


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure, likely a saint or scholar, surrounded by various symbols including a castle, a lion, and a cross. The Latin motto "ORBIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA" is inscribed around the top edge, and "SACRAE THEOLOGICAE SCIENTIAE" is at the bottom. The seal is rendered in a light gray, semi-transparent style.

**Evaluación Microbiológica de los desinfectantes utilizados en
el área de producción de nutrición parenteral del Departamento
de Farmacia Interna del Hospital General San Juan de Dios.**

INFORME DE TESIS

Presentado Por

Mirna Noemí Villatoro Ajvix

Para optar al título de
Química Farmacéutica

Guatemala, octubre de 2009

INDICE

| | Pág. (s). |
|---|-----------|
| 1. RESUMEN | 01-03 |
| 2. INTRODUCCION | 04-05 |
| 3. ANTECEDENTES | 06-37 |
| 3.1 Revisión Histórica | 06-07 |
| 3.2 Antecedentes en Guatemala | 08-10 |
| 3.3 El Medio Ambiente Hospitalario..... | 11-12 |
| 3.3.1 El medio ambiente animado..... | 11-12 |
| 3.3.2 El medio ambiente inanimado..... | 12 |
| 3.4 Clasificación de las Áreas Hospitalarias..... | 12-13 |
| 3.5 Limpieza y Desinfección Hospitalaria..... | 14-17 |
| 3.5.1 Limpieza Hospitalaria..... | 15 |
| 3.5.1.1 Características de la limpieza Del medio Hospitalario..... | 16 |
| 3.5.1.2 Limpieza de superficies..... | 16-17 |
| 3.5.1.2.1 Suelos | 16 |
| 3.5.1.2.2 Paredes y Techos.... | 16-17 |
| 3.5.1.2.3 Limpieza de Mobiliario y Pequeñas superficies. | 17 |
| 3.5.2 Desinfección Hospitalaria..... | 17-20 |
| 3.5.2.1 Características de la Desinfección Hospitalaria..... | 18-19 |
| 3.5.2.2 Métodos Generales de Desinfección Hospitalaria..... | 19 |
| 3.5.2.2.1 Desinfección por Métodos Físicos | 19 |
| 3.5.2.2.2 Desinfección por Métodos Químicos..... | 19 |
| 3.5.3 Tipos de Desinfección | 20 |
| 3.5.3.1 Desinfección de Alto Nivel..... | 20 |
| 3.5.3.2 Desinfección de Mediano Nivel... | 20 |
| 3.5.3.3 Desinfección de Bajo Nivel..... | 20 |

| | |
|---|-------|
| 3.6 Desinfectantes | 20-34 |
| 3.6.1 Perfil del Desinfectante Ideal..... | 21-22 |
| 3.6.2 Eficacia Desinfectante..... | 22-23 |
| 3.6.3 Clasificación de los Desinfectantes..... | 23-30 |
| 3.6.4 Mecanismos de Acción..... | 30-31 |
| 2.6.4.1 Agentes que actúan sobre la Membrana citoplasmática y la pared Celular..... | 30 |
| 2.6.4.1 Agentes que actúan sobre las Proteínas y enzimas..... | 31 |
| 2.6.4.1 Agentes que actúan por Alteración del núcleo..... | 31 |
| 3.6.5 Resistencia Microbiana de los Desinfectantes..... | 32-33 |
| 3.6.6 Prueba de desafío de Desinfectantes... | 33-34 |
| 3.6.7 Elección de los Microorganismos Estudiados y del Inoculo..... | 34 |
| 3.7 Monitoreo Microbiológico de antisépticos..... | 36 |
| 3.8 Monitoreo Microbiológico de superficies | 36-37 |
| 4.JUSTIFICACION | 38 |
| 5. OBJETIVOS | 39 |
| 6. HIPOTESIS | 40 |
| 7. MATERIALES Y METODOS..... | 41-4 |
| a. Universo de trabajo | 41 |
| b. Recursos humanos | 41 |
| c. Recursos Institucionales | 41 |
| d. Recursos Materiales | 42 |
| e. Método | 44-4 |
| Análisis Microbiológico a Desinfectantes: | |
| 1.1 Método preliminar..... | 44-45 |
| 1.2 Procedimiento | 45-46 |
| 1.2.1 Preparación de Muestra... | 45 |
| 1.2.2 Calculo de UFC | 46 |

1.2.3 Aislamiento e identificación

De:

Pseudomona aeruginosa y

Staphylococcus. aureus..... 47-48

Escherichia. coli..... 48

1.3 Pruebas de Confirmación..... 46

Análisis Microbiológico a Superficies:

2.1.1 Procedimiento 49

2.2.1 Calculo de UFC 50

| | |
|---|-------|
| 8. RESULTADOS | 51-60 |
| 9. DISCUSION DE RESULTADOS | 61-64 |
| 10. CONCLUSIONES | 65 |
| 11. RECOMENDACIONES | 66 |
| 12. REFERENCIAS | 67-70 |
| 13. ANEXOS | 71-79 |
| 10.1 Anexo 1. | 71 |
| 10.2 Anexo.2 : Diseño Experimental | 72-73 |
| 10.3 Anexo. 3 : Factores de Dilución y Organismos | |
| Bacterianos a evaluar | 74 |
| 10.4 Anexo 4: Características Morfológicas..... | 75-76 |
| 10.5 Glosario | 77-78 |
| 10.6 Procedimientos Estándar de Operación..... | 79 |

1. RESUMEN

Las soluciones desinfectantes son agentes químicos que reducen la población microbiana de un medio inerte, pudiendo actuar de dos formas: con el sufijo “cida” implica que provocan muerte, o con el sufijo “estático” que inhiben el crecimiento o la multiplicación de los microorganismos ⁽¹¹⁾. Una de las características importantes es la ausencia de microorganismos en la formulación de estas soluciones desinfectantes, por lo tanto se debe garantizar su calidad microbiológica.

La calidad microbiológica tiene como objetivo evaluar, mediante el recuento de microorganismos indicadores de contaminación, la calidad sanitaria. Esta se basa en la capacidad de poner en evidencia los microorganismos presentes en un producto, en este caso; las soluciones desinfectantes. ^(28,30)

El presente trabajo de investigación se realizó con el propósito de evaluar la calidad microbiológica de 3 soluciones desinfectantes, manufacturadas en el laboratorio de producción del departamento de Farmacia Interna del Hospital General San Juan de Dios, y utilizadas como protocolo de desinfección del área de formulación de nutrición parenteral.

Las formulaciones parenterales son mezclas especiales de comida líquida proporcionada en la sangre a través de un catéter intravenoso. La mezcla contiene proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas y minerales. Y su preparación requiere especial cuidado en higiene, limpieza y desinfección de personal, equipo y área de trabajo. Por lo tanto se debe garantizar la inocuidad del área con la correcta aplicación de agentes de desinfección que garanticen calidad microbiológica.

Para el efecto, se seleccionaron al azar tres lotes de cada solución desinfectante, tomando para ello 3 muestras de cada lote, para un total de 27 muestras. Las concentraciones iniciales fueron las concentraciones formuladas por el laboratorio de producción para cada solución desinfectante, siendo estas solución de Hibitane[®] 1.17% (Gluconato de clorhexidina), solución de Savlón[®]

0.5% (Gluconato de clorhexidina+cetrimida) y Formol 10%, las muestras se analizaron por triplicado, considerando las diluciones 1:10; 1:100 y 1:1000. En cada muestra se buscó determinar la presencia de: *Staphylococcus aureus*; *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*, mediante la técnica descrita en la USP XXVI y XXX y XXXI (Microbial Limit Tests). Para el análisis y presentación de resultados se utilizó estadística descriptiva.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

1. No se determinó crecimiento de *Staphylococcus aureus* en ninguna de las muestras evaluadas.
2. A las diluciones (1:1 – 1:10) de Hibitane[®] 1.17% (Gluconato de Clorhexidina) y Formol 10% , no se determinó crecimiento de *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*.
3. A las diluciones 1:100 y 1:1000 de Hibitane[®] 1.17% (Gluconato de Clorhexidina) y Formol 10% , se determinó crecimiento de *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*, en un 40% y 60% respectivamente.
4. A las diluciones (1:1 – 1:5) de Savlón[®] 0.5% (Gluconato de Clorhexidina+Cetrimida), no se determinó crecimiento de *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*.
5. A partir de las diluciones (1:6 – 1:10), 1:100 y 1:1000 de Savlón[®] 0.5% (Gluconato de Clorhexidina+Cetrimida), se determinó crecimiento de *Pseudomona aeruginosa*, en un 60%
6. Adicionalmente a la dilución 1:100 y 1:1000 de Savlón[®] 0.5% (Gluconato de Clorhexidina+Cetrimida), se determinó crecimiento de *Escherichia coli*, en un 40%.
7. No se determinó presencia de contaminantes en las superficies inertes evaluadas en este estudio.
8. El agua utilizada como vehiculo de formulación de las soluciones desinfectantes, no presenta contaminantes que puedan alterar la calidad microbiológica.

De acuerdo a los resultados anteriores, los desinfectantes utilizados en el proceso de desinfección del área de nutrición parenteral y formulados en el

laboratorio de producción del departamento de Farmacia interna del Hospital General San Juan de Dios, no presentan crecimiento bacteriano si son utilizados a la concentración establecida por el laboratorio de producción (Hibitane[®] 1.17%, Savlón[®] 0.5% y Formol 10%), por lo que se sugiere no diluirlos.

Si por alguna situación surgiera la necesidad de diluirlos se recomiendan las siguientes diluciones: 1:2 a 1: 10; para soluciones de Hibitane[®] 1.17% (Gluconato de Clorhexidina) y Formol 10% y 1:2 a 1:5; para la soluciones de Savlón[®] 0.5% (Gluconato de Clorhexidina + cetrimida), si las soluciones desinfectantes son diluidas a rangos mayores que los anteriores se corre el riesgo de presentar crecimiento bacteriano.

De acuerdo a la evaluación microbiológica efectuada a las superficies inertes muestreadas del área de preparación de nutrición parenteral, se comprobó la efectividad en la desinfección realizada con dichas soluciones desinfectantes, además el cumplimiento a los estándares de calidad establecidos por la Norma COGUANOR NGO 29 005:99 1ra. Rev. para el agua potable utilizada como vehiculo en el proceso de formulación.

2. INTRODUCCIÓN

La limpieza es un paso previo a la desinfección, por lo que constituye un factor de importancia prioritaria, ya que su ejecución incorrecta o defectuosa planteará múltiples problemas para la realización de posteriores procesos tales como la desinfección o la esterilización.⁽⁶⁾ La desinfección es la eliminación de infecciones por medio de la inactivación o destrucción de microorganismos patógenos (protozoos, bacterias, hongos y virus), alterando su estructura o su metabolismo, con el objeto de impedir su transmisión al medio ambiente hospitalario.^(1,5-7)

Existen dos tipos de desinfección: Desinfección Física: Se basa en el empleo de calor y de radiación ultravioleta y Desinfección Química: En donde se utilizan sustancias químicas para reducir de una manera importante la población microbiana de un medio inerte, pudiendo actuar como agentes bacteriostáticos o bactericidas; estas sustancias son llamadas desinfectantes.⁽⁶⁻⁷⁾

En el Laboratorio de producción del departamento de Farmacia Interna del Hospital General San Juan de Dios, se manufacturan soluciones desinfectantes, como: solución de Hibitane[®] 1.17% (Gluconato de clorhexidina), solución de Savlón[®] 0.5% (Gluconato de clorhexidina+cetrimida) y Formol 10%. Estas soluciones son utilizadas por todos los servicios de internación, y como protocolo de desinfección del área de formulación de nutrición parenteral, esta área debe ser inocua dada la naturaleza estéril de las formulas parenterales que allí se preparan. Por lo que las soluciones desinfectantes deben ejercer su actividad bactericida o bacteriostática de manera eficiente y no deben ser fuente de contaminación microbiológica.

En consecuencia a lo anterior; se realizó la evaluación microbiológica a las soluciones mencionadas y una evaluación microbiológica a superficies inertes del área de formulación de nutrición parenteral. Se utilizó como referencia cepas certificadas ATCC (American Type Culture Collection) de los siguientes microorganismos: ***Staphylococcus aureus***; ATCC 6538, ***Pseudomona***

aeruginosa; ATCC 15442, ***Escherichia coli***; ATCC 11229, se procedió a inocular las cepas ATCC, para luego comparar las muestras con las cepas control. Adicionalmente se evaluó la calidad microbiológica del agua utilizada en la manufactura de las soluciones desinfectantes según la norma COGUANOR NGO 29 005:99 1ra rev.

Con todo lo anterior el presente trabajo de investigación proporcionará al departamento de Farmacia Interna del Hospital General San Juan de Dios un aporte científico, que ayudará a mejorar el cumplimiento a las buenas prácticas de manufactura para la producción de soluciones desinfectantes.

3. ANTECEDENTES

3.1 REVISIÓN HISTÓRICA

El uso de los desinfectantes se limita a unos 150 años atrás, pero la práctica empírica se remonta hacia tiempos cuando el hombre por incineración de maderas aromáticas pretendía protegerse contra las plagas. ⁽²⁾

La solución de hipoclorito de sodio se utilizó por primera vez en 1825, en el tratamiento de heridas infectadas y para la desinfección general, pero hasta el año de 1881 su uso se hizo popular debido a que Koch, reportó su capacidad para destruir esporas con rapidez a diluciones relativamente altas, mientras que el alcohol era inactivo para la fase esporulada del *Bacillus anthracis* que empleo en sus estudios. El valor germicida del alcohol quedó posteriormente demostrado por Reinicke y Epstein. En los años treinta, se extendió a otras industrias de alimentos, entre ellas las cárnicas y en los años cuarenta se generalizó su empleo. ^(2, 18,28)

En el año de 1881 Robert Koch inició una nueva era al trazar y emplear métodos de bacteriología moderna, como cultivos puros, medios solidificados y técnicas de esterilidad, enseñó a observar y cultivar los microorganismos, dio las bases para una desinfección fundada en principios científicos. ^(2,3,23)

Habiendo observado que varios agentes morbosos, como los bacilos del carbunco, de la pústula maligna y otros, adoptan formas de resistencia sumamente tenaces, dedujo conclusiones relativas a la existencia de esporas parecidas a diversos microorganismos patógenos, estableció el principio de que debía exigirse a todo desinfectante la capacidad para destruir a lo menos los bacilos carbuncosos. El método que usó en sus investigaciones para el examen de los desinfectantes, consiste en sumergir en una solución del mismo, hilos de seda (impregnados en líquidos que contengan esporas del bacilo del carbunco y luego desecados) y dejarlos allí durante largo tiempo. Lavados estos hilos con agua esterilizada, se ponen en un cultivo de gelatina. Las

esporas no destruidas se desarrollan y en condiciones adecuadas se observan filamentos característicos, mientras que las muertas no alteran el medio nutritivo y no producen colonias. ⁽³⁾

Kronig y Paul (1987) idearon un procedimiento para el examen de desinfectantes, fundado en los nuevos principios físico-químicos, el cual puede considerarse como normal para todas las investigaciones orientadas en este sentido, y que requiere la observancia de las siguientes condiciones:

1. Al comparar distintos desinfectantes, siempre deben considerarse en cantidades equimolares.
2. Las bacterias que sirvan como testigo deben tener la misma capacidad de resistencia.
3. El número de las bacterias empleadas en los ensayos comparativos será el mismo.
4. Las bacterias se sembrarán en las soluciones sometidas a desinfección sin que pase a ellas nada del medio nutritivo en que hayan sido cultivadas.
5. Las soluciones desinfectantes deben estar siempre a la misma temperatura.
6. Después de la acción de los desinfectantes las bacterias deben quedar completamente exentas de ellos.
7. Después de expuestas a la acción de las soluciones desinfectantes, las bacterias deben sembrarse en iguales cantidades del mismo medio favorable de cultivo y a igual temperatura.
8. El número de bacterias que hayan quedado aptas para reproducirse y que hayan formado colonias sobre materiales sólidos, debe comprobarse trascurrido el mismo tiempo. ⁽³⁾

3.2 ANTECEDENTES EN GUATEMALA

3.2.1 Guevara Alicia Noemí, 2008. Control Microbiológico de Manos del Personal, Equipo, Aire, Superficies de Áreas de Producción de Líquidos y Planta de Producción de Sales de Rehidratación Oral del Laboratorio de Producción de medicamentos (LAPROMED). Guatemala.

El monitoreo del Aire indicó presencia de contaminación microbiológica en la planta de producción de Sales, por lo tanto los parámetros de calidad establecidos no cumplen. Existió determinación de *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus* en el análisis de manos del personal que labora en la planta, en el análisis de superficies se concluyó que las áreas con mayor contaminación son las que presentan mayor contacto con el personal.

3.2.2 Godínez F. Guisela, 2006. Control Microbiológico de Manos del Personal, Equipo, Aire, Superficies de Áreas de Producción de Líquidos y Planta de Producción de Sales de Rehidratación Oral del Laboratorio de Producción de medicamentos (LAPROMED). Guatemala.

Los valores para el recuento aeróbico total de mohos y levaduras sobrepasó los límites establecidos para la calidad del Aire en la planta de sales de rehidratación oral y en el área de líquidos. No se detectó presencia de microorganismos patógenos, coliformes totales para el personal de la planta, pero si se encontró una elevación en los límites aeróbicos totales. Las superficies inertes del área de producción de sales de rehidratación oral sobrepasaron los límites del recuento aeróbico total.

3.2.3 Ramos Sandra, 2001. Control Microbiológico de Manos del Personal, Equipo, Aire, Superficies de Áreas de Producción de Líquidos y Planta de Producción de Sales de Rehidratación Oral del Laboratorio de Producción de medicamentos (LAPROMED). Guatemala.

Se encontró deficiencia en el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura, evidenciando contaminación en la planta de sales de rehidratación oral, se identificó el crecimiento de *Enterobacter agglomerans*, indicador de contaminación fecal por lo que

se recomendó la realización de limpiezas exhaustivas en las áreas de producción y superficies, seguido de una sanitización de las mismas, y lavado de manos por parte del personal.

3.2.4 DE LEÓN SANCHEZ, W.1999. Evaluación de la calidad microbiológica de las suspensiones Antiácidas manufacturadas por Industria Farmacéutica. Guatemala P. Tesis Licenciada en Química Farmacéutica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica.

Se evaluó la calidad microbiológica de las suspensiones antiácidas manufacturadas por la Industria Farmacéutica Guatemalteca. Las muestras fueron seleccionadas por conveniencia, el análisis se efectuó por triplicado; para un total de 36 muestras y fueron sometidas a un conteo inicial de microorganismos, por el método de Conteo Aeróbico en Placa, encontrándose en 30 muestras el recuento aeróbico menor de 10 UFC/mL, las muestras restantes presentaron valores mayores de 10 UFC/mL. En la prueba para hongos y levaduras se determinó que el 100% de las muestras presentaron valores menores de 10 UFC/mL. Los microorganismos determinados en 4 muestras fueron *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia Coli*, que según la USP XXII no deben estar presentes. Se recomendó a las Industrias que manufacturan estos productos mantener un estricto control de cada una de las etapas de producción, para detectar a tiempo las posibles causas y el tipo de contaminación microbiana, que puede influir en la calidad de los medicamentos.

3.2.5 RUEDA PONCE, H.1994. Evaluación de la eficacia antibacteriana de los desinfectantes utilizados para las áreas críticas del Centro Médico Militar. Guatemala. P. Tesis Licenciada en Química Biológica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Biológica.

El 70% de las soluciones desinfectantes evaluadas, presentaron una capacidad microbicida satisfactoria según el método EST; mientras que el 10% no fué eficaz contra *Candida albicans* ATCC 10231 y el 20% restante no fué eficaz contra las cepas estándar establecidas por la USP. No existió diferencia significativa en cuanto a la potencia bactericida de los 10 desinfectantes evaluados por el grupo al que

pertenecen y no se pueden comparar entre sí, debido a que el porcentaje de concentración del principio activo que cada uno posee es diferente y la concentración que se empleó en la evaluación es la que cada fabricante recomienda para su producto. Se evaluaron las soluciones elaboradas en la farmacia del Centro Médico Militar y únicamente el Savlón presentó la capacidad de reducir los recuentos viables de los 4 microorganismos ATCC a límites considerados como seguros por el método European Suspensión Testing Method. (EST).

3.2.6 LOPEZ LEIVA, H.1994. Evaluación de la calidad microbiológica de jarabes que se manufacturan en la Industria Guatemalteca. P. Tesis Licenciada en Química Farmacéutica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica.

Se evaluó la calidad microbiológica de jarabes que se manufacturan en la Industria Guatemalteca, para su realización se seleccionó un jarabe de cada laboratorio nacional que produce esta forma farmacéutica, se analizaron por duplicado. En cada muestra se buscó la presencia *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella sp.* y *Escherichia coli*, mediante la técnica descrita en la USP XXII. Con base a los resultados se concluyó que el 25.53% de los laboratorios reportados por el Departamento de Control de Medicamentos de la Dirección Central de Servicios de Salud cumplen con las especificaciones de calidad establecidas por la USP XXII, 3 muestras presentaron *Staphylococcus aureus*, 3 muestras *Pseudomona aeruginosa*, 1 muestra *Salmonella*, 1 muestra *Escherichia coli* y 7 muestras contenían hongos y levaduras. Se recomendó a los laboratorios el estricto cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura y a la Dirección General de Servicios de Salud, establecer normas de control permanente y sistemático para garantizar en todo momento la calidad de los medicamentos.

3.3 EL MEDIO AMBIENTE HOSPITALARIO

Si bien la mayor parte de los procesos infecciosos hospitalarios son de origen endógeno, su frecuencia es mayor cuando existe una serie de circunstancias favorecedoras por parte del huésped o se potencia la transmisión exógena de microorganismos, mediante la presencia de factores ambientales. ⁽²¹⁾

El medio ambiente hospitalario se clasifica en animado e inanimado. Su relación con la infección nosocomial se establece tanto a nivel del origen de la infección como a nivel de las vías de transmisión. ⁽²¹⁾

Los organismos infecciosos (bacterias, hongos y virus) pueden adquirirse de una diversidad de fuentes, por ejemplo, en hospitales, lugares de trabajo, hogares de ancianos y en el hogar. Sin embargo, pueden clasificarse de acuerdo a dos lugares principales de origen: la comunidad y el hospital. Las infecciones adquiridas en la comunidad son aquellas que se contraen en el hogar o en la comunidad. Las infecciones adquiridas en el hospital, conocidas más comúnmente como infecciones nosocomiales, son aquellas que se contraen en hospitales o instituciones como hogares para ancianos y que no existían ni se estaban incubando en el paciente en el momento en que fue ingresado. En otras palabras, son infecciones provenientes de hospitales y adquiridas durante la estancia en el hospital. ⁽²¹⁾

De los dos tipos de infecciones, las nosocomiales son mucho más difíciles de tratar por varias razones. La más importante es que los organismos han estado expuestos a la acción de diversos antibióticos, y por lo tanto, los que sobreviven en los hospitales o las instituciones son los más resistentes a los fármacos y los más virulentos. ⁽²¹⁾

3.3.1 El medio ambiente animado

Lo constituyen los pacientes hospitalizados, el personal que trabaja en el hospital y los visitantes del centro. El factor ambiental animado es fuente de infección o mecanismo de transmisión importante de gérmenes.

Se trata con frecuencia de procesos cruzados, ya que los enfermos infecciosos constituyen un riesgo para el resto de los pacientes, personal sanitario e incluso para los visitantes, y en sentido inverso los sanitarios y las visitas pueden constituir fuente de infección de microorganismos patógenos para los pacientes ingresados. Como parte básica de la cadena epidemiológica, las manos se consideran el mecanismo más importante de transmisión de la infección desde un enfermo o desde el personal sanitario a otro paciente del hospital. ⁽⁶⁾

3.3.2 El medio ambiente inanimado

Esta constituido por: superficies, salas de encamamiento, equipo accesorio y demás componentes internos del hospital, dado a que el medio ambiente inanimado se encuentra presente en todo el hospital, este guarda una íntima relación con las infecciones nosocomiales, y puede contribuir a casos esporádicos o a brotes de enfermedad en instituciones al proporcionar focos de contagio y transmisión de gérmenes por vehículo común, por el aire y por vectores. El aire, como parte del medio ambiente inanimado, sirve como vehículo a través del cual los microorganismos infecciosos procedentes de otros focos son transmitidos por el polvo o en pequeñas gotículas. ⁽⁶⁾

3.4. CLASIFICACIÓN DE LAS ÁREAS HOSPITALARIAS

Para establecer un plan de limpieza eficaz de los centros sanitarios, será necesario dividir cada una de sus zonas en función del riesgo de infección que suponen para los pacientes y el personal. La clasificación es la siguiente: ⁽⁷⁾

Zonas de Riesgo Alto:

- Quirófanos.
- UCI (unidad de cuidados intensivos)
- Esterilización
- Hemodiálisis
- Coronarios
- Neonatales, etc.

- Grandes Quemados
- Área de Preparación de Nutrición Parenteral

Estas son las áreas hospitalarias en donde el riesgo de infección nosocomial es particularmente alto, esto se debe a que los pacientes están inmunosuprimidos, lo que los hace más vulnerables a las infecciones. ⁽²¹⁾

Zonas de Riesgo Medio:

- Unidades de hospitalización o Enfermería
- Urología
- Consultas Externas.
- Radioterapia
- Laboratorios.
- Rehabilitación
- Radiología
- Urgencias
- Cocina

Zonas de Riesgo Menor:

- Dirección y Administración
- Farmacia.
- Lavandería
- Pasillos
- Otras dependencias

En principio, como el aporte de microorganismos en el hospital es constante e irremediable, es necesario proceder a una desinfección frecuente de dependencias, objetos y utensilios presentes en el medio hospitalario independientemente del resultado de los distintos estudios bacteriológicos realizados (estos proporciona una idea aproximada del nivel de contaminación existente). ⁽⁵⁾

3.5 LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN HOSPITALARIA

El concepto de saneamiento abarca un amplio espectro de actuaciones, a nivel sanitario que configuran lo que se conoce como higiene hospitalaria. A la hora de llevar a cabo este saneamiento de una forma regular y sistemática, se utilizan en el medio hospitalario cuatro tipos fundamentales de descontaminación:

- La limpieza
- La desinfección
- La esterilización
- Los procedimientos pautados de actuación a la hora de realizar la asistencia sanitaria. ^(5,14)

La limpieza y la desinfección, constituyen junto con la esterilización, los elementos primarios y más eficaces para romper la cadena epidemiológica de la infección. Ambas son necesarias para mantener el aspecto, la estructura y funcionalidad tanto del hospital como de su contenido, se pretende conseguir una reducción del número de microorganismos existentes en el medio hospitalario evitando así que se diseminen y puedan producir contaminaciones y/o infecciones nosocomiales. ^(5,6)

Todos los productos detergentes, desinfectantes, antisépticos y esterilizantes que se emplean en el hospital, deben estar debidamente registrados por la autoridad sanitaria competente y ser aprobados por el Comité responsable de la limpieza, desinfección y esterilización del hospital. ⁽¹⁾

En cada unidad donde se almacenen, preparen o empleen dichos productos, debe existir información escrita que contenga, para cada producto, como mínimo lo siguiente:

- Concentración y temperatura de uso.
- Tiempo de contacto
- Microorganismos afectados
- Toxicidad

- Reacciones de sensibilización u otros efectos perjudiciales.
- Sustancias o materiales incompatibles (especialmente aquellos que disminuyan la efectividad del ingrediente activo).
- Condiciones físicas que pueden influir en forma adversa sobre la actividad del producto durante el uso del mismo o durante su almacenamiento (temperatura, luz, humedad, otros).⁽¹⁾

EL programa de limpieza y desinfección y los procedimientos, varían de acuerdo a los siguientes factores: área del hospital, tipo de superficie, cantidad de suciedad y tipo de suciedad presente.

Todas las superficies (pisos, paredes y cielos rasos) requieren inspección constante e inmediata reparación cuando sea necesario, con el objeto de mantenerlas lisas, secas y de fácil limpieza.⁽¹⁾

3.5.1. LIMPIEZA HOSPITALARIA

Según la norma COGUANOR establece que el personal relacionado con las actividades de limpieza, desinfección y esterilización, deben ser objeto de capacitaciones acorde a las labores a desarrollar y de sus respectivas actualizaciones.

Los procedimientos de limpieza, desinfección y esterilización, deben contener como mínimo la siguiente información:

- Identificación del lugar de aplicación.
- Equipo o instrumento al cual se aplica el procedimiento.
- Frecuencia de aplicación.
- Productos químicos.
- Materiales y/o equipo aplicable.
- Descripción detallada de los pasos del procedimiento.
- Precauciones para la aplicación.

Todos los procedimientos deben estar en conocimiento del personal relacionado con estas actividades y deben estar disponibles en cada unidad que corresponda, en un sitio de fácil acceso.^(1,6)

3.5.1.1 CARACTERISTICAS GENERALES DE LA LIMPIEZA DEL MEDIO HOSPITALARIO

- Proceso que no inactiva todos los gérmenes pero que elimina muchos de ellos.
- Deberá realizarse siempre de forma correcta y completa, antes de proceder a la antisepsia (desinfección o esterilización).
- Debe ser considerada como una responsabilidad compartida por todo el personal del hospital.
- Dadas las características del medio, debe ser realizada por personal convenientemente preparado. A menudo, las labores de limpieza son llevadas a cabo por personal no sanitario contratado por el hospital.
- Contará con la colaboración del personal encargado del control de las infecciones hospitalarias en todo aquello referente a:
 - Elaborar protocolos de limpieza
 - Seleccionar los productos de limpieza más convenientes.
 - Elegir los materiales mas adecuados en cada caso.
- Necesita de la existencia en el hospital de una persona responsable del cumplimiento de los protocolos de limpieza previamente establecidos. ⁽⁵⁾

3.5.1.2 LIMPIEZA DE SUPERFICIES GRANDES

3.5.1.2.1 SUELOS: Debe emplearse un método húmedo con el sistema de doble cubo utilizando la técnica de “Zig-Zag”. Para la suciedad no adherida, puede utilizarse la mecha de gasa la cual, en algunos servicios del hospital debe ser de un sólo uso o desechable. La limpieza de los pisos y de todas las superficies horizontales, excepto cielos rasos, debe efectuarse como mínimo una vez al día; o en el caso de ser un área crítica se deberá limpiar por lo menos dos veces al día y cada vez que exista suciedad visible. ⁽⁵⁾

3.5.1.2.2 PAREDES Y TECHOS: Se recomienda limpiar utilizando la técnica de “arrastre” siempre de arriba hacia abajo, evitando repetir el paso varias veces por el mismo sitio. Es importante evitar los desconchados y

grietas en los cuales puede quedar la suciedad acumulada. Las paredes, cielos rasos, persianas y cortinas, no requieren limpieza diaria; deberán limpiarse cada quince días, excepto en todos los casos que hay suciedad visible o con mayor frecuencia si así lo establece el comité. ^(1,5)

3.5.1.2.3 LIMPIEZA DE MOBILIARIO Y PEQUEÑAS SUPERFICIES:
Debe procederse a su limpieza con paños limpios, sumergidos en solución detergente y luego estrujados: la humedad de los limpiadores evita levantar el polvo, La técnica recomendada es la de "Arrastre". ^(1,5)

Para las pequeñas superficies, o para aquellos lugares donde no se tiene fácil acceso, puede considerarse la posibilidad de utilizar sustancias detergentes y desinfectantes asociadas, en forma nebulizada (spray). ^(1,5)

Todo el mobiliario del hospital debe tener un espacio libre, en su parte inferior, de por lo menos 10 cm. para permitir una apropiada limpieza del piso. ⁽¹⁾

3.5.2 DESINFECCIÓN HOSPITALARIA

En el hospital existe una contaminación sistemática y continúa por microorganismos fundamentalmente patógenos, procedentes de los pacientes y en general de la actividad hospitalaria. Hay una gran cantidad de gérmenes o de partículas que son potencialmente patógenas y susceptibles de multiplicarse fuera del organismo acarreado graves consecuencias al medio ambiente hospitalario que, en la medida de lo posible es necesario paliar y se recurre para ello a la desinfección. ⁽⁵⁾

La desinfección es la eliminación de infecciones por medio de la inactivación o destrucción de gérmenes patógenos (protozoos, bacterias, hongos y virus), alterando su estructura o su metabolismo, con el objeto de impedir su transmisión al medio ambiente hospitalario. Proporciona un nivel de protección al matar la mayoría de los organismos, con una sola excepción: no mata las esporas de las bacterias. ^(5,7,8,10)

La organización y ejecución de los trabajos de desinfección debe ser:

- a. Metódica: Se debe aplicar en cumplimiento de un plan previamente diseñado.
- b. Científica: se deben utilizar los métodos adecuados según el germen que se quiera destruir.
- c. Completa: Utilizar el desinfectante adecuado para cada zona a limpiar. ⁽⁷⁾

3.5.2.1 CARACTERISTICAS GENERALES DE LA DESINFECCIÓN HOSPITALARIA

En el entorno hospitalario, la desinfección se caracteriza por:

1. Puede ser llevada a cabo tanto por métodos físicos como químicos.
2. Posibilita la destrucción de microorganismos patógenos y también saprófitos.
3. Su campo de aplicación es amplio, utilizándose fundamentalmente para:
 - a. Material ya utilizado, antes de proceder a su limpieza.
 - b. Material contaminado en general (siempre que no sea incinerado o se trate de material desechable).
 - c. Material que no necesita ser esterilizado.
4. Necesita una buena limpieza previa para que los resultados obtenidos sean suficientemente satisfactorios.
5. Debe ser llevada de manera metódica (con un plan establecido de actuación) y completa pero no uniforme (debe desinfectarse todo pero en cada caso se utilizarán los métodos más adecuados en función de las características de los gérmenes contaminantes y de aquello que se pretenda desinfectar).
6. Deberá ser efectuada con regularidad por el personal encargado de la limpieza hospitalaria. Su frecuencia e intensidad quedará determinada por las características propias de cada grupo de locales y servicios del hospital, pudiendo ser diaria, semanal o de distinta

periodicidad dependiendo de las condiciones concretas en que se encuentren las áreas de trabajo que se van a tratar:

- a. Diaria: Unidades de hospitalización, quirófanos, etc.
- b. Semanal: locales de reunión dentro del propio hospital como oficinas, despachos, etc.
- c. Distinta periodicidad: servicios generales. ⁽⁵⁾

3.5.2.2 MÉTODOS GENERALES DE DESINFECCIÓN EN EL ENTORNO HOSPITALARIO

Esta clasificación está basada en la naturaleza del proceso por el que se consigue la desinfección y puede hablarse de métodos físicos y químicos. ⁽⁵⁾

3.5.2.2.1 DESINFECCIÓN POR MÉTODOS FÍSICOS:

De entre los métodos físicos, los basados en el empleo de calor y de radiación ultravioleta como agentes desinfectantes son los más asiduamente utilizados en el entorno hospitalario, por ser los más fáciles de aplicar, proporcionando además un aceptable rendimiento. Dicho rendimiento se verá muy mermado si previamente no se lleva a cabo una limpieza adecuada. ⁽⁵⁾

3.5.2.2.2 DESINFECCIÓN POR MÉTODOS QUÍMICOS:

Son todos aquellos métodos de desinfección que utilizan sustancias químicas de naturaleza y propiedades muy diversas para conseguir la eliminación de los gérmenes indeseables, por medio de la aplicación de desinfectantes y de gases. ^(5, 9)

Los desinfectantes son sustancias químicas empleadas para destruir la mayoría de las bacterias y algunos virus y para desinfectar implementos y superficies. Los desinfectantes no se deben emplear sobre la piel, cabello o uñas de seres humanos. ⁽¹⁰⁾

3.5.3 TIPOS DE DESINFECCIÓN

Los diferentes niveles de desinfección que se pueden llevar a cabo en un hospital varían dependiendo de los productos que se utilicen y de su concentración:

3.5.3.1 DESINFECCIÓN DE ALTO NIVEL:

Se realiza cuando el producto que estamos utilizando es activo frente a virus lipídicos de tamaños medio, virus no lipídicos pequeños, bacterias en su forma vegetativa, bacilos de Koch, esporas (en determinadas circunstancias) y hongos. ⁽¹⁰⁾

3.5.3.2 DESINFECCIÓN DE NIVEL INTERMEDIO: Este nivel tiene las mismas características que la desinfección de alto nivel pero no es activo frente a las esporas. ⁽¹⁰⁾

3.5.3.3 DESINFECCIÓN DE BAJO NIVEL: es aquella que sólo es activa frente a virus lipídicos de tamaño medio, bacterias en forma vegetativa y hongos. ⁽¹⁰⁾

3.6 DESINFECTANTES

Los desinfectantes son sustancias que reducen de una manera importante la población microbiana de un medio, pudiendo actuar sobre ellos de dos formas: con el sufijo “cida” como los fungicidas o bactericidas que provocan su muerte, o con el sufijo “estático” como los fungistáticos o bacteriostáticos que inhiben el crecimiento o la multiplicación de los microorganismos. Pueden actuar de varias maneras: desnaturalización de las proteínas del protoplasma celular, alteración o rotura de las paredes celulares, inactivación del complejo enzimático, acción oxidante o reductora, etc. ⁽¹¹⁾

Según la FDA (Food and Drug Administration), es una sustancia que, depositada sobre un material, vivo o inerte, destruye en 10 a 15 minutos todos los gérmenes patógenos, alterando lo menos posible el sustrato donde residen y abarcando todas las formas vegetativas de bacterias, hongos y virus (excepto

el virus de la hepatitis B), lo que no significa ausencia de poder de inactivación, sino que no se requiere comprobar su eliminación para ser considerado desinfectante. Actualmente, se denominan *germicidas* los productos que actúan tanto *in Vitro* como sobre material inerte y se reserva el término desinfectante para los productos que sólo actúan sobre material inerte. ⁽¹³⁾

Comercialmente los desinfectantes se encuentran disponibles en diferentes presentaciones y formulas químicas, unos destruyen en ciertas condiciones todos los tipos de microorganismos, incluso las esporas; otros no actúan más que en contra de ciertos tipos de gérmenes; otros, incluso, sólo poseen una acción bacteriostática. Así pues, en la desinfección química, los efectos se consiguen mediante destrucción o inhibición de los gérmenes. ^(14,16)

Se denominan antisépticos aquellos productos químicos utilizados para la desinfección de piel, heridas y cavidades del organismo. Son de uso frecuente la tintura de yodo, agua oxigenada, alcohol yodado, mercurocromo, etc. ⁽²⁰⁾

Los desinfectantes pueden ser bactericidas (matar) o bacteriostáticos (inhibir el crecimiento) de las bacterias. Un material desinfectado no está esterilizado; la desinfección no elimina a todos los microorganismos y sus formas de resistencia (esporas). Pero un material que ha sido sometido a la esterilización está por ende desinfectado, puesto que se ha eliminado cualquier forma de vida o resistencia de las bacterias, virus, etc. ⁽²⁰⁾

3.6.1 PERFIL DEL DESINFECTANTE IDEAL

Ningún desinfectante reúne todas las condiciones, pero se elegirá el que mejor se ajuste a las condiciones de uso requeridas.

- Ser compatible, básicamente con aguas duras y/o cloradas, sustancias detergentes, albúmina (presente muy frecuentemente en el material a limpiar), etc.

- Poseer un amplio espectro y efecto sobre bacterias patógenas, bacterias indeseables, y de ser posible, también sobre las saprofitas, esporas y virus (en algunos casos, debe actuar también sobre microorganismos muy específicos, como las micobacterias).
- Poseer acción rápida y ser capaz de destruir en 10-15 minutos los microorganismos presentes en aquello que se pretende desinfectar.
- No ser inactivo por la materia orgánica.
- No ser corrosivo ni agresivo en general (que respete los materiales sobre los que debe actuar).
- Con propiedades humectantes y tensioactivas
- Sin efectos secundarios importantes como alergias, eritemas, cáncer, etc.
- Sin toxicidad por reabsorción cutánea ni toxicidad sistémica.
- No irritar mucosa ocular (no conviene por tanto que sean muy volátiles).
- De fácil manejo.
- Que sea versátil (poderlo aplicar tanto a mano como con máquina o eventualmente con pulverizador).
- Con agradable olor.
- Fácil de conservar y almacenar
- Económico o con una buena relación calidad-precio. ^(5,13,17)

3.6.2 EFICACIA DESINFECTANTE

La eficacia de los desinfectantes depende de:

- La concentración de su solución
- La temperatura, pH y dureza del agua.

Dureza del Agua:

La calidad del agua es un factor determinante, debe ser potable, limpia y transparente, blanda (no precipitará los jabones ni formará incrustaciones), libre de microorganismos y no corrosiva. ⁽¹⁴⁾

El agua potable debe contener entre 0.3 y 0.5 ppm de cloro activo. El agua de lavado 1 ppm y el agua utilizada en las tareas de higienización 25 ppm. Una dureza excesiva reduce la eficacia de algunos detergentes y desinfectantes (las sales de amonio cuaternario sobre todo) y contribuye a la formación de incrustaciones en la superficie del equipo tras la evaporación. ⁽¹⁴⁾

El uso de aguas blandas está particularmente indicado en las operaciones de limpieza química (enjuague después de aplicación de productos químicos de deterción y desinfección). ⁽¹⁴⁾

- Del tipo de superficie a desinfectar.
- De la cantidad de materia orgánica retenida en la superficie.
- Del número y especies de los microorganismos presentes. ^(5,7)

3.6.3 CLASIFICACIÓN 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 microorganismos: baja, intermedia y alta. ^(24,25)

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 al género *Mycobacterium sp*, ni las esporas bacterianas. ^(24,25)

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. ^(24,25)

Los desinfectantes de **Alto Nivel** consiguen destruir todos los microorganismos, excepto algunas esporas bacterianas. ^(24,25)

Los agentes químicos que actúan sobre las bacterias se pueden clasificar en dos grandes grupos: compuestos químicos inorgánicos y orgánicos. ^(24,25)

Compuestos inorgánicos

1. *Ácidos y álcalis*
2. *Sales minerales*
3. *Oxidantes*
4. *Otros*

Compuestos Orgánicos

1. *Alcoholes*
2. *Fenoles*
3. *Biguanidas*
4. *Aldehídos*
5. *Colorantes*
6. *Agentes Tensioactivos*

3.6.3.1 Compuestos inorgánicos

1. Ácidos y álcalis

2. Sales minerales

2.1 De mercurio (mercurocromo, mertiolato, etc.), plata, cobre, etc.

2.1.1 Bicloruro de Mercurio: Inactiva las proteínas y se usa para desinfectar mesas, suelos y otras superficies.

2.1.2 Compuestos Organomercuriales: Actúan inhibiendo las proteínas, se emplean en uso tópico (ejemplo, la mercromina o mercurocromo, para *Salmonella Typhi* y para *Staphylococcus Aureus*).

2.1.3 Sulfato de Cobre: Precipita las proteínas y se usa como alguicida y como antifúngico.

2.1.4 Nitrato de Plata: Precipita Proteínas. Se usa como solución al 1% en ojos de recién nacidos, para evitar la ceguera producida por *Neisseria gonorrhoeae* o por *Chlamydia trachomatis*.⁽²⁷⁾

3. Oxidantes

3.1 Halógenos

3.1.1 Cloro y derivados (Lejía, hipocloritos, cloraminas, etc.):

El cloro se combina con la materia orgánica; es un potente oxidante. Por eso, es preciso que, cuando se aplica, las superficies estén limpias, a fin de que tenga un mayor poder bactericida. Su espectro de acción es amplio. Actúa sobre las bacterias Gram positivas y Gram negativas, sobre las esporas de los mohos e incluso tiene un cierto efecto sobre algunos virus y esporas bacterianas, aun cuando no se conoce bien su mecanismo de acción, parece actuar por desnaturalización de las proteínas e inactivación de enzimas. Muchos de estos productos no son caros, no les afecta la dureza del agua y son fáciles de usar. Pueden combinarse con otros agentes, pH generalmente alcalino (alrededor de 8.0), a una concentración que proporciona de 50 a 220 ppm de cloro libre en la superficie a desinfectar, con un tiempo de contacto entre 3 y 30 minutos. El hipoclorito de sodio (que es el principal componente

químico de la lejía) es un ejemplo de un compuesto de cloro empleado para desinfectar superficies. Hay que mencionar que la lejía comercial (que contiene alrededor de 5.25% de hipoclorito de sodio) es un buen desinfectante de superficie a una dilución 1:10 en agua. Puede dañar las telas y las superficies de metal (en especial el aluminio), y su actividad se ve reducida en presencia de material orgánico. ^(17,18)

3.1.2 Yodo y derivados

El yodo y las mezclas de yodo y alcohol (conocidas como tinturas de yodo) son agentes bien conocidos capaces de matar a los microorganismos, pero tienen algunas propiedades no deseables, como inducir corrosión, propiedades tintoriales, irritantes de los tejidos e inductores de alergias. Los yodóforos mantienen el amplio espectro de actividad antimicrobiana (incluyendo actividad tuberculicida), del yodo. Con el fin de aumentar la capacidad de limpieza de las soluciones de compuestos yodados utilizados como desinfectante de superficie, se añaden ciertos detergentes. Los desinfectantes yodóforos se comercializan como soluciones concentradas que deben diluirse correctamente antes de usarlas. Dado que la actividad puede verse reducida por el uso de agua dura, los desinfectantes basados en compuestos yodados deben diluirse con agua destilada o desionizada. Los yodoforos pueden aún ser ligeramente corrosivos para algunos metales y pueden producir una ligera tinción cuando se utilizan de forma repetida en superficies claras. Sin embargo esta tinción se puede eliminar al limpiar con alcohol. ^(17,18)

4. Otros

4.1 Agua oxigenada

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 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 hidrófilo 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). ^(24,25)

3.6.3.2 Compuestos Orgánicos

1. **Alcoholes**

1.1 **Etílico, isopropílico, benzílico, etc.**

Los alcoholes poseen una rápida acción bactericida, actuando sobre bacterias gramnegativas y grampositivas, y virus con envuelta lipídica, 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 producir irritación y sequedad de la piel; al volatilizarse puede producir irritación de la mucosa nasal y lagrimal. ^(24,25)

1.2 **Glicoles, etilenglicol (óxido de etileno)**

El Oxido de etileno (ETO GAS) es un desinfectante de **Alto Nivel** actúa modificando en forma irreversible grupos funcionales de proteínas y/o ácidos nucleicos. Poca inhibición enzimática, lo que lleva a la muerte celular.

Se utiliza ampliamente para la esterilización de instrumentos termolábiles como: tubuladuras de polietileno (catéteres, sondas), equipos electrónicos medico quirúrgicos, material biológico, drogas, etc.

Desventaja, es altamente tóxico, mutagénico y carcinogénico para los tejidos; irrita los ojos y las mucosas.

2. Fenoles

2.1 Derivados monofenólicos

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. ^(24,25)

2.1.1 Cresoles

Se divide en tres grupos: orto, meta y paracresol, aunque suele utilizarse una mezcla de los tres denominada tricresol.

Derivados de la destilación del alquitrán de hulla son mezclados con jabón y se comercializan por Ej.: como Creolina (se utiliza para desinfección ambiental por Ej.: paredes, pisos, etc). ⁽²⁸⁾

2.2 Derivados Bifenólicos

2.2.1 Hexaclorofeno

Es un agente muy activo que perdura durante largo tiempo. Se usa solo para desinfectar departamentos infantiles después de brotes con estafilococos. Sin embargo, puede ser tóxico y por eso su uso está limitado. ⁽²⁷⁾

3. Biguanidas

3.1 Clorhexidina

Es una sustancia del mismo tipo químico que las biguanidas, de actividad antimalárica. Es la más efectiva de las biguaninas con poder antiséptico; combina el gran efecto de actividad de los yodados y fenoles.

Mecanismo de Acción: alteración de la permeabilidad osmótica de la membrana a iones, junto con inhibición de enzimas del espacio periplásmico y precipitación de proteínas y ácidos nucleicos (esto último sólo a altas concentraciones). ⁽¹³⁾

Actividad: Amplio espectro: grampositivos, gramnegativos, hongos. Sobre micobacterias y esporas es algo menos activa y sobre los virus es poco eficaz, sobre todo ante los virus sin envuelta lípidica. Es rápida, penetrante, bactericida, eficaz, de acción acumulativa y residual, y se asocia también con

amonios cuaternarios y antibióticos. Por su amplio uso, han comenzado a aparecer resistencias; con amonios cuaternarios la resistencia es cruzada, por un aumento de lipopolisacaridos de la pared bacteriana. Sin embargo, la velocidad de producción de estas resistencias es muy lenta, incluso en las unidades donde el consumo es muy alto (por ejemplo: unidad de quemados). Inactivación: corcho, algodón, sangre, suero y compuestos aniónicos.⁽¹³⁾

4. Aldehidos

4.1 Formaldehído (formalina o formol)

Se utiliza como desinfectante de alto nivel en estado líquido y gaseoso. Principalmente se utilizan 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 grados centígrados). Su acción es lenta y en solución acuosa al 8% requiere un tiempo de exposición de 24 horas, mientras que en solución alcohólica a esta misma concentración la actividad aumenta y el tiempo requerido es de 3 horas. 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 grados centígrados. 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.^(24,25)

4.2 Glutaraldehído

Es un dialdehido saturado aceptado como desinfectante de **alto nivel** y esterilizante químico. En solución acuosa el glutaraldehido 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 glutaraldehido alcalino al 2% es bactericida, fungicida y virucida en cortos periodos de tiempo, pero necesita 6 horas de contacto para destruir las esporas bacterianas. Tiene una acción moderada frente a micobacterias. El tiempo aconsejado para la desinfección de alto nivel oscila entre 20 y 45 minutos, posterior a una limpieza meticulosa. Una vez activada, la solución alcalina tiene

validez durante 14-28 días, pero se recomienda el control unitario 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 está desaconsejada por su toxicidad y elevado costo.

Desventaja: es tóxico para la piel, mucosas y ojos, también desprende vapores tóxicos para el aparato respiratorio, por lo que se deberá proteger el manipulador adecuadamente y trabajar en una zona separada del resto de áreas de trabajo y que además posea ventilación o extractores de vapores.

(24,25,28)

5. Colorantes

5.1 Violeta de genciana, azul de metileno, etc.

6. Agentes Tensioactivos

6.1 Aniónicos

6.1.1 Jabones, estearato de sodio

6.1.2 Sulfatos de alquilo: Laurel sulfato sódico

6.2 Catiónicos

6.2.1 Cloruros de alquila-(cetil)-dimetil-bencil-amonio

6.2.2 Bromuro de cetil-trimetil-amonio

6.2.3 Cloruro de bencetonio

6.2.4 Cloruro de cetil-piridina

6.2.5 Metilsulfato de (p-tolil)duocetil-trimetil-amonio

6.2.6 Metilsulfato de óleo-amino-etil-dietil-metil-amonio

6.3 Anfóteros

6.4 No iónicos.

3.6.4 MECANISMO DE ACCIÓN

El efecto desfavorable de los agentes físicos y químicos sobre las bacterias se debe a mecanismos muy variados y no del todo conocidos. Por su intensidad, cualquier agente se puede clasificar en bacteriostático, cuando impide su multiplicación (como es reversible, cuando cesa la causa se multiplica de

nuevo), o bactericida, si el efecto es mortal e irreversible. No siempre ambos mecanismos son diferentes; la mayor parte de las veces, el que se alcance uno y otro efecto depende de la intensidad con la que se aplique el agente.

Según el mecanismo de acción y la estructura bacteriana sobre la que actúen, los agentes físicos y químicos se clasifican en tres grandes grupos, aunque algunos actúen por varios mecanismos simultáneamente. ^(15,24,25,28)

3.6.4.1 Agentes que actúan sobre la membrana citoplásmica y la pared celular.

Existen sustancias que alteran el complejo parietal de la bacteria o dificultan sus síntesis como la lisozima; otras se combinan con los lípidos de la membrana y alteran sus mecanismos de transporte activo o su acción como barrera osmótica entre la bacteria y el medio externo: es el caso de los ácidos y álcalis en su acción corrosiva y de los detergentes de acción microbicida, por su combinación con las lipoproteínas. El hexaclorofeno inhibe la cadena transportadora de electrones de la membrana citoplásmica. ^(15,24,25,28)

3.6.4.2 Agentes que actúan sobre las proteínas y enzimas

El efecto es múltiple:

1. Coagulación y desnaturalización de las proteínas, con lo que el coloide citoplásmico queda alterado y los sistemas enzimáticos, inactivados. Este es el mecanismo de acción de las sales de metales pesados, calor, fenol y alcohol.
2. Efecto tóxico sobre las enzimas, debido a la oxidación de sus radicales libres, o efecto alquilante sobre éstos. Las enzimas inactivadas son fundamentalmente las que intervienen en los sistemas respiratorios. Así, actúan el cloro, el agua oxigenada, el permanganato y el óxido de etileno.
3. Formación de compuestos con los radicales libres, como el mercurio y los clorógenos con los grupos sulfhidrilo, y el formol, glutaraldehído y óxido de etileno con los grupos amino y oxidrilo. ^(15,24,25,28)

3.6.4.3 Agentes que actúan por alteración del núcleo

Algunos agentes tienen una especial tendencia a alterar el núcleo y los genes de las bacterias por combinarse con los grupos sulfhidrilos, las nucleoproteínas, como el formol. Agentes alquilantes, o por interferencia en la replicación del ADN, como ocurre con las radiaciones.

Como se deduce de lo expuesto, un mismo agente puede tener distintos mecanismos de acción sobre diferentes estructuras de los microorganismos, como, por ejemplo, el fenol y las sales de los metales pesados, que actúan sobre las proteínas citoplásmicas y nucleares. En muchas ocasiones no sabemos con exactitud cual es el mecanismo íntimo por el que una sustancia produce la muerte bacteriana y, en otras, asociamos dos o más para sinergizar o adicionar sus acciones. ^(15,24,25,28)

3.6.5 RESISTENCIA MICROBIANA ANTE LOS DESINFECTANTES

El Desarrollo de resistencia microbiana a los antibióticos es un fenómeno ampliamente descrito. El desarrollo de resistencia microbiana a los desinfectantes es menos probable, ya que los desinfectantes son agentes bactericidas más poderosos que los antibióticos estos se aplican en mayores concentraciones contra poblaciones de microorganismos mas bajas que, por lo general no están en crecimiento activo; es por ello que la presión selectiva para el desarrollo de la resistencia es menos profunda. Sin embargo, los microorganismos aislados con mayor frecuencia de un programa de control ambiental pueden someterse periódicamente a prueba de dilución de uso de agentes empleados en el programa de desinfección para comparar su susceptibilidad. ⁽⁴⁾.

La sensibilidad mayor o menor de las distintas bacterias a los compuestos químicos varía según el mecanismo de acción de estos. La pared celular, más compleja, de los gramnegativos explicaría su mayor resistencia a los desinfectantes. La especial resistencia de *Pseudomona aeruginosa* parece deberse a su pared celular, estabilizada por iones Mg^{2+} . El alto contenido en

ceras y la naturaleza hidrofóbica de la pared celular explican también la resistencia del género *Mycobacterium*.⁽¹⁶⁾

Al igual que en la resistencia a los antibióticos, las bacterias pueden adaptarse frente a un compuesto químico (variación fenotípica) o seleccionarse espontáneamente mutantes resistentes (resistencia genotípica). La aparición de mutantes, en número de 1 por 10⁵ a 10⁷ células, puede conseguirse artificialmente en el laboratorio, trabajando con bacterias y concentraciones conocidas, o aparecer espontáneamente en un centro hospitalario.⁽¹⁶⁾

Plasmidios transferibles por conjugación o transducción, aislados en *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*, determinan la resistencia al mercurio, cobalto, níquel, cadmio, arsénico, cromo, boro y plata, junto a ciertos antibióticos del tipo de los β -lactámicos. También se han descrito resistencias a los derivados de estos metales, como compuestos organomercuriales, sales de mercurio y nitrato de plata. Por el contrario, se han descrito plásmidos que confieren una sensibilidad aumentada al cloruro de mercurio. Existe poca información de las resistencias a otros desinfectantes, si bien los resultados obtenidos por diferentes autores parecen sugerir que, con la excepción del hexaclorogeno, los plásmidos desempeñan un papel poco importante en la resistencia a aquellos compuestos.⁽¹⁶⁾

3.6.6 PRUEBA DE DESAFIO DE DESINFECTANTES

En los Estados Unidos, la AOAC internacional (*American Association of Official Analytical*), publica los métodos oficiales de prueba de desinfectantes, que incluyen la prueba de coeficiente de fenol, la prueba del método de dilución de uso, el método de portador en superficie dura y la prueba de portador esporicida.⁽⁴⁾

Para demostrar la eficacia de un desinfectante en un entorno de fabricación de productos farmacéuticos puede considerarse necesaria la realización de las siguientes pruebas:

1. Pruebas de dilución de uso (analizar la eficacia de los desinfectantes a varias concentraciones y tiempos de contacto contra una amplia variedad de organismos estándares de prueba y aislamientos ambientales).

2. Pruebas de desafío de superficie (usando microorganismos estándares de prueba y microorganismos que son aislamientos ambientales típicos, aplicando desinfectantes sobre las superficies a la concentración de uso seleccionada y durante un tiempo de contacto especificado y determinando la reducción del logaritmo de los microorganismos de desafío).

3. Comparación estadística de la frecuencia de aislamiento y números de microorganismos aislados antes de la implementación de un nuevo desinfectante. Esto se considera necesario ya que, según lo establecido por las normas de GMP (buenas practicas de fabricación, por sus siglas en ingles), los pasos críticos de un proceso, como la desinfección de áreas de procesamiento aséptico, requieren validación, y porque los requisitos de registro de la EPA no incluyen instrucciones sobre como usar los desinfectantes en las industrias farmacéuticas, biotecnológicas y de dispositivos médicos.

Para las pruebas de desafío de superficie, los organismos de prueba se enumeran por medio de métodos de hisopado, enjuague de superficie o placa de contacto. Los neutralizantes que inactivan desinfectantes deberían incluirse ya sea en el diluyente o los medios usados en el recuento microbiano o en ambos. ⁽⁴⁾

En la práctica es necesario inocular una cantidad suficiente de organismos en un cuadrado de 2 pulgadas x 2 pulgadas de la superficie que está siendo descontaminada, es decir, un cupón, para demostrar una reducción de al menos 2 Log (para esporas bacterianas) a 3 Log (para bacterias vegetativas) durante un tiempo de contacto predeterminado (es decir, 10 minutos por encima de la recuperación observada con la aplicación de un desinfectante de control). La eficacia de los neutralizadores y su capacidad para recuperar del material los microorganismos inoculados deberían demostrarse durante los estudios de dilución de uso o de desafío de superficie. Es importante recordar que los desinfectantes son menos efectivos contra los números más altos de

microorganismos usados en las pruebas de desafío de laboratorios que contra los números encontrados en cuartos limpios: que los inóculos de la fase de crecimiento logarítmico, comúnmente empleados en los laboratorios, son más resistentes, salvo las esporas que se forman durante la fase estacionaria, que aquellos de un cultivo estacionario o en extinción o que los organismos bajo estrés en el ambiente; y que los microorganismos pueden eliminarse físicamente durante la aplicación del desinfectante en el área de fabricación. (Tabla de organismos de desafío típicos, ver tabla 1 en anexos) ⁽⁴⁾

3.6.7 ELECCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS ESTUDIADOS Y DE LA CONCENTRACIÓN DEL INOCULO

Los microorganismos seleccionados son las bacterias *Staphylococcus aureus*, *aeruginosa* y *Escherichia coli* ya que son las utilizadas para analizar todos los tipos de productos en el análisis de la USP, pero sólo para los productos orales en el análisis de la Farmacopea Europea. ⁽¹²⁾

3.6.8 VALORACIÓN DE DESINFECTANTES

La valoración del poder antibacteriano de un desinfectante químico puede efectuarse determinando su poder bacteriostático o bactericida. El primero se obtiene mediante el coeficiente de inhibición (CMI), es decir, determinando la concentración mínima de dicha sustancia capaz de inhibir el crecimiento y reproducción de una determinada bacteria. El poder bactericida o concentración mínima bactericida (CMB) se determina calculando la cantidad mínima de dicha sustancia capaz de producir la muerte de una suspensión patrón en un tiempo determinado; si se trata de formas vegetativas, obtenemos el coeficiente letal mínimo y, si son bacterias esporuladas, el coeficiente letal máximo. ⁽¹⁵⁾

La determinación de la actividad bacteriostática se realiza por el estudio de la CMI, mediante una serie de diluciones decrecientes del desinfectante en caldo nutriente, e inoculando los tubos con una suspensión bacteriana, Tras la incubación a 37 °C durante 24 horas se observa cuál es la mínima concentración del producto que inhibe el crecimiento. ⁽¹⁵⁾

Los Test de suspensiones se basan en añadir a la solución del desinfectante una determinada cantidad de bacterias y, después de cierto tiempo preestablecido, sembrarlo en un medio para comprobar si hay o no crecimiento (métodos cualitativos) o determinar el efecto bactericida mediante la expresión logarítmica de la relación entre el número inicial de bacterias y el de supervivientes (métodos cuantitativos). Entre los primeros se encuentra el test cualitativo de suspensión según las directrices para el examen y la valoración de los procedimientos de desinfección química de la Sociedad Alemana de Higiene y Microbiología (DGHM, Deutsche Gesellschaft für Hygiene and Microbiologie), en el que se añade al desinfectante un cultivo de bacterias estándar, determinando, después de 2.5, 5, 15 y 30 minutos de contacto a temperatura ambiente. El método de Rideal-Walker compara la eficacia del desinfectante con la del fenol, mediante diluciones y determinando la dilución que es capaz de matar una cepa bacteriana en 7.5 minutos y no en 5 minutos, tras el cultivo a 37 °C durante 48 horas; si el coeficiente letal del fenol es, por ejemplo, de 1/80 y el de la sustancia problema, de 1/240, el coeficiente fenólico será de $240/80 = 3$. El método de Chick y Martín es similar a éste, pero en presencia de materia orgánica, durante un tiempo constante. ⁽¹⁵⁾

3.7 MONITOREO MICROBIOLÓGICO DE ANTISÉPTICOS

El análisis microbiológico de antisépticos, tiene como objetivo evaluar la calidad sanitaria, mediante el recuento de organismos mesófilos aerobios, hongos filamentosos, levaduras y microorganismos indicadores de contaminación ⁽³⁰⁾.

La validez de este conjunto de análisis, se basa en la capacidad de poner en evidencia los microorganismos presentes en un producto. Por esta razón, antes de establecer en forma rutinaria el análisis de un producto, es necesario demostrar que bajo las condiciones de prueba, es posible recuperar a los microorganismos control previamente inoculados en la muestra ⁽²⁸⁾.

Los análisis que se realizan en productos antisépticos son los siguientes:

- Recuento de microorganismos mesófilos aeróbicos.
- Recuento de mohos y levaduras.
- Presencia de ***Staphylococcus aureus***;
- Presencia de ***Escherichia coli***;

- Presencia de ***Pseudomona aeruginosa***;
- Presencia de ***Salmonella typhi***⁽²⁸⁾.

3.8 MONITOREO MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES

3.8.1 Método de Hisopado

3.8.1.1 Análisis de Superficies

Para llevar a cabo una correcta manipulación de lo que se va a analizar, sea este un alimento, agua o medicamento, etc., es necesario mantener una limpieza adecuada, tanto en las superficies de trabajo como de los utensilios utilizados para la manipulación, de modo que se evite la contaminación.⁽²⁸⁾

Los sitios de muestreo en los equipos deben ser seleccionados, incluyendo todos los puntos que son propensos a proteger a los microorganismos que contaminan directa o indirectamente a los alimentos. Los sitios de muestreo no deben ser necesariamente limitados a las áreas de contacto directo ya que la contaminación microbiológica puede ser transferida indirectamente hacia los productos a través del agua de condensación, aerosoles, lubricantes, materiales de empaque, prendas de vestir de los operarios y así sucesivamente.^(30,31,32)

Las superficies que están en contacto directo con los productos incluyen, el interior de tuberías, fajas transportadoras, recipientes de almacenamiento, llenadoras, utensilios, mesas de trabajo, mezcladoras, molinos, etc.^(30,31,32)

Entre las superficies que no están en contacto directo con los productos, pero que pueden ser una fuente de contaminación indirecta durante la producción o los procesos de limpieza se cuentan el exterior de equipos, exterior de tuberías y recipientes, paredes, motores, cojinetes, pisos, drenajes, sistemas de calefacción, ventilación y aire acondicionado, ropa y zapatos de trabajo, herramientas de trabajo e implementos de limpieza.^(30,31,32)

4. JUSTIFICACIÓN

La Higiene en un hospital no se refiere simplemente a un tema estético, es un complemento primordial y fundamental sin el cual el ambiente pierde su función inocua y se vuelve un lugar peligroso y contagioso, por ello la limpieza y desinfección de las áreas hospitalarias debe ser realizada de una manera efectiva y segura. ⁽⁶⁾

Es importante disponer de agentes de desinfección cuya producción se realice aplicando las buenas prácticas de manufactura, garantizando el cumplimiento de las normas de calidad. Consecuentemente, es necesario verificar la calidad microbiológica de 3 soluciones desinfectantes que se manufacturan en el laboratorio de producción del departamento de Farmacia Interna y que se utilizan como protocolo de desinfección del área de producción de nutrición parenteral. Las soluciones parenterales aportan, por vía central o periférica, componentes energéticos y nutricionales para un óptimo desarrollo metabólico del paciente. El área de Nutrición Parenteral se clasifica como zona de riesgo alto, por lo que se debe garantizar la inocuidad del área con la correcta aplicación de agentes de desinfección que garanticen calidad microbiológica.

Por lo tanto, el presente trabajo de tesis pretende brindar un aporte científico para fortalecer procesos de manufactura existentes, y con ello lograr el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura. Actualmente, no existe en dicho departamento información científica, documentación e investigaciones que respalden la calidad microbiológica de las soluciones desinfectantes que se preparan allí.

5. OBJETIVOS

GENERAL

- Evaluar la calidad Microbiológica de los desinfectantes utilizados como protocolo de desinfección, en el área de producción de nutrición parenteral del departamento de Farmacia Interna en el Hospital General San Juan de Dios.

ESPECIFICOS

- Identificar la presencia de *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en las soluciones de Hibitane[®] (Gluconato de Clorhexidina), Savlón[®] (Gluconato de Clorhexidina + Cetrimida) y Formol al 10%.
- Muestrear microbiológicamente paredes, piso, techo y mesa de trabajo del área de producción de nutrición parenteral, para comprobar la inhibición del crecimiento de los microorganismos por acción de las soluciones desinfectantes.
- Desarrollar un procedimiento de limpieza y desinfección del envase de galón de las soluciones de Hibitane[®] (Gluconato de Clorhexidina), Savlón[®] (Gluconato de Clorhexidina + Cetrimida) y Formol al 10%.
- Actualizar el protocolo de limpieza y desinfección del área de Producción de Nutrición Parenteral.

