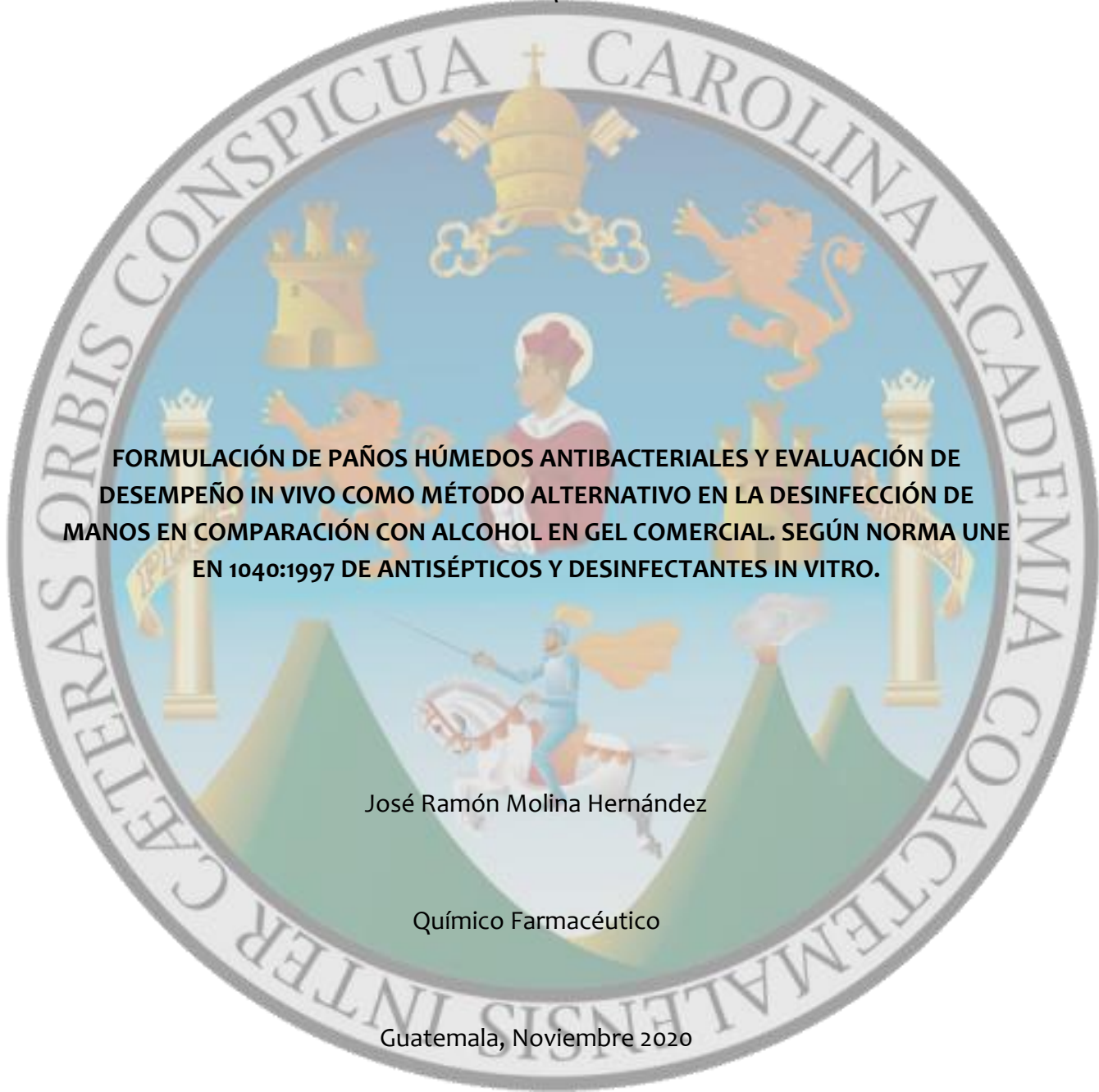


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man in a red and white robe, likely a saint or scholar, holding a book. Above him is a golden dome with a cross. To the left is a golden castle, and to the right is a golden lion rampant. Below the central figure is a knight in blue and white armor riding a white horse, holding a lance. The background is a light blue sky with green hills at the bottom. The entire seal is surrounded by a grey border with Latin text: "CÆTERAS ORBIS CONSPICUA CAROLINA ACCADEMIA COACTEMMALENSIS INTER".

**FORMULACIÓN DE PAÑOS HÚMEDIOS ANTIBACTERIALES Y EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO IN VIVO COMO MÉTODO ALTERNATIVO EN LA DESINFECCIÓN DE MANOS EN COMPARACIÓN CON ALCOHOL EN GEL COMERCIAL. SEGÚN NORMA UNE EN 1040:1997 DE ANTISÉPTICOS Y DESINFECTANTES IN VITRO.**

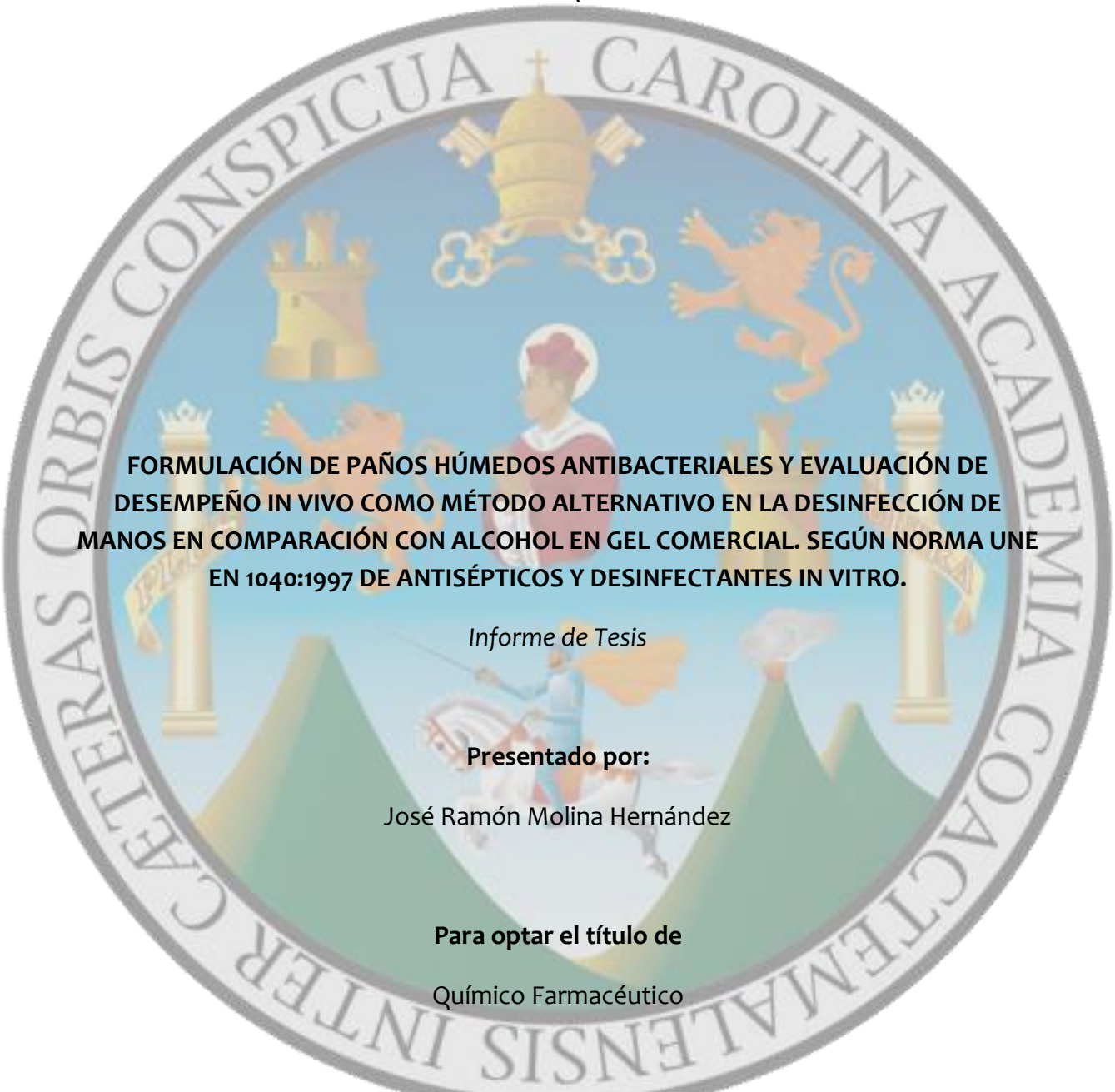
José Ramón Molina Hernández

Químico Farmacéutico

Guatemala, Noviembre 2020

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man in a red and white robe, possibly a saint or scholar, holding a staff. Above him is a golden crown with a cross on top. To the left is a golden castle tower, and to the right is a golden lion rampant. Below the central figure are two green mountains. The entire scene is set against a light blue background. The seal is surrounded by a grey border with Latin text: "CÆTERAS ORBIS CONSPICUA CAROLINA ACCADEMIA COACTEMALENSIS INTER" at the bottom and "CÆTERAS ORBIS CONSPICUA CAROLINA ACCADEMIA COACTEMALENSIS INTER" at the top.

