundial. Las infecciones resistentes a los medicamentos son una amenaza para nuestro futuro económico. Washington: Banco Internacional de Reconstrucción y Fomento/Banco Mundial. 2017 recuperado de <https://documents1.worldbank.org/curated/es/323311493396993758/pdf/informe.final.pdf>
- Naciones Unidas. Metas de desarrollo sostenible. (Acceso 2023). Obtenido de Naciones Unidas: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/metas-de-desarrollo-sostenible/>
- Sharma P, & Towse A. Nuevos medicamentos para abordar la resistencia a los antimicrobianos: análisis de las opciones de política de la UE. (25 de agosto de 2015). Obtenido de SSRN: [https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract\\_id=2640028](https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=2640028)
- Colaboradores de la Resistencia Antimicrobiana. Carga mundial de resistencia bacteriana a los antimicrobianos en 2019. *Lancet*. 2022;399, 629-655.
- Gatadi S, Gour J y Nandu S. Productos naturales derivados de prometedores fármacos anti-MRSA: una revisión. *Química Bioorgánica y Medicinal*. 2019;27(17), 3760-3774.
- Sharma P, & Towse A. Nuevos medicamentos para abordar la resistencia a los antimicrobianos: análisis de las opciones de política de la UE. 25 de agosto de 2015. Recuperado de SSRN: [https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract\\_id=2640028](https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=2640028)
- Ventola CL. La crisis de la resistencia a los antibióticos: parte 1: causas y amenazas. *Farmacología y Terapéutica*. 2015;40(4), 277-283.
- Lobanovska M, & Pilla G. Descubrimiento de la penicilina y resistencia a los antibióticos: ¿lecciones para el futuro? *Revista de biología y medicina de Yale*. 2017;90(1), 135-145.
- Langdon A, Crook N y Dantas G. Los efectos de los antibióticos en el microbioma a lo largo del desarrollo y enfoques alternativos para la modulación terapéutica. *Medicina Genómica*, 2016;8, 39.

10. GBD 2019 Enfermedades y Lesiones Colaboradores. Carga global de 369 enfermedades y lesiones en 204 países y territorios, 1990-2019: un análisis sistemático para el Estudio de carga global de enfermedad 2019. *Lancet*. 2020;17(396(10258):), 1204-1222.
11. Kramer, A., Schweke, I. y Kampf, G. ¿Cuánto tiempo persisten los patógenos nosocomiales en superficies inanimadas? Una revisión sistemática. *MC Enfermedades Infecciosas*. 2006; 16(6), 130.
12. Khin M, Knowles SL, Crandall WJ, Jones Jr, DD, Oberlies NH, Cech NB., & Houriet J. Captura del perfil antimicrobiano de *Rosmarinus officinalis* contra *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (MRSA) con fraccionamiento guiado por bioensayo y bioinformática. *Revista de análisis farmacéutico y biomédico*, 2021;197, 113965.
13. Bodeker G, Ong CK, Grundy CK, Burford G y Shein K. Atlas mundial de medicina tradicional, complementaria y alternativa de la OMS. Kobe, Japón: Organización Mundial de la Salud. 2005
14. Bshabshe AA, Joseph MR, Awad El-Gied AA, Fadul AN, Chandramoorthy HC y Hamid ME. Relevancia clínica y perfil antimicrobiano de *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (MRSA) en antibióticos de rutina y extracto de etanol de semilla de mango (*Mangifera indica* L.). *Investigación Biomédica Internacional*, 2020, 4150678.
15. Zouhir A, Jridi T, Nefz A, Hamida JB, Sebei K, Nefzi A, Hamida JB, Sebei K. Inhibición de *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (MRSA) por péptidos antimicrobianos (AMP) y aceites esenciales de plantas. *Biología Farmacéutica*. Volumen 54, 2016; Número 12. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1190763>
16. CD Spure <https://aquariusprolife.com/en/maltesian-mineral-solution/104-cdspure-6x5ml-ampoules>
17. Agencia de Protección Ambiental de EE. UU. Decisión de elegibilidad de reinscripción (RED) para dióxido de cloro y clorito de sodio (Caso 4023). Agencia de Protección Ambiental de EE. UU., Oficina de Prevención, Pesticidas y Sustancias Tóxicas. Washington: Informe Técnico No. EPO/738/R-06/007. Agosto de 2006. Obtenido de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos: [https://www3.epa.gov/pesticides/chem\\_sear\\_ch/reg\\_actions/reregistration/red\\_PC\\_020503\\_3-ago-06.pdf](https://www3.epa.gov/pesticides/chem_sear_ch/reg_actions/reregistration/red_PC_020503_3-ago-06.pdf)
18. Clordisys. EQUIPOS Y SERVICIOS DE DESCONTAMINACIÓN Y ESTERILIZACIÓN. 2014 Obtenido de clordisys: <https://www.clordisys.com/>
19. Jin RY, Hu SQ y Chi ZC. Efecto del tratamiento con dióxido de cloro gaseoso en la esterilización superficial de la uva. *Investigación de Materiales Avanzados*. 2011;236, 2939-2944.