6. HIPÓTESIS

Los desinfectantes utilizados en el área de formulación de nutrición parenteral del departamento de Farmacia Interna del Hospital General San Juan de Dios cumplen con la calidad microbiológica por la ausencia de crecimiento bacteriano de *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

B. UNIVERSO DE TRABAJO

- Departamento de Farmacia Interna del Hospital General San Juan de Dios.
- Soluciones Desinfectantes utilizadas en el área de producción de nutrición parenteral.

C. RECURSOS

1. Recursos Humanos

- **Tesista:** Br. Mirna Noemí Villatoro Ajvix.
- **Asesora:** Licda. Maritza Sandoval L.
- **Revisora:** Licda. Aylin Santizo Juárez.
- **Colaboradores:**
 - Licda. Haydee García
 - Licda. Ana Rodas de García.
 - Estudiantes en prácticas de EPS y EDC del Laboratorio de Análisis Físicoquímico y Microbiológico (LAFYM).

D. RECURSOS INSTITUCIONALES

- Departamento de Farmacia Interna del Hospital General San Juan de Dios.
- Área de Preparación de Nutrición parenteral del Laboratorio de Producción del Hospital General San Juan de Dios.
- LAFYM (Laboratorio de Análisis Físicoquímico y Microbiológico).
- CEGIMED (Centro Guatemalteco de Información de Medicamentos) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- CEDOBF (Centro de Documentación Biblioteca) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

E. RECURSOS MATERIALES

- Equipo
 - Refrigeradora
 - Incubadora Marca Precision Mechanical Convection
 - Pipetas Serológicas
 - Autoclave marca Tai Chang Medical, Modelo TC-459512594
 - Campana Bacteriológica Marca Labconco Modelo 188193
 - Balanza semianalitica digital Marca Denver Instrument Modelo XE-310
 - Cámara de Québec Marca American Optical Modelo 3330
 - Lámpara de luz UV de 366 nm. Marca Merck Modelo 13203
 - Estufa
 - Mechero Bunsen
 - Gradillas
 - Computadora
 - Impresora
- Reactivos
 - Caldo Tripticasa Soya
 - Agar Manitol-Sal
 - Agar vogel-Johnson
 - Agar Cetrimida
 - Caldo Lactosado
 - Caldo selenito cistina
 - Agar MacConkey y VRB-agar con MUG.
 - Solución buffer de lavado estéril o caldo Letheen (con tween 80 y lecitina)
 - Agua peptonada al 0.1% o buffer de fosfatos
 - Agar TSI
 - Agar LIA
 - Medio MIO
 - Agar Citrato
 - Caldo Urea
 - Peróxido de hidrógeno al 30%

- Plasma de conejo
- Medio OF
- Tiras Oxidasa
- Cepas Certificadas ATCC
 - *Staphylococcus aureus*, ATCC 6538
 - *Pseudomonas aeruginosa*, ATCC 15442
 - *Escherichia coli*, ATCC 11229
- Instrumentos y otros.
 - Cajas de Petri
 - Erlenmeyer
 - Probetas calibradas
 - Frascos Estériles
 - Guantes descartables
 - Mascarilla
 - Bata blanca
 - Hisopos de mango de madera estéril
 - Espátulas
 - Toallas de Papel mayordomo
 - Cinta testigo
 - Calibrador o regla
 - Asas Bacteriológicas en argolla y en punta
 - Tubos de vidrio con rosca
 - Cajas petrí de poliestireno desechables de 15 mm. x 100 mm.
 - Tubos de ensayo
 - Pipetas serológicas estériles de 1.0 mL.
 - Gradillas
 - Papel Kraft
 - Marcadores
 - Maskingtape
 - Toalla
 - Pinzas
 - Tijeras
 - Hojas Bond Carta y material de oficina.

E. MÉTODO

1. MÉTODO PARA EVALUAR LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE DESINFECTANTES.

DISEÑO METODOLÓGICO:

Universo : Desinfectantes utilizados en el área de producción de nutrición parenteral del Hospital General San Juan de Dios. Hibitane[®] 1.17% (Gluconato de Clorhexidina), Savlón[®] 0.5%(Gluconato de Clorhexidina + Ceftriaxona) y Formol al 10%.

Muestra: Se tomaron 3 Lotes de cada desinfectante, 3 muestras por cada lote, para un total de 27 muestras. (Volumen de muestra: 10mL. de cada solución desinfectante).

1.1 Método Preliminar

- Se utilizaron las cepas certificadas ATCC (*Staphylococcus aureus*, ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa*, ATCC 15442, *Escherichia coli*, ATCC 11229) para las pruebas preliminares. Preparando suspensiones de 0.5 con el estándar de MacFarland.
- A partir de los cultivos de los microorganismos descritos en el inciso anterior, se prepararon diluciones con el caldo tripticasa soya, desde 1:10 hasta 1:1000. Los cultivos tuvieron un crecimiento de 18 a 24 horas.
- 1mL. de Inoculo de la suspensión anterior en la primera dilución del producto.
- El procedimiento descrito se realizó para cada microorganismo.

NOTA

- Si al finalizar el procedimiento alguno de los microorganismos control no se recupera en los medios señalados para este propósito, debe modificarse considerando las siguientes posibilidades:

- Aumentar el volumen de diluyente manteniendo constante la cantidad del producto.
- Neutralizar la acción del agente inactivante
- Combinar los dos procedimientos anteriores
- Si la recuperación de los microorganismos control es satisfactoria, en los análisis sucesivos del producto, emplear los medios antes indicados como diluyentes y como medios de enriquecimiento para la investigación de microorganismos a estudiar.
- Si a pesar de la incorporación de los agentes neutralizantes el aumento de volumen del diluyente, los microorganismos control no se recuperan y la naturaleza del producto no permite aplicar el método de filtración, se puede asumir que la actividad bactericida del producto no permitirá el desarrollo de bacterias relacionadas con los microorganismos controles probados.
- Sin embargo, se debe obtener mayor información que permita establecer el espectro de actividad antimicrobiana del producto.

1.2 Procedimiento

1.2.1 Preparación de las muestras

- Para cada análisis se debe utilizar un volumen mínimo de 10 mL. de muestra.
- La primera dilución de la muestra debe ser 1:10.
- En función del grado de contaminación del producto, efectuar las diluciones decimales que se estimen convenientes. Cuando no se tienen antecedentes al respecto, es conveniente efectuar hasta la dilución 1:1000.
- Ampliar o reducir el número de diluciones con base en la experiencia.
- Para obtener la segunda dilución, medir 1 mL. de la primera dilución (1:10) a un tubo conteniendo 9 mL. de solución diluida de fosfatos de pH 7.2. Las demás diluciones se realizan de la misma forma.

- Soluciones puras, suspensiones en agua o en un vehículo hidroalcohólico que contenga menos del 30% de alcohol y sólidos que se disuelven completamente en agua:
 - Pesar o medir exactamente 10 g o 10 mL. de muestra y transferirlo a 90 mL. del diluyente seleccionado.
- Inocular por duplicado cada dilución del producto.
- Incubar las cajas en posición invertida a 35°C +/- 2°C, durante 48 – 72 horas.

1.2.2 Calculo de UFC (Unidades Formadoras de Colonia)

- Después del período de incubación, contar el número de UFC (Unidades Formadoras de Colonia), auxiliándose de la cámara de Québec.
- Se cuenta toda la caja, si el número de colonias se estima entre 25-250 UFC/caja, se multiplica por la dilución.
- Se determina las UFC de la caja 1 (UFC1) y de la caja 2 (UFC2).
- El promedio se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$UFC = \left(\frac{\sqrt{UFC_1 + 0.5} + \sqrt{UFC_2 + 0.5}}{2} \right)^2 - 0.5$$

Donde:

UFC1: Primera caja por dilución

UFC2: Segunda caja por dilución

- Se anota el promedio de colonias por dilución, informando el número de UFC por g. o mL, considerando el factor de dilución de la muestra.
- Si el crecimiento es **mayor de 250 UFC** por caja, se realiza el conteo en 6 cuadros horizontales y 6 cuadros verticales, enmarcados dentro del campo de la cámara de Québec, se promedian, se multiplican por el área de la caja y por la dilución correspondiente.
- Si el crecimiento es muy numeroso para contar, entonces se estima el 100% de la caja por el área de la caja por la dilución correspondiente.

1.2.3 Aislamiento e identificación de *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*:

- Medir 10.0 mL de la muestra para 90 mL de caldo Tripticasa Soya.
- Mezclar e incubar a 35°C por 24-48 horas.
- Tomar una asada de este cultivo y sembrar por estría cruzada en los siguientes medios de cultivo:

***Staphylococcus aureus*:**

- Agar Manitol-Sal.
- Agar Vogel-Jonson
- Incubar a 35°C por 24 horas.
- Describir las características morfológicas de las colonias y las reacciones bioquímicas observadas en cada uno de los medios inoculados.
- Las colonias características deben de ser confirmadas utilizando la prueba de Coagulasa. Opcionalmente pueden incluirse otras pruebas confirmatorias.
- Realizar la tinción de GRAM para las colonias sospechosas.

***Pseudomona aeruginosa*:**

- Agar Cetrimida
- Incubar a 35°C por 24 horas.
- Describir las características morfológicas de las colonias y las reacciones bioquímicas observadas en cada uno de los medios inoculados
- Las colonias características debe de ser confirmadas utilizando la prueba de Oxidasa. Opcionalmente pueden incluirse otras pruebas confirmatorias.
- Realizar la tinción de GRAM para las colonias sospechosas.

1.2.4 Aislamiento e identificación de *Escherichia coli*:

- Medir 10.0 mL. de la muestra para 90 mL. de caldo Lactosado (simple).
- Incubar por 24 horas a 35°C.
- Inocular en Agar McConkey y Agar VRB
- Mezclar e incubar de 18 a 24 horas a 35°C.
- A partir del caldo lactosado, aislar resemebrando por estría cruzada en el Agar VRB y en agar McConkey. Si se detectan colonias sospechosas de *E. coli*, entonces, realizar una batería de identificación bioquímica para enterobacterias (TSI, LIA, MIO/SIM, CITRATO, UREA).

1.3 Pruebas de confirmación:

- Para confirmar un resultado dudoso en cualquiera de los procedimientos anteriores, utilizar 25 g. o mL. de muestra y realizar la prueba como se indica en el procedimiento correspondiente. ^(4,29)

Complementando el análisis microbiológico de los desinfectantes mencionados, se realizó análisis microbiológico de superficies, con la finalidad de verificar la eficacia desinfectante en el área de preparación de nutrición parenteral, tomando para ello superficies como piso, pared, techo y mesa de trabajo.

2. MÉTODO PARA EVALUAR LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE SUPERFICIES

2.1 Análisis Microbiológico de Superficies

2.1.1. Procedimiento

2.1.1.1 Toma de Muestra:

Muestra: Se tomaron muestras de superficies, previamente desinfectadas con Hibitane[®] 1.17% (Gluconato de Clorhexidina) y Savlón[®] 0.5%(Gluconato de Clorhexidina + Cetrimida).

- Remover la cubierta de papel que reviste al hisopo estéril desde la parte inferior, cuidando de tomar el hisopo sólo por la parte de abajo del mango de madera y que esta porción no se introduzca dentro del vial del buffer.
- Abrir el vial con el buffer, humedecer el hisopo en la solución buffer (o caldo Letheen) y presionar contra la pared interior del vial para eliminar el exceso, rotando el hisopo.
- Frotar el hisopo sobre la superficie en estudio tres veces, en tres direcciones diferentes, en un área representativa.
- Introducir el hisopo en el vial cuidando de no contaminarlo y quebrando el mango hasta donde se ha manipulado y cerrarlo.
- Transportar el vial a baja temperatura (8 °C) y analizar dentro de las 24 horas después del muestreo.
- Se inocularán los diferentes medios, agregando un mililitro de la muestra sobre la placa, se frota con un esparcidor de vidrio y se incuba a 35°C por 24 horas.

2.1.1.2 Reporte e interpretación de resultados:

Después del período de incubación se contarán el Número de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) que creció en cada placa y se reportarán como UFC/ superficie. **Los recuentos microbiológicos serán para Bacterias Mesófilas y Coliformes totales , fecales y *Escherichia coli*.**

2.1.2 Cálculo de UFC (Unidades Formadoras de Colonia)

El cálculo de UFC (unidades formadoras de colonia), se realizará de la manera que se describe en el apartado **1.2.2 Cálculo de UFC (Unidades Formadoras de Colonia)**

8. RESULTADOS

8.1. EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA A DESINFECTANTES UTILIZADOS COMO PROTOCOLO DE DESINFECCIÓN EN EL ÁREA DE NUTRICIÓN PARENTERAL.

Se tomaron 3 Lotes de cada desinfectante, 3 muestras por cada lote a evaluar para un total de 27 muestras (100%).

Las 27 muestras fueron tomadas a partir de las concentraciones formuladas, establecidas y utilizadas para los procesos de desinfección. (Ver. Tabla 1)

Tabla No. 1: Concentraciones de soluciones desinfectantes.

| SOLUCIÓN DESINFECTANTE | CONCENTRACIÓN |
|--|---------------|
| Hibitane ® (Gluconato de clorhexidina) | 1.17% |
| Savlón ® (Gluconato de clorhexidina+cetrimida) | 0.5% |
| Formol | 10% |

8.1.1. Preparación de la muestra.

- Se tomaron 10mL de muestra por cada lote de las soluciones desinfectantes.
- La primera dilución de la muestra fue de 1:10.
- Se procedió a realizar las diluciones 1:100 y 1:1000.
- Con base a los resultados obtenidos se consideró efectuar las diluciones a partir del factor 1:1 al 1:9.
- Se obtuvo la segunda dilución, tomando 1 mL. de la primera dilución a un tubo conteniendo 9 mL. de solución diluida de fosfatos de pH 7.2. Las demás diluciones se realizaron de la misma forma

8.1.2. Solución de Hibitane®: Diluciones desde 1:1 – 1:10, 1:100 y 1:1000.

Tabla No. 2

| HIBITANE® (Gluconato de Clorhexidina) | Lote No. | <i>Eschericia coli</i> (UFC/mL) | <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/mL) | <i>Pseudomona aeruginosa</i> (UFC/mL) |
|--|-----------------|--|--|--|
| Dilución 1:1 | 42/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:2 | 42/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:3 | 42/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:4 | 42/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:5 | 42/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:6 | 42/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:7 | 42/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:8 | 42/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:9 | 42/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 35/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 35/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 35/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 32/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 32/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 32/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 34/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 34/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 34/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:100 | 35/09 | 1.0 x 10⁴ | < 10 | 1.0 x 10⁴ |
| Dilución 1:100 | 35/09 | 1.0 x 10⁴ | < 10 | 1.0 x 10⁴ |
| Dilución 1:100 | 35/09 | 1.0 x 10⁴ | < 10 | 1.0 x 10⁴ |
| Dilución 1:100 | 32/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10⁵ |
| Dilución 1:100 | 32/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10⁵ |
| Dilución 1:100 | 32/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10⁵ |
| Dilución 1:100 | 34/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10⁴ |
| Dilución 1:100 | 34/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10⁴ |
| Dilución 1:100 | 34/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10⁴ |
| Dilución 1:1000 | 35/09 | 1.0 x 10⁶ | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:1000 | 35/09 | 1.0 x 10⁶ | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:1000 | 35/09 | 1.0 x 10⁶ | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:1000 | 32/09 | 1.0 x 10⁶ | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:1000 | 32/09 | 1.0 x 10⁶ | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:1000 | 32/09 | 1.0 x 10⁶ | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:1000 | 34/09 | 1.0 x 10⁵ | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:1000 | 34/09 | 1.0 x 10⁴ | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:1000 | 34/09 | 1.0 x 10⁵ | < 10 | 1.0 x 10⁶ |

UFC/mL: Unidades Formadoras de Colonia por mililitro

8.2.1. Solución de Savlón®: Diluciones desde 1:1 – 1:10, 1:100 y 1:1000.

Tabla No. 3

| Savlón (Gluconato de Clorhexidina) | Lote No. | <i>Eschericia coli</i> (UFC/mL) | <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/mL) | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC/mL) |
|---|-----------------|--|--|---|
| Dilución 1:1 | 24/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:2 | 24/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:3 | 24/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:4 | 24/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:5 | 24/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:6 | 24/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10² |
| Dilución 1:7 | 24/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10² |
| Dilución 1:8 | 24/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10² |
| Dilución 1:9 | 24/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10² |
| Dilución 1:10 | 18/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10² |
| Dilución 1:10 | 18/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10² |
| Dilución 1:10 | 18/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10² |
| Dilución 1:10 | 15/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10² |
| Dilución 1:10 | 15/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10² |
| Dilución 1:10 | 15/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10² |
| Dilución 1:10 | 19/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10² |
| Dilución 1:10 | 19/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10² |
| Dilución 1:10 | 19/09 | < 10 | < 10 | 1.0 x 10² |
| Dilución 1:100 | 18/09 | 1.0 x 10³ | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:100 | 18/09 | 1.0 x 10³ | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:100 | 18/09 | 1.0 x 10³ | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:100 | 15/09 | 1.0 x 10² | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:100 | 15/09 | 1.0 x 10³ | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:100 | 15/09 | 1.0 x 10² | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:100 | 19/09 | 1.0 x 10⁵ | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:100 | 19/09 | 1.0 x 10⁴ | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:100 | 19/09 | 1.0 x 10³ | < 10 | 1.0 x 10⁶ |
| Dilución 1:1000 | 18/09 | 1.0 x 10⁶ | < 10 | 1.0 x 10⁵ |
| Dilución 1:1000 | 18/09 | 1.0 x 10⁶ | < 10 | 1.0 x 10⁵ |
| Dilución 1:1000 | 18/09 | 1.0 x 10⁶ | < 10 | 1.0 x 10⁵ |
| Dilución 1:1000 | 15/09 | 1.0 x 10⁶ | < 10 | 1.0 x 10⁵ |
| Dilución 1:1000 | 15/09 | 1.0 x 10⁶ | < 10 | 1.0 x 10⁴ |
| Dilución 1:1000 | 15/09 | 1.0 x 10⁶ | < 10 | 1.0 x 10⁵ |
| Dilución 1:1000 | 19/09 | 1.0 x 10⁶ | < 10 | 1.0 x 10⁵ |
| Dilución 1:1000 | 19/09 | 1.0 x 10⁶ | < 10 | 1.0 x 10⁵ |
| Dilución 1:1000 | 19/09 | 1.0 x 10⁶ | < 10 | 1.0 x 10⁴ |

UFC/mL: Unidades Formadoras de Colonia por mililitro

8.2.2. Solución de Formol: Diluciones desde 1:1 – 1:10, 1:100 y 1:1000.

Tabla No. 4

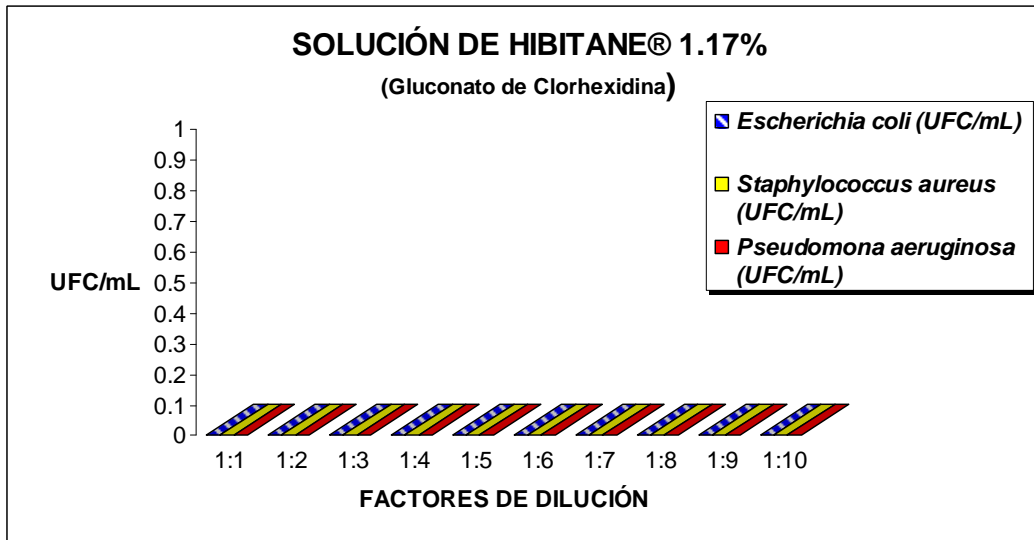
| FORMOL 10% | Lote No. | <i>Eschericia coli</i> (UFC/mL) | <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/mL) | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC/mL) |
|-------------------|-----------------|--|--|---|
| Dilución 1:1 | 06/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:2 | 06/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:3 | 06/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:4 | 06/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:5 | 06/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:6 | 06/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:7 | 06/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:8 | 06/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:9 | 06/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 07/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 07/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 07/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 06/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 06/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 06/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 13/08 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 13/08 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:10 | 13/08 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:100 | 07/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:100 | 07/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:100 | 07/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:100 | 06/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:100 | 06/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:100 | 06/09 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:100 | 13/08 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:100 | 13/08 | 1.0 x 10³ | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:100 | 13/08 | 1.0 x 10³ | < 10 | < 10 |
| Dilución 1:1000 | 07/09 | 1.0 x 10⁴ | < 10 | 1.0 x 10⁴ |
| Dilución 1:1000 | 07/09 | 1.0 x 10³ | < 10 | 1.0 x 10³ |
| Dilución 1:1000 | 07/09 | 1.0 x 10³ | < 10 | 1.0 x 10³ |
| Dilución 1:1000 | 06/09 | 1.0 x 10³ | < 10 | 1.0 x 10³ |
| Dilución 1:1000 | 06/09 | 1.0 x 10³ | < 10 | 1.0 x 10³ |
| Dilución 1:1000 | 06/09 | 1.0 x 10³ | < 10 | 1.0 x 10³ |
| Dilución 1:1000 | 13/08 | 1.0 x 10³ | < 10 | 1.0 x 10² |
| Dilución 1:1000 | 13/08 | 1.0 x 10³ | < 10 | 1.0 x 10² |
| Dilución 1:1000 | 13/08 | 1.0 x 10³ | < 10 | 1.0 x 10² |

UFC/mL: Unidades Formadoras de Colonia por mililitro

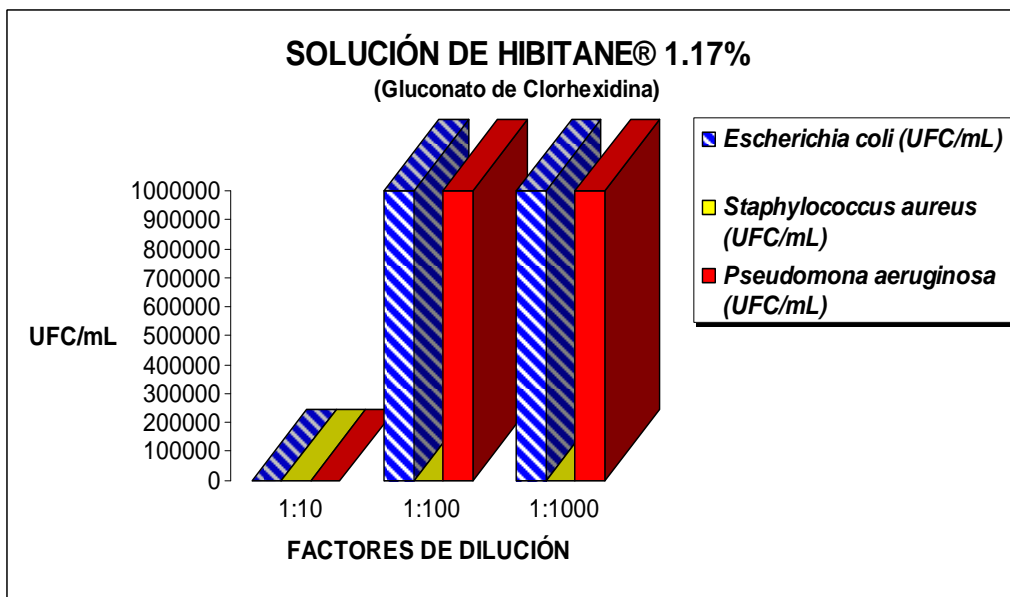
8.1.2. GRAFICAS

8.1.5.1. SOLUCIÓN DE HIBITANE® 1.17%

GRAFICA No.1: Solución de Hibitane® : Ausencia de crecimiento bacteriano en diluciones (1:1 – 1:10).

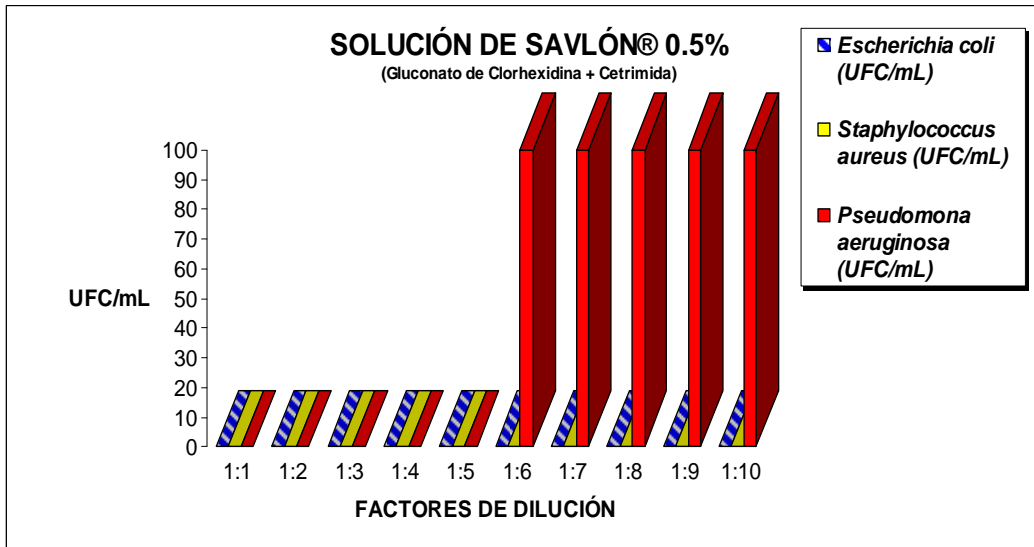


GRAFICA No.2: Solución de Hibitane® : Presencia de crecimiento bacteriano en diluciones 1:100 y 1:1000 de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

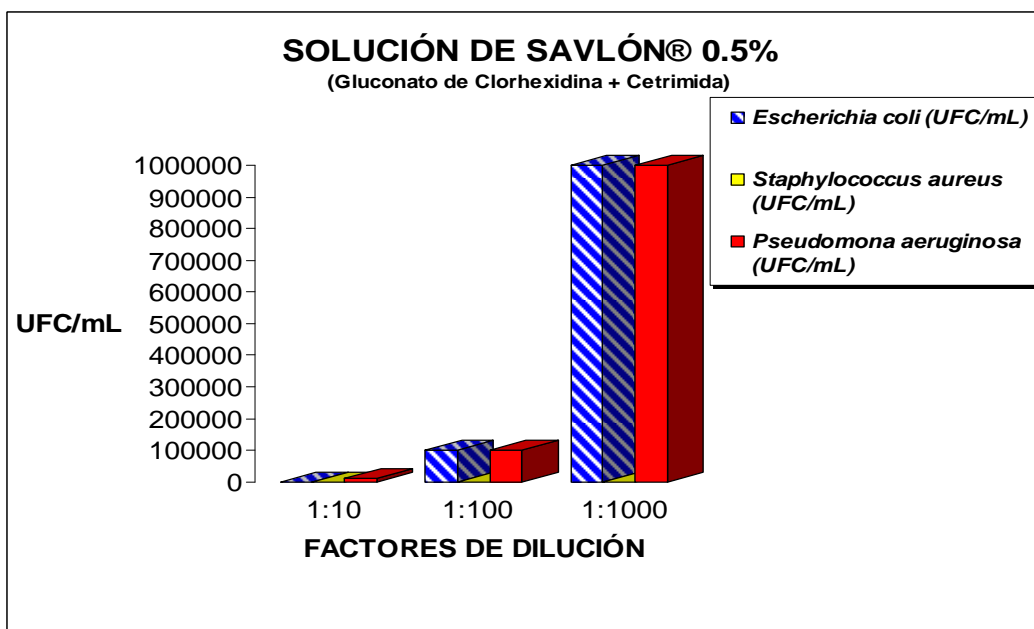


8.1.5.2. SOLUCIÓN DE SAVLÓN 0.5%

GRAFICA No.1: Solución de Savlón® : Presencia de crecimiento bacteriano a partir de dilución 1:6 en el rango (1:1 – 1:10), de *Pseudomona aeruginosa*.

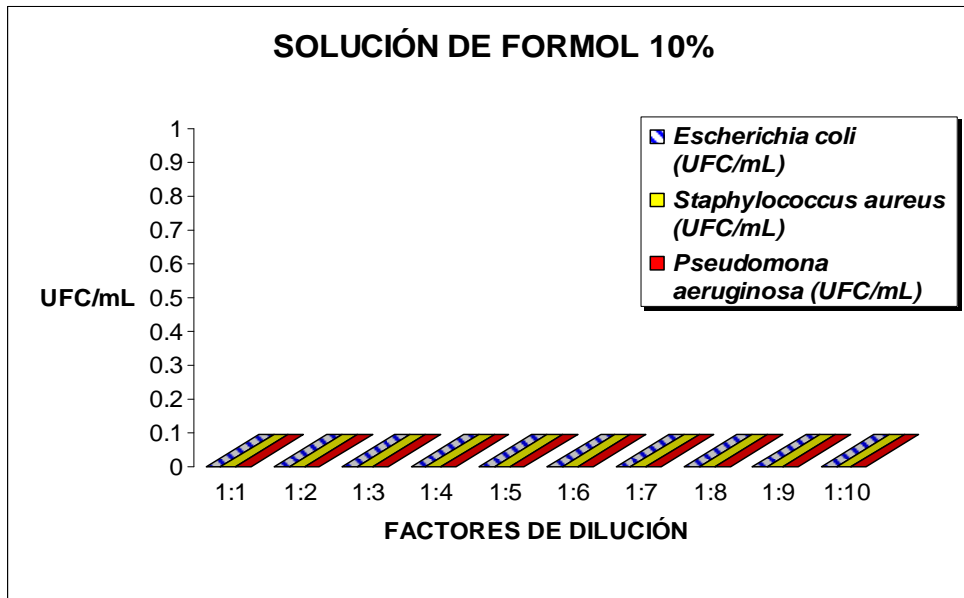


GRAFICA No.2: Solución de Savlón® Presencia de crecimiento bacteriano de *Pseudomona aeruginosa* en diluciones 1:10, 1:100 y 1:1000 y crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* en diluciones 1:100 y 1:1000.

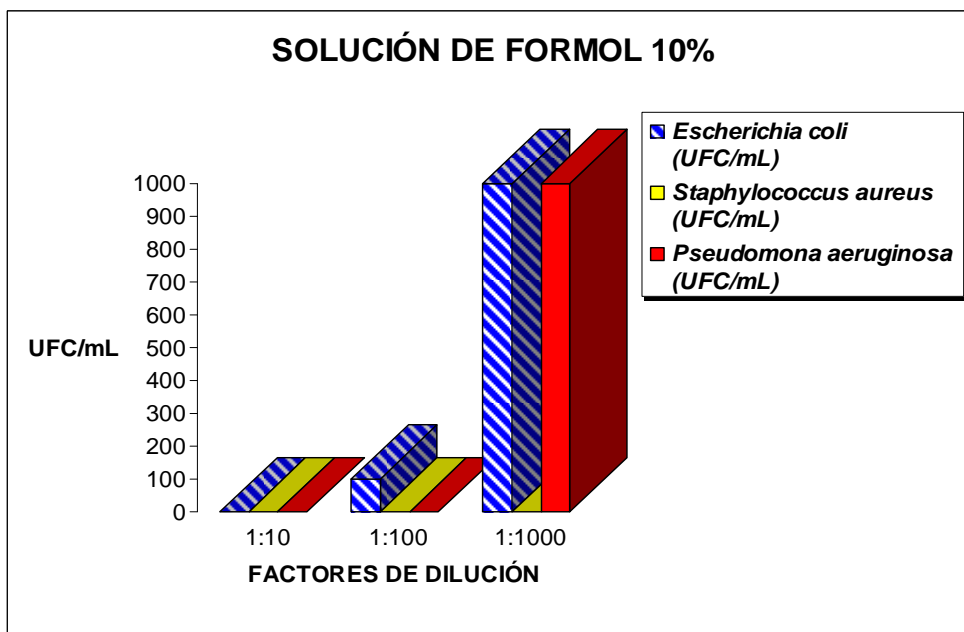


8.1.5.3 SOLUCIÓN DE FORMOL 10%

GRAFICA No.1: Solución de Formol : Ausencia de crecimiento bacteriano en diluciones (1:1 – 1:10).



GRAFICA No.1: Solución de Formol : Presencia de crecimiento bacteriano a partir de la dilución 1:100 de Escherichia coli y 1:1000 además de Pseudomona aeruginosa en dilución 1:1000.



8.2. EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE SUPERFICIES INERTES.

Complementando el análisis microbiológico a los desinfectantes mencionados, se realizó un análisis microbiológico de superficies, con la finalidad de verificar el proceso de desinfección en techo, mesa, piso y pared del área de formulación de nutrición parenteral (ver tabla no.5).

8.2.2. 8.2.1 DESINFECCIÓN REALIZADA CON SOLUCIÓN DE HIBITANE® 1.17% (Gluconato de Clorhexidina)

Se procedió a tomar 1 muestra por cada superficie detallada en la tabla no. 5

Tabla No. 5

| Superficie Muestreada | Recuento Aeróbico Total (UFC/área o UFC/50cm ²) | Coliformes Totales (UFC/área o UFC/50cm ²) | <i>Escherichia coli</i> (UFC/mL) | <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/mL) | <i>Pseudomona aeruginosa</i> (UFC/mL) |
|-----------------------|---|--|----------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Techo | < 10 | < 10 | Ausencia | Ausencia | Ausencia |
| Mesa | < 10 | < 10 | Ausencia | Ausencia | Ausencia |
| Piso | < 10 | < 10 | Ausencia | Ausencia | Ausencia |
| Pared | < 10 | < 10 | Ausencia | Ausencia | Ausencia |

ESPECIFICACIONES PARA SUPERFICIES INERTES

(Límites Recomendados: Manual Práctico de Microbiología, MASSON, España 1999)

- Coliformes: Ausentes
- Otros Patógenos: Ausentes
- Recuento Aeróbico Total:
 - Aceptable: 0 UFC/50cm² o UFC/área
 - Tolerable: 1- 10 UFC/50cm² o UFC/área
 - Rechazable: > 10 0 UFC/50cm² o UFC/área

8.2.3. DESINFECCIÓN REALIZADA CON SOLUCIÓN DE SAVLÓN® 0.5% (Gluconato de Clorhexidina + Cetrimida)

Se procedió a tomar 1 muestra por cada superficie detallada en la tabla no. 6

Tabla No. 6

| Superficie Muestreada | Recuento Aeróbico Total (UFC/área o UFC/50cm ²) | Coliformes Totales (UFC/área o UFC/50cm ²) | <i>Escherichia coli</i> (UFC/mL) | <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/mL) | <i>Pseudomona aeruginosa</i> (UFC/mL) |
|-----------------------|---|--|----------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Techo | < 10 | < 10 | Ausencia | Ausencia | Ausencia |
| Mesa | < 10 | < 10 | Ausencia | Ausencia | Ausencia |
| Piso | 5.0 X 10² | 3.0 X 10¹ | Ausencia | Ausencia | Presencia |
| Pared | < 10 | < 10 | Ausencia | Ausencia | Ausencia |

ESPECIFICACIONES PARA SUPERFICIES INERTES

(Límites Recomendados: Manual Práctico de Microbiología, MASSON, España 1999)

- Coliformes: Ausentes
- Otros Patógenos: Ausentes
- Recuento Aeróbico Total:
 - Acceptable: 0 UFC/50cm² o UFC/área
 - Tolerable: 1- 10 UFC/50cm² o UFC/área
 - Rechazable: > 10 0 UFC/50cm² o UFC/área

8.3. EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE AGUA

Dados los resultados obtenidos se realizó análisis microbiológico de agua, con la finalidad de descartar este vehiculo como posible fuente de contaminación.

Tabla No. 7

| EVALUACION DE AGUA | Límites COGUANOR NGO 29 005:99 1ra rev. | RESULTADO | DIMENSIONAL |
|---------------------------------|---|----------------|---------------------------------|
| Recuento Heterotrófico en Placa | < 200 | < 10 | UFC/ mL a 35°C por 48 h. en PCA |
| Coliformes Totales | <2 | <2 | UFC/100 mL |
| Coliformes Fecales | <2 | <2 | UFC/100 mL |
| <i>Escherichia coli</i> | <2 | <2 | UFC/100 mL |

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente trabajo de tesis se evaluó la calidad microbiológica de Hibitane[®] 1.17%, Savlón[®] 0.5% y Formol al 10%, soluciones desinfectantes utilizadas como protocolo de desinfección del área de producción de nutrición parenteral del departamento de Farmacia Interna del Hospital General San Juan de Dios.

La evaluación microbiológica se realizó a partir de las concentraciones formuladas, establecidas y utilizadas por el laboratorio de producción, se comprobó que en la totalidad de las muestras evaluadas no se determinó crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus*, pero si crecimiento de *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*.

Para las soluciones de Hibitane[®] 1.17% y Formol 10%, el crecimiento bacteriano se determinó a partir de la dilución 1:100. En el caso de las soluciones de Savlón[®] 0.5%, estas presentaron crecimiento de *Pseudomona aeruginosa* en la primera dilución considerada (1/10).

Lo anterior demuestra que para las soluciones de Hibitane[®] 1.17% y Formol 10%, el crecimiento de *Escherichia coli* es de 40% y para *Pseudomona aeruginosa* el 60%. Para las soluciones de Savlón[®] 0.5%, el 39% corresponde a *Escherichia coli* y el 61% para *Pseudomona aeruginosa*

Con base a los resultados se consideró evaluar una serie nueva de diluciones, desde el factor 1:1 hasta 1:9, con el objetivo de establecer a que concentración las soluciones desinfectantes no presentan crecimiento de dichos microorganismos, determinándose de la siguiente manera: ausencia de crecimiento de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*, en Hibitane[®] 1.17% (Gluconato de Clorhexidina) y Formol al 10%, y presencia de *Pseudomona aeruginosa* a partir de la dilución 1:6 para Savlón[®] 0.5% (Gluconato de Clorhexidina+Cetrimida).

Estos resultados demuestran que las soluciones desinfectantes manufacturadas en el área de producción del departamento de Farmacia

Interna no deben ser diluidas bajo ninguna circunstancia, deben ser utilizadas a la concentración formulada, dado que al aumentar el grado de dilución de las soluciones; también aumenta el crecimiento bacteriano; ya que, la concentración del principio activo es menor, y por lo tanto posee menor efectividad especialmente la solución de Savlón (Gluconato de Clorhexidina+cetrimida).

En la literatura no se reporta información que describa que exista riesgo para la salud de las personas que utilizan las soluciones de Hibitane[®] (Gluconato de Clorhexidina) y/o savlón[®] (Gluconato de Clorhexidina + Cetrimida), por lo tanto cumplen con una de las características del perfil de un desinfectante ideal. El formol, por el contrario ha sido catalogado como agente cancerígeno por La Organización Mundial de la Salud (OMS) en la Revista Española de Patología Vol. 38, No. 1, 2005 , por lo que su utilización representa un alto riesgo para el personal que lo aplica.

Los agentes patógenos hospitalarios utilizados en la evaluación de las soluciones desinfectantes; son flora normal, tanto en pacientes como en el personal sanitario. Son bacterias que se dispersan en el ambiente, habitualmente en el suelo, el agua y superficies; así como en numerosos ambientes propicios como: equipos clínicos, comida, baños, materiales de limpieza o duchas. Constantemente es reintroducida en el hospital a través de frutas, vegetales, plantas o los propios visitantes. El contagio se realiza entre pacientes a través de las manos del personal sanitario, por contacto con reservorios contaminados o por la ingesta de comida o agua contaminada. ⁽³²⁾

Considerando el riesgo infeccioso por la presencia de *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa* en las entidades de salud; éstas bacterias son microorganismos indicativos de contaminación microbiológica; por lo que se debe implementar un estricto control de las Buenas Practicas de Manufactura, para que se cumplan los requisitos de limpieza, desinfección y esterilización del área de trabajo, equipo, cristalería y del envase de galón de las soluciones desinfectantes; además de contar con un control de humedad y temperatura del área de producción de antisépticos en el laboratorio de Producción.

Complementando la investigación se realizó la evaluación microbiológica de superficies inertes del área de preparación de nutrición parenteral, con la finalidad de evaluar la limpieza y desinfección con soluciones de Hibitane[®] 1.17% (Gluconato de Clorhexidina) y Savlón[®] 0.5% (Gluconato de Clorhexidina + Cetrimida). La desinfección realizada con Hibitane[®] 1.17% (Gluconato de Clorhexidina), demostró ser efectiva, ya que ninguno de los parámetros evaluados se ve afectado. En el caso de la utilización de Savlón[®] 0.5% (Gluconato de Clorhexidina + Cetrimida), se determinaron Coliformes Totales y *Pseudomona aeruginosa*, en el piso. Los demás parámetros evaluados no presentaron contaminación por lo que se considera una mala limpieza y desinfección de la mecha de limpieza de dicha área. Consecuentemente se desarrolló un Procedimiento Estadar de Operación para la Limpieza y desinfección de utensilios de limpieza. (Ver anexo 10. 6 PEO No. 2).

Debido a que el agua es el componente mayoritario o vehiculo de las soluciones desinfectantes, se realizó una evaluación microbiológica de ella, el resultado demuestra que no se determinaron contaminantes en el agua de formulación, por lo tanto cumple con los parámetros de calidad según lo determina la Norma COGUANOR NGO 29 001. Agua Potable, descartando así este vehículo como reservorio de contaminación microbiológica.

Una fuente importante de contaminación microbiológica es la presencia de microorganismos en los envases de galón, provenientes de los servicios de internación del Hospital General San Juan de Dios. Por ello se realizó un Procedimiento Estándar de Operación, en donde se describe la manera correcta para ejecutar la limpieza y desinfección de los envases de galón. Y evitar la contaminación de las soluciones desinfectantes al momento de ser envasadas. (Ver anexo 10. 6 PEO No. 1).

Con todo lo descrito y en base a los resultados obtenidos, se considera eficiente el protocolo de desinfección del área de nutrición parenteral. Dado que las soluciones desinfectantes no presentan crecimiento bacteriano a las concentraciones utilizadas para el efecto.

10. CONCLUSIONES

1. Las soluciones desinfectantes manufacturadas por el departamento de Farmacia Interna del Hospital General San Juan de Dios, utilizadas en el proceso de desinfección del área de nutrición parenteral, y evaluadas en este estudio (Hibitane[®] 1.17%, Savlón[®] 0.5% y Formol al 10%), no presentan crecimiento bacteriano.
2. El 100% de las muestras evaluadas se encuentran libres de *Staphylococcus aureus*.
3. Las soluciones de Hibitane[®] 1.17% (Gluconato de Clorhexidina) y Formol no presentan crecimiento bacteriano en las diluciones (1:1 -1:10) y 1:100. Por lo que pueden ser utilizadas a estas concentraciones de manera segura.
4. La solución de Savlón[®] 0.5% (Gluconato de Clorhexidina + Cetrimida), no presenta crecimiento bacteriano en las diluciones (1:1 -1:6). Por lo que puede ser utilizada a estas concentraciones de manera segura.
5. La efectividad del desinfectante depende de la concentración del principio activo, a mayor dilución de las soluciones menor efectividad del principio activo, por lo tanto no hay inhibición del crecimiento bacteriano.
6. Las soluciones desinfectantes evaluadas, en las concentraciones formuladas, establecidas y utilizadas por el laboratorio de producción, son efectivas como agentes de desinfección para las superficies inertes evaluadas en el área de nutrición parenteral del departamento de Farmacia Interna del Hospital General San Juan de Dios.
7. El agua utilizada en la formulación de las soluciones desinfectantes cumple con las especificaciones de calidad COGUANOR para agua potable.
8. Es importante considerar la ejecución correcta de los procesos de limpieza y desinfección de los envases de galón. Y evitar la contaminación microbiológica de las soluciones desinfectantes.
9. Es eficiente la utilización del Protocolo de desinfección en el área de nutrición parenteral del departamento de Farmacia Interna del Hospital General San Juan de Dios.

11. RECOMENDACIONES

1. Las soluciones de Hibitane[®] 1.17%, Savlón[®] 0.5% y Formol al 10%, deben ser utilizadas en las concentraciones establecidas y formuladas por el laboratorio de producción, para que ejerzan su actividad bacteriostática o bactericida. No deben diluirse.
2. Efectuar análisis similares al presente, a los diferentes productos manufacturados en el laboratorio de producción del departamento de Farmacia interna, para garantizar la calidad microbiológica.
3. Utilizar el equipo de seguridad necesario por parte del personal del laboratorio de producción al momento de manipular el formol, ya que esta catalogado por la OMS como un agente cancerígeno.
4. Implementar el Procedimiento Estándar de operación para la limpieza y desinfección de galones de envase para las soluciones desinfectantes, desarrollado en esta investigación. (Ver anexos, PEO No. 1)
5. Implementar el Procedimiento Estándar de operación para la limpieza y desinfección de utensilios de limpieza, desarrollado en esta investigación. (Ver anexos, PEO No. 2)
6. Incrementar la frecuencia de los procesos de limpieza, desinfección y esterilización de áreas de producción, tuberías de agua, equipo y cristalería, para evitar que estos medios de trabajo sean reservorios de microorganismos.
7. Implementar un programa de vigilancia que controle la calidad microbiológica de las soluciones desinfectantes y para evitar que sean vehículo de contaminación a los servicios del Hospital.
8. El programa de vigilancia deberá determinar puntos críticos en las áreas de trabajo, equipo, cristalería, materia prima y personal técnico, para realizar controles microbiológicos periódicos y garantizar la calidad de los productos.

12. REFERENCIAS

1. Normas Guatemaltecas Obligatorias (GOGUANOR), Código de prácticas para limpieza, desinfección y esterilización en hospitales. NGO 6 099. 27 p. (p.1-9).
2. Block, S.S. 1,983 Disinfection. Sterilization and O Reservation. 3ed. Philadelphia, USA: Philadelphia. Lea & Febiger,. 1053p. (107-139).
3. Moller J. 1946 Enciclopedia completa de Farmacia. Tomo 4. Mexico, D.F. Editorial Atlante, S.A. Tomo IV. 1510 p.
4. USP. No. XXXI Desinfectantes y Antisépticos. In United Status Pharmacopeia Internacional Formulary. Tomo I. (542 - 546).
5. García, M y Vicente, J. 2005 Higiene del Medio Hospitalario y Limpieza de material. Madrid España, Thomson/Paraninfo. 302 p. (61, 87-218)
6. Repáraz, F., et.al. Navarra: España: Limpieza y desinfección en el hospital Hygiene and disinfection in the hospital , Consultado mayo de 2008. Disponible en :
www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol23/suple2/suple8a.html.
7. Navarro, A. 2006. Manual de regiduría de pisos. Madrid España, Cengage Learning Editoriales. 198p. (160, 165p.)
8. Lullmann, H. Mohr, K. 2004 Atlas de Farmacología. Madrid España, 2004. Elsevier. 381p. (298p.)
9. Martén, A. 1984 Principios de Epidemiología, 1ra Edición San José Costa Rica, Universidad Estatal a Distancia. 158p.

10. Shelley, A.J. 2006 Milady-s Standard fundamentals . E.E.U.U.For Estheticians, Thomson Delmar Learning 608p. (44-46p.)
11. Hidalgo, J. 2003. Tratado de Enología. México. Grupo Mundi-Prensa, 1423p. (698p.)
12. Aulton, M. 2004 La Ciencia del Diseño de las Formas Farmacéuticas, 2da Edición, Madrid España, El Server. 681p. (631-635p.).
13. Piedrola, G y Gálvez, G. 2001 Medicina Preventiva y Salud Pública. 10ma. Edición, Madrid España, El Server. 1264p. (34-35,244p.)
14. Puig-Duran, F. 2004. Ingeniería, autocontrol y auditoría de la higiene en la industria. Madrid: España, Mundi-Prensa Libros. 183p. (63, 85,87,94,96,188p.).
15. Pumarola, A. 1987. Microbiología y Parasitología Médica. 2da. Edición Madrid España, El server. 1987. 916p. (111-117p.)
16. Albarracín, C. 2005. Manual de Buenas Prácticas de Manufactura para Microempresas lácteas. Bogotá: Colombia, Editorial Pontificia Universidad Javeriana. 175p. (62-65p.)
17. Millar, C.H. 2000. Infection Control / Management of Hazardous Materials for the Dental Team, 2da Edición, Barcelona: España, El server, 361 p. (185-195p.)
18. Moreno, F. 2006. Higiene e Inspección de Carnes, España. Ediciones Díaz de Santos. 646p. (545-548p.)
19. Manual Básico. 2006. Personal de Limpieza de Centros Sanitarios. 1ra Edición, Madrid: España, Editorial MAD, S.L. 228p.

20. Temario específico. 2006. Auxiliar de enfermería del servicio Gallego de la Salud, Editorial MAD. Vol. 2. 230p.
21. Aucker, R y Lake, R. 2006. Farmacología en enfermería. 2da. Edición, Madrid: España, Harcourt. 873p.
22. Garcia, L. 2006. Limpieza del Instrumental e Higiene del medio Hospitalario. Barcelona: España, Ediciones Eduforma. 305p. (35-36p.)
23. Korolkovas, A. 1983 Essentials of medicinal chemistry. Barcelona: España, Editorial Reverte 600p. (561-565p.)
24. Russell, A., et.al. 1997. Maillard Jy. Microbial Susceptibility and resistance to biocides. ASM News. 639p. (481-487p.).
25. Rutala, W. 1996 Apic Guideline For Selection and use of disinfectants. An Infect Control. E.E.U.U. Thomson Delmar Learning. 505p. (313-342p.).
26. Formulario Modelo de la OMS, Basado en la 13ª. Lista modelo de medicamentos esenciales 2003. Barcelona: España, Publicado por Pharma Editores, Passeig de Gracia, 607p.(269-273p.)
27. RUEDA PONCE, H. 1994. Evaluación de la eficacia antibacteriana de los desinfectantes utilizados para las áreas críticas del Centro Médico Militar. Guatemala. P. Tesis Licenciada en Química Biológica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Biológica. 72p.
28. Rodas, A. 2005. Análisis Microbiológico de Medicamentos no Estériles. Guatemala: Guatemala, Laboratorio Físicoquímico y Microbiológico (LAFYM). 7p.

29. Clesceri, L., et. al. 1998. Standar Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20 ed. Washington, DC: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. 1998. XXXVII (31-32p.)
30. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of foods. American Public Health Association. Edited by Frances Pouch Downes Keith Ito. 4 ed. 2001. XXXVII (357-376p.)
31. Rodas, A. 2005 Procedimiento de Operación para el Muestreo y Análisis de Manos y Superficies. Guatemala: Guatemala, Laboratorio Físicoquímico y Microbiológico (LAFYM). 5p.
32. Madigan, M., et. Al. 2004. Brock. Biología de los Microorganismos. 2da. Edición Madrid: España, Pearson Pretice Hall, 1096p. (628-630 y 852-853p.).

10. ANEXOS

10.1. Anexo 1.

Tabla No. 1: Organismos de Desafío Típicos

| | ORGANISMOS DE DESAFÍO AOAC | AISLAMIENTOS AMBIENTALES TÍPICOS |
|-------------|---|---|
| Bactericida | <i>Escherichia coli</i> , ATCC 11229 | <i>Micrococcus luteus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Coynebacterium jeikeium</i> , <i>P. vesicularis</i> |
| | <i>S. aureus</i> , ATCC 6538 | |
| | <i>P. aeruginosa</i> , ATCC 15442 | |
| Fungicida | <i>C. albicans</i> , ATCC 10231 ó 2091 | <i>P. chrysogenum</i> , <i>A.</i> <i>niger</i> |
| | <i>Penicillium chrysogenum</i> , ATCC 11709 | |
| | <i>Aspergillus Níger</i> , ATCC 16404 | |
| Esporicida | <i>B. subtilis</i> , ATCC 19659 | <i>B. sphaericus</i> , <i>B.</i> <i>thuringiensis</i> |

Fuente: USP XXXI.

Tabla No. 2: Agentes inactivantes de preservantes en antisépticos.

| Preservativo en el medicamento | Agente Inactivante |
|---|---|
| Alcoholes: | |
| Clorobutanol | TWEEN 20 u 80 al 10% |
| Feniletíl alcohol | TWEEN 20 u 80 al 10% |
| Ésteres: | |
| Metil p-hidroxibenzoato al 0.18% | TWEEN 20 u 80 al 5% |
| Propil p-hidroxibenzoato al 0.02% | Lecitina al 0.07% y TWEEN 20 u 80 al 0.5% |
| Mercuriales: | |
| Nitrato o acetato fenil mercúrico al 0.002% | Lecitina al 0.5% y TWEEN 20 u 80 al 3% |
| Sales Cuaternarias de Amonio: | |
| Cloruro de benzalconio | Lecitina al 0.5% y TWEEN 20 u 80 al 3% |

Fuente: USP XXVI y XXXI.

10.2. Anexo 2: Diseño Experimental

Tabla No. 1: Análisis Microbiológico.

| Desinfectante | No. Lote Desinfectante | Análisis Microbiológico desinfectantes | Análisis microbiológico de Superficies | | | |
|------------------------|------------------------|--|--|---------|-------|-----------------|
| | | | Piso | Paredes | Techo | Mesa de trabajo |
| Desinfectante No. 1* | AAA | X | X | X | X | X |
| | BBB | X | X | X | X | X |
| | CCC | X | X | X | X | X |
| Desinfectante No. 2** | DDD | X | X | X | X | X |
| | EEE | X | X | X | X | X |
| | FFF | X | X | X | X | X |
| Desinfectante No. 3*** | GGG | X | | | | |
| | HHH | X | | | | |
| | JJJ | X | | | | |

* Desinfectante 1: Hibitane® 1.17% (Gluconato de Clorhexidina).

** Desinfectante 2: Savlón® 0.5% (Gluconato de Clorhexidina + Cetrimida).

*** Desinfectante 3: Formol 10%

Nota: Dada la alta toxicidad del Formaldehído (formol 10%), este únicamente se aplica en el piso.

Tabla No. 2: Análisis Microbiológico a desinfectantes.

| Desinfectante | No. Lote Desinfectante | Muestra 1 | Muestra 2 | Muestra 3 |
|------------------------|------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Desinfectante No. 1* | AAA | X | X | X |
| | BBB | X | X | X |
| | CCC | X | X | X |
| Desinfectante No. 2** | DDD | X | X | X |
| | EEE | X | X | X |
| | FFF | X | X | X |
| Desinfectante No. 3*** | GGG | X | X | X |
| | HHH | X | X | X |
| | JJJ | X | X | X |

* Desinfectante 1: Hibitane® 1.17% (Gluconato de Clorhexidina).

** Desinfectante 2: Savlón® 0.5% (Gluconato de Clorhexidina + Cetrimida).

*** Desinfectante 3: Formol 10%

10.3. Anexo 3: Factores de Dilución y Organismos bacterianos a evaluar.

Tabla No. 1: Hibitane® 1.17% (Gluconato de Clorhexidina). (desinfectante 1)

| Dilución | <i>Staphylococcus aureus.</i> ATCC 6538 | <i>Pseudomona aeruginosa,</i> ATCC 15442 | <i>Escherichia coli,</i> ATCC 11229 |
|----------|--|---|--|
| 1:10 | X | X | X |
| 1:100 | X | X | X |
| 1:1000 | X | X | X |

Tabla No. 2: Savlón® 0.5% (Gluconato de Clorhexidina + Cetrimida). (desinfectante 2)

| Dilución | <i>Staphylococcus aureus.</i> ATCC 6538 | <i>Pseudomona aeruginosa,</i> ATCC 15442 | <i>Escherichia coli,</i> ATCC 11229 |
|----------|--|---|--|
| 1:10 | X | X | X |
| 1:100 | X | X | X |
| 1:1000 | X | X | X |

Tabla No. 3: Formol al 10% (desinfectante 3)

| Dilución | <i>Staphylococcus aureus.</i> ATCC 6538 | <i>Pseudomona aeruginosa,</i> ATCC 15442 | <i>Escherichia coli,</i> ATCC 11229 |
|----------|--|---|--|
| 1:10 | X | X | X |
| 1:100 | X | X | X |
| 1:1000 | X | X | X |

10.4. Anexo 4: Características Morfológicas de los organismos bacterianos.

Tabla No. 1: Características de crecimiento de *Staphylococcus aureus* en los diferentes medios utilizados.*

| Medio de cultivo | Morfología colonial | Morfología microscópica (GRAM) |
|------------------|--|--|
| Manitol-Sal | Colonias amarillas rodeadas de una zona amarilla | Cocos Gram. positivo, agrupados en racimos |
| Baird.- Parker | Colonias negras lustrosas rodeadas de zonas claras | Cocos Gram. positivo, agrupados en racimos |
| Vogel-Johnson | Colonias negras rodeadas de una zona amarilla | Cocos Gram positivo, agrupados en racimos |

Fuente: USP XXVI y XXXI.

Tabla No. 2: Características de crecimiento de *Pseudomona aeruginosa* en los diferentes medios utilizados.*

| Medio de cultivo | Morfología colonial | Morfología microscópica (GRAM) | Oxidasa |
|--|--|--------------------------------|----------|
| Agar Cetrimida | Colonias verde-azules. A la luz UV. Se observa fluorescencia verde | Bacilos Gram negativo | Positiva |
| Agar Pseudomona para detección de fluoresceína | Colonias incoloras o amarillentas. A la luz UV. Se observa fluorescencia amarilla. | Bacilos Gram negativo | Positiva |
| Agar para detección de piocianina | Colonias verde-azules. A la luz UV. Se observa fluorescencia azul. | Bacilos Gram negativo | Positiva |

Fuente: USP XXVI y XXXI.

Tabla No. 3: Características de crecimiento de *Escherichia coli* en los diferentes medios utilizados.*

| Medio de cultivo | Morfología colonial | Morfología microscópica (GRAM) |
|---|--|---------------------------------------|
| Agar McConkey | Colonias grandes rosas-rojas, rodeadas de una zona de precipitación. | Bacilos Gram negativo |
| Agar Levine-Eosina-Azul de metileno (EMB) | Colonias pequeñas azul-negro con brillo metálico de color verde | Bacilos Gram negativo |

Fuente: USP XXVI y XXXI.

10.5 GLOSARIO

ANTISÉPTICO: Agente que inhibe o destruye microorganismos sobre un tejido vivo, incluyendo la piel, cavidades orales y heridas abiertas. ^(1, 4)

AGENTE DE LIMPIEZA: Agente que elimina de la superficie de las instalaciones y equipos residuos de productos que pueden inactivar a los agentes sanitizantes o albergar microorganismos. ^(1, 4)

CONTAMINACIÓN: Existencia de microorganismos patógenos sobre superficies de objetos inanimados, pisos, muros y otros elementos tales como el aire, agua y alimentos. ^(1, 4)

DESCONTAMINACIÓN: Eliminación de microorganismos mediante desinfección o esterilización. ^(1, 4)

DESINFECCIÓN: Procedimiento físico o químico usado para destruir los microorganismos patógenos pero no necesariamente todas las formas microbianas (ejemplo: endosporas bacterianas) sobre superficies u objetos inanimados. ^(1, 4)

DESINFECTANTE QUÍMICO: Agente químico que se emplea en superficies y objetos inanimados para destruir virus, bacterias y hongos infecciosos, aunque no necesariamente sus esporas. Los agentes antivirales y esporicidas pueden considerarse como una clase especial de desinfectantes. ^(1, 4)

DESINFECTANTE: Agente físico o químico que al aplicarse en una superficie destruye o elimina formas vegetativas de microorganismos nocivos. ^(1, 4)

ESTERILIZANTE: Agente que destruye toda forma de vida microbiana, incluyendo hongos, virus y todas las formas de bacterias sus esporas. Los esterilizantes son agentes líquidos o de fase en vapor. ^(1, 4)

INFECCIÓN NOSOCOMIAL O INTRAHOSPITALARIA: Proceso infecciosos general o localizado en determinados órganos o regiones anatómicas, iniciado durante la permanencia o concurrencia de un paciente al hospital. Incluye también las infecciones adquiridas durante la hospitalización que se manifiestan después que el paciente es dado de alta y excluye las infecciones que se encuentran presentes o en una incubación al momento del ingreso del paciente. ^(1, 4)

LIMPIEZA: Eliminación por medio del fregado y lavado con agua caliente o fría, jabón o un detergente, o mediante el empleo de medios mecánicos (aspiradora, lavadora), agentes infecciosos o materias orgánicas de los objetos o superficies en los cuales estos pueden sobrevivir y multiplicarse. ^(1, 4)

10.6 PROCEDIMIENTOS ESTANDAR DE OPERACIÓN

| | | |
|---|--|----------------------------|
| LABORATORIO DE PRODUCCIÓN HOSPITAL GENERAL SAN JUAN DE DIOS | PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN | PEO No. 1 Página 1 de 3 |
| | LIMPIEZA Y DESINFECCION DE GALONES DE EVASE PARA SOLUCIONES DESINFECTANTES | |

1. OBJETIVO

Definir el procedimiento para la limpieza y desinfección de galones de envase para soluciones desinfectantes en el área de preparación de soluciones antisépticas.

2. RESPONSABILIDAD

La responsabilidad de este procedimiento recae sobre todo el personal (supervisor EPS, Técnico operario y/o Estudiante EDC) que proceda a la manufactura de soluciones desinfectantes.

3. VIGENCIA

Este procedimiento entra en vigencia a partir de la fecha de aprobación por parte de la Jefatura del departamento de Farmacia Interna y Supervisión del laboratorio de producción y permanecerá vigente, mientras no exista otro procedimiento que lo sustituya.

4. MATERIAL Y EQUIPO

Galones de envase
Solución Jabonosa
Choconoy
Cepillo
Agua Caliente
Guantes
Gabacha
Solución de ácido acético al 1%

5. FRECUENCIA

Este procedimiento deberá utilizarse cada vez que se reciba un lote de galones proveniente de los servicios del Hospital.

6. NORMA

1. Los galones de envase deben proceder de los servicios del Hospital sin ningún tipo de contaminante que pueda afectar la seguridad y salud del técnico operario, de no ser así deberán ser descartados.
2. El técnico operario debe utilizar adicionalmente a su equipo de seguridad, guantes de hule y gabacha.

3. Si el tamaño del lote de galones de envase es muy grande, se deberá hacer grupos de 20 galones de envase, para garantizar la limpieza y desinfección de cada galón.

7. PROCEDIMIENTO

1. Colocar los galones de envase en el área de lavado.
2. Mojar todos los galones de envase con agua limpia y luego agregarles a cada uno una cantidad considerable de solución jabonosa.
3. Se deberá introducir un Choconoy en la boquilla del galón de envase y proceder a restregar todo el interior de este.
4. El paso no. 3 se realizara con todos los envases de galón sin excepción alguna.
5. Al cumplir el paso no. 4, se procederá a eliminar la solución jabonosa de todos los galones de envase con abundante agua.
6. Posteriormente se deberá eliminar todos los residuos que hayan aun quedado de la solución jabonosa con agua caliente.
7. Para completar la limpieza se deberán lavar con agua desmineralizada.
8. Luego colocar todos estos galones limpios con la boca hacia arriba en una estantería.
9. En un beacker agregar solución de acido acético al 1%
10. Agregar aproximadamente 5ml de esta solución a el primer galón de envase, proceder a tapar el galón de envase (tapadera previamente limpia), agitar aproximadamente por 60 segundos y descartar la solución de acido acético en el lavado.
11. Posteriormente tapar el galón de envase, para evitar que se vuelva a contaminar.
12. El paso no. 9 y 10 se ejecutara con para todos los envases de galón sin excepción alguna.
13. Colocar todos los galones de envase correctamente tapados en una estantería.
14. Identificar la estantería con la siguiente etiqueta:

| | |
|--|-------|
| HOSPITAL GENERAL SAN JUAN DE DIOS DEPARTAMENTO DE FARMACIA INTERNA LABORATORIO DE PRODUCCIÓN | |
| GALONES DE ENVASE LIMPIOS Y DESINFECTADOS | |
| Persona que limpio: | _____ |
| Persona que desinfecto: | _____ |
| Fecha: | _____ |
| Persona que verificó limpieza y desinfección: | _____ |

15. Cuando se utilicen los galones de envase en la manufactura de las soluciones desinfectantes, se deberá pegar con masking tape la etiqueta en el master de fabricación.

8. APROBACIÓN:

| Elaborado por: | Revisado por: | Autorizado por: |
|----------------|---------------|-----------------|
| | | |

9. MODIFICACIONES:

| Fecha de modificación | Descripción de lo Modificado | Modificación autorizada por: | Fecha de publicación y comunicación |
|-----------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|
| | | | |

| | | |
|---|---|----------------------------|
| LABORATORIO DE PRODUCCIÓN HOSPITAL GENERAL SAN JUAN DE DIOS | PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN | PEO No. 2 Página 1 de 2 |
| | LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE UTENSILIOS DE LIMPIEZA | |

1. OBJETIVO

Definir el procedimiento para la limpieza y desinfección de equipo para limpieza.

2. RESPONSABILIDAD

La responsabilidad de este procedimiento recae sobre todo el personal (supervisor EPS, Técnico operativo y/o Estudiante EDC) que proceda a la limpieza y desinfección de los utensilios de limpieza.

3. VIGENCIA

Este procedimiento entra en vigencia a partir de la fecha de aprobación por parte de la Jefatura del departamento de Farmacia Interna y Supervisión del laboratorio de producción y permanecerá vigente, mientras no exista otro procedimiento que lo sustituya.

4. MATERIAL Y EQUIPO

Solución Jabonosa
Agua
Guantes de hule
Gabacha
Solución de cloro al 0.5%

5. FRECUENCIA

Este procedimiento deberá utilizarse antes y después del uso del equipo de limpieza.

6. NORMA

1. El técnico operativo debe utilizar adicionalmente a su equipo de seguridad, guantes de hule y gabacha.

7. PROCEDIMIENTO

2. Colocar los trapeadores en un recipiente que contenga solución de cloro al 0.5% y dejarlos por un tiempo aproximado de 15 minutos.
3. Lavar los trapeadores en agua y detergente
4. Enjuagar con abundante agua limpia

5. Secar completamente antes de reutilizarlos. Lo mejor es secar los trapeadores y trapos al sol, ya que los rayos ultravioleta de la luz solar matan los microorganismos. (los trapeadores húmedos son fuertemente contaminados con microorganismos).

8. APROBACIÓN:

| Elaborado por: | Revisado por: | Autorizado por: |
|----------------|---------------|-----------------|
| | | |

9. MODIFICACIONES:

| Fecha de modificación | Descripción de lo Modificado | Modificación autorizada por: | Fecha de publicación y comunicación |
|-----------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|
| | | | |