**FORMULACIÓN DE PAÑOS HÚMEDOS ANTIBACTERIALES Y EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO IN VIVO COMO MÉTODO ALTERNATIVO EN LA DESINFECCIÓN DE MANOS EN COMPARACIÓN CON ALCOHOL EN GEL COMERCIAL. SEGÚN NORMA UNE EN 1040:1997 DE ANTISÉPTICOS Y DESINFECTANTES IN VITRO.**

*Informe de Tesis*

**Presentado por:**

José Ramón Molina Hernández

**Para optar el título de**

Químico Farmacéutico

Guatemala, Noviembre 2020

## JUNTA DIRECTIVA

M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto	Decano
Licda. Miriam Roxana Marroquín Leiva	Secretaria
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal I
Dr. Roberto Enríque Flores Arzú	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Giovani Rafael Funes Tovar	Vocal IV
Br. Carol Merarí Caceros Castañeda	Vocal V

## ACTO QUE DEDICO

A mis Padres, **José Ramón Molina Barrientos** y **Ana Leticia Hernández Sagastume**, les dedico este logro mis amados. Gracias por todo su amor, enseñanzas y paciencia. Los amo.

A mis hijos, **Adriana Mercedes Molina Alvarado** y **José Javier Molina Alvarado**, que les pueda servir de ejemplo en sus vidas, son lo más importante en mi vida, les amo.

A mis Hermanas, **Marcela, Mónica, Yeni Hurtarte** y **Ana Cecilia Molina** por ser parte vital en mi vida y ser siempre mi apoyo.

A la **Licda. Diana Alvarado**, por todo su cariño y apoyo durante toda mi carrera Universitaria. Te quiero mucho.

A mis amigos Nelson Maldonado y Luis Fernando García. Wendy, Carol, Jusvin, Pablo Cesar, Ali, Rafael, Javier, Buho, Anjello y Pablo Cesar y demás amigos que hice en la universidad y que fueron importantes en mi vida los quiero y los aprecio.

## AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad de San Carlos de Guatemala**, mi *Alma Máter*, lugar donde se me brindó todos los conocimientos para llegar a ser un profesional, siempre te llevaré en mi corazón.

A la **Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia**, por ser mi segundo hogar donde se me brindó todos los conocimientos, nuevas amistades y experiencias que me serán de utilidad para ejercer mi vida profesional.

A mis **catedráticos**, por ser fuente de los conocimientos que me ayudarán a ser profesional en nuestra licenciatura, muchas gracias.

A **mi Asesor, Lic. Julio Gerardo Chinchilla Vettorazzi**, por compartir todos sus conocimientos a cada momento que fue necesario, por su paciencia y apoyo a lo largo del presente trabajo de investigación.

A **mi Revisora, Licda. Julia Amparo García Bolaños**, por su apoyo en la realización de este trabajo de investigación.

Al señor **Edgar Alvarado** y en especial a la **Licda. Celia Escobar**, por todo su apoyo y cariño durante mi carrera universitaria, los quiero y aprecio demasiado.

A **Industria Farmacéutica S.A**, que me brindaron de las áreas específicas para poder realizar mi investigación.

A **Licda. Lindsay Vásquez**, por todo el apoyo y cariño brindado durante la realización de esta investigación, te quiero mucho.

Al **Lic. Heber España, Lic. Lionel Alonso y Lic. Allan Mendoza** por el apoyo que tuve de su parte para poder realizar este Trabajo de Investigación.

## ÍNDICE

1.	Resumen .....	1
2.	Introducción .....	2
3.	Antecedentes .....	4
3.1.	Desinfectantes y Antisépticos .....	4
3.2.	Niveles de desinfección .....	5
3.3.	Clasificación de los desinfectantes según su mecanismo de acción .....	5
3.4.	Métodos de evaluación de Desinfectantes .....	10
3.5.	Factores que afectan la neutralización de los agentes microbianos .....	12
3.6.	Eficacia del neutralizante .....	13
3.7.	Microorganismos empleados en las evaluaciones .....	13
3.8.	Normativa sobre evaluación de desinfectantes .....	13
4.	Justificación .....	15
5.	Objetivos .....	16
5.1.	Objetivo General .....	16
5.2.	Objetivos Específicos .....	16
6.	Hipótesis .....	17
7.	Materiales y Métodos .....	18
7.1.	Universo .....	18
7.2.	Muestra .....	18
7.3.	Recursos Humanos: .....	18
7.4.	Materiales .....	18
7.5.	Métodos .....	19
8.	Resultados .....	21
9.	Discusión de Resultados .....	25
10.	Conclusiones .....	27
11.	Recomendaciones .....	28
12.	Referencias .....	29
13.	Anexos .....	32

## 1. Resumen

El aumento de las enfermedades contagiosas por contacto ha hecho que en el mercado surjan productos que logren desinfectar las manos de la población guatemalteca, la cual prefiere un método rápido y efectivo.

El presente estudio fue realizado con el objetivo de formular paños húmedos que sean fáciles de usar y efectivos para la desinfección de la piel en comparación con el alcohol en gel, utilizando como antiséptico Gluconato de Clorhexidina el cual es una sustancia utilizada ampliamente para otros tipos de limpieza y desinfección. Empleando la Norma Técnica Colombiana NTC 5150 – Antisépticos y desinfectantes químicos: Actividad bactericida básica como base para los ensayos a realizar y los requisitos que debe cumplir una sustancia bactericida para ser considerada como tal. En la cual se evalúa la actividad bactericida en tres niveles de concentración frente a *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* según tiempo de contacto. Obteniendo resultados satisfactorios en 0.5%, 1% y 2% de concentración. Por lo cual se escogió la concentración de 0.5% para la formulación de los paños húmedos debido a su baja toxicidad y alta efectividad.

Empleando un método de cultivo en Agar Caso y Cromocult® se evaluó la actividad antibacterial del gluconato de clorhexidina al 0.5% en paños húmedos, tomando como muestra hisopado de manos de una población aleatoria, previo a utilizar los paños húmedos y posterior a la utilización de éstos. Presentando una reducción en las unidades formadoras de colonias significativa y la inhibición de la bacteria *E. coli* en comparación con el porcentaje de disminución de la utilización de alcohol en gel. Se determinó que los paños húmedos antibacteriales son más eficaces en cuanto a la desinfección de manos que el alcohol en gel comercial, según indica el porcentaje de reducción de UFC (Unidades formadoras de colonia) antes y después de la desinfección con cada uno de los agentes antimicrobianos.

## 2. Introducción

Los microorganismos que albergan la piel refleja los contactos, hábitos, profesión, etcétera, de cada uno de los individuos. Algunos de estos microorganismos son los causantes de varias enfermedades, dado que, el contacto directo con las manos es la principal vía de transmisión de enfermedades tanto a nivel hospitalario como en la vida cotidiana. Se pueden distinguir dos tipos de floras bacterianas en las manos:

- Flora residente (flora colonizante)
- Flora transitoria (flora contaminante o no colonizante): microorganismos que contaminan la piel, no encontrándose habitualmente en ella. Causantes de la mayoría de infecciones. Ejemplos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Pseudomonas aeruginosa* y levaduras del género *Cándida*.

Por este motivo el lavado de manos representa la primera barrera de prevención de enfermedades como la gripe, el resfrío común, ciertas diarreas, además de otras enfermedades respiratorias que se diseminan por las gotitas de saliva que la persona expulsa al toser, hablar o estornudar. Incorporar la práctica del lavado de manos con agua y jabón, antes de comer y después de usar el baño, puede salvar más vidas que cualquier vacuna o intervención médica. (OMS, 2014)

Pero no siempre se cuenta con agua y jabón para realizar este procedimiento, por lo que surgen los métodos alternativos para el lavado de manos. El más común de estos métodos es el uso de alcohol en gel, este resulta altamente eficaz para disminuir los gérmenes que habitualmente se encuentran en las manos, además de actuar rápidamente, y se utiliza cuando las manos están visiblemente limpias. El uso del alcohol en gel está limitado a usarse en manos a simple vista limpias ya que se inactiva en presencia de materia orgánica lo que representa una desventaja, además el uso continuo de éste puede causar irritación y eczemas en la piel y dada su alta demanda también aumenta su producción clandestina poniendo en riesgo la salud del consumidor. Además otra desventaja es que no proporciona un olor agradable al ser usado, también deja una sensación pegajosa debido al carbolol que contiene en su formulación.



Ante la reciente pandemia que ha afectado al mundo, la búsqueda continúa de diferentes medios seguros para la desinfección de manos contra el SARS-CoV-2 es primordial para poder reducir la tasa de contagios en Guatemala. El principio activo utilizado en esta investigación ha sido estudiada recientemente para determinar su aptitud para la desactivación del SARS-CoV-2. (Chin, A., 2020). Por lo que existe la posibilidad de uso de estos paños húmedos para disminuir la propagación de SARS-CoV-2, como medio alternativo al alcohol en gel.

La finalidad de este estudio es formular paños húmedos antibacteriales que limpien y desinfecten al contacto, utilizando como antiséptico Gluconato de Clorhexidina, el cual es más amigable con la piel, se pretende evaluar este producto como una alternativa económica, práctica y eficaz en la limpieza y desinfección de manos en comparación con el alcohol en gel en cuanto a la reducción de coliformes totales, fecales y *E. coli*.

### 3. Antecedentes

#### 3.1. Desinfectantes y Antisépticos

**ANTISÉPTICOS.** Un antiséptico es un tipo de desinfectante que, cuando se aplica sobre superficies del cuerpo o en tejidos expuestos, destruye o inhibe el crecimiento de microorganismos en tejidos vivos, sin causar efectos lesivos. Algunos antisépticos se aplican sobre piel intacta o membranas mucosas, quemaduras y heridas abiertas para prevenir la sepsis al desbridar o excluir los microbios de estas áreas. La clorhexidina tiene un amplio espectro de actividad bactericida y bacteriostática, y es eficaz sobre bacterias grampositivas y gramnegativas, aunque es menos eficaz sobre algunas especies de *Pseudomonas* y *Proteus* y relativamente inactiva sobre micobacterias. No es activa sobre esporas bacterianas. La clorhexidina es incompatible con jabones y otros materiales aniónicos, como bicarbonatos, cloruros y fosfatos, con la formación de sales de baja solubilidad que pueden precipitar fuera de la solución. El etanol posee actividad bactericida y se utiliza para desinfectar la piel antes de la inyección, punciones venosas o intervenciones quirúrgicas. (salud, 2014)

**DESINFECTANTES.** Un desinfectante es un agente químico que destruye o inhibe el crecimiento de microorganismos patógenos en fase vegetativa o no esporulada. Los desinfectantes no necesariamente matan todos los organismos, pero los reducen a un nivel que no dañan la salud ni la calidad de los bienes percederos. Los desinfectantes se aplican sobre objetos y materiales inanimados, como instrumentos y superficies, para tratar y prevenir la infección. También se pueden utilizar para desinfectar la piel y otros tejidos antes de la cirugía.

La desinfección se define como la destrucción de la mayoría de microorganismos presentes en superficies y equipos pero no de esporas bacterianas. En consecuencia un desinfectante no ha de matar necesariamente todos los microorganismos, pero si reducirá su número a un nivel aceptable, que no dañan la salud. Por lo tanto un desinfectante es un agente químico con actividad germicida sobre microorganismos patógenos. (Noriega, 2014)

### 3.2. Niveles de desinfección

Estos son clasificados en tres niveles (alto, mediano y bajo), según la intensidad de su actividad sobre bacterias, esporas y virus (lipídicos y no lipídicos), hongos y sus esporas, etc.

- a. Desinfectantes de alto nivel: se caracterizan por actuar inclusive sobre los esporas bacterianas (forma más resistentes dentro de los microorganismos), produciendo una esterilización química si el tiempo de acción es el adecuado. Se utilizan sobre instrumentos médicos o quirúrgicos termosensibles. Son rápidamente efectivos sobre bacterias no esporuladas. Por lo general el número de esporas en el material a desinfectar es insignificante, por lo que la esterilización es rápida. Dentro de este grupo se encuentran óxido de etileno, formaldehído al 8% en alcohol al 70%, glutaraldehído al 2%, peróxido de hidrógeno. Todos estos son desinfectantes estrictos, no pudiéndose usar como antisépticos.
- b. Desinfectantes de mediano nivel: si bien no destruyen esporas, sí lo hacen con gérmenes tipo M. tuberculosis, hongos y virus no lipídicos. Algunos agentes son compuestos clorados (hipoclorito de sodio), compuestos iodados (iodóforos y alcohol iodado), compuestos fenólicos, alcoholes, clorhexidina. La mayoría de estos son utilizados como desinfectantes y antisépticos.
- c. Desinfectantes de bajo nivel: son aquellos que, actuando durante un tiempo razonable, no destruyen esporas, ni Mycobacterium, ni virus no lipídicos. Se incluyen compuestos de amonio cuaternario y compuestos mercuriales. En la práctica estos compuestos se utilizan para la limpieza doméstica, mientras que están prácticamente en desuso en los hospitales y laboratorios debido al empleo de tácticas más agresivas para la desinfección. (Perú, 2002)

### 3.3. Clasificación de los desinfectantes según su mecanismo de acción

La mayoría de los desinfectantes se los agrupa en tres categorías: los que lesionan la membrana celular, los inactivadores irreversibles de proteínas y los que lesionan los ácidos nucleicos. No obstante, algunos desinfectantes comparten más de uno de estos mecanismos. (Anabalón, 2014)

a. Desinfectantes de Alto Nivel:

Por su mecanismo de acción, todos actúan modificando en forma irreversible grupos funcionales de proteínas o ácidos nucleicos. Entre otros efectos esto provoca inhibición enzimática, lo que lleva a la muerte celular. Los agentes que predominan en este grupo son los alquilantes (óxido de etileno, formaldehído, glutaraldehído). Estos producen la alquilación de proteínas que contienen hidrógenos lábiles, los que se encuentran en los grupos carboxilo, hidroxilo, sulfhidrilo, amino y fenol.

(a) Óxido de etileno: Este gas actúa además de lo dicho, a nivel de los ácidos nucleicos, produciendo mutaciones tanto en bacterias como en tejidos humanos. Se utiliza ampliamente para la esterilización de instrumentos termolábiles.

(b) Glutaraldehído: Se utiliza a temperatura ambiente en solución al 2%. Es esporicida para tiempos de acción de 6 a 10 horas. Es el desinfectante más utilizado en la esterilización de equipos de endoscopia y de tratamiento respiratorio, ya que no corroe metales y gomas, ni deteriora lentes. Desventajas: es tóxico para piel, mucosas y ojos; también desprende vapores tóxicos para el aparato respiratorio.

(c) Formaldehído: se utiliza en su estado gaseoso o líquido. En su estado gaseoso se utiliza para desinfectar ambientes. En su forma líquida se utiliza a una concentración de 37% siendo su principal uso el conservar tejidos y para inactivar virus. Desventajas: produce gases muy irritantes, carcinogénicos y tóxicos, además posee baja penetración.

b. Desinfectantes de mediano nivel:

Se destacan los que actúan a nivel de proteínas y ácidos nucleicos (agentes oxidantes) y los que actúan a nivel de la membrana citoplásmica; dentro de estos se encuentran compuestos fenólicos y los alcoholes.

(a) Compuestos fenólicos: Agregan a la acción ya descrita, la activación en forma irreversible de las oxidasas y deshidrogenasas que se encuentran unidas a la membrana. El fenol (ácido carbólico) como tal, ya no es utilizado más que como

patrón para comparar otros desinfectantes. Esto es debido a su alta toxicidad, carcinogenicidad y su poder corrosivo. La sustitución de uno de los hidrógenos del núcleo fenólico por grupos funcionales tales como alquilo, difenilo, fenil y cloro, disminuye notablemente los efectos adversos y aumenta la actividad antibacteriana de estos compuestos.

- (b) Alcohol etílico: Se utilizan como desinfectantes y como antisépticos. Mecanismo de acción: producen precipitación y desnaturalización de proteínas, también lesionan la membrana citoplásmica. La precipitación y desnaturalización de proteínas depende de la presencia de agua y materia orgánica. El alcohol etílico rectificado (95%) provoca gran deshidratación en los microorganismos, de manera que impide su penetración en los mismos. Por lo tanto, las concentraciones más efectivas son las que oscilan entre el 60% y 80% en agua destilada, siendo la preparación más efectiva al 70%. Concentraciones por debajo del 50% no causan ningún efecto. La materia orgánica inactiva los alcoholes, por lo que se recomienda limpiar la superficie antes de desinfectar con alcohol. Principales características: no tiene buena penetración sobre materia orgánica, no esteriliza sino que desinfecta, se utiliza fundamentalmente para desinfectar materiales semicríticos y no críticos (termómetros clínicos, pinzas, limpieza de mesadas, etc.) y antisepsia de piel. A nivel de piel se utiliza para antisepsia de manos, previo a inyecciones, punciones venosas, etc. Puede causar irritaciones en la piel si su uso es con mucha frecuencia.
- (c) Clorhexidina: Se encuentra dentro de los antisépticos más utilizados a nivel hospitalario. Se trata de un compuesto fuertemente básico, que en este estado es insoluble en agua y poco soluble en la mayoría de los solventes orgánicos. Las preparaciones más utilizadas contienen entre 0.5% y 4% de producto. Su pH óptimo de acción se encuentra entre 5.5 y 7. A pH 5 y 6 actúa fundamentalmente sobre gramnegativos, mientras que a pH mayores actúa también sobre grampositivos. La flora normal de la piel está constituida fundamentalmente por microorganismos grampositivos, por lo tanto a pH neutro la clorhexidina se transforma en un excelente antiséptico cutáneo. Su

espectro es bastante amplio, abarcando bacterias grampositivas y gramnegativas, hongos y levaduras. Es bacteriostático (detiene el crecimiento pero no mata) para *M. tuberculosis*, mas no tiene actividad sobre esporas.

Mecanismo de acción: su acción se debería a su unión a grupos negativamente cargados de las moléculas celulares. Esto producirá precipitación de proteínas y ácidos nucleicos, inactivación enzimática y perdida irreversible del contenido citoplásmico. La clorhexidina no presenta absorción cutánea significativa, por lo que prácticamente no tiene efectos adversos por esta vía.

Principales características:

- Actúa en forma más lenta que los alcoholes pero su efecto persiste más tiempo
- Tiene efecto acumulativo
- Buena acción sobre bacterias grampositivas, gramnegativas y virus
- Baja toxicidad e irritabilidad
- Sus diluciones mantienen más que los iodóforos la actividad bactericida
- Al 4% es ideal para el lavado quirúrgico de manos y preparación pre quirúrgica de piel

Esto último se debe a las siguientes propiedades:

- Actúa rápidamente, reduciendo la flora transitoria en un 99% en 15 segundos y la residente en un 99.9% en 30 segundos (se recomiendan lavados de 2 minutos)
- Si bien tiene efecto inmediato con una sola aplicación, presenta efecto acumulativo con el uso regular, de manera que va aumentando su acción bactericida de un lavado de manos a otro
- Tiene acción persistente: tanto las manos del cirujano como la piel que circunda la cisura deben mantenerse libres de gérmenes durante la intervención. El sobrecrecimiento de la flora normal en ambas partes es un hecho frecuente, por su gran afinidad por la piel (a la cual se adhiere), la clorhexidina evita esto, manteniendo por varias horas su acción.

c. Desinfectantes de bajo nivel:

Se encuentran aquí los compuestos de amonio cuaternarios y los compuestos mercuriales. Este tipo de agentes no deben usarse como antisépticos, ni para desinfectar elementos semicríticos; tampoco deben utilizarse dentro de recipientes para desinfectar por inmersión, puesto que muchos microorganismos (por ejemplo *Pseudomonas* spp.) son capaces de multiplicarse en estas condiciones; han habido incluso epidemias intrahospitalarias a partir del mal manejo de estos desinfectantes.

(a) Amonio Cuaternarios: Son agentes catiónicos y actúan a nivel de la membrana celular (agentes activos de superficie). Las principales aplicaciones se dan para la desinfección de ítems no críticos y desinfección ambiental doméstica.

(b) Compuestos Mercuriales: Son bacteriostáticos, necesitando grandes concentraciones para alcanzar efectos bactericidas. Se consideran fuera de eso debido a que: se inactivan con facilidad en presencia de materia orgánica, son ineficaces a pH fisiológico y por qué las bacterias han creado resistencia. (Santos & Guevara, 2014)

**Tabla No. 1 Comparación de parámetros entre la clorhexidina y el alcohol**

	<b>Clorhexidina</b>	<b>Alcohol</b>
<b>Concentración</b>	2-4%	70-90%
<b>Espectro</b>	Amplio	Amplio
<b>Acción</b>	Intermedia	Rápida
<b>Efecto</b>	Excelente	Mínimo
<b>Persistencia</b>	Alta	No posee
<b>Irritación</b>	Baja	Alta
<b>Toxicidad</b>	Ototoxicidad	Para la piel
<b>Inactivación</b>	Mínima	Alta
<b>Observaciones</b>	Se inactiva con cloro, nitratos o jabones. No afecta los Mycobacter	Volátil, sin efecto residual, inflamable.

(Chile, 2014)

#### 3.4. **Métodos de evaluación de Desinfectantes**

Para valorar la actividad de un antiséptico o desinfectante, se determina su concentración mínima bactericida (CMB). Para ello, los procedimientos más utilizados son los tests in vitro cuantitativos con microorganismos en suspensión, y entre ellos el método de dilución-neutralización, neutralización por filtración o solo neutralización por dilución o neutralización química, estos se aplican cuando para el desinfectantes exista un neutralizante. (Rodríguez, Correa, & López, 2014) Estos se describen a continuación:

- Neutralización por inhibición química: Muchos biocidas pueden ser químicamente inactivados. Varios neutralizantes y medios de cultivo de dilución han sido formulados para este fin. Dentro de los más conocidos se



encuentra el caldo Letheen y Tioglicolato para inactivar el desinfectante. A pesar de la toxicidad de los neutralizantes, su uso puede ser conveniente debido a que los neutralizantes son de acción rápida.

- Neutralización por filtración: la dilución de un biocida por filtración es otro método para neutralizar una solución desinfectante. Este método se basa en la filtración para separar los microorganismos en suspensión de la solución desinfectante. La membrana de filtración luego es removida, y luego ubicada sobre la superficie del agar para luego ser incubada, para la posterior cuantificación de colonias.
- Ensayo de dilución-neutralización: Este ensayo consiste en mezclar un determinado inóculo microbiano con una determinada dilución de desinfectante y después de un tiempo de contacto, transferir alícuotas de la mezcla microorganismos-desinfectantes a un medio que contenga el neutralizante del desinfectante. Estos ensayos pueden ser:
  - Cualitativos: cuando se detecta presencia o ausencia de microorganismos supervivientes en los subcultivos.
  - Cuantitativos: cuando se realiza el recuento del número de microorganismos supervivientes con respecto al inóculo inicial.

Los ensayos cualitativos fueron muy utilizados en el pasado, pero actualmente se prefieren los ensayos cuantitativos porque dan una información de mayor utilidad. Mediante estos ensayos se puede determinar la reducción del inóculo inicial conseguida por el desinfectante en una determinada dilución y en un determinado tiempo de contacto.

Estos ensayos pueden realizarse con varias concentraciones del desinfectante y con distintos tiempos de contacto, en presencia o ausencia de materia orgánica y con diferente dureza del agua.

La recuperación de los microorganismos puede realizarse por cultivo directo en un medio sólido o por filtración sobre membrana. El recuento por cultivo directo se requiere la neutralización del desinfectante y por tanto ensayos

previos para determinar cuál es el neutralizante ideal para cada caso; son los denominados ensayos de dilución-neutralización.

Cuando no se halla un neutralizante adecuado para el desinfectante, se puede recurrir a la técnica de filtración sobre membrana para el recuento de microorganismos viables. El número de microorganismos supervivientes en los subcultivos se comparan con el número de microorganismos presentes en un control en el que el desinfectante se sustituye por agua destilada estéril u otro tipo de diluyente.

De acuerdo con las técnicas normalizadas de la Asociación Española de Normas (AENOR por sus siglas en español) y la norma Asociación Francesa de Normas (AFNOR por sus siglas en español, para el método de dilución-neutralización se parte de una suspensión bacteriana que debe contener entre  $1 \times 10^8$  y  $3 \times 10^8$  bacterias/mL. La tasa de reducción logarítmica o efecto biocida es la diferencia entre el logaritmo base 10 del número de unidades formadoras de colonias (UFC) recuperadas en el control y el número de UFC recuperadas después de la exposición con el desinfectante. La reducción logarítmica exigida en los diferentes ensayos de suspensión cuantitativa está comprendida entre 3 y 5  $\log_{10}$ , en función fundamentalmente de los microorganismos de ensayo.

(Marin Díaz, Navarro, & Arevalo, 2014)

### **3.5. Factores que afectan la neutralización de los agentes microbianos**

Existen tres criterios que deben tener en cuenta en el diseño de un estudio de neutralización:

1. El neutralizante debe inhibir efectivamente la acción de la solución desinfectante.
2. El neutralizante no debe ser por sí mismo tóxico para los microorganismos de ensayo.
3. El neutralizante y el agente activo no se deben combinar para formar un compuesto tóxico. (Marin Díaz, Navarro, & Arevalo, 2014)

**3.6. Eficacia del neutralizante**

La eficacia del neutralizante usado en los experimentos de evaluación de desinfectantes puede variar tanto con el organismo de estudio como el desinfectante. Además la sensibilidad del organismo al desinfectante y la concentración del mismo pueden tener un efecto importante en la eficacia del tratamiento de neutralización. Es importante comparar la recuperación de los microorganismos del neutralizador en presencia y ausencia del desinfectante, ya que diversos inhibidores químicos de antimicrobianos son tóxicos por sí mismos. (Marin Díaz, Navarro, & Arevalo, 2014)

**3.7. Microorganismos empleados en las evaluaciones**

La especie y la cepa del germen deben expresarse exactamente. Para una buena capacidad comparativa, es necesario emplear microorganismos en cultivos puros.

**3.8. Normativa sobre evaluación de desinfectantes**

Hasta 1997 no existían normas europeas de evaluación de desinfectantes. Los diversos productos desinfectantes se evaluaban según normas oficiales de algunos países, siendo las más habituales las normas francesas como la Asociación Francesa de Normas (AFNOR por sus siglas en español), las alemanas como la Sociedad Alemana de Higiene y microbiología (Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie, DGHM por sus siglas en alemán) y las Estadounidenses de la Agencia de protección ambiental (Environmental Protection Agency, EPA por sus siglas en inglés). En la actualidad en Europa han empezado a unificar criterios y se han empezado a utilizar las normas españolas avaladas en europa o por sus siglas en español UNE-EN. Algunas de estas Normas son:

- a. UNE-EN 1040:1997: “Antisépticos y desinfectantes químicos actividad bactericida básica métodos de prueba y requisitos”
- b. UNE-EN 1275-2007: “Antisépticos y desinfectantes químicos. Ensayo de cuantitativo de suspensión para la evaluación de la actividad fungicida o levuricida básica de los antisépticos y desinfectantes químicos. Método de ensayo y requisitos”
- c. UNE-EN 13624:2004: “Antisépticos y desinfectantes químicos. Ensayo cuantitativo de suspensión para la evaluación de la actividad fungicida de los

desinfectantes químicos para instrumental utilizado en medicina. Método de ensayo y requisitos”.

En la actualidad Guatemala no cuenta con Normativa propia en cuanto a evaluación de desinfectantes y antisépticos, por lo que para la realización de la presente investigación se utilizará la Norma técnica Colombiana (NTC por sus siglas en español) 5150 “Antisépticos y desinfectantes químicos actividad bactericida básica métodos de prueba y requisitos” la cual es una IDT (copia idéntica) de la Norma Europea UNE-EN 1040:1997, dicha normativa se encuentra vigente desde el 2003. En el país el reglamento para el control sanitario de los medicamentos y afines establece en el artículo 19 “Farmacopeas y textos aceptados para especialidades farmacéuticas” que cuando un producto que no figure en ningún texto oficial, se podrán utilizar textos reconocidos y que el ente regulador podrá calificar la información técnica del producto, por lo que, se utilizará esta norma por ser internacional. (Marín Díaz, Navarro, & Arevalo, 2014)

#### 4. Justificación

El lavado de manos representa la primera barrera de prevención de enfermedades como la gripe, el resfrío común, ciertas diarreas, además de otras enfermedades respiratorias que se diseminan por las gotitas de saliva que la persona expelle al toser, hablar o estornudar. Incorporar la práctica del lavado de manos con agua y jabón, antes de comer y después de usar el baño, puede salvar más vidas que cualquier vacuna o intervención médica.

Pero no siempre se cuenta con agua y jabón para realizar este procedimiento, por lo que surgen los métodos alternativos para el lavado de manos. El más común de estos métodos es el uso de alcohol en gel, este resulta altamente eficaz para disminuir los gérmenes que habitualmente se encuentran en las manos. Sin embargo el uso del alcohol en gel está limitado pues presenta desventajas, debido a que al se inactiva en presencia de materia orgánica, además el uso continuo de este puede causar irritación y eczemas en la piel.

La finalidad de este estudio es formular paños húmedos antibacteriales que cumplan con la Norma técnica Colombiana (NTC por sus siglas en español) 5150 “Antisépticos y desinfectantes químicos actividad bactericida básica métodos de prueba y requisitos” que limpien y desinfecten al contacto, utilizando como antiséptico Gluconato de Clorhexidina, el cual es más amigable con la piel; se pretende evaluar este producto como una alternativa económica, práctica y eficaz en la limpieza y desinfección de manos en comparación con el alcohol en gel en cuanto a la reducción de Unidades formadoras de Colonia y de coliformes totales, fecales y *E. coli*.

## 5. Objetivos

### 5.1. Objetivo General

- Evaluar el desempeño de los paños húmedos antibacteriales tanto In vivo como In vitro y comparar su eficacia en la desinfección de manos con el alcohol en gel comercial.

### 5.2. Objetivos Específicos

- Desarrollar una fórmula específica para la elaboración de paños húmedos antibacteriales a partir de gluconato de clorhexidina.
- Determinar el poder bactericida de los paños húmedos antibacteriales en contra de *E. coli*.
- Determinar si los paños húmedos antibacteriales cumplen con la Norma técnica Colombiana (NTC por sus siglas en español) 5150 “Antisépticos y desinfectantes químicos actividad bactericida básica métodos de prueba y requisitos”.
- Determinar si los paños húmedos antibacteriales son más eficaces que el alcohol en gel en cuanto a desinfección de manos por medio de cuantificación de la reducción de colonias.

## 6. Hipótesis

Los paños húmedos antibacteriales cubren el mismo espectro microbiológico que el alcohol en gel comercial en cuanto a la desinfección de manos.

## 7. Materiales y Métodos

### 7.1. Universo

- Paños húmedos antibacteriales

### 7.2. Muestra

- Paños húmedos antibacteriales formulados con gluconato de Clorhexidina y alcohol en gel comercial.

### 7.3. Recursos Humanos:

- José Ramón Molina Hernández
- Lic. Julio Gerardo Chinchilla
- Licda. Julia Amparo García Bolaños

### 7.4. Materiales

#### a) Materias primas

- Gluconato de Clorhexidina
- Propilenglicol
- Ácido Cítrico
- Glicerina
- Metilparaben
- Propilparaben
- Extracto de Aloe vera
- Fragancia
- Agua desmineralizada
- Spunlace de 40 gramos, con 70 % de Dracon rayón y 30% de PET
- Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC
- Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC
- Cepas de *Escherichia coli* ATCC
- Agar de tripticasa soja
- Agar MacConkey
- Agar sangre
- Agar Chromocult®
- Cloruro de Bario



b) Materiales y Cristalería

- Probetas de 100 mL
- Varillas de agitación
- Embudo de vidrio
- Pinzas
- Soporte universal
- Beakers de 250 mL
- Varillas de vidrio
- Cajas de Petri
- Tubos de ensayo con tapón.

c) Equipo

- Estufa
- Campana de flujo laminar
- Asa de nicromo en punta y argolla
- Incubadora
- Mecheros
- Balanza Analítica
- Marcador permanente delgado
- Gradillas
- Turbidímetro
- Agitador

## 7.5. Métodos

1. Establecimiento de una fórmula base para la realización de los paños húmedos antibacteriales.
2. Realización de pruebas in vitro con los paños húmedos antibacteriales según procede la Norma UNE-EN 1040:1997 “Antisépticos y desinfectantes In Vitro”
3. Para las pruebas in vivo de la reducción de coliformes totales y *E.coli* en manos se procederá a coleccionar muestras aleatoriamente en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, las

muestras serán 96 en total divididas en: 48 Gluconato de Clorhexidina y 48 Alcohol en gel; de estas 48 muestras 24 serán antes de realizar el procedimiento de desinfección con cada uno de los antisépticos y 24 muestras serán tomadas luego de realizado dicho procedimiento, para la correcta realización de los procesos de desinfección de manos se utilizará como base la guía de lavado de manos de la Organización Mundial de la Salud –OMS-. Las muestras se recolectarán por medio de un hisopado de manos de cada uno de los individuos voluntarios y se sembrarán en cajas de Petri con medio Chromocult®, específico para la detección de Coliformes totales y *E. coli* para realizar el cultivo y conteo respectivo.

4. **Análisis Estadístico:** Se realizará un análisis estadístico de t pareada, esta se utiliza en una muestra de pares de valores con similares unidades estadísticas, o un grupo de unidades que han sido evaluadas en dos ocasiones diferentes (una prueba t de mediciones repetitivas). Un ejemplo típico de prueba t para mediciones repetitivas sería por ejemplo que los sujetos sean evaluados antes y después de un tratamiento.

## 8. Resultados

Tabla No. 1

Evaluación de capacidad bactericida de solución de Gluconato de Clorhexidina al 0.5%, 1% y 2%

Concentraciones evaluadas	Microorganismos evaluados por cada concentración	Especificaciones	Resultados (UFC)	Efectividad
0.5%, 1% y 2%	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	1 minuto= Efectividad > 99%	< 1UFC/mL.	99.99%
		5 minutos= Efectividad > 99%	< 1UFC/mL.	99.99%
		15 minutos= Efectividad > 99%	< 1UFC/mL.	99.99%
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	1 minuto= Efectividad > 99%	< 1UFC/mL.	99.99%
		5 minutos= Efectividad > 99%	< 1UFC/mL.	99.99%
		15 minutos= Efectividad > 99%	< 1UFC/mL.	99.99%
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1 minuto= Efectividad > 99%	< 1UFC/mL.	99.99%
		5 minutos= Efectividad > 99%	< 1UFC/mL.	99.99%
		15 minutos= Efectividad > 99%	< 1UFC/mL.	99.99%

Los datos anteriores corresponden a la prueba de poder bactericida realizada a las 3 diferentes formulaciones que contienen 0.5%, 1% y 2% de gluconato de clorhexidina, se evaluaron según Norma Técnica Colombiana 5150 “Antisépticos y desinfectantes químicos actividad bactericida básica métodos de prueba y requisitos”. Para cada una de las tres concentraciones, se evaluaron los tres microorganismos mencionados en la tabla y en los tiempos de contacto según la Norma, determinando así que las 3 concentraciones son igual de efectivas en la reducción de UFC (Unidad formadora de colonia) logrando como resultado una reducción del 99.99% de las colonias.

**Tabla No. 2**

Recuento de UFC (Recuento total agar Caso y Coliformes y *E. coli* en agar Cromocult®) en manos de individuos, antes y después de la desinfección con paños húmedos antibacteriales

Antes de la desinfección de manos								Después de la desinfección de manos							
No	UFC	UFC ACR		No	UFC	UFC ACR		No	UFC	UFC ACR		No	UFC	UFC ACR	
M	AC	C	<i>E. Coli</i>	M	AC	C	<i>E. Coli</i>	M	AC	C	<i>E. Coli</i>	M	AC	C	<i>E. Coli</i>
1	223	0	0	13	23	0	0	1	28	0	0	13	14	0	0
2	170	0	0	14	45	0	0	2	57	0	0	14	4	0	0
3	130	0	0	15	52	0	0	3	31	0	0	15	0	0	0
4	40	13	1	16	30	0	0	4	5	0	0	16	8	0	0
5	15	0	0	17	256	1	0	5	0	0	0	17	33	0	0
6	344	0	0	18	67	0	0	6	25	0	0	18	17	0	0
7	30	0	0	19	150	0	0	7	10	0	0	19	47	0	0
8	119	0	0	20	68	0	0	8	22	0	0	20	18	0	0
9	21	0	0	21	30	0	0	9	1	0	0	21	15	0	0
10	890	0	0	22	271	0	0	10	511	0	0	22	33	0	0
11	180	0	0	23	157	0	0	11	45	0	0	23	40	0	0
12	905	0	0	24	22	0	0	12	566	0	0	24	2	0	0
<b>Σ</b>	<b>3067</b>	<b>13</b>	<b>1</b>	<b>Σ</b>	<b>1171</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>Σ</b>	<b>1301</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>Σ</b>	<b>231</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>T</b>	<b>4238</b>	<b>14</b>	<b>1</b>					<b>T</b>	<b>1532</b>	<b>0</b>	<b>0</b>				

M=Muestra, AC= Agar caso, ACR= Agar cromocult®, C= Coliformes, T= Total

En esta tabla se observa el número de Unidades formadoras de colonia (UFC) en las manos de cada individuo de prueba, antes y después de la desinfección de manos. Se puede observar que hubo una notable reducción de las mismas tanto para agar caso (de 4238 UFC a 1532 UFC), así como para agar cromocult® específico para coliformes (de 14 UFC a 0 UFC) y *E. Coli* (de 1 UFC a 0 UFC).

**Tabla No. 3**

Recuento de UFC (Recuento total agar Caso y Coliformes y *E. coli* en agar Cromocult®) en manos de individuos, antes y después de la desinfección con alcohol en gel

Antes de la desinfección de manos				Después de la desinfección de manos											
No	UFC	UFC ACR		No	UFC	UFC ACR		No	UFC	UFC ACR		No	UFC	UFC ACR	
M	AC	C	<i>E. Coli</i>	M	AC	C	<i>E. Coli</i>	M	AC	C	<i>E. Coli</i>	M	AC	C	<i>E. Coli</i>
1	150	0	0	13	50	0	0	1	67	0	0	13	13	0	0
2	5	0	0	14	57	0	0	2	2	0	0	14	25	0	0
3	31	0	0	15	30	0	0	3	24	0	0	15	10	0	0
4	200	0	0	16	160	0	0	4	80	0	0	16	45	0	0
5	32	0	0	17	173	0	0	5	6	0	0	17	68	0	0
6	210	0	0	18	95	1	0	6	125	0	0	18	15	0	0
7	24	0	0	19	58	0	0	7	10	0	0	19	12	0	0
8	211	0	0	20	34	0	0	8	92	0	0	20	12	0	0
9	76	0	0	21	285	0	0	9	15	0	0	21	102	0	0
10	160	0	0	22	179	22	0	10	37	0	0	22	68	0	0
11	285	6	0	23	302	0	0	11	73	0	0	23	142	0	0
12	480	0	0	24	40	0	0	12	248	6	0	24	6	0	0
<b>Σ</b>	<b>1864</b>	<b>6</b>	<b>0</b>	<b>Σ</b>	<b>1463</b>	<b>23</b>	<b>0</b>	<b>Σ</b>	<b>779</b>	<b>6</b>	<b>0</b>	<b>Σ</b>	<b>518</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>T</b>	<b>3327</b>	<b>29</b>	<b>1</b>					<b>T</b>	<b>1297</b>	<b>6</b>	<b>0</b>				

M=Muestra, AC= Agar caso, ACR= Agar cromocult®, C= Coliformes, T= Total

En esta tabla se observa el número de Unidades formadoras de colonia (UFC) en las manos de cada individuo de prueba, antes y después de la desinfección de manos. Se puede observar que hubo una notable reducción de las mismas tanto para agar caso (de 3327 UFC a 1297 UFC), así como para agar cromocult® específico para coliformes (de 29 UFC a 6 UFC) y *E. Coli* (de 1 UFC a 0 UFC).

**Tabla No. 4**

Comparación de porcentajes de reducción de UFC en manos de los individuos de estudio (recuento total)

Antiséptico utilizado	Tipo de evaluación	Total UFC
<b>Paños húmedos antibacteriales</b> (Gluconato de clorhexidina al 0.5%)	Manos antes de desinfección	4238
	Manos después de desinfección	1532
	Diferencia	<b>2706</b>
	% Reducción*	<b>63.85%</b>
<b>Alcohol en gel comercial</b> (Alcohol al 70%)	Manos antes de desinfección	3327
	Manos después de desinfección	1297
	Diferencia	<b>2030</b>
	% Reducción*	<b>61.01%</b>

\*% Reducción: ver cálculos en anexo 2. En la tabla anterior se observa el porcentaje de reducción obtenido después de la desinfección tanto en los paños húmedos antibacteriales, como en el alcohol en gel.

**Tabla No. 5**

Análisis estadístico T pareada

<b>Valor T</b>	<b>1.36</b>
<b>Valor P</b>	<b>0.187</b>
<b>Desv. Est.</b>	<b>101.5</b>
<b>Error Est. En la media</b>	<b>20.7</b>
<b>IC</b>	<b>95%</b>
<b>Nivel de significancia</b>	<b>0.05</b>

Datos experimentales obtenidos en el laboratorio de microbiología de Industria farmacéutica S.A. Datos de minitab versión 8.

## 9. Discusión de Resultados

Fue necesario evaluar las diferentes concentraciones para determinar la menor concentración efectiva y a la vez menos irritante y alérgica para la piel, por esta razón, se eligió para la formulación la concentración al 0.5% pues presenta la misma efectividad bactericida que las otras dos concentraciones más altas. Los paños además del activo (Gluconato de clorhexidina al 0.5%) se formularon teniendo en cuenta ciertas características, como por ejemplo: que fueran suaves, no irritantes y que no dejaran sensación grasosa al utilizarse, por lo que la formulación presentada en este informe (**ver anexo no. 3**) contiene excipientes que favorecen la actividad humectante y a la vez hidratante atribuida a los siguientes excipientes: Glicerina, extracto de *Aloe vera*, fragancia y agua purificada.

En la tabla No.1 se evidenció la efectividad del Gluconato de Clorhexidina al 0.5 %, 1% y 2% obteniendo como resultado que en los 3 niveles de concentración en el tiempo de evaluación especificado en la Norma técnica Colombiana (NTC por sus siglas en español) 5150, se obtuvo una efectividad del 99.99% de reducción de colonias de *Escherichia Coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Esta es una ventaja de los paños húmedos antibacteriales debido a que no es necesario aplicarlos mucho tiempo para que estos sean efectivos en la higiene de la piel.

En los estudios in vivo realizados se evidenció que la concentración de 0.5 % de Gluconato de Clorhexidina utilizada en la formulación logro ser altamente eficaz para la inhibición de las bacterias (ver tabla No. 2). Por lo tanto, la concentración de Gluconato de Clorhexidina al 0.5 % tenderá a tener menos irritación y alergias que las formulaciones comunes de 1% y 2 %, además que no esta preparada en base alcohólica.

Ninguno de los candidatos en el estudio in vivo realizado presentaron molestias o anomalías al utilizar los paños húmedos antibacteriales. El extracto de *Aloe Vera* atribuye propiedades como humectación de la piel, funcionando también como un antioxidante que, comparado con el alcohol en gel tienden a reseca y deshidratar la piel.

En la tabla no. 2, se puede observar que hubo una reducción significativa en el recuento total de Unidades formadoras de colonia (UFC) en agar caso, después de utilizar los paños húmedos,

así también lograron inhibir la bacteria *E.Coli* en una de las pruebas realizadas, así como se observa una reducción del 100% de UFC de coliformes totales, aunque esto no es determinante para concluir que si es 100% eficaz contra *E. coli* y coliformes totales *In vivo* debido a que estadísticamente no es representativo por tener muy pocas colonias (Leikin & Paloucek, 2008)

En la tabla No.3 se observa que hubo un cambio significativo al realizar la desinfección de manos con alcohol en gel en agar caso, sin embargo, al comparar la reducción de UFC de coliformes totales entre las tablas No. 2 y 3 (paños húmedos vs alcohol en gel) podemos observar que el gluconato de Clorhexidina genera una inhibición más significativa en comparación con el alcohol en gel, pues en el caso del alcohol en gel aún después de la desinfección de manos se obtuvo un recuento de 6 UFC para coliformes totales, mientras que la reducción de las mismas (coliformes totales) utilizando el gluconato de clorhexidina fue del 100%, esto puede dar indicios que los paños húmedos pueden proporcionar una buena actividad bacteriostática con coliformes, que son las bacterias identificadas de estar presentes en contaminaciones por agua y alimentos. Comparado la actividad bactericida de bacterias y coliformes se pudo observar que los paños húmedos tenían mejor actividad bactericida que el alcohol en gel (Ver tabla No. 4). Se puede mencionar que la utilización de los paños húmedos antibacteriales producen una sensación más atractiva al consumidor comparado con el alcohol en gel debido a que no irritan, ni resecan las superficies de la piel.

Según la norma técnica colombiana NTC 5150, el producto cumple con la fase 1 de demostrar que el antiséptico o desinfectante tiene actividad bactericida con condiciones experimentales y que puede considerarse según las pruebas de la norma que posee actividad bactericida y que es estable en agua. (ICONTEC, 2003). Se utilizó esta norma técnica debido a que en Guatemala no existe alguna que se refiera a los parámetros de actividad bactericida.

Como se observa en la tabla No. 5 la desviación estándar entre las muestras es alta debido a que la variación de los recuentos iniciales son distintos y depende directamente del comportamiento de las bacterias, que por ser seres vivos son difíciles de controlar en situaciones *In vivo*. (soporteminitab, 2019). El valor T obtenido fue de 1.36 el cual es menor al valor crítico, por lo tanto se acepta la hipótesis nula.



Según el valor de P obtenido fue de 0.187, este valor es mayor que el nivel de significancia a un intervalo de confianza del 95% (0.05), por lo que no se rechaza la hipótesis nula, por lo que no se puede concluir que los paños húmedos sean más efectivos que el alcohol en gel.

## 10. Conclusiones

- Se evaluó el desempeño de los paños húmedos antibacteriales con gluconato de clorhexidina al 0.5% in vitro, demostrando que a dicha concentración el gluconato de clorhexidina es eficaz en presencia de los Microorganismos evaluados y en los tiempos de contacto especificados.
- Se desarrollo una fórmula eficaz y no irritante para los paños húmedos antibacteriales, utilizando agentes humectantes como aloe vera y glicerina, determinando que estos no afectan la eficacia del gluconato de clorhexidina.
- Se determinó in vitro el poder bactericida de los paños húmedos antibacteriales, en los tiempos y en las diluciones establecidas, en contra de *E. coli*.
- Se determinó que los paños húmedos antibacteriales cumplen con los requisitos de la Norma técnica Colombiana (NTC por sus siglas en español) 5150 “Antisépticos y desinfectantes químicos actividad bactericida básica métodos de prueba y requisitos”
- Se determinó que los paños húmedos antibacteriales son más eficaces en cuanto a la desinfección de manos que el alcohol en gel comercial, según indica el porcentaje de reducción de UFC (Unidades formadoras de colonia) antes y después de la desinfección con cada uno de los agentes antimicrobianos.

## 11. Recomendaciones

- Se recomienda realizar un estudio In vivo tomando en cuenta mayores tiempos de contacto con los agentes antisépticos para verificar posibles efectos adversos sobre la piel.
- Se recomienda realizar estudios de estabilidad acelerado del producto para verificar que se mantenga estable el agente antimicrobiano, con las siguientes condiciones:  $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  Humedad relativa de  $75\% \pm 5\%$  por un período de 6 meses. (Berrocal. G, 2016)
- Se recomienda realizar una formulación de gluconato de clorhexidina al 0.5% en gel, para compararla con alcohol en gel comercial y ver de que forma puedan afectar las diferentes formulaciones.
- Se recomienda realizar un estudio para determinar el comportamiento del virus SARS-Cov-2 ante la formulación y forma farmacéutica del presente.

## 12. Referencias

- Alcantara, A., Espigares, E., & Galvez, R. (2001). *Valoración de desinfectantes, método dilución neutralización*. Obtenido de [www.bvsde.paho.org](http://www.bvsde.paho.org):  
<http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd27/higsand14.pdf>
- Anabalón, P. (4 de Octubre de 2014). *Antisépticos y desinfectantes en la prevención de enfermedades*. Obtenido de [www.hospitalangol.cl](http://www.hospitalangol.cl):  
[http://www.hospitalangol.cl/documentos/ACREDITACION/3.-%20AMBITO%20GESTION%20CLINICA/GCL%203.3/USO\\_%20ANTISEPTICOS\\_%20Y%20\\_DESINFECTANTES.pdf](http://www.hospitalangol.cl/documentos/ACREDITACION/3.-%20AMBITO%20GESTION%20CLINICA/GCL%203.3/USO_%20ANTISEPTICOS_%20Y%20_DESINFECTANTES.pdf)
- Chile, U. C. (30 de Septiembre de 2014). *Productos antisépticos*. Obtenido de [www6.uc.cl](http://www6.uc.cl):  
<http://www6.uc.cl/manejoheridas/html/antiseptico.html>
- Marin Díaz, J., Navarro, N., & Arevalo, N. (5 de Octubre de 2014). *Evaluación del método dilución-neutralización aplicado a un desinfectante según la norma técnica Colombiana 5473 de 2007*. Obtenido de [www.javeriana.edu.co](http://www.javeriana.edu.co):  
<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis111.pdf>
- Noriega, F. (6 de Octubre de 2014). *Desinfectantes Generalidades*. Obtenido de [www.epa.gov](http://www.epa.gov):  
<http://www.epa.gov/oppfead1/safety/spanish/healthcare/handbook/Spch19.pdf>
- OMS. (5 de Octubre de 2014). *www.who.int*. Obtenido de [http://www.who.int/patientsafety/information\\_centre/Spanish\\_HH\\_Guidelines.pdf](http://www.who.int/patientsafety/information_centre/Spanish_HH_Guidelines.pdf)
- Perú, M. d. (2002). *Niveles de desinfección hospitalaria*. Obtenido de [www.minsa.gob.pe](http://www.minsa.gob.pe):  
[http://www.minsa.gob.pe/pvigia/publicaciones/infecciones%20intraosp/14manual\\_desinfeccion\\_esteri\\_hosp.pdf](http://www.minsa.gob.pe/pvigia/publicaciones/infecciones%20intraosp/14manual_desinfeccion_esteri_hosp.pdf)
- Rodríguez, P., Correa, A., & López, J. (7 de Octubre de 2014). *Valoración de desinfectantes mediante el método dilución-neutralización en cepas de Salmonella spp. aisladas en plantas de beneficio porcino*. Obtenido de [www.rvcta.org](http://www.rvcta.org):

[http://www.rvcta.org/Publicaciones/Vol2Num1/ArchivosV2N1/Rodriguez-Trivino\\_et\\_al.\\_RVCTA-V2N1.pdf](http://www.rvcta.org/Publicaciones/Vol2Num1/ArchivosV2N1/Rodriguez-Trivino_et_al._RVCTA-V2N1.pdf)

- salud, M. e. (7 de Octubre de 2014). *Medicamentos esenciales y productos en salud*. Obtenido de who.int: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Js5422s/19.html>
- Santos, W., & Guevara, G. (30 de Septiembre de 2014). *Formulación de tres productos desinfectantes y evaluación de su acción antimicrobiana*. Obtenido de ri.ues.edu.sv: [http://ri.ues.edu.sv/2410/1/FORMULACION\\_DE\\_TRES\\_PRODUCTOS\\_DESINFECTANTES\\_Y\\_EVALUACION\\_DE\\_SU\\_ACTIVIDAD\\_ANTIMICROBIANA.pdf](http://ri.ues.edu.sv/2410/1/FORMULACION_DE_TRES_PRODUCTOS_DESINFECTANTES_Y_EVALUACION_DE_SU_ACTIVIDAD_ANTIMICROBIANA.pdf)
- 18, s. d. (2019). *Interpretar datos estadísticos*. Recuperado el 10 de 02 de 2020, de Graficas t de student para dos muestras : <https://support.minitab.com/es-mx/minitab/18/help-and-how-to/statistics/basic-statistics/how-to/2-sample-t/interpret-the-results/all-statistics-and-graphs/>
- A K Chapman, S. W. (2011). *Safety of chlorhexidine gluconate used for skin antiseptics in the preterm infant*. United States: Journal of Perinatology volume .
- Amer Custovic, J. S. (2014). *Epidemiological Surveillance of Bacterial Nosocomial Infections in the Surgical Intensive Care Unit*. Bosnia and Herzegovina2: University Clinical Center Tuzla.
- FDA.gov. (2017). *FDA warns of rare, serious allergic reactions with skin antiseptic chlorhexidine gluconate*. <https://www.healio.com/dermatology/skin-care/news/online/%7Be9d4c8a6-953a-400e-8525-4da243ac185e%7D/fda-warns-of-rare-serious-allergic-reactions-with-skin-antiseptic-chlorhexidine-gluconate>: FDA.gov.
- Henry W. Jolly J.R. M.D, C. W. (1955). *pH determinations of the skin*. United Kingdom : Readings under normal and abnormal conditions.
- ICONTEC. (2003). *Antisépticos y desinfectantes químicos. Actividad bactericida Básica. Método de Prueba y requisitos (Fase 1)*. Norma técnica NTC Colombiana 5150.
- Leikin, J. B., & Paloucek, F. P. (2008). *Chlorhexidine Gluconate Poisoning and Toxicology*. pp. 183-44: Handbook (4th ed.).
- Lenhart, M. (2017). *CENTER FOR DRUG EVALUATION AND RESEARCH . NDA 207964 : FDA Clinical Review*.
- Lenhart, M. (s.f.). *CENTER FOR DRUG EVALUATION AND* .

- Berrocal, G. (2016) *Guía para la realización y presentación de estudios de estabilidad de productos desinfectantes de uso sanitario y doméstico*. Chile. Departamento de salud ambiental, Unidad de plaguicidas y desinfectantes.
- Chin, A. W. H., Chu, J. T. S., & Perera, M. R. A. (2020). Correspondence. *Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions*. *Lancet Microbe*.

### 13. Anexos

#### Anexo 1

##### 1. Preparación de agar de mantenimiento

Componentes	Cantidades
Peptona triptona de caseína, 15 g	15g
Peptona de soja	5g
Cloruro sódico	5g
Agar	15g
Agua destilada	1000ml

##### a. Procedimiento

Disolver en ebullición, repartir a 10 mL/tubo y esterilizar en autoclave 15 minutos a 121°C. Al sacar del autoclave, antes de su solidificación poner los tubos inclinados para que queden con lengüeta.

## 2. Fórmula del Neutralizante para clorhexidina

Componentes	Cantidades
<b>Tween® 80</b>	80.30mL
<b>Bisulfito sódico al 40%</b>	6.25mL
<b>Tiosulfato sódico 5H<sub>2</sub>O</b>	3.922g
<b>Lecitina</b>	1g
<b>Triptona sal como diluyente c.s.p</b>	250mL

### a. Procedimiento

La lecitina forma una suspensión coloidal que no puede ser esterilizada por filtración. Por ello se prepara el neutralizante sin la lecitina, que se añade finalmente. Poner un vaso de 50 ó 100 mL en la balanza y añadir con una pipeta Tween® 80 hasta 32.25 g. Disolver en varias alícuotas de diluyente (hasta arrastrar todo el contenido del vaso), que se transvasan a un matraz aforado de 250 mL. Añadir en el matraz diluyente hasta completar  $\frac{2}{3}$  del volumen aproximadamente. Pesar y añadir el resto de los componentes (excepto la lecitina) hasta su disolución, y a continuación, completar con diluyente hasta 250 mL. Ajustar a pH 7 con una solución de NaOH y esterilizar por filtración (Millipore, 0.45 mm).

En condiciones de esterilidad pesar 1 g de lecitina y añadirlo a la solución estéril previamente preparada, agitando hasta su disolución (se puede utilizar un

agitador magnético, introduciendo una varilla magnética estéril). (Alcantara, Espigares, & Galvez, 2001)

## **Anexo 2**

Cálculo para la determinación del porcentaje de reducción de Unidades formadoras de colonias (UFC)

Tipo de evaluación	Total UFC
Paños húmedos Antibacteriales antes de su uso	4238
Paños húmedos Antibacteriales después de su uso	1532
<b>Diferencia</b>	<b>2706</b>
<b>% Reducción *</b>	<b>63.85%</b>
Alcohol en gel antes de su uso	3327
alcohol en gel después de su uso	1297
<b>Diferencia</b>	<b>2030</b>
<b>% Reducción*</b>	<b>61.01%</b>

### **Paños húmedos antibacteriales**

$$\% = \frac{4238 - 1532}{4238} = 0.6385 * 100\% = 63.85\%$$

### **Alcohol en gel comercial**

$$\% = \frac{3327 - 1297}{3327} = 0.6101 * 100\% = 61.01\%$$



**Anexo 3**

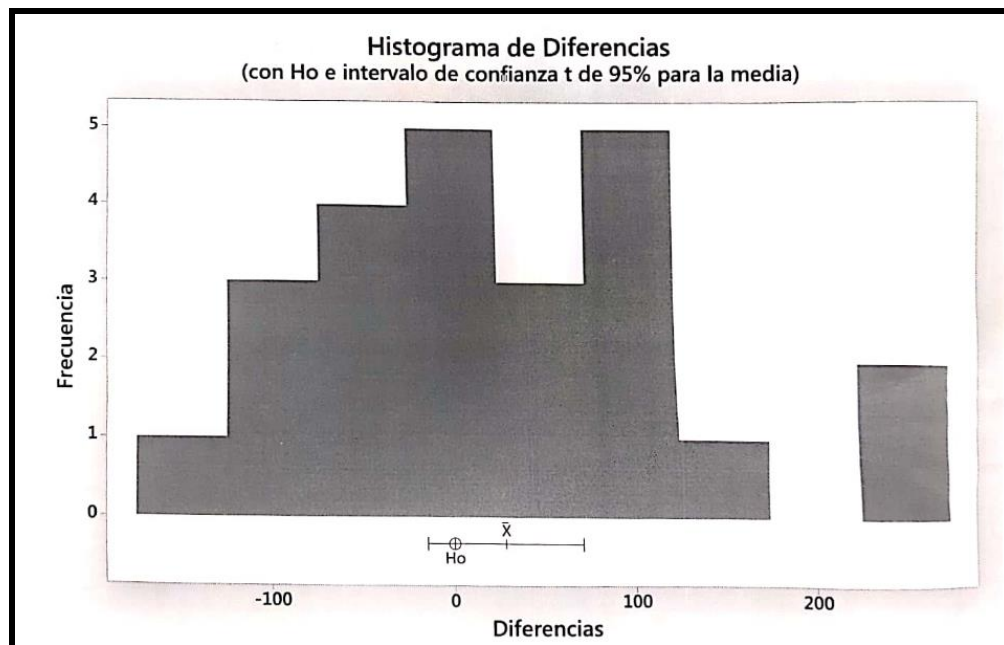
Formula cuali – cuantitativa de los paños húmedos antibacteriales

<b>Formula</b>	<b>En %</b>
<b>Gluconato de clorhexidina</b>	0.5
<b>Glicerina</b>	2
<b>Acido cítrico</b>	1
<b>Metilparaben</b>	0.01
<b>Propilparaben</b>	0.01
<b>Extracto Aloe vera</b>	2.5
<b>Fragancia</b>	1
<b>Agua</b>	93

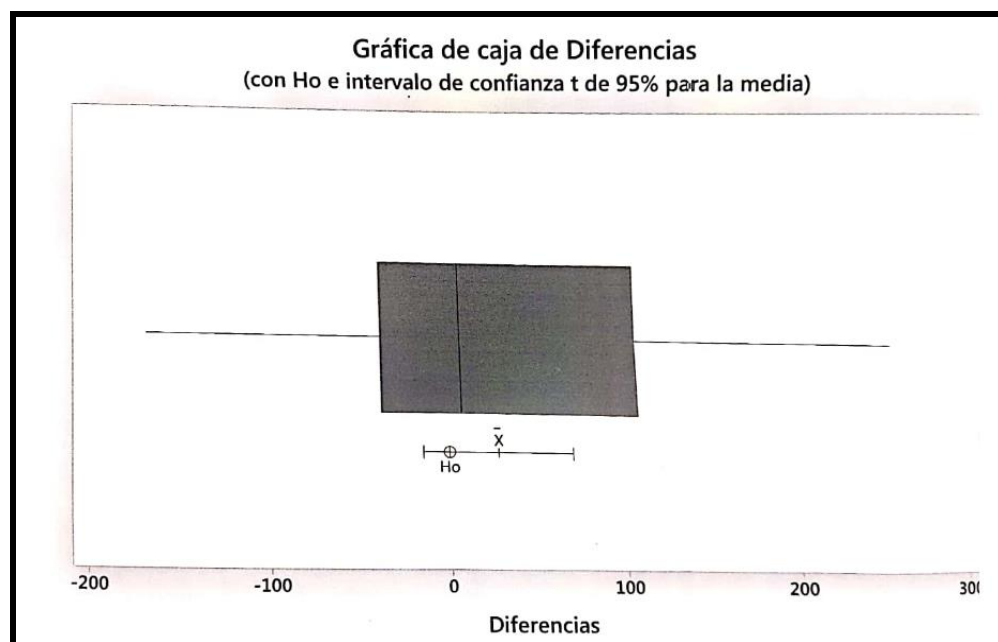
Para preparar 100 mL de solución antiséptica e impregnar la toalla con dicha solución

## Anexo 4

### Grafico de Histograma de Diferencias



### Grafico de caja de Diferencias



## **Anexo 5**

Fotografías del proceso de investigación

**Fotografía No. 1 Preparación de medios de cultivo Cromocult®**



**Fotografía No. 2 Preparación de medios de cultivo agar caso**



**Fotografía No. 3 Cajas de Petri con Agar Cromocult®**



**Fotografía No. 4 Cajas de Petri con Agar caso**



Fotografías No. 5, 6, 7 y 8 Preparación de siembras de muestra