20. Parque SH y Kang DH. Tratamiento combinado de gas de dióxido de cloro y desinfectante en aerosol para inactivar patógenos transmitidos por los alimentos en hojas de espinaca y tomates. *Revista Internacional de Microbiología Alimentaria*. 2015;207, 103-108.
21. Kalay TS, Kara Y, Karaoglu SA y Kolaylı S. Evaluación del dióxido de cloro estabilizado en términos de actividad antimicrobiana y fuerza de adhesión a la dentina. *Química combinatoria y cribado de alto rendimiento*. 2022;25(9), 1427 - 1436.
22. Peleg AY, Seifert H y Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergencia de un patógeno exitoso. *Revisiones de microbiología clínica*. 2008;21, 538-582.
23. Lin MF y Lan CY. (2014). Resistencia a los antimicrobianos en *Acinetobacter baumannii*: del banco a la cama. *Revista Mundial de Casos Clínicos*. 2014;2, 787-814.
24. De Oliveira DM, Forde BM, Kidd TJ, Harris PN, Schembri MA, Beatson SA, Walker MJ. Resistencia antimicrobiana en el patógeno ESKAPE. *Revisión de Microbiología Clínica*, 33(3), e00181-19. Diekema PR, Mendes DJ, Hsueh R, Pfaller MA, Rolston HS, Archer G (2019). La microbiología de la infección del torrente sanguíneo: tendencias de 20 años del programa y agentes antimicrobianos de vigilancia antimicrobiana SENTRY. *Quimioterapia*, 2020;63(7), e00355-19.
25. Diekema DJ, Hsueh PR, Mendes RE, Pfaller MA, Rolston KV, Sader HS y Jones RN. La microbiología de la infección del torrente sanguíneo: 20-Tendencias anuales del Programa de Vigilancia Antimicrobiana SENTRY. *Agentes antimicrobianos y quimioterapia*, 2019;63(7), e00355-19.
26. Thom KA, Maragakis LL, Richards K, Johnson JK, Roup B, Lawson P. Maryland MDRO Prevention Collaborative. Evaluación de la carga de *Acinetobacter baumannii* en Maryland: una encuesta de prevalencia de período transversal en todo el estado. *Control de infecciones y epidemiología hospitalaria*, 2012;33(9), 883-888.
27. Quinn B, Rodman N, Jara E, Fernandez JS, Martinez J, Traglia GM, Ramirez MS. La albúmina sérica humana envejece genes específicos que pueden jugar un papel en la supervivencia y persistencia en *Acinetobacter baumannii*. *Informes científicos*. 2018; 8, 14741.
28. Lee CR, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB, Lee SH. Biología de *Acinetobacter baumannii*: patogenia, mecanismos de resistencia a los antibióticos y tratamiento prospectivo



- opciones Fronteras en microbiología celular y de infecciones. 2017;7, 55.
29. McConnell MJ, Actis L y Pachón J. *Acinetobacter baumannii*: infecciones humanas, factores que contribuyen a la patogénesis y modelos animales. *FEMS Microbiology Reviews*, 2013;37(2), 130-155.
  30. Organización Mundial de la Salud. La OMS publica una lista de bacterias para las que se necesitan con urgencia nuevos antibióticos. 2017, 27 de febrero. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-qui%C3%A9n-publica-lista-de-bacterias-para-las-que-se-necesitan-urgentemente-nuevos-antibioticos>
  31. Rangel K, Chagas TP y DeSimone SG. Infecciones por *Acinetobacter baumannii* en tiempos de pandemia de COVID-19. *Patógenos*, 2021;10(8), 1006.
  32. Alhashash F, Weston V y Diggle M. Bacteriemia por *Escherichia coli* resistente a múltiples fármacos. *Enfermedades Infecciosas Emergentes*, 2013;19(10), 1699-1701.
  33. Kaper JB, Nataro JP y Mobley HL. *Escherichia coli* patógena. *Nature Reviews Microbiología*. 2004;2, 123-140.
  34. Santos Braz V, Melchior K y Moreira CG. *Escherichia coli* como una bacteria patógena y versátil multifacética. *Fronteras en microbiología celular y de infecciones*. 2020;10, 548492.
  35. Aryal SE *E. coli* (*Escherichia coli*) - Una descripción general. 2020; 23 de diciembre. Recuperado de microbe notes: <https://microbenotes.com/escherichia-coli-e-coli/#habitat-of-e-coli>
  36. Wang G, Zhao G, Chao X, Xie L y Wang H. La característica de virulencia, biopelícula y resistencia a los antibióticos de *Klebsiella Pneumoniae*. *Revista Internacional de Investigación Ambiental y Salud Pública*. 2020;17(17), 1-17.
  37. Chew KL, Lin RT y Teo JW. *Klebsiella Pneumoniae* en Singapur: infecciones hipervirulentas y la amenaza de carbapenemasas. *Fronteras en microbiología celular y de infecciones*. 2017;7,515 .
  38. Russo TA y Marr CM. *Klebsiella Pneumoniae* hipervirulenta. *Revisión de microbiología clínica*. 2019;32(3), 1-4.
  39. Ashurst JV y Dawson A. *Klebsiella pneumoniae*. *La isla del tesoro*: StatPearls Publishing, 2022.
  40. Jaradat ZW, Ababneh QO, Sha'aban ST, Alkofahi AA, Assaleh D y Al Shara A. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina y fómites públicos: una revisión. *Patógenos y Salud Global*. 2020;114(8), 426-450.
  41. Siddiqui AH. & Koirala J. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. 2022. Obtenido de StatPearls: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482221/>
  42. Belleza M. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA). 2021. Obtenido de Nurseslabs: <https://nurseslabs.com/methicillin-resistant-staphylococcus-aureus-mrsa/>
  43. Alhazmi A. *Pseudomonas aeruginosa* – Patogenia y Mecanismos Patogénicos. *Revista Internacional de Biología*. 2015;7(2), 44-67.
  44. Wood SJ, Kuzel TM y Shafikhani SH. *Pseudomonas aeruginosa*: Infecciones, Modelado Animal y Terapéutica. *Células*. 2023; 12(1), 199.
  45. Moradali MF, Ghods S y Rehm BH. Estilo de vida de *Pseudomonas aeruginosa*: un paradigma para la adaptación, la supervivencia y la persistencia. *Fronteras en microbiología celular y de infecciones*. 2017;7, 39.
  46. Gale MJ, Maritato MS, Chen Y, & Abdulateef S. *Pseudomonas aeruginosa* causando una masa inflamatoria de la nasofaringe en un paciente infectado por el VIH inmunocomprometido: una imitación de la malignidad. 2015;2, 40-43.
  47. Gomila A, Carratalà J, Badia JM, Camprubí D, Piriz M, Shaw E, Biondo S. La profilaxis antibiótica oral preoperatoria reduce las infecciones del sitio quirúrgico por *Pseudomonas aeruginosa* después de una cirugía colorrectal electiva. *BMC Enfermedades Infecciosas*, 2018;18, 507.
  48. Agencia de Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades. Perfil toxicológico para dióxido de cloro y clorito. 2004. Obtenido de la Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp160.pdf>
  49. Agencia de Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades. ToxFAQs™ para dióxido de cloro y clorito. 2004, sept. Obtenido de la Agencia de Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades <https://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/tfacts160.pdf>
  50. Organización Mundial de la Salud. Dióxido de cloro, clorito y clorato en el agua potable: Documento de referencia para la elaboración de las Directrices de la OMS para la calidad del agua potable. 2016. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.
  51. Bajpai P. El control de problemas microbiológicos. *Industria de la Celulosa y el Papel*, 2015;103-195
  52. Pratima B. El Control de Problemas Microbiológicos. *Colección de emergencias de salud pública de Elsevier*, 2015;103-195.
  53. Knapp JE y Bettisti DL. *Desinfección, esterilización y conservación* (5ª ed.). (SS

- Block, Ed.) Filadelfia, EE. UU.: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
54. Simpson G, Miller RF, Laxton GD y Clements WR. Un enfoque en el dióxido de cloro: el "ideal" biocidas Nueva Orleans, Estados Unidos, 1993.
55. Gunn JS, Bakaletz LO y Wozniak DJ. Lo que está afuera importa: el papel de la sustancia polimérica extracelular de las biopelículas Gram negativas para evadir la inmunidad del huésped y como objetivo para la intervención terapéutica. *Revista de Química Biológica*. 2016;291(24), 12538-12546.
56. Ramos-Gallardo G. Heridas crónicas en lesiones por quemadura: reporte de un caso sobre la importancia de las biopelículas. *Revista mundial de cirugía plástica*, 2016;5(2), 175.
57. Hall CW y Mah TFM. Mecanismos moleculares de resistencia y tolerancia a antibióticos basados en biopelículas en bacterias patógenas. *FEMS Microbiology Reviews*, 2017;41(3), 276-301.
58. Insignares-Carrione E, Bolano Gomez B, Andrade Y, Callisperis P, Suxo MA, Arturo MA, & Camila GO. Determinación de la Efectividad del Dióxido de Cloro en el Tratamiento de COVID 19. *Revista de Medicina Molecular y Genética*. 2021;15,S2.
59. Noszticzus Z, Wittmann M, Kály-Kullai K, Beregvári Z, Kiss I, Rosivall L y Szegedi J. El dióxido de cloro es un agente antimicrobiano selectivo por tamaño. *PLoS One*, 2013;8(11), e79157.
60. Miura T, & Shibata T. Efecto antiviral del dióxido de cloro contra el virus de la influenza y su aplicación para el control de infecciones. *La revista abierta de agentes antimicrobianos*. 2010;2, 1
61. Sanekata T, Fukuda T, Miura T, Morino U, Lee C, Maeda K, Shibata T. Evaluación de la actividad antiviral del dióxido de cloro y el hipoclorito de sodio contra el calicivirus felino, el virus de la influenza humana, el virus del sarampión, el virus del moquillo canino, el virus del herpes humano, adenovirus humano, adenovirus canino y parvovirus canino. *Ciencia de biocontrol*, 2010;15(2), 45-49.
62. Ma JW, Huang BS, Hsu CW, Peng CW, Cheng ML y Kao JY. Evaluación de la eficacia y seguridad de una solución de dióxido de cloro. *Revista Internacional de Investigación Ambiental y Salud Pública*. 2017; 14(3), 329.
63. Ofori I, Maddila S, Johnson L y Jonnalagadda SB. Inactivación con dióxido de cloro de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* en agua: cinética y mecanismo. *Revista de ingeniería de procesamiento de agua*. 2018;26, 46-54.
64. Ogata N, & Shibata T. Efecto protector del gas de dióxido de cloro de baja concentración contra la infección por el virus de la influenza A. *El Diario de Virología General*. 2008;89, 60-67.
65. Erradicación de Georgiou G. MRSA usando dióxido de cloro. *Revista de bacteriología y micología: acceso abierto*, 2021;9(3), 115-120.
66. Joven R.O. Dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) como agente antimicrobiano no tóxico para virus, bacterias y levaduras (*Candida albicans*). *International Journal of Vaccines & Vaccination*, 2016, 8 de octubre; 2(6), 11-12.
67. Vobolex. Bolivia Ley LEY NO. 1351. 2020, 14 de octubre. Recuperado de Vobolex: <https://www.vobolex.org/bolivia/ley-no-1351-del-14-de-octubre-de-2020/>
68. Aparicio-Alonso M, Domínguez-Sánchez CA, & Banuet-Martínez M. Efectos a largo plazo de COVID19 en pacientes tratados con dióxido de cloro. *REVISTA INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y ANÁLISIS MULTIDISCIPLINARIO*. 2021;4, 1159-1167.
69. Daniel FB, Condie LW, Robinson M, Stober JA, York GR, Olsen RG y Wang SR. Estudios comparativos de toxicidad subcrónica de tres desinfectantes. *Revista de la Asociación Estadounidense de Obras Hidráulicas*. 1990;82(10), 61-69
70. Scatina J, Abdel-Rahman MS y Gold E. El efecto inhibitorio de alcide®, un fármaco antimicrobiano, sobre la síntesis de proteínas en *Escherichia coli*. *Revista de Toxicología Aplicada*. 1985;5(6), 388-394.
- ATCC- [products/ https://www.atcc.org/microbe](https://www.atcc.org/microbe) 71. [bacteriology-and-archaea#t=productTab&numberOfResults=24](https://www.atcc.org/microbe/bacteriology-and-archaea#t=productTab&numberOfResults=24)
72. <https://logosbio.com/>
73. Noszticzus Z, Wittmann M, Kály-Kullai K, Beregvári Z, Kiss I, Rosivall L y Szegedi J. El dióxido de cloro es un agente antimicrobiano selectivo por tamaño. *PLoS One*, 2013;8(11), e79157.
74. Georgiou G. Erradicación de *Borrelia burgdorferi* in vitro usando dióxido de cloro: un enfoque novedoso, *Archivos de investigación médica*. 2022; [en línea] 10(11). <https://doi.org/10.18103/mra.v10i11.3279>
75. Diario Oficial de Bolivia. LEY No. 1351. 2020, 14 de octubre. Recuperado de Derechoteca: <https://www.derechoteca.com/gacetabolivia/ley-no-1351-del-14-de-octubre-de-2020/>
76. Humble J (consultado en 2023). Testimonios MMS. Obtenido de testimonios de MMS: <https://mmtestimonials.co/>