

UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANALISIS  
VALENCIA - EDO. CARABOBO

7X165  
M3785  
e1

MFN 654



**"EFICACIA BACTERICIDA DE LOS DESINFECTANTES  
USADOS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO  
Dr. ANGEL LARRALDE (H.U.A.L.)  
Y EN LA CIUDAD HOSPITALARIA  
Dr. ENRIQUE TEJERA (C.H.E.T.)  
DE VALENCIA - EDO. CARABOBO"**

**AUTORES:**

*Martínez R. María A.*

*Salazar G. Lorena J.*

**TUTOR:**

*Carlos Martínez*

**GRADO ACADEMICO: Lic. en BIOANALISIS**

**VALENCIA, OCTUBRE DE 1.997**

# INDICE

	Pág.
CAPITULO I	
Introducción.....	6
Objetivos.....	17
CAPITULO II	
Metodología.....	18
CAPITULO III	
Resultados.....	26
CAPITULO IV	
Discusión.....	33
CAPITULO V	
Conclusiones.....	36
CAPITULO VI	
Recomendaciones.....	37
Limitaciones.....	38
BIBLIOGRAFIA.....	39
ANEXO.....	41

# DEDICATORIA

A nuestros padres, quienes nos brindaron todo lo mejor de sí y no escatimaron esfuerzos dándonos su apoyo incondicional en todo momento y ofreciéndonos su mano amiga cuando más lo necesitamos, motivándonos con ello a perseverar para alcanzar con éxito la culminación de nuestra carrera.

A nuestros profesores, que con sus conocimientos lograron enrumbarnos por el camino del aprendizaje, sin los que hubiese sido imposible lograr la cristalización de nuestras metas de manera satisfactoria.

# RECONOCIMIENTOS

A nuestro querido profesor CARLOS JOSÉ MARTÍNEZ TREJO, por su valiosa colaboración y su extraordinaria asesoría.

A todo el personal que labora en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Al profesor LUIS MEDINA y a todo el personal de Microbiología Ambiental por la colaboración prestada.

Al CODECIH, por su aporte para el desarrollo de esta investigación.

## RESUMEN

“EFICACIA BACTERICIDA DE LOS DESINFECTANTES USADOS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO ÁNGEL LARRALDE (H.U.A.L.) Y EN LA CIUDAD HOSPITALARIA ENRIQUE TEJERA (C.H.E.T.) DE VALENCIA EDO. CARABOBO”.

AUTORES: Martínez R. María A., Salazar G. Lorena J.

TUTOR : Prof. Carlos Martínez.

Laboratorio de Cátedra de Microbiología y Unidad de Microbiología Ambiental. Universidad de Carabobo. Financiado por el CODECIH.

La desinfección es una de las medidas de asepsia con la cual se intenta erradicar los gérmenes patógenos en el medio Hospitalario. Actualmente en Venezuela existe un creciente interés en mejorar los procedimientos de desinfección, para disminuir en lo posible el riesgo de adquirir infecciones nosocomiales; de allí la inquietud de evaluar los desinfectantes usados en el Hospital Universitario Ángel Larralde de Bárbula y en la Ciudad Hospitalaria Enrique Tejera de Valencia. Para ello se determinó la dilución máxima bactericida mediante el método del Coeficiente Fenólico (CF), de tres desinfectantes (CIDEX, BACTEX y CLOREX) frente a tres cepas: Cocos Grampositivos (CGP), Bacilos Gramnegativos No Pseudomonas (BGNNPs) ambas cepas aisladas del ambiente hospitalario y Pseudomonas (Ps) suministrada en el laboratorio, que con mayor frecuencia causan infecciones nosocomiales. Como resultados se obtuvo:

- El desinfectante más eficaz fue el BACTEX (Bromuro de Lauril-dimetil-bencilamonio al 1%) con los siguientes CF=9,5 para BGNNPs; 1,6 para CGP y 0,94 para Ps.
- El desinfectante que presentó menor eficacia fue el CIDEX (Glutaraldehído al 2%) con CF=0,02 para CGP; 0,38 para Ps y 0,95 para BGNNPs; cabe destacar que el desinfectante CLOREX (*Hipoclorito de sodio al 4%*), *presentó eficacia similar al Fenol* (Patrón) con CF=0,95 para BGNNPs; 1,05 para Ps e inferior al Fenol CF= 0,18 para CGP. En conclusión:
  - El BACTEX demostró mayor eficacia bactericida.
  - El BACTEX reúne mayor número de condiciones ideales.
  - El CIDEX fue el desinfectante con menor efectividad.
  - El CLOREX mostró efectividad intermedia entre BACTEX y CIDEX.

# CAPITULO I

## INTRODUCCIÓN

La infección nosocomial constituye una amenaza constante para todo paciente hospitalizado. Contra esta iatrogenia, existen una serie de técnicas de desinfección y esterilización, importantes como eficientes de garantizar calidad de cuidados y tratamientos; sin embargo, no siempre se obtienen buenos resultados debido a que son innumerables los factores implicados en este proceso. (13).

Para evitar las infecciones en el paciente hospitalizado se hace necesario llevar a cabo las respectivas normas de asepsia, las cuales son el conjunto de medidas de protección que se adoptan contra la contaminación bacteriana exógena. Estas medidas afectan a las instalaciones hospitalarias (especialmente al quirófano) a cirujanos y enfermeras, al instrumental y ropa utilizados en la intervención y cuidados de heridas operatorias y a la preparación del propio paciente. (6).

La desinfección es una de las medidas de asepsia con la cual se intenta erradicar los gérmenes patógenos, mediante la aplicación de la antisepsia al quirófano, equipos quirúrgico y enfermos en general. (6).

La mayoría de los pacientes que desarrollan estas infecciones son atacados sin una evidencia clara de infección cruzada o contacto con una fuente de infección ambiental identificable. Se conoce bien que un número elevado son causados por bacterias llevadas por el mismo paciente.

Estos organismos pasan a ser invasivos solamente debido a que están afectado los mecanismos de defensa normales por una enfermedad subyacente o bien por terapéuticas con antibióticos e irritantes mecánicos. Estos factores que predisponen al huésped a la infección combinados con la salud y tratamiento del personal y el estado del ambiente, contribuyen en proporción variable al riesgo de las infecciones originadas en los hospitales. (9).

La posibilidad del desarrollo de una infección hospitalaria, depende del crecimiento, virulencia del agente infeccioso y de la calidad de las defensas locales y sistémicas del huésped, así como también del uso poco frecuente de desinfectantes con alto grado bactericida en los centros de salud, que son capaces de contrarrestar a éstos agentes patógenos. (6).

Actualmente existe un creciente interés en mejorar los procedimientos de desinfección y esterilización para disminuir en lo posible el riesgo de adquirir infecciones de los pacientes hospitalizados y del personal que lo atiende. Un aspecto que debe

cuidarse en el área hospitalaria, es la educación de todo el personal sanitario para que guarden todos los principios de asepsia; aunque siempre habrá un individuo que seguirá cometiendo faltas de disciplina, la enseñanza de estas medidas y su control inciden muy favorablemente en la tasa de infecciones intrahospitalarias.

A manera de contribuir con la prevención de infecciones nosocomiales y de aportar datos útiles al personal encargado de este tipo de servicio, surge la inquietud de evaluar los desinfectantes usados en el Hospital Universitario Dr. Angel Larralde ubicado en Bárbula - Naguanagua y en la Ciudad Hospitalaria Dr. Enrique Terjera de la Ciudad de Valencia - Estado Carabobo, con la finalidad de establecer la eficacia bactericida de dichos desinfectantes, ya que ambos centros hospitalarios prestán sus servicios a un gran número de pacientes que los visitan a diario y por ende existe riesgo de adquirir infecciones intrahospitalaria; además al uso inadecuado de los desinfectantes en cada uno de estos centros de salud, es un motivo de gran preocupación haciéndose necesario la evaluación periódica de los productos.

Al iniciarse esta investigación (Mayo de 1.996) estos Centros contaban con diversos desinfectantes. En el Hospital Dr. Ángel Larral utilizan para desinfectar las diferentes áreas de quirófanos, terapia intensiva, sala de recuperación, entre otras, con un producto

denominado "CLOREX", el cual está compuesto por hipoclorito de sodio al 4%.

En la Ciudad Hospitalaria Dr. Enrique Tejera, el "BATEX", compuesto por Bromuro de lauril-demitil-bencil-amonio al 1%, para área como Nefrología y Post-Operatoria, conjuntamente con el "CIDEX" el cual es una solución de Glutaraldehído al 2%.

Este último producto es el más conocido a nivel mundial por ser de elección para la esterilización y desinfección de materiales y delicados equipos medico-quirúrgico sensibles al calor.

El ingrediente activo de esta solución es el Glutaraldehído el cual a pesar de ser un dialdehído saturado de formula;  $\text{CHO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CHO}$ , no presenta las características tóxicas que posee otro aldehído ampliamente conocido: formaldehído y además tiene un efecto biocida mayor. (8).

En su forma natural los glutaraldehídos son levemente activos contra los microorganismos, de tal manera que al agregarle surfactante y alcalinizarlo, el glutaraldehído reacciona ávida e irreversiblemente contra las proteínas y otros compuestos y componentes de las bacterias, esporas, hongos y virus; cambiando su estructura y los reduce a inactivos. (10).

El tiempo de inmersión del instrumental y equipos en CIDEX varia dependiendo de si se quiere esterilizar o desinfectar. Para desinfección y descontaminación terminal, debe sumergirse las piezas completamente en CIDEX por 10 minutos, con que se destruyen los patógenos vegetativos incluyendo Pseudomonas Aeruginosa y virus tales como la Hepatitis B y VIH en todas las superficies inanimadas. Para la destrucción de Micobacterium tuberculosis, es necesario 1 hora. Sin embargo, para realizar la esterilización el tiempo varía siendo necesarias 10 horas para destruir esporas patógenas resistentes incluyendo Clostridium Sporogenes y Clostridium tetani. (8).

El CIDEX fue ideado para matar microorganismo y está clasificado como irritante con el valor limite de umbral de 0.2 ppm, según el Ejecutivo de Salud y Seguridad del Reino Unido. Se ha demostrado que este producto es menos corrosivo que el agua desionizada, ya que el pH alcalino del mismo minimiza la corrosión, pudiendo ser ampliamente utilizado para la esterilización de endoscopios de fibras ópticas. (8).

Es importante tener presente que no todos los instrumentos son completamente sumergibles y que depende de las indicaciones del fabricante del instrumento.

Al desinfectar o esterilizar instrumentos huecos, el CIDEX debe penetrar en todas las cavidades del instrumento para garantizar el contacto de la solución con las superficies internas del instrumento; esto trae inconvenientes al realizar la desinfección de instrumento complejos, lo que conlleva a la búsqueda de otros métodos alternativos. (8).

Para 1.985, Pablo Bonilla y Colbs realizaron en México una comparación de la reacción germicida del CIDEX en materiales de anestesia, observándose diferencias significativas a favor de los rayos ultravioleta, donde las cuentas de colonias fueron negativizadas, tanto en la superficie interior como exterior de este material. (2).

Años más tarde en Brasil (1.994) se comprueba que el CIDEX es un producto ideal para desinfectar material odontológico con punta diamantadas. (1).

En estudios en vivo con chimpancés, Bonds, en 1.996 demostró que la solución del CIDEX inactiva eficientemente el virus de la Hepatitis B en 10 minutos. Estudios similares utilizando inoculación, Kobayashi demostró que la solución de glutaraldehído al 1% a 25 C inactiva el virus en 5 minutos. Spire, midió la tasa a la que el glutaraldehído inactiva a la enzima clave del virus de la

inmunodeficiencia humana (VIH) y demostró que es altamente sensible aún a bajas concentraciones. (8).

En esta investigación fue evaluar el CIDEX al igual que CLOREX y BACTEX a los cuales se hace actuar sobre las bacterias, quienes constituyen los agentes infecciosos capaces de producir la mayoría de las infecciones nosocomiales.

El BACTEX (Bromuro de Lauril-dimetil-bencil-amonio) tiene la propiedad de esterilizar en 30 minutos contra esporas, bacterias, gérmenes, hongos y parásitos.

El CLOREX, el otro producto evaluado es una solución de hipoclorito de sodio al 4%, es ampliamente utilizado a nivel industrial, casero y hospitalario; sin embargo no está recomendado para ciertos materiales, debido a su pH ácido e inactividad en material orgánico, además de poseer olor y sabor desagradables.

Debido a las condiciones bajo las cuales dichos productos se usan, no es de sorprender las diferencias en su mecanismo de acción y los muchos tipos de células microbianas que pueden ser destruidas.(8).

Actualmente no existe un desinfectante que posea un conjunto de características extraordinarias; sin embargo un desinfectante hospitalario ideal debe reunir las siguientes características:

- Que produzca desinfección rápidamente.
- Que no dañe equipos con lentes, el cemento que los fija y debería ser compatible con materiales como acero al carbón, níquel y aluminio.
- Que no sea irritante al contacto con jabón o materia orgánica (sangre, pus, heces, etc.), ni coagular proteínas.
- Que no requiera procesos de dilución complicados o difíciles de determinar.
- Que sea de uso económico.

Estas y otras especificaciones son necesarias para evaluar correctamente los desinfectantes. Desafortunadamente no existe una norma preestablecida para realizar la evaluación y clasificación de los desinfectantes en Venezuela; tampoco se requiere registro y hay poco control sobre las indicaciones impresas en las etiquetas.

No obstante, en los Estados Unidos existe un sistema que regula los desinfectantes hospitalarios bajo la supervisión de la Agencia para la Protección Ambiental (EPA). (7).

Al registrar los desinfectantes en EPA, son verificadas todas las indicaciones, probándose al final la vida útil del producto y en una simulación de reuso.

Al registrar los desinfectantes en EPA, son verificadas todas las indicaciones, probándose al final la vida útil del producto y en una simulación de reuso.

Debido a que no existe una prueba de laboratorio capaz de aportar todos estos datos, la EPA utiliza una variedad de pruebas microbiológicas estándar para su evaluación a los diferentes desinfectantes.

Las pruebas mencionadas son publicadas bajo los auspicios de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (A.O.A.C.).

Las pruebas A.O.A.C. miden diversos aspectos de la actividad de los productos. Particularmente verifican que el producto logre la destrucción completa de las bacterias vegetativas tales como el *MICOBACTERIUM* y esporas resistentes tales como el Bacilo Subtilis, dentro del tiempo especificado en la etiqueta. (12).

Es importante e indispensable conocer cuales son los microorganismos que generalmente causan infecciones nosocomiales así como el ambiente donde habitan.

Entre las bacterias más comunes, productoras de infecciones intrahospitalarias está la Pseudomonas aeruginosa, pudiendo infectar el sitio de quemaduras, heridas y vías urinarias. Este bacilo

es Gramnegativo, polar, monotrico aislado en pares o en cadenas cortas, patógeno oportunista en pacientes inmunosuprimidos. (15).

En Italia se han obtenido resultados de resistencia de esta bacteria al evaluar compuestos como las sales cuaternarias de amonio, siendo la más efectivas en destruirla el yodo y el gluteraldehído. (11).

Similares fueron los resultados de una investigación realizada en 1.986 por Pamela Caña y Colbs. En Viña del Mar; en este caso el microorganismo de prueba estaba representado por el Acinetabacter calcoaceticus sub-especie anitratus; el cual es un microorganismo saprófito, gramnegativo, no fermentativo que pertenece a la flora normal de piel, tracto respiratorio y gastrointestinal del hombre y muchos animales. (3).

Este microorganismo ha ido adquiriendo importancia significativa en infecciones intrahospitalarias como patógeno oportunista.

De igual importancia son considerados otras bacterias gramnegativas como Escherichia coli, Klebsiella sp y Flavobacterium sp., así como también grampositivos como el Staphylococcus aureus. (15).

En cuanto a este último microorganismo, se realizaron investigaciones en Hospitales de Brasil obteniéndose resultados significativos de crecimiento de esta cepa, aislada de salas de pediatría, mostró resistencia a los compuestos fenólicos y las sales cuaternarias de amonio. (14).

Por estas razones se hace necesario someter los desinfectantes utilizados en hospitales a pruebas periódicas de eficiencia y eficacia, debido a que estos productos constituyen un medio alternativo para eliminar las bacterias que causan infecciones en el ambiente hospitalario.

De allí el interés de realizar un estudio sobre la eficacia bactericida de los desinfectantes usados en el Hospital Dr. Ángel Larralde y en la Ciudad Hospitalaria Dr. Enrique Tejera de Valencia.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la eficacia bactericida de los desinfectantes CIDEX, BACTEX Y CLOREX, usados en el Hospital Universitario Dr. Ángel Larralde y en la Ciudad Hospitalaria Dr. Enrique Tejera de Valencia.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 1) Determinar la acción bactericida de los desinfectantes CIDEX, BACTEX Y CLOREX sobre *Pseudomonas aeruginosa* principal causa de infecciones intrahospitalarias.
- 2) Medir la actividad bactericida de los desinfectantes CIDEX, BACTEX Y CLOREX sobre otras bacterias aisladas en el áreas hospitalarias.

## CAPITULO II

### METODOLOGÍA

En esta investigación la población en estudio comprendió los desinfectantes utilizado en el Hospital Universitario Dr. Ángel Larralde y en la Ciudad Hospitalaria Dr. Enrique Tejera. Debido a que estos desinfectantes representan un amplio universo, de esta población se extrae una muestra consistente de tres desinfectantes, dos de ellos (CIDEX Y BACTEX) suministrado en la Ciudad Hospitalaria Dr. Enrique Tejera y uno (CLOREX) en el Hospital Universitario Dr. Ángel Larralde, en el año de 1996, para ser sometidos a la evaluación bactericida en el Cátedra de Microbiología de la Universidad de Carabobo y en la Unidad de Microbiología Ambiental.

Este estudio fue realizado en 2 etapas:

- En la primera se recolectó la muestra de los desinfectantes y se realizó el aislamiento de bacterias en el ambiente hospitalario.
- En la segunda se aplicó el método de eficacia a los desinfectantes recolectados contra las bacterias aisladas del medio hospitalario y las suministradas en el laboratorio, realizando por ultimo, ensayos microbiológicos para caracterizar a las bacterias utilizadas en el estudio.

## PROCEDIMIENTOS

### I. ETAPAS:

1. Recolección de las muestras. Para esto fue necesario trasladarse a cada uno de los Hospitales, con la finalidad de medir 250 ml de cada desinfectante con la ayuda de un cilindro graduado, para luego transvasarlos a frascos adecuados y debidamente rotulados. Estos desinfectantes provenían de frascos con capacidad para 3,875 litros.
  
2. Aislamiento de bacterias intrahospitalarias. Se realizó por simple frotación con un hisopo por las paredes, pisos y objetos desechados de áreas como quirófanos, salas de emergencia y de recuperación en ambos centros de salud. Estos hisopados fueron transportados en tubos con caldos nutritivo hasta el laboratorio donde posteriormente fueron aisladas las cepas.

### II ETAPA:

1. Determinación de eficacia bactericida por el método del coeficiente fenólico (A.O.A.C.).
  - 1.1. Se enumeraron seis (6) tubos de ensayo de 13 x 100mm previamente esterilizados.
  - 1.2. Se agregaron a los 5 primeros tubos 4,5 ml de agua destilada y el sexto tubo 9 ml de la misma.

1.3. Al primer tubo se añadió 0,5 ml de cepa previamente aislada e identificada y a partir de éste se realizó la serie de diluciones hasta el sexto tubo, obteniéndose una suspensión bacteriana de  $10^6$  en este último.

1.4. Se prepararon las diluciones de los tres desinfectantes y del patrón fenol según la tabla estandarizada del método como se indica a continuación:

DILUCION	Fenol Solución al 5%	Agua Destilada	Volumen (ml)	Descartar (ml)	Volumen Final (ml)
1:50	2	3	5	--	5
1:60	2	4	6	1	5
1:70	2	5	7	2	5
1:80	2	6	8	3	5
1:90	2	7	9	4	5
1:100	2	8	10	5	5

1.5. La preparación de las diluciones de los desinfectantes problemas (CIDEX, BACTEX, CLOