

***Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua UNAN–LEON.
Facultad de Ciencias Químicas.***

Carrera de Farmacia.



***Monografía para optar al título de Licenciada Químico
Farmacéutico.***

TEMA:

***Evaluación de la actividad bactericida y fungicida de Antisépticos y
Desinfectante, utilizados en el Hospital Escuela, Oscar Danilo Rosales
Arguello, León- 2009.***

AUTORES: *Br. Ninoska de los Ángeles Darce Martínez.*

Br. Norajane Godoy Noguera.

Br. Claudia Karina Jirón.

TUTORA: *Msc. Lisseth Aràuz Molina.*

León Nicaragua, 2009.





Agradecimiento

En el transcurso de este trabajo monográfico hemos contado con el apoyo y la ayuda de Dios y de personas de mucha importancia para nosotras, por lo cual queremos brindarles nuestro sincero agradecimiento.

A Dios, por habernos brindado sabiduría y perseverancia para superar los obstáculos encontrados en el recorrido de este camino.

A nuestros padres, por que con amor comprensión y consejos nos han dado alientos para alcanzar nuestros sueños más anhelados.

A nuestra tutora Msc. Lissett Arauz Molina, por habernos brindado su apoyo incondicional, su esfuerzo y dedicación durante el desarrollo de este trabajo monográfico.

A todos ellos muchas gracias...

Karina Jirón, Ninoska Darce, Norajane Godoy





Dedicatoria

Dedico esta monografía a todas las personas que con su apoyo y cariño han ayudado a su realización permitiéndome así llegar a cumplir uno de mis mayores sueños, en especial:

A Dios, Rey de reyes y mi padre celestial por darme el privilegio de vivir y de tener a mi lado a las personas que amo.

A mi Madre, Sra. Claudia Jirón por ser mi fuente de inspiración y fortaleza, por sus múltiples sacrificios para que hoy pudiera llegar a cumplir esta meta y por demostrarme que el amor de una madre atraviesa fronteras.

A mi Mami, Lic. Marcia Jirón porque ha pesar de no haber salido de sus entrañas, me ha cuidado, amado y apoyado incondicionalmente, por ser mi guía y mi ejemplo a seguir.

A mi Papi, Lic. Edgard Moreno que desde niña me ha enseñado lo que es la presencia, el amor y el apoyo de un padre, por brindarme sus consejos, ayudarme a crecer y mejorar como persona.

A mi abuelita, Sra. Esperanza Vargas que es como una madre, pues durante toda mi vida ha estado a mi lado con todo su amor y cuidado aconsejándome en los momentos de alegrías y tristezas.

A mis Tíos, Sra. Cristina Jirón y Sr. Osman Jirón por su cariño y ayuda a lo largo de esta carrera y de mi vida, para ellos todo mi cariño.

A todos ellos mi agradecimiento y todo mi amor...

Claudia Karina Jirón.



A Dios, por darme la vida y permitirme que cada día aprendiera a vivir, porque en los momentos que dije ya no puedo, él me fortalecía con su amor.

A mi mamá, Nora Noguera, es una mujer guerrera que aunque murió mi papá ella luchó por mis hermanos y por mí, que siempre será un orgullo estar a su lado, gracias por quererme tanto y ser la mejor mamá que Dios me eligió.

A mi tío, Dr. Manuel Noguera, es la persona que más admiro en este mundo, el cual con su cariño me ha protegido y porque con él supe el significado de lo que es un padre. Gracias a ese gran tío que siempre está ahí para mí, y me ha permitido crecer a su lado, porque sin él no sería la persona que soy.

A mis Hermanos, que son un eje en mi vida, a mi hermano Marcelo por cuidarme y a mi hermana María Eugenia por sus consejos.

A mi Papá y mi abuelita, James Godoy y Redención Ramírez que aunque ya no estén conmigo sé que estarían felices con mi logro.

A todos ustedes con mucho cariño.

Norajane Godoy Noguera.



A Dios, en primer lugar por ser el dador de vida y sabiduría la cual me ha ayudado a alcanzar todas las metas propuestas, en el transcurso de mi vida.

A mi amado esposo, Sr. Carlos Fernández que con su amor, comprensión y dedicación me ha apoyado sin importar los errores que he cometido a lo largo de mi carrera.

A mis padres, Sra. Mercedes Martínez y Sr. Alejandro Darce porque siempre han estado a mi lado para aconsejarme y ayudarme en todos los aspectos de mi vida, sin importar el esfuerzo que implique ayudarme.

A mis hijos, Carlos Miguel y Carlos Eduardo porque han sido fuente de motivación para alcanzar mis metas, y brindarle lo necesario para su educación y desarrollo.

A mi abuelita, Sra. Margarita Mena que aunque no esté a mi lado se que estaría muy orgullosa de mi, por el logro obtenido hasta este momento.

A todos ellos muchas gracias por su apoyo.

Ninoska de los Angeles Darce Martínez



Indice:

INTRODUCCION	8
OBJETIVOS.....	11
MARCO TERÓRICO	13
DISEÑO METODOLOGICO.....	36
RESULTADOS.....	43
ANÁLISIS DE RESULTADOS	49
CONCLUSION.....	52
RECOMENDACIONES.....	55
BIBLIOGRAFIA.....	57
ANEXOS	59





Introducción:

En el sector hospitalario se encuentran una gran variedad de microorganismos patógenos que pueden desencadenar procesos infecciosos siendo de gran riesgo para los pacientes, por lo cual se hace necesario el uso de antisépticos y desinfectantes tanto para la seguridad del paciente como para el personal que labora en un Hospital. Es por esto que se ve necesaria la utilización de estas sustancias químicas para reducir la mayor cantidad de microorganismos que afecta el equilibrio aséptico.

La desinfección debe de asegurar una reducción microbiana en los equipos o ambientes hasta niveles aceptables, ya que la desinfección no garantiza una total destrucción de los microorganismos, permite ejercer un control sobre las poblaciones microbianas presentes. Los antisépticos garantizan la destrucción o inhibición de los microorganismos sin afectar el tejido sobre el cual se aplican.

Cabe destacar que desinfectante y antiséptico no son sinónimos, ya que el primero es un producto que destruye gérmenes localizados en superficie (piso, muebles, baño, sala de operación) u objetos (utensilios de limpieza e instrumental empleados en intervenciones quirúrgicas), en tanto que lo segundo actúan en tejido vivo.

En la revisión bibliográfica relacionada a nuestro estudio se encontró como único antecedente una Validación del método Dilución-Neutralización (AFNOR NF T 72-150) para determinar la efectividad bactericida del Triclosan al 0.3%, elaborada en la ciudad de León en el año 2004, teniendo como autores, Marbelí de los Ángeles Alvarado Lugo y Claudia Leonor Baca Rueda.



En el presente trabajo monográfico logramos verificar la actividad que presentan el desinfectante y los antisépticos, que son utilizados a diario en el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello de la ciudad de León, evaluando de esta manera su acción contra microorganismos patógenos y levaduras. Siendo este estudio de gran importancia tanto para los pacientes como para el personal que labora en este hospital, ya que por medio de esta investigación logramos corroborar si las sustancias químicas utilizadas para la desinfección y asepsia en este hospital son realmente efectivas, para obtener una reducción de microorganismos patógenos que puedan desencadenar infecciones nosocomiales; y desde el punto de vista epidemiológico vigilar la sensibilidad o resistencia que puede tener estos microorganismos ante el uso de estos antimicrobianos, para ello, los procedimientos más utilizados son los tests *in vitro* cuantitativos con microorganismos en suspensión, y entre los cuales se encuentran la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), que se aplicará para el desarrollo de este trabajo monográfico.



Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. UNAN-LEON.



Objetivos



Objetivo General:

- ✖ Comprobar mediante el método Concentración Mínima Inhibitoria la actividad bactericida y fungicida de los antisépticos y desinfectante utilizados en el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Argüello.

Objetivos Específicos:

- ✖ Evaluar la actividad bactericida “in vitro” de los antiséptico y desinfectante utilizados en el Hospital HEODRA.
- ✖ Evaluar la actividad fungicida “in vitro” de las sustancias químicas en estudio sobre *Candida albicans*.
- ✖ Verificar si la concentración recomendada en bibliografía de los desinfectantes de uso hospitalarios son realmente las efectivas para inhibir el crecimiento de los microorganismos en estudio.



Marco Teórico



Marco Teórico

Se conoce como desinfectantes al agente químico que elimina microorganismos patógenos, excepto esporas y que se aplica sobre objetos inanimados e inertes y al antiséptico como un agente químico que elimina y/o inhibe el crecimiento de microorganismos y está especialmente formulado para su aplicación en piel o tejidos.

Un aspecto importante del control de las infecciones son los principios que rigen la limpieza, desinfección y esterilización. Evitar la transmisión de microorganismos potencialmente patógenos, ya sea entre enfermos, del personal sanitario a aquéllos, o a la inversa, debe considerarse como una prioridad en todos los centros sanitarios. Las infecciones nosocomiales (IN) provocan una elevada morbilidad y mortalidad, una gran carga de trabajo para el personal y un elevado costo económico. El uso eficaz de los biocidas, antisépticos y desinfectantes, junto con la desinfección de los dispositivos médicos y de superficies, el lavado de manos y las técnicas de barrera, constituyen las medidas de prevención de dichas infecciones nosocomiales.

En los hospitales se utiliza un utillaje muy abundante y diverso. Es necesario diferenciar claramente, según el uso a que esté destinado el mismo, el material que necesita una esterilización, del que necesita una desinfección o simplemente una limpieza adecuada. Una desinfección eficaz y segura se logra mediante una dilución correcta, vigencia del producto, que esté libre de materia orgánica, tipo y carga microbiana, tiempo de exposición, tipo de material, temperatura.

La limpieza y la desinfección, constituyen los elementos primarios y más eficaces para romper la cadena epidemiológica de la infección. Para comprender la relevancia de estos factores en relación con la aparición de la infección nosocomial es preciso comprender cómo se desarrolla y cuáles son sus determinantes.



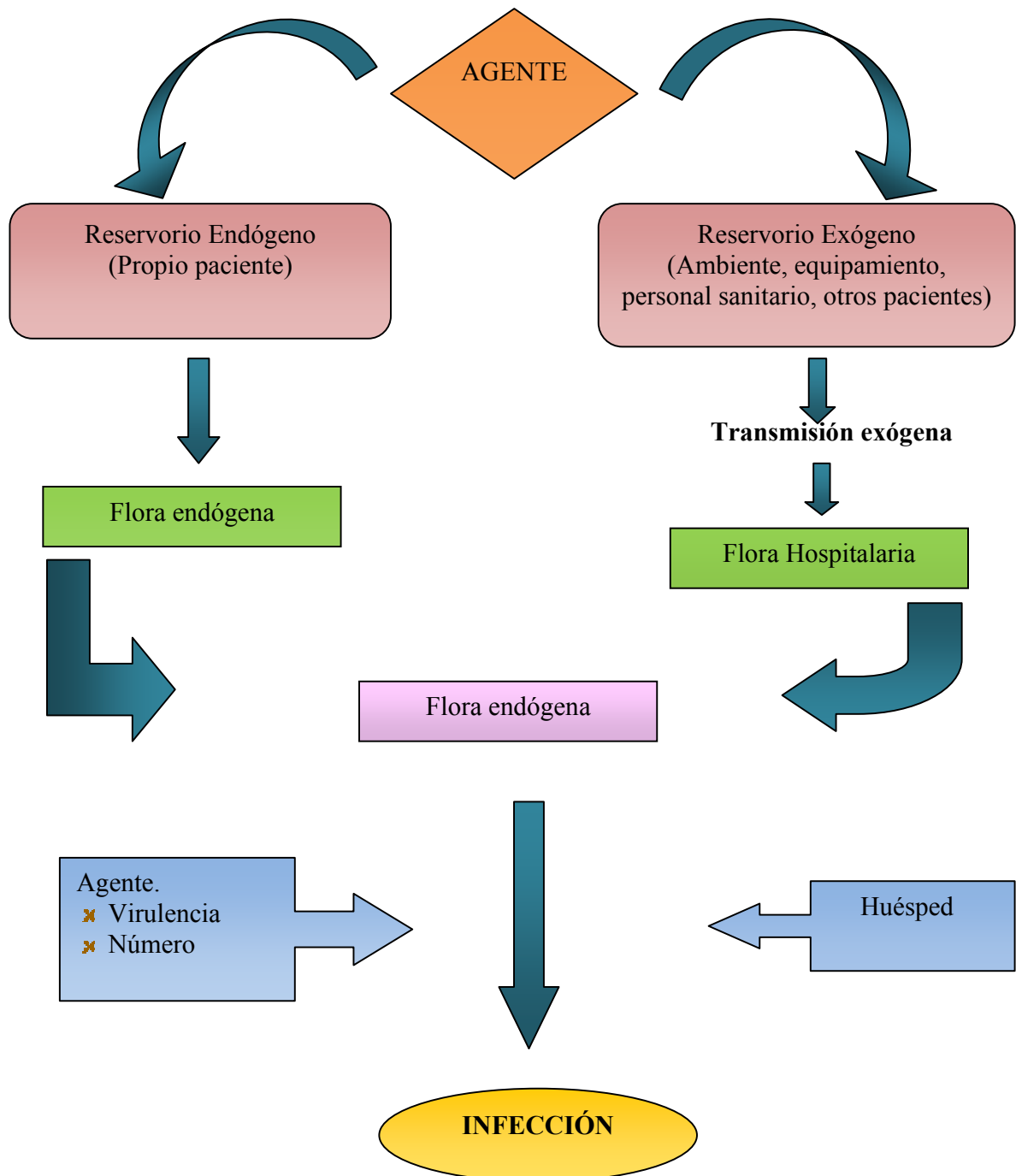
La infección hospitalaria constituye un tema de extraordinaria actualidad por su frecuencia, gravedad y repercusión económica, y viene condicionada por tres determinantes principales: el huésped, el agente patógeno y el propio ambiente hospitalario. Si el huésped resulta muy susceptible, el germen es muy virulento y las condiciones de saneamiento ambiental son deficitarias, la infección nosocomial ocupará un lugar preferente en el hospital.

La combinación de los factores relacionados con el huésped (como la edad, las enfermedades crónica, sistema inmunodeprimido) y la aparición de gérmenes emergentes (tales como las formas resistentes de tuberculosis, estafilococos resistentes a meticilina, enterococos resistentes a vancomicina, etc.) han llevado a un mayor interés por los temas relacionados con el medio ambiente hospitalario y su control, como soporte de la banqueta en la que se sustenta la infección nosocomial.

Si bien la mayor parte de los procesos infecciosos hospitalarios son de origen endógeno, su frecuencia es mayor cuando existen una serie de circunstancias favorecedoras por parte del huésped o se potencia la transmisión exógena de microorganismos, mediante la presencia de factores ambientales.



Transmisión de infecciones:



La mayoría de los organismos patógenos se pueden clasificar en cinco grupos:



- 1 Bacterias formadoras de esporas, como *Bacillus antracis*, *Clostridium botulinum* y *Clostridium tetani*.
- 2 Bacterias vegetativas como *Salmonella*, *Pseudomona*, *Staphylococcus*, *Mycobacterium tuberculosis*.
- 3 Virus lipofilicos, como Herpes simplex, citomegalobirus hepatitis B, Virus de inmunodeficiencia humana
- 4 Virus sin lípidos o hidrofílicos coxsackie, poli virus, rinovirus.
- 5 Hongos como *Aspergillus*, *Candida*, *Coccidioides*.

Las esporas bacterianas son las más resistentes al efecto del desinfectante, seguido por micobacterias, virus hidrofílicos, hongos y bacterias vegetativas.

Selección del nivel de desinfección

Todo el material de uso hospitalario que entra en contacto con el enfermo es un vehículo potencial de transmisión de infecciones. El instrumental y material utilizado en el cuidado de los enfermos se clasifica, según Spaulding, en tres categorías en función del riesgo de infección que conlleva su uso: crítico, semicrítico y no crítico.

El nivel de desinfección y el procedimiento a utilizar deben estar de acuerdo con la naturaleza del material y el uso dado al objeto.



La desinfección química debe estar precedida siempre por una limpieza, ya que la acción mecánica por sí sola elimina gran cantidad de microorganismos y materia orgánica (sangre, secreciones y fluidos corporales) que puede inactivar al desinfectante.

El material crítico es el que está en contacto con tejidos estériles o con el sistema vascular. La mayoría de los materiales pueden ser esterilizados mediante calor húmedo (autoclave), pero los que contienen piezas de plástico o ciertos aparatos como hemodializadores, endoscopios rígidos y accesorios de los endoscopios flexibles, no pueden ser autoclavados; en este caso se realizará una desinfección de alto nivel, los desinfectantes de alto nivel utilizados son Glutaraldehído al 2%, Peróxido De Hidrógeno Estabilizado 6%, Ácido Peracético.

El material semicrítico es el que entra en contacto con membranas mucosas o piel no intacta, pero que no entra en contacto con áreas estériles del cuerpo. Requiere desinfección de alto nivel.

En cambio, el material no crítico lo constituyen los objetos que están en contacto con piel intacta, pero no con membranas mucosas. Requieren desinfección de nivel medio o de bajo nivel, los desinfectantes de nivel medio, son Povidona yodada, compuestos de Cloro y entre los de bajo nivel se encuentra el Amonio cuaternario, Hexaclorofeno.

Aunque las superficies inanimadas e inadecuadamente desinfectadas, como suelos, paredes y superficies de muebles, pueden, en teoría, contribuir a la transmisión de infecciones nosocomiales, no se ha podido demostrar relación directa entre la presencia en las superficies ambientales de bacterias y hongos potencialmente patógenos con la incidencia de transmisión de las infecciones.



Sin embargo, se ha sugerido que ciertas características de los microorganismos (como la supervivencia durante largos períodos de tiempo en elevado número) pueden condicionar un potencial aumento de transmisión de infecciones mediada por las superficies ambientales.

Clasificación de los desinfectantes y antisépticos.

Espectro de actividad de los desinfectantes

Las sustancias con actividad biocida tienen grados variables de actividad sobre los diferentes grupos de microorganismos. Se pueden clasificar, como se ha señalado previamente, en tres categorías según su potencia y efectividad de acción contra los microorganismos: baja, intermedia y alta.

Los desinfectantes de bajo nivel pueden destruir la mayor parte de las formas vegetativas bacterianas, tanto grampositivas como gramnegativas, algunos virus (virus con envoltura lipídica) y hongos (levaduras), pero no *Mycobacterium* spp, ni las esporas bacterianas. Los desinfectantes de nivel intermedio consiguen inactivar todas las formas bacterianas vegetativas, incluyendo *Mycobacterium tuberculosis*, la mayoría de los virus (virus con y sin envoltura) y hongos filamentosos, pero no destruyen necesariamente las esporas bacterianas. En cambio, los desinfectantes de alto nivel consiguen destruir todos los microorganismos, excepto algunas esporas bacterianas.

Principales grupos de desinfectantes

Las propiedades que ha de reunir un desinfectante ideal son: amplio espectro antimicrobiano, rápida acción microbicida, facilidad de uso, escasa capacidad para alterar el instrumental, solubilidad en agua, estabilidad de la forma concentrada y diluida



del producto, toxicidad reducida para el hombre de las soluciones de uso, inflamabilidad y costo bajo o moderado.

La eficacia de los desinfectantes se puede ver alterada por varios factores. Entre éstos se incluyen las sustancias interferentes (materia orgánica, dureza del agua), el tipo y grado de contaminación microbiana, la concentración y pH de la solución desinfectante, el tiempo de exposición, el diseño y composición del objeto a desinfectar y la temperatura a la que se realiza el proceso de desinfección.

A continuación se describen los desinfectantes más utilizados en la actualidad, agrupándolos según el grupo químico al que pertenecen..

Alcoholes:

Los alcoholes poseen una rápida acción bactericida, actuando sobre bacterias gramnegativas y grampositivas, y virus con envuelta, siendo por tanto considerados como desinfectantes de bajo nivel. La concentración bactericida óptima se sitúa en el 70%. Ello se debe a que estos compuestos acuosos penetran mejor en las células y bacterias, permitiendo así la desnaturalización de las proteínas. Los alcoholes se inactivan en presencia de materia orgánica. Se utilizan muy frecuentemente para la desinfección de la piel, y resultan muy eficaces para este fin cuando a continuación se aplica un yodóforo. Su aplicación está también indicada en la desinfección de material no crítico como termómetros y fonendoscopios. La toxicidad del alcohol isopropílico es dos veces superior a la del etanol. Su utilización puede provocar irritación y sequedad de la piel; al volatilizarse puede producir irritación de la mucosa nasal y lagrimal.



Aldehídos:

Formaldehído (formalina o formol).

Se utiliza como desinfectante de alto nivel en estado líquido y gaseoso. Principalmente se utiliza en solución acuosa (formaldehído al 37%); en estas condiciones posee actividad bactericida, fungicida, virucida, tuberculicida y esporicida.

Tiene poco poder de penetración en las células, pero su actividad aumenta con la temperatura y la humedad relativa (combinación de formaldehído gas con vapor a 70-75°C). Su acción es lenta y en solución acuosa al 8% requiere un tiempo de exposición de 24 h, mientras que en solución alcohólica a esta misma concentración la actividad aumenta y el tiempo requerido es de 3 h. Para desinfectar objetos no metálicos se recomienda utilizar la solución acuosa al 2-8%. Actualmente existen sistemas cerrados de esterilización que trabajan con formaldehído al 2% y 45°C. Su uso en los centros sanitarios está limitado por la emisión de vapores irritantes para los ojos, nariz y tracto respiratorio. Es, además, corrosivo y potencialmente carcinógeno. Debe ser manipulado con guantes y mascarilla. Nunca ha de ser utilizado para la desinfección ambiental.

Paraformaldehído.

Se utiliza para la desinfección por vaporización, pero su uso está restringido a la descontaminación, previa al mantenimiento y cambio de filtros, de las cabinas de seguridad biológica. Se inactiva fácilmente en presencia de materia orgánica y su uso es incompatible con otras soluciones desinfectantes como fenoles, agentes oxidantes, amoníaco y soluciones alcalinas.



Glutaraldehído.

Es un dialdehído saturado aceptado como desinfectante de alto nivel y esterilizante químico. En solución acuosa el glutaraldehído es ácido, poco estable y no posee actividad esporicida. Sin embargo, cuando la solución se alcaliniza (pH 7,5-8,5), se activa y posee actividad esporicida. Su actividad biocida se debe a la alteración del RNA, DNA y síntesis de proteínas.

El glutaraldehído alcalino al 2% es bactericida, fungicida y virucida en cortos períodos de tiempo, pero necesita 6 h de contacto para destruir las esporas bacterianas. Tiene una acción moderada frente a micobacterias; en estos momentos existe una gran controversia en las evaluaciones realizadas por la existencia de resultados contradictorios. El tiempo aconsejado para la desinfección de alto nivel oscila entre 20 y 45 min, siendo el tiempo de inmersión más utilizado 30 min.

Se aconseja, pues, un tiempo de exposición mínima de 20 min, posterior a una limpieza meticulosa. Una vez activada, la solución alcalina tiene validez durante 14-28 días, pero se recomienda el control rutinario del nivel de glutaraldehído para determinar la concentración y comprobar así la validez de la solución desinfectante antes de su reutilización. Este desinfectante no deteriora los metales. Se utiliza para la desinfección de equipos médicos, como los endoscopios. No debe ser utilizado para la desinfección de superficies y materiales no críticos, su aplicación no está aconsejada por su toxicidad y elevado costo.

El Glutaraldehído puede causar sensibilizaciones por contacto o por inhalación en el personal que lo maneja. El manipulador debe protegerse adecuadamente y trabajar en una zona separada del resto de áreas de trabajo y que además posea ventilación o extractores de vapores.



Glutaraldehído fenolato.

Es una solución bactericida, fungicida y virucida. También se puede considerar como esporicida (6 h de inmersión) cuando se utiliza en solución pura. La concentración del glutaraldehído en el producto comercializado es del 2%, y la de fenol, del 7%. La dilución recomendada para la desinfección de alto nivel es 1:8 con una concentración final de glutaraldehído de 0,26 y 0,86% de fenol. Su eficacia frente a micobacterias y bacterias gran negativas es un tema polémico. De hecho algunos autores critican la falta de eficacia frente a micobacterias en estudios de laboratorio, pero cuando se realizan estudios experimentales de contaminación y desinfección de endoscopios en los que se incluye la limpieza previa del instrumental, el producto es eficaz. Sin embargo, el único glutaraldehído fenolato aceptado actualmente por la FDA como desinfectante de alto nivel, contiene un 0,95% de glutaraldehído alcalino y un 1,64% de fenol. Un inconveniente del glutaraldehído fenolato es su toxicidad, pudiendo causar sensibilización por contacto o por inhalación, pero en menor grado que el glutaraldehído alcalino al 2%.

Asociación de aldehídos.

Contienen una combinación de formaldehído al 30%, glutaraldehído al 50% y amonio cuaternario al 50%, y sustancias anticorrosivas para no deteriorar los metales. Tiene actividad bactericida, fungicida y virucida. Está indicado para la desinfección de superficies como suelos, puertas, paredes y mobiliario. La concentración de uso de estos compuestos se sitúa entre el 0,5-2%.



Ortoftaldehído (OPA)

Desinfectante que posee intensa actividad bactericida, virucida y fungicida. Actúa atacando los ácidos nucleicos y las proteínas. Las soluciones de uso formuladas como desinfectantes de alto nivel contienen un 0,55% de 1,2-bencenocarboxialdehído. Se utiliza en la desinfección de endoscopios, con tiempos de actuación de 12 min. a 20°C. No produce vapores irritantes y es compatible con la mayoría de instrumental médico.

Oxidantes:

Ácido Peracético (ácido peroxiacético).

El ácido peracético a concentraciones de 0,01-0,2% tiene una acción rápida frente a todos los microorganismos, incluyendo las micobacterias y las esporas bacterianas.

Permanece activo en presencia de materia orgánica. Es un desinfectante corrosivo frente a metales, pero este efecto puede disminuirse modificando su pH. Su acción biocida se debe a la desnaturalización de proteínas y enzimas y cambios de permeabilidad de la pared celular. La combinación del ácido peracético con peróxido de hidrógeno se utiliza para la desinfección de hemodializadores.

Desde hace unos años han aparecido en el mercado procesadores automáticos que utilizan ácido peracético en formulaciones que contienen agentes anticorrosivos; el proceso se realiza en sistemas cerrados donde se produce la dilución adecuada del producto y la posterior desinfección del instrumental. Estos procesadores trabajan a una concentración de 0,2% a 56 °C y en condiciones de uso muy definidas y se utiliza para la desinfección de endoscopios e instrumental.



Peróxido de hidrógeno.

Es activo frente a bacterias vegetativas, hongos, virus, micobacterias y esporas Bacterianas según la concentración y condiciones de utilización. Su actividad biocida se debe a la destrucción de las membranas celulares, DNA y otros componentes celulares esenciales. Los preparados comerciales suelen contener concentraciones entre el 3- 6%; concentraciones más altas (6-25%) también han sido descritas como esterilizantes químicos o desinfectantes de alto nivel. Se inactiva rápidamente en presencia de materia orgánica, luz y contacto con el aire. La forma oxidante activa no es el peróxido de hidrógeno como tal, sino el radical hidroxilo libre formado por su descomposición.

Las soluciones estabilizadas de agua oxigenada, del 10 al 25%, se utilizan como agentes esporicidas en la desinfección de materiales especiales (implantes de plástico, lentes de contacto y prótesis quirúrgicas).

En la actualidad existen en el mercado sistemas cerrados que utilizan peróxido de hidrógeno en forma de vapores como alternativa para desinfección y esterilización de 10 endoscopios. Estos aparatos utilizan ciclos que oscilan entre 20 y 25 min a temperaturas bajas (25-50°C) y alcanzan una concentración final de 1-2 mg/L de H₂O₂.

Una de las ventajas fundamentales es que no producen residuos tóxicos. Aún no se dispone de suficiente experiencia en la utilización de estos aparatos. Se han descrito casos de enteritis y colitis pseudomembranosa en pacientes sometidos a endoscopia gástrica asociada a este tipo de desinfección.



Persulfato o ácido peroxigénico.

Compuesto con actividad bactericida frente a bacterias gramnegativas y grampositivas. Su actividad virucida es controvertida y variable; algunos autores consideran que no es activo frente a polio virus y HIV. No tiene actividad frente a micobacterias y ésta se ve afectada por la presencia de materia orgánica y la utilización de agua corriente. Los persulfatos tienen una toxicidad baja, pero no deben utilizarse para la desinfección de alto nivel de endoscopios por su bajo espectro de actividad y porque son altamente corrosivos de metales y otros materiales.

Derivados clorados:

Hipoclorito

Los hipocloritos son los desinfectantes más utilizados de este grupo y están disponibles comercialmente en forma líquida (hipoclorito sódico) o sólida (hipoclorito cálcico, dicloroisocianurato sódico). El mecanismo de acción sobre los microorganismos no es bien conocido, pero se postula que actúan inhibiendo las reacciones enzimáticas y desnaturalizando proteínas. Tienen un extenso espectro de actividad (bactericida, virucida y esporicida, pero variable frente a las micobacterias) según la concentración de uso. La concentración habitual del hipoclorito sódico o lejía comercializada es de 50 g de cloro activo por litro (5,25%). Para la desinfección ambiental las diluciones de uso son al 0,1 y 1% (20 y 200 ml de lejía en 1 L de agua, respectivamente). Las concentraciones al 1% de cloro activo se utilizan cuando hay sangre o productos orgánicos en la superficie que se quiere desinfectar. Diluciones al 1:50, con una concentración de 1.000 ppm de cloro, son necesarias para destruir las micobacterias.



Las diluciones se deben realizar con agua del grifo a temperatura ambiente y en recipientes cerrados de plástico opaco. Se recomienda utilizar soluciones preparadas en el día.

Los hipocloritos son, además, baratos y de acción rápida. Sin embargo, se ha de tener en cuenta que son desinfectantes que deterioran los metales, que se inactivan fácilmente en presencia de materia orgánica, relativamente inestables y su eficacia se ve afectada por el pH. Interaccionan con otras sustancias químicas: soluciones ácidas y de amonio, con producción de vapores de cloro que son muy irritantes. No se deben utilizar tampoco en combinación con formaldehído, ya que esta combinación es altamente carcinógena.

Se utiliza ampliamente como desinfectante de rutina de lavabos, aseos y zonas de preparación de alimentos, así como en la desinfección de los aparatos de diálisis y tratamiento de aguas. En brotes y epidemias de *Legionella* spp. La hipercloración del sistema de distribución de agua ha demostrado ser un método muy eficaz.

Cloramina-T (cloramicida).

Es un derivado clorado que contiene un 25% de cloro disponible. Se inactiva en presencia de materia orgánica, pero su actividad bactericida se mantiene durante más tiempo que en el caso de los hipocloritos. En contacto con el aire pierde cloro y cambia el color a amarillo, disminuyendo su espectro de actividad. La concentración del 2% puede utilizarse en la desinfección del agua de beber.



Derivados de amonio cuaternario:

El cloruro de benzalconio fue el primer compuesto comercial de este tipo introducido en el mercado. Tiene una buena actividad bactericida frente a grampositivos, pero es poco activo frente a bacterias gramnegativas, particularmente frente a *Pseudomonas*. Las bacterias gramnegativas pueden crecer en las soluciones de estos productos. También presentan actividad fungicida y virucida sobre virus con envoltura, pero ésta es escasa frente a virus sin envoltura y casi nula frente a micobacterias y esporas. Poseen una buena actividad como detergentes. Factores como la dureza del agua y restos proteicos interfieren en su actividad y reducen su eficacia. Los amonios cuaternarios 12 denominados de segunda generación (p. ej., el cloruro de etilbenzilo) y de tercera (p. ej., el cloruro de dodecil dimetil amonio) son compuestos que permanecen activos en presencia de agua dura. Su acción bactericida es atribuida a la inactivación de enzimas, desnaturalización de proteínas esenciales y rotura de la membrana celular.

Son habitualmente considerados como desinfectantes de bajo nivel y comúnmente se utilizan para la desinfección de superficies como suelos y paredes. Las concentraciones de uso son del 0,4-1,6%.

Fenoles y derivados:

El ortofenilfenol y el ortobenzilparaclorofenol son los derivados fenólicos utilizados comúnmente en los hospitales. Estos compuestos destruyen la pared celular y precipitan las proteínas. Son activos frente bacterias vegetativas, hongos y virus con envuelta. Pero su actividad es variable, según la formulación, frente a micobacterias y virus sin envuelta.



El fenol y los derivados fenólicos, en la actualidad, se reservan para la desinfección de superficies (suelos, paredes) y material no poroso. Entre las desventajas de su utilización destaca la irritación de la piel y de las mucosas y el descenso de la eficacia en presencia de materia orgánica. No se aconseja su utilización para la desinfección de superficies en las habitaciones de pediatría, ni tampoco en la desinfección de cunas e incubadoras.

Yodóforos:

Un yodóforo es una combinación de yodo y una sustancia solubilizante, formando así un complejo que libera lentamente yodo orgánico. El yodo penetra fácilmente en los microorganismos a través de sus membranas celulares, destruyendo las proteínas. Son bactericidas de potencia intermedia, poseen actividad frente a bacterias grampositivas y gramnegativas, pero tienen escasa actividad frente a micobacterias. Son activos frente a virus con y sin envoltura. Sin embargo, su actividad se reduce en presencia de sustancias alcalinas y materia orgánica. Son corrosivos para los metales.

El más conocido de los yodóforos es la povidona-yodada (compuesto de yodo y polivinil-pirrolidona). Se han documentado numerosas contaminaciones por *Pseudomonas repaciá* y *Staphylococcus aureus*. Se utilizan principalmente para la desinfección de botellas de uso diverso, termómetros y tanques de hidroterapia.

Principales grupos de Antisépticos.

No existe un antiséptico de uso universal; la selección de un antiséptico se debe hacer teniendo en cuenta el espectro de actividad, concentración, aceptación de los usuarios, rapidez de acción, inactivación por materia orgánica, costo y toxicidad, entre otros.



Biguanidas:

Clorhexidina.

Aunque la actividad de la clorhexidina es más lenta que la de los alcoholes, se ha comprobado su eficacia para reducir la flora de la piel tras unos segundos de aplicación, se utiliza al 2%. Poseen buena actividad frente a bacterias grampositivas, pero ésta es menor frente bacterias gramnegativas tiene mínima acción sobre bacilo TBC, Hongos

Tiene una acción remanente superior a 6 h. Su actividad se reduce por alteración de pH (actividad máxima a pH 5,5-7), dilución con agua corriente, jabones con aniones orgánicos o inorgánicos.

La presentación más común contiene un detergente como base y un 4% de clorhexidina.

Paraclorometaxilenol

Posee una buena actividad frente a bacterias grampositivas, pero ésta es menor frente a bacterias gramnegativas, hongos y virus. La actividad aumenta en presencia de EDTA. No es agresivo para la piel y produce una actividad residual que perdura durante varias horas. Sin embargo, este antiséptico se neutraliza en presencia de detergentes no iónicos. Las concentraciones de uso son del 0,5-3,75%.

Yodóforos

Las formulaciones de yodóforos utilizadas en actividad residual es mínima, inferior a otros antisépticos, y su actividad antimicrobiana es neutralizada por materia orgánica. Los yodóforos más conocidos son la povidona y el alcohol yodado (tintura de yodo o solución de lugol). Ambos son útiles en la desinfección preoperatoria de la piel y en el tratamiento de las infecciones de heridas contaminadas.



Povidona yodada 10%

Moderadamente activo ante esporas y micro bacterias, Se inactiva por m.o. se absorbe por piel y mucosas, Se ha reportado contaminación por pseudomonas.

Alcoholes

El alcohol etílico e isopropílico al 70% reducen rápidamente la cantidad de microorganismos de la piel, pero no tienen actividad residual. Se utiliza de forma habitual en la antisepsia cutánea y en el lavado quirúrgico de las manos. En este último caso, después de un lavado minucioso de las manos con agua y jabón, se aplicará la solución alcohólica durante 1 min. Sin embargo, su uso continuado elimina la capa lipídica de la piel produciendo irritación y sequedad. Actualmente, se están comercializando nuevos productos que incluyen, junto con el alcohol, emolientes para reducir estos efectos adversos.

Triclosan

Las concentraciones de uso contienen entre 0,2-2% de Triclosan. Este producto actúa sobre la membrana plasmática y la síntesis de RNA, ácidos nucleicos y proteínas. Es más activo frente a bacterias grampositivas que frente a bacterias gramnegativas.

Mecanismo de Acción de los Antisépticos.

Alteran la permeabilidad celular, Bloquean mecanismos de transporte energético, bloquean la actividad enzimática, Coagulan citoplasma, Alteran los ácidos nucleicos.



Criterios de selección de un antiséptico y desinfectante.

Antisépticos	Desinfectante
✖ Amplio espectro de actividad.	✖ Germicida de amplio espectro.
✖ Bajo costo.	✖ Bajo costo.
✖ Inocuo para tejidos vivos	✖ No corrosivo.
✖ No toxico.	✖ No alterar objetos.
✖ Rapidez y eficacia en materia orgánica.	✖ Baja toxicidad.
✖ Efecto acumulativo y residual.	✖ Amplia acción.
✖ Baja capacidad de generar resistencia.	✖ Disponibilidad.
✖ No irritante ni sensible.	✖ No generar resistencia.
✖ No teñir los tejidos.	✖ Estabilidad conveniente.
✖ No poseer olor desagradable.	✖ Soluble en agua.
	✖ Sin olor desagradable.

Mecanismos de resistencia de los microorganismos a los compuestos químicos

La composición de la pared celular y otros componentes de los microorganismos varían mucho entre unos grupos y otros; esto explica en parte la diferente actividad de un biocida frente a distintos microorganismos. La resistencia de los microorganismos a los antibióticos puede ser debida a diferentes mecanismos, pero la mayoría es adquirida



a través de mutaciones o de genes transportados por plásmidos o transposones. Por cuanto, la resistencia bacteriana a los biocidas es generalmente intrínseca. Sin embargo, algunos plásmidos y transposones confieren cierta resistencia frente a los biocidas para bacterias grampositivas y gramnegativas.

Las alteraciones en permeabilidad de la membrana o pared celular son la forma más importante de resistencia en el caso de las bacterias gramnegativas, particularmente *Pseudomona aeruginosa* y *Proteus* spp. En cambio, las esporas bacterianas forman una barrera a la entrada de los biocidas (capas de envolturas y córtex); las membranas que rodean el núcleo de la espora también pueden actuar como factor adicional que limite la penetración del biocida químico. Muchos virus son resistentes a los biocidas por formación de agregados.

Control de Cepas:

Antes de iniciar un método microbiológico es imprescindible contar con cepas de microorganismos control que constituye un reactivo estándar biológico. Estos microorganismos normalmente serán los necesarios para la comprobación de los métodos de control de productos no estériles, los aislados frecuentemente en las zonas de fabricación o los utilizados para valoraciones de antibióticos y ensayo de eficacia de la conservación antimicrobiana.

Las cepas de microorganismos deben tener un origen e identidad conocida así como una estabilidad durante la validación, debida al reactivo biológico. En este sentido se han descrito diversas técnicas de mantenimiento de cepas encaminada a mantener esta estabilidad.

El crecimiento y la preparación del microorganismo determinan el estado fisiológico de las células, el cual tiene influencia directa en el resultado de los ensayos.

Los ensayos microbiológicos no utilizan células individuales sino poblaciones de células. Los datos generados en estos ensayos son menos variables si las poblaciones



celulares son homogéneas. Según la Farmacopea Europea y la USP el cultivo de un microorganismo que se va a utilizar como inóculo en una validación debe proceder de una cepa que no haya sido subcultivada más de cinco veces desde la cepa de referencia original.

Un subcultivo se define como, la siembra del microorganismo que se conserva a partir de un cultivo a medio fresco estéril. En el caso de microorganismos que se conservan congelados, cada ciclo de congelación, descongelación y revivificación se considera un subcultivo.

Concentración Mínima Inhibitoria:

Los antisépticos y desinfectantes son sustancias químicas capaces de eliminar los microorganismos patógenos. Para que esta acción sea eficaz se debe desarrollar en un breve periodo de tiempo y su acción debe ser bactericida y fungicida. Para valorar la actividad de un antiséptico o desinfectante, se determina su concentración mínima inhibitoria (CMI). Para ello, los procedimientos más utilizados son los tests *in vitro* cuantitativos con microorganismos en suspensión, y entre ellos el método de Concentración Mínima Inhibitoria aplica para la valoración de antisépticos y desinfectantes. La CMI es la mínima concentración de desinfectante capaz de inhibir el crecimiento de bactericidas, de hongos y levaduras.

Para la cual existe el método de dilución en tubo y dilución en medio sólido:

El método de dilución en tubo nos permite conocer un valor llamado concentración inhibitoria mínima (C.M.I.). Se prepara una serie de tubos conteniendo un medio líquido nutriente y concentraciones seriadas al medio del antibiótico. Los tubos son inoculados con una suspensión estandarizada del microorganismo en estudio e incubados a la temperatura adecuada durante 16-20 horas. Luego de la incubación los



tubos son examinados en base a la aparición o no de evidencia macroscópica de crecimiento visualizada por la presencia de turbidez fina, floculado, velo o sedimento, este mismo procedimiento se lleva a cabo en placas con el medio sólido (Agar) específico para cada bacteria, siendo este mas rápido y económico ya que se pueden inocular un máximo de cuatro bacterias por placas. La C.M.I se define como la mínima concentración del agente capaz de prevenir el desarrollo microbiano, es decir, la concentración en la cual no hubo evidencia macroscópica de crecimiento.





Diseño Metodológico

Tipo de estudio: Experimental.

Muestreo: No probabilística.

Área de estudio Este estudio fue realizado en el Área de Microbiología del Departamento de Análisis de Drogas, Tóxicos y Medicamentos de la Facultad de Ciencias Químicas, UNAN-LEON.

Universo: Desinfectantes y Antisépticos utilizados a nivel Hospitalario.

Población: Desinfectantes y Antisépticos utilizados en el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Argüello HEODRA de la ciudad de León.

Muestra: Dos muestras de 40 ml de antisépticos (ASCRUB Y PVP-10) y una muestra de 60 ml de desinfectante (MAX CIDE).

Unidad de Análisis: Gluconato de Clorhexidina (ASCRUB), Iodopovidona (PVP-10), Glutaraldehído (MAX CIDE).



Variables: Actividad Bactericida.
Actividad Fungicida.
Concentración.

Operacionalización de las Variables:

<i>Variables</i>	<i>Definición</i>	<i>Indicador</i>
Actividad Bactericida	Propiedad de un antimicrobiano para eliminar la proliferación del crecimiento bacteriano.	Ausencia de crecimiento de colonias características.
Actividad Fungicida	Propiedad de un antimicrobiano para eliminar la proliferación del crecimiento de hongos y levaduras.	Ausencia de crecimiento de colonias características.
Concentración	Número de ml utilizados en la preparación de las concentraciones de trabajo del desinfectante.	% V/ V.



Procedimiento:

Al iniciar nuestro trabajo monográfico el cual se basa en evaluar la actividad de Antisépticos y Desinfectantes de uso hospitalario, procedimos con las indagaciones pertinentes a nuestro tema de investigación, encontrando resultados satisfactorios mediante fuentes bibliográficas como son; Libros facilitados en la biblioteca de la UNAN-LEON e Internet, motivándonos así a un buen comienzo en nuestra investigación.

Para la realización de este estudio se solicitó una carta de parte de la jefa del departamento de Análisis de Drogas, Tóxicos y Medicamentos de la Facultad de Ciencias Químicas, dirigida al Dr. Ricardo Cuadra, director del HEODRA, en la que se solicitaba formalmente su apoyo en la realización de este trabajo. La solicitud escrita fue remitida al Epidemiólogo de este centro hospitalario, Lic. Julio Rocha, el cual contribuyó con la autorización de la entrega de muestra de dos antisépticos y un desinfectante. Permittiéndonos realizar la parte experimental de este trabajo monográfico por el método de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

Metodología:

Preparación de Suspensiones Bacterianas:

1. Se sembró en la superficie de un tubo de Agar de Mantenimiento y se incubó a temperatura según las cepas (*Pseudomona Hospitalaria*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella sps* y *Candida albicans*).
2. Se realizó esta operación descrita otras dos veces con intervalos de 24 horas a partir de la primera siembra.



3. Del cultivo anteriormente obtenido con un asa de punta redondeada se transfirieron varias veces el microorganismo a un tubo estéril con 10 ml de diluyente (agua peptonada) se agito hasta obtener una suspensión bacteriana homogénea de cada una de los microorganismos en estudio.
4. Se ajusto cada una de la suspensión de trabajo midiendo en el espectrofotómetro a 580 nm y 25% de transmitancia.

Preparación de medios de cultivo: ver anexo N° 2.

Método para la determinación de la CMI (en placas).

1. En un cuarto estéril de laboratorio de microbiología, se prepararon las diluciones de cada desinfectante y antiséptico de trabajo, a las concentraciones adecuadas.
2. Se agregaron las soluciones correspondientes a las concentraciones de trabajo de antisépticos o desinfectante mas agua destilada, respectivamente, en cada placa petri vacía, estéril rotulada, se realizo esta operación por duplicado
3. Se vertieron 18 ml de Agar correspondiente a cada cepa, en cada uno de las placas petri, previamente marcadas; se homogenizo el contenido, se espero que solidificara el medio de cultivo.
4. A partir de las suspensiones de trabajo del microorganismo respectivo, se realizo la siembra por medio de estrías radiales con cada microorganismo, utilizando aplicadores previamente esterilizados. En Agar TCS se cultivo *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Shigella* sps, en Agar Cetrimide la *Pseudomona Hospitalaria* y Agar Saburaud la levadura *Candida albicans*.



5. Se incubaron las placas petri a 35-37° C por un periodo de 24-48 horas para bacterias, y para levaduras de 20-25° C, por 72 horas.
6. Se realizo la lectura y la determinación de la CMI que inhibió el crecimiento de cada uno de los microorganismos inoculados para cada antiséptico y desinfectantes.

Equipos y Materiales.

EQUIPO	MATERIALES
Autoclave Pelton E Crane 0CM5060H, 115 volt, 1250 wat. T° 121 °C x 15 min.	Elermeyer de 250ml
Autoclave, 15 libras por P° x 1 hora	Tubos de ensayos
Agitador Bortex Modelo K-550G, Serie N°2968n, x 2-5 seg.	Placas
Espectrofotómetro, Espectronic 20 25%T, 580nm.	Pipeta de 0.1 ml



Incubadora Precision Scientific, Modelo 6M, Serie N° 9606-003. T° 35-37 °C.	Pipeta de 2ml
Refrigerador TBF Modelo N2DM,	Probetas de 25ml
Cocina	Mechero
Horno	Cepas Control <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 <i>Shigella</i> sps. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hospitalaria, utilizada por tener mayor resistencia) <i>Candida albicans</i> ATCC 10231
Balanza	





Resultados

Tabla 1.

Desinfectante Glutaraldehido.

Primer Ensayo

MICROORGANISMOS.	Bacterias	CONCENTRACIONES %	0.55	1.1	1.6	2	2.2	2.77	3.33	3.8
		<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
		<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
		<i>Shiguella sps</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
		<i>Pseudomona Hospitalaria</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
	Levadura	<i>Candida albicans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+

✕ Crecimiento +

✕ Inhibición del crecimiento —



Tabla 2.

Desinfectante Glutaraldehído.

Segundo Ensayo (concentraciones más altas.)

MICROORGANISMOS	Bacterias	CONCENTRACIONES %	4	4.5	5	5.5
		<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+
		<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+
		<i>Shiguella sps</i>	+	+	+	+
		<i>Pseudomona Hospitalaria</i>	+	+	+	+

✕ Crecimiento +

✕ Inhibición del crecimiento —



Tabla 3.
Antiséptico clorhexidina
Primer ensayo

MICROORGANISMOS	Bacterias	CONCENTRACIONES %	0.55	1.1	1.6	2	2.2	2.77	3.33	3.8
		<i>Staphylococcus aureus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
		<i>Escherichia coli</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
		<i>Shigella sps</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
		<i>Pseudomona Hospitalaria</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
	Levadura									
		<i>Candida albicans</i>	+	+	+	—	—	—	—	—

✖ Crecimiento +

✖ Inhibición del crecimiento —



Tabla 4.

Antiséptico clorhexidina

Segundo ensayo (concentraciones más bajas)

MICROORGANISMOS	Bacterias	CONCENTRACIONES %	0.1	0.2	0.3	0.4
		<i>Staphylococcus aureus</i>	+	—	—	—
		<i>Escherichia coli</i>	+	—	—	—
		<i>Shigella sps</i>	+	—	—	—
		<i>Pseudomona Hospitalaria</i>	—	—	—	—

✘ Crecimiento +

✘ Inhibición del crecimiento —



Tabla 5.

Antiséptico Yodopovidona.

MICROORGANISMOS	Bacterias	CONCENTRACIONES %	5	6	7	8	9	10	11	12
		<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	—	—	—	—	—
		<i>Escherichia coli</i>	+	—	—	—	—	—	—	—
		<i>Shigella sps</i>	+	—	—	—	—	—	—	—
		<i>Pseudomona Hospitalaria</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
	Levadura	<i>Cándida albicans</i>	+	+	+	—	—	—	—	—

✕ Crecimiento +

✕ Inhibición del crecimiento —



Análisis de resultados



Análisis de resultados

Al concluir nuestro trabajo experimental, se procedió al análisis de los resultados obtenidos.

En el primer ensayo realizado al desinfectante **Glutaraldehido** (Tabla 1), se observo que a las concentraciones de trabajo no hubo actividad bactericida, ni fungicida identificándose por el crecimiento de las bacterias y levadura inoculada en dicho ensayo; como son: *Escherichia coli*, *Shigella sps*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona Hospitalaria*, *Cándida albicans*, por lo que se procedió a la realización de un segundo ensayo, (Tabla 2) donde se trabajaron concentraciones más altas para lograr determinar la CMI de este desinfectante, lo cual no se logro por que hubo crecimiento de las bacterias y levadura inoculadas, lo que no coincide con lo reflejado en la bibliografía consultadas pudiéndose deber a diferentes razones como son; el pH final obtenido en su preparación o la concentración que el desinfectante presenta durante su almacenamiento. Las concentraciones inferiores afectan su actividad biocida debe ser considerada inaceptable cuando la dilución está entre 1.0 a 1.5% o menos, entonces el indicador no cambia de color.

Por lo cual los productos del mercado comercial deben venderse con un control que se debe realizar diariamente, a los efectos de asegurar estos niveles de concentración. Es por ello que se deben utilizar cintas testigos para testear la concentración efectiva, los envases de estas cintas tiene fecha de vencimiento deben ser controlados.

Este debe ser usado este test cuando se utilizan formulaciones de Glutaraldehido alcalino que se debe mezclar con un buffer, a los efectos de confirmar que se ha realizado una buena mezcla.



En el primer ensayo realizado al antiséptico **Clorhexidina** (tabla 3), observamos que a las concentraciones utilizadas hubo actividad bactericida, por que no había crecimiento de las bacterias inoculadas, (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shiguella sps*, *Pseudomona Hospitalaria*), pero si se logro determinar actividad fungicida para levadura como *Candida albicans*, la cual fue inhibida a partir de la concentración del 2% v/v, facilitando así la determinación de la CMI. Para lograr determinar la CMI de las bacterias, realizamos un segundo ensayo (tabla 4), en el cual se trabajaron concentraciones más bajas, obteniendo una CMI para bacterias gram positiva y gram negativa a partir de la concentración del 0.2% v/v.

En el ensayo realizado al antiséptico **Yodopovidona** logramos determinar actividad bactericida como fungicida, ya que inhibió a bacterias como *Staphylococcus aureus* a partir de la concentración 8% , a *Escherichia coli* y *Shiguella sps* a partir de la concentración 6%, excepto *Pseudomona Hospitalaria*, la cual no se inhibió, constatando un crecimiento de esta bacteria en las diferentes concentraciones utilizadas en este ensayo, en caso de la levaduras como es *Candida albicans* fue inhibida a la concentración 8%, determinando de esta manera las CMI para cada uno de estos microorganismos.





Conclusión

Habiendo discutido y analizado el ensayo realizado a los antisépticos y desinfectante, podemos concluir:

✦ Que el antiséptico Clorhexidina posee actividad bactericida a partir de la concentración mínima de 0.2% para las diferentes bacterias en estudio; como son, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella sps*, en el caso de *Pseudomona Hospitalaria*, se confirmó que este antiséptico es bactericida para este microorganismo, no pudiendo establecer la CMI para esta bacteria, debido a que no se contó con el instrumental adecuado para medir concentraciones más bajas que las trabajadas en este estudio.

Para el antiséptico Yodopovidona se determinó su CMI al 6% para las bacterias *Escherichia coli* y *Shigella sps*, y para *Staphylococcus aureus* una CMI a partir de la concentración 8%. En el caso de *Pseudomona Hospitalaria* podemos decir que este antiséptico no posee actividad bactericida para esta bacteria hospitalaria.

Por causa ajena a nuestro estudio, el desinfectante Glutaraldehído no presentó actividad bactericida, ni fungicida ya que no hubo inhibición de las bacterias ni levadura a las concentraciones de trabajo.

✦ Se determinó la actividad fungicida de los antisépticos, para la levadura *Candida albicans*. Con respecto al antiséptico clorhexidina se obtuvo como resultado la CMI al 2%, en el caso del antiséptico Yodopovidona se determinó la CMI a partir de la concentración 8%.

✦ En lo que respecta a las concentraciones de uso recomendadas en bibliografía para estos antimicrobianos; podemos decir que el antiséptico Clorhexidina ejerce actividad a la concentración del 2%, la cual coincide con la concentración recomendada en bibliografía.



En el caso del antiséptico Yodopovidona la concentración de uso recomendada en bibliografía coincide con la concentración determinada en este ensayo, la cual fue incluso menor del 10%, mientras que para el desinfectante Glutaraldehído no se logró determinar si la concentración de uso recomendada por bibliografía es la adecuada para su empleo en el ámbito hospitalario por no inhibir el crecimiento de los microorganismos en estudio.

Concluyendo de esta manera, que los antisépticos Clorhexidina y Yodopovidona son efectivos porque poseen actividad bactericida y fungicida para los microorganismos utilizados en este estudio, de igual manera estos antisépticos son eficaces a las concentraciones de uso, recomendadas por la bibliografía, exceptuando al desinfectante Glutaraldehído el cual no presentó eficacia para las bacterias y levadura ya que hubo crecimiento de colonias características, impidiendo a su vez corroborar si la concentración de uso recomendada por bibliografía es realmente la adecuada.





Recomendaciones

- ✖ Que el área de laboratorio de microbiología sea descontaminada con mayor frecuencia para una mejor asepsia del ambiente, reduciendo así el riesgo de contaminación cruzada, mejorar las condiciones de higiene, colocando basureros de pedal y grifos de contacto, para evitar tocar estos con las manos, obteniendo así una mejor seguridad para los alumnos que realizan practicas.(Área de practica de laboratorio de alumnos).
- ✖ Dar a conocer al Hospital HEODRA los resultados obtenidos mediante el método utilizado.
- ✖ Al HEODRA, la utilización de cintas testigos para testear la concentración efectiva, las cuales son utilizadas para formulaciones de Glutaraldehído alcalino para confirmar que se ha realizado una buena mezcla.
- ✖ Recomendamos al HEODRA el uso del ácido Peracético en formulaciones que contengan agentes anticorrosivos que tiene excelente actividad esporicida y micobactericida, permanece activo en presencia de materia orgánica, teniendo como ventaja que los productos que se forman en su descomposición no son nocivos.





Bibliografía

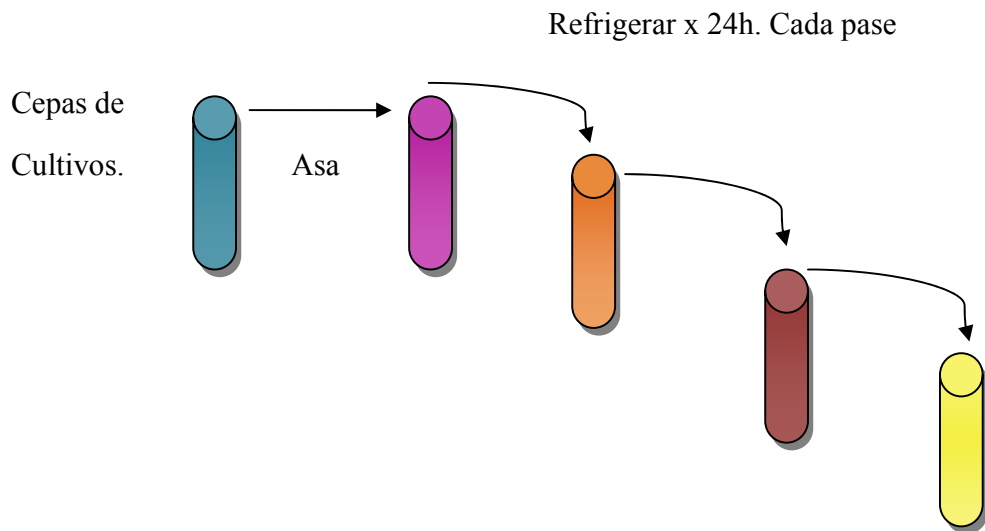
- ✖ Autor: Samuel Ponce de León R. Serie HSP/ manual operativos PALTEX. Vol. IV N^a 13. Organización panamericana de salud. Manual de prevención y control de infecciones hospitalarias. Pág. 43-50.
- ✖ Autores: Leticia Aguirre Ortega, F. Javier García, Teresa Gracia Junca, Miguel Ángel Ortega Sánchez. Asociación Española de farmacéuticos de la industria Barcelona, marzo del 2001. Monografía de AEFI.
- ✖ Validación de Métodos Analíticos, pág.143- 146. Validación del método Dilución-Neutralización (AFNOR NF T 72-150), para determinar la efectividad bactericida del Triclosan al 0.3%. Monografía para optar al Título Licenciado Químico Farmacéutico. UNAN-LEON. Año 2004.
- ✖ <http://www.codeinep.com.ar/control/DESINFECTANTES%20DE%20USO%20HOSPITALARIO.pdf>
- ✖ http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol8_3_04/san06304.pdf
- ✖ <http://www.juntadeandalucia.es/salud/contenidos/aetsa/pdf/Informe%20newger%202002.pdf>
- ✖ <http://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=5584>
- ✖ http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1028717520050002000002&script=sci_arttext&tlng=es





Anexo 1.

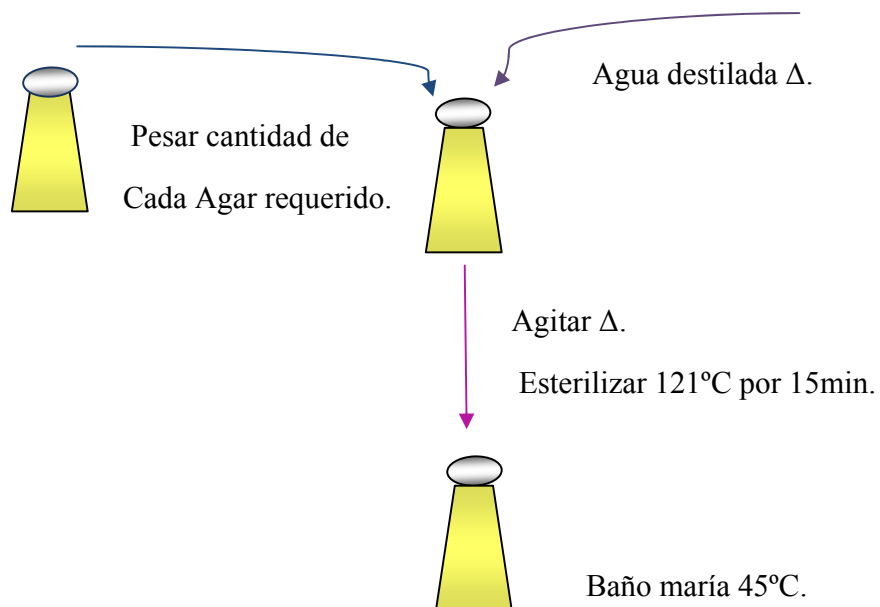
Mantenimiento de Cepas:





Anexo 2.

Preparación de los medios:





Preparación de Agar Cetrimide:

Suspender 45.3g ingredientes en un litro de agua destilada. Añadir 10 mL de glicerina y calentar agitando frecuentemente y dejar hervir hasta disolver completamente. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos. Enfriar entre 45°C y 50°C, y vertir en placas de Petri estériles.

Preparación de Agar Trypticaseina de Soja.

Suspender 40g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121° C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Dejar enfriar a una temperatura entre 45-50° C y vertir en placas de Petri estériles.

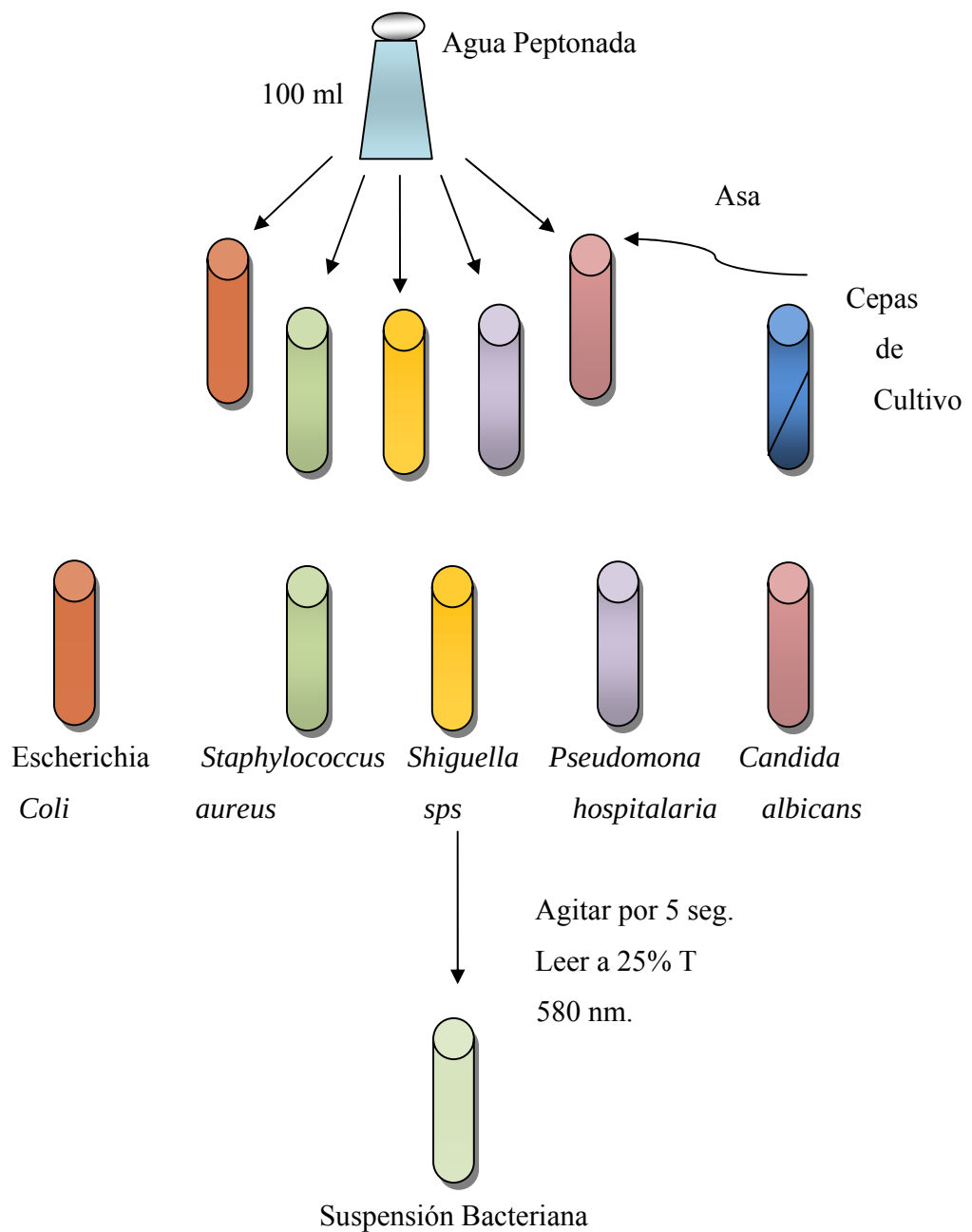
Preparación de Agar Saburaud

Suspender 65g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Dejar enfriar a una temperatura entre 45-50°C y vertir en placas de Petri estéril.



Anexo 3.

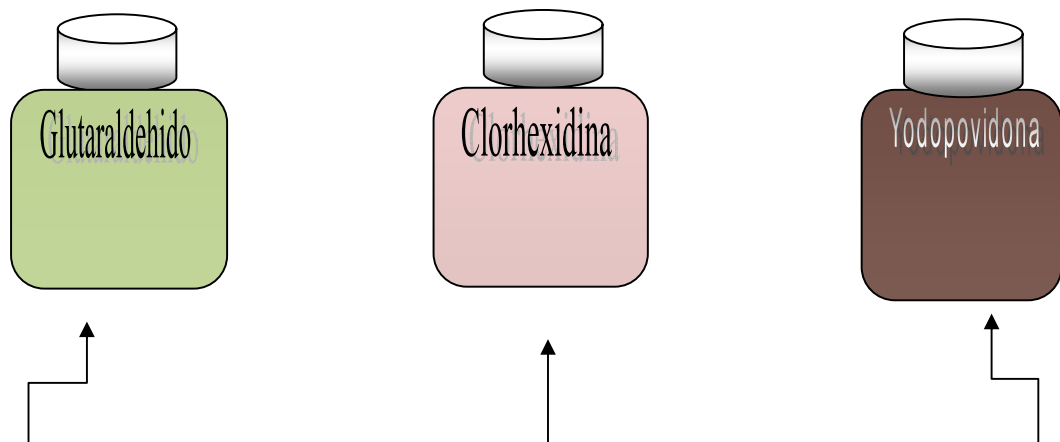
Preparación de suspensión bacteriana:



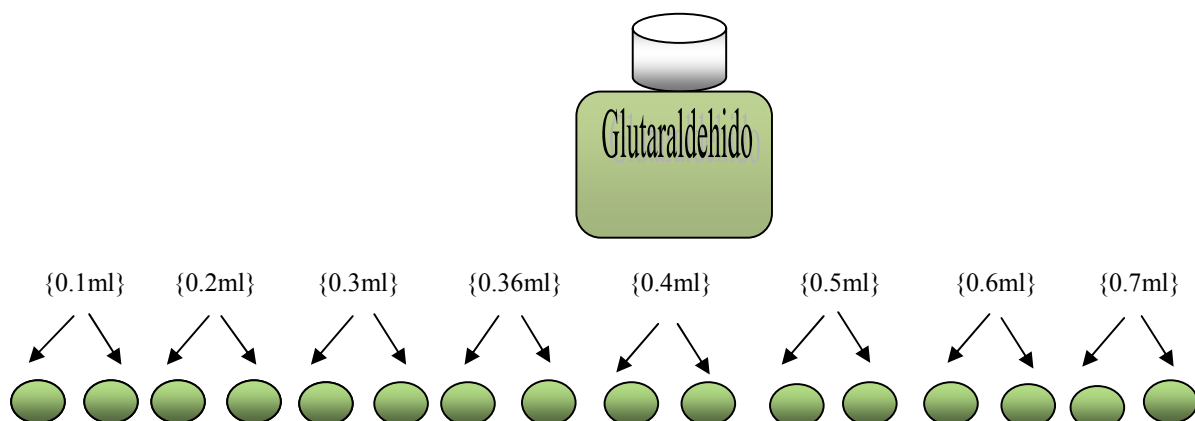


Anexo 4.

Método en placa

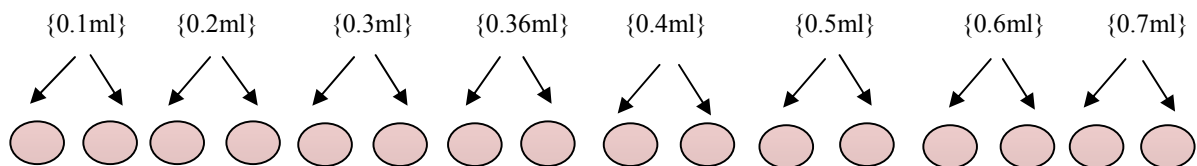


Muestras



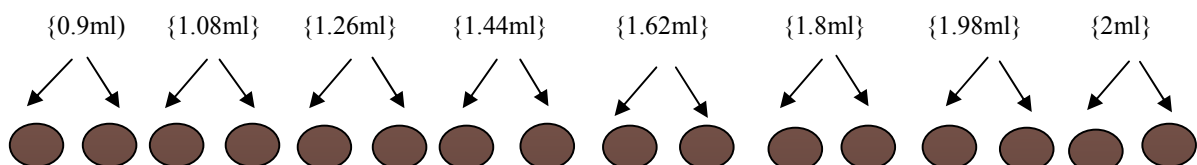
Agregar a cada placa:

18ml del agar (según cepa) + Agua destilada (csp para completar 2ml)



Agregar a cada placa:

18ml del agar (según cepa) + Agua destilada (csp para completar 2ml)



Agregar a cada placa:

18ml del Agar (según cepa) + Agua destilada (csp para completar 2ml)



Anexo 5.

	Clorhexidina	Compuestos iodados	Glutaraldehido
Compuestos	Gluconato de clorhexidina	Povidona iodada	Glutaraldehido Glutaraldehido- fenolato
Concentración	0.1-4%	7,5%-10%	2%-7%(fenol)
Tiempo	2-20 min	> ó = 10 min	> ó = 20 min
Espectro			
Bacterias	x x	x x	x x x
Hongos	x	x	x x x
Virus	-	x x	x x x
Micobacterias	-	x x	x x x
Esporas	-	-/ x	x x x
Nivel desinfección	Intermedio-bajo	Intermedio	Alto
Mecanismo De acción	Alteración membrana, coagulación de proteínas y ac. nucleicos	Disrupción de síntesis y estructura de ac. nucleico y proteínas.	Alteración de ácidos nucleicos y de síntesis proteica
Indicaciones	Antiséptico de piel (4%) y mucosas (0.1%), preparación de piel (0.5%) y lavado quirúrgicos (0.02%) (alternativa al yodo). Desinfectante de material no crítico.	Antiséptico en piel, mucosas, heridas, lavado quirúrgico.	Desinfección de endoscopios, equipos de terapia respiratoria, dializadores, equipos de anestesia...



Actividad	Se inactiva frente a materia orgánica, tensoactivos, aguas duras, jabones, cremas. Mayor acción residual que el alcohol	La dilución aumenta la eficacia germicida	Se activa con solución alcalina. Se inactiva frente a materia orgánica. Solución activada estable 14-28 días según uso.
Toxicidad	Bajo grado de toxicidad aunque produce daños si se instila en oído medio o córnea (a alta concentración).	Leve irritación de piel y mucosas, alergia.	Irritación de piel y mucosas, vías respiratorias. Límite de exposición 0,2 ppm. El glutaraldeido-fenolato presenta menor toxicidad y corrosión
Precauciones	Aclarar bien la piel antes de aplicar el antiséptico. Evitar productos clorados en el lavado de tejido manchado con clorhexidina (produce mancha). Diluir en agua destilada, no en agua corriente.	No combinar con soluciones mercuriales. Evitar en pacientes con alteraciones tiroideas	Habitación ventilada. Utilizar guantes, gafas, pantallas faciales, recipientes con tapa No utilizar agua caliente en la preparación de soluciones. Aclarar con agua corriente o estéril.



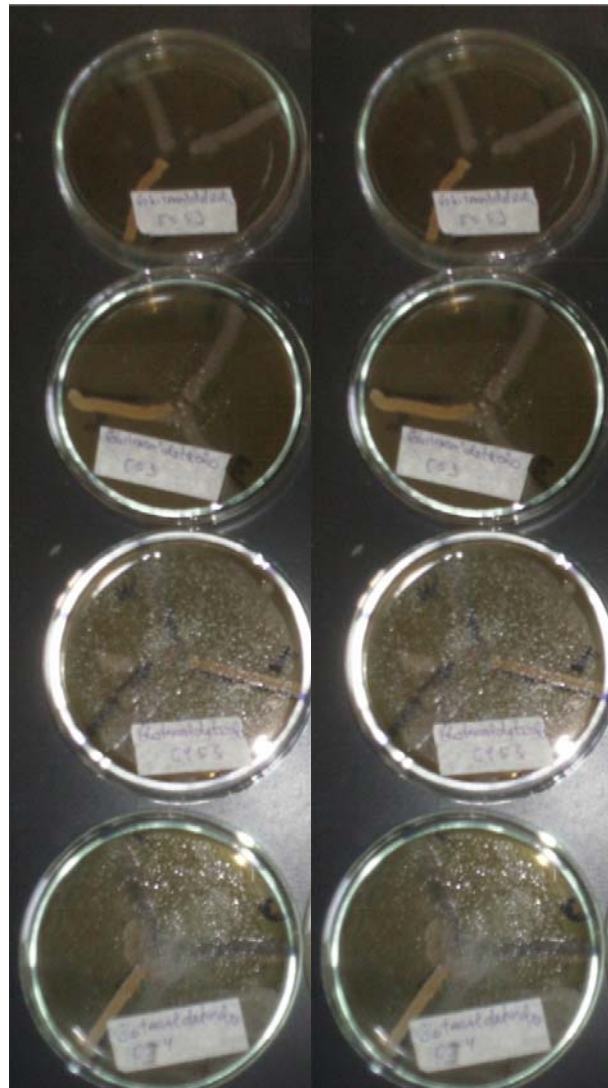
Anexo 6.

Clasificación de los niveles de desinfección.

Críticos	Agujas, sondas vesicales, cat. Cardíacos, implantes, material quirúrgico, componentes de bomba extracorp., riñón artificial, etc.	ESTERILIZACIÓN (Únicamente)
Semicrítico	Fibroskopios, tubos endotraqueal, broncoskopios, endoskopios, citoskopios, circuitos del respirador y anest., equipos de terapia respiratoria y de aspiración de secreciones, etc.	Fibroskopios, tubos endotraqueales, broncoskopios, endoskopios, citoskopios, circuitos del respirador y anest., equipos de terapia respiratoria y de aspiración de secreciones, etc. Formaldehído. 4% Hipoclorito de sodio 1000 p.p.m. de cloro libre.
Semicrítico	Máscaras de oxígeno, humidif., frascos de aspiración Tensiómetros, termómetros, estetoscopio, chatas y orinales, electrodos, etc. Mesadas, piletas, camas, paredes, techos, pisos.	ALTO NIVEL: Limpieza Hipoclorito de sodio 1000 p.p.m. de cloro libre. NIVEL INTERMEDIO Limpieza, Desinfección:- yodopovidona, - Alcohol 70% Hipoclorito de sodio 500 p.p.m.



Anexo 7.



Glutaraldehído inoculado con E. Coli, Staphylococcus A. y Shigella.



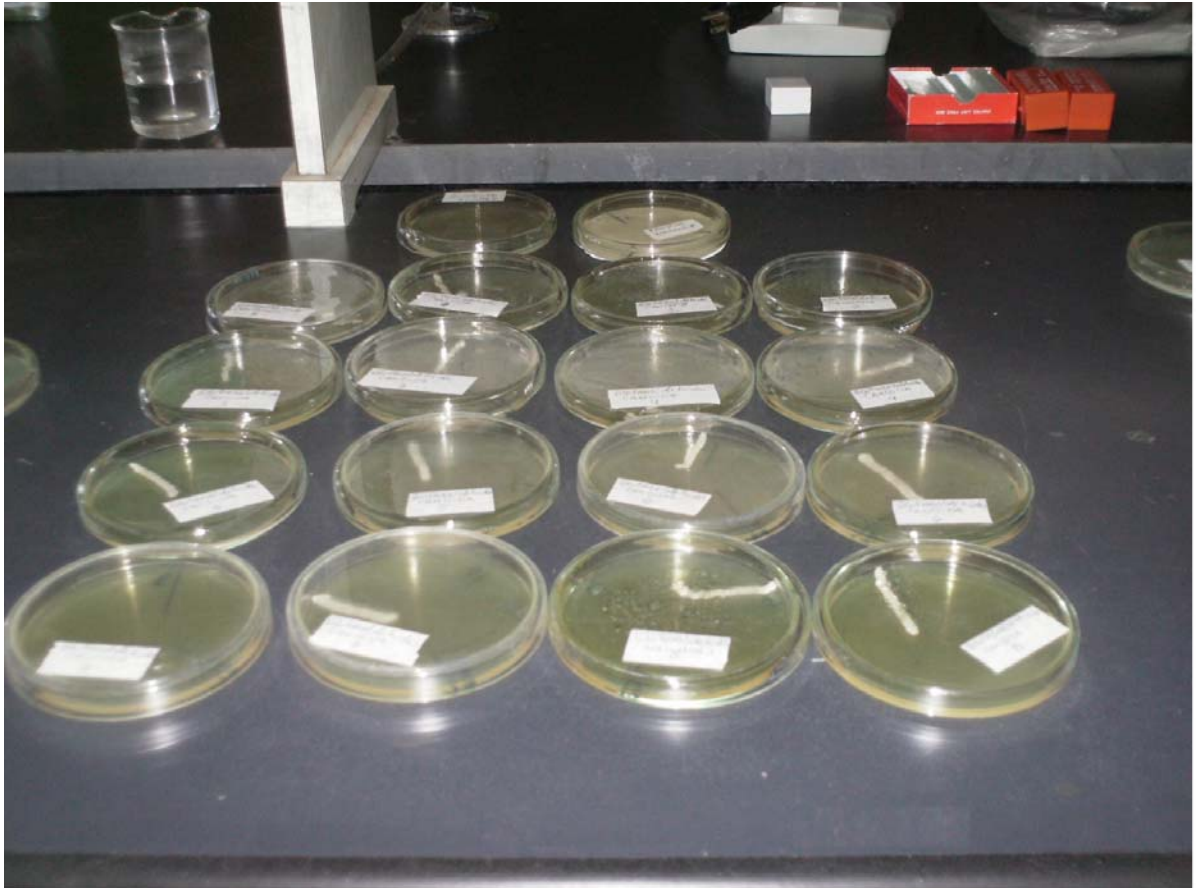
Anexo 8.



Yodopovidona inoculado con Pseudomona.



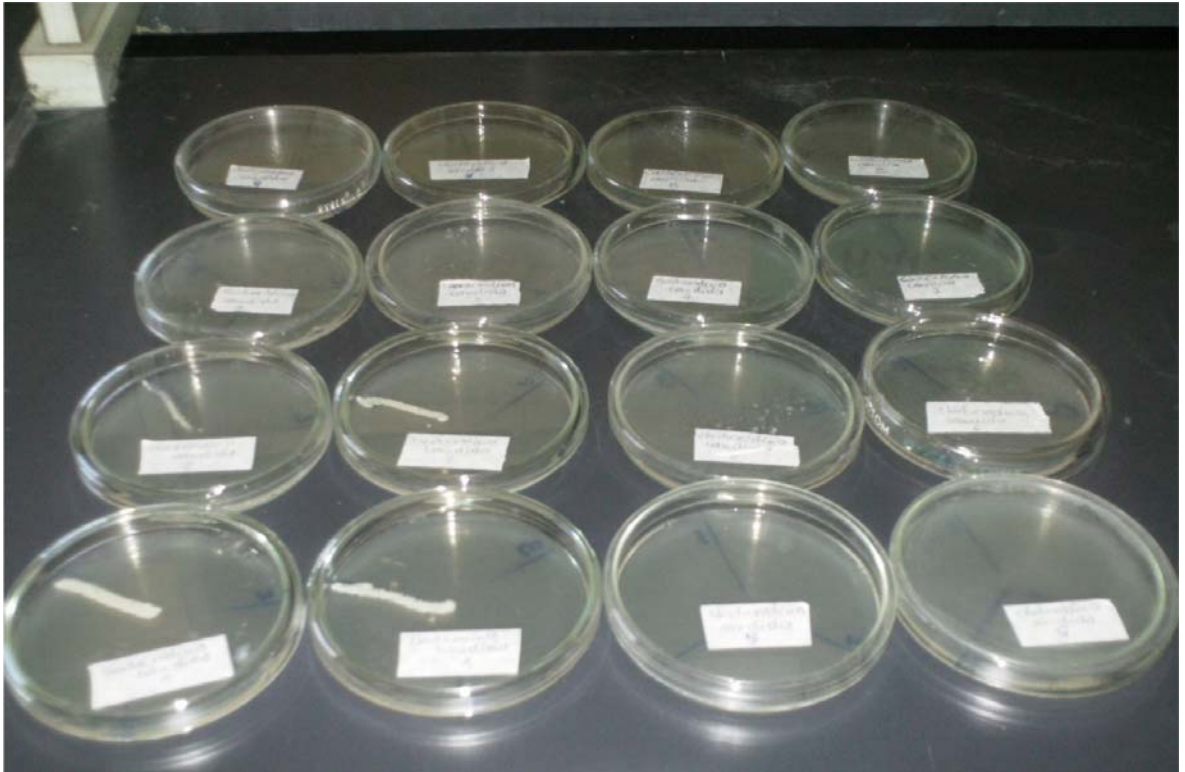
Anexo 9.



Glutaraldehído inoculado con Candida.



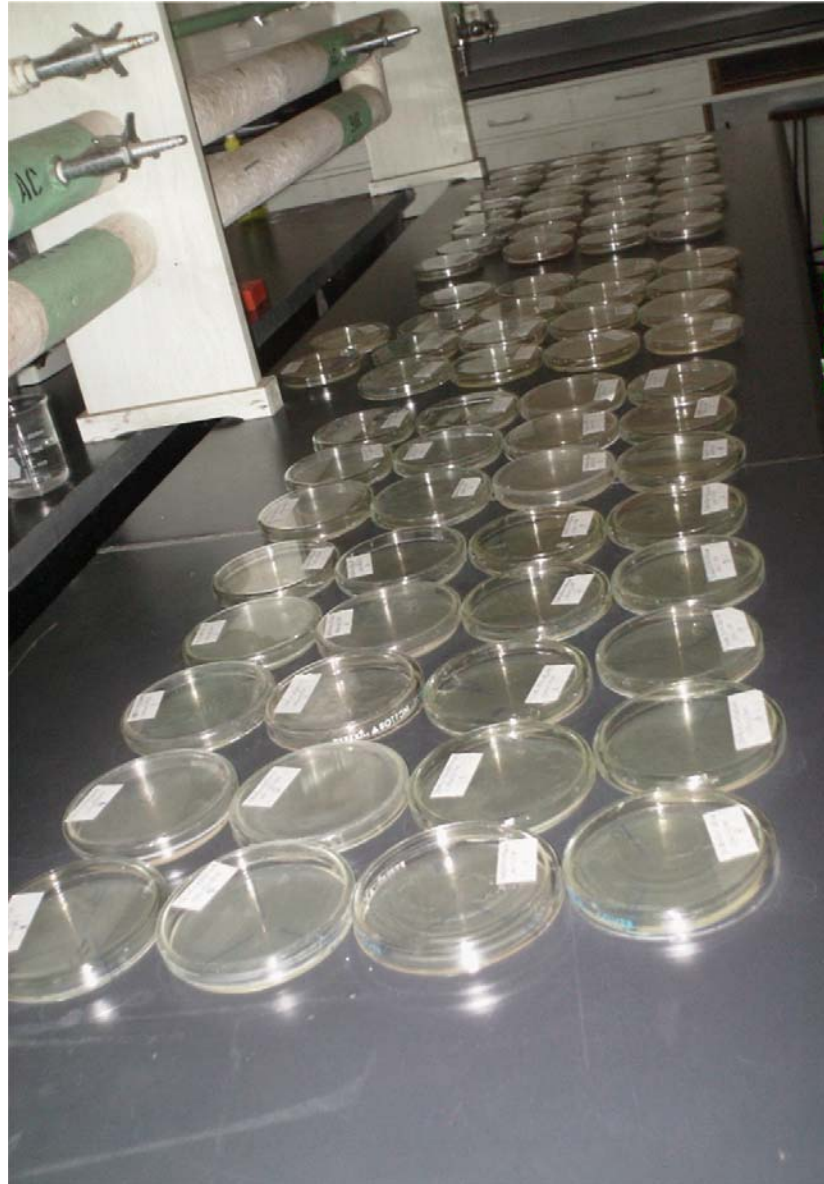
Anexo 10.



Clorhexidina inoculada con Candida.



Anexo 11.



Clorhexidina, Yodopovidona y Glutaraldehído.



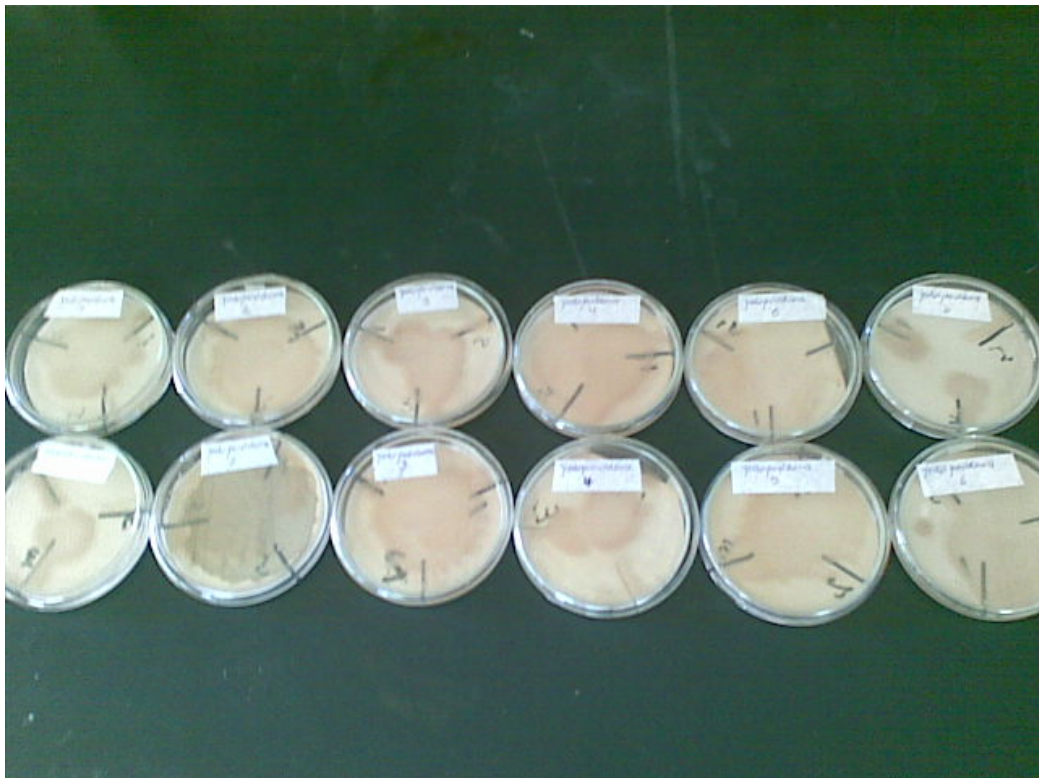
Anexo 12.



Materiales de trabajo.



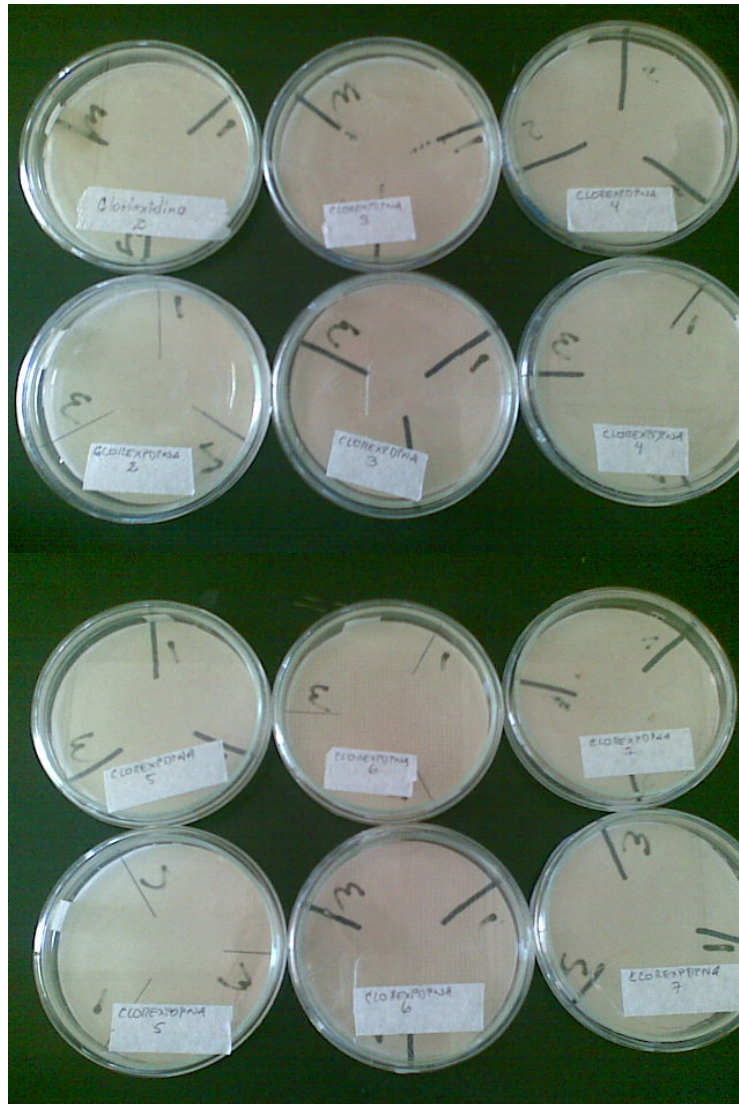
Anexo 13.



Yodopovidona inoculada con E. Coli, Shigella y Staphylococcus.



Anexo 14.





Clorhexidina inoculada con E. Coli, Staphylococcus y Shigella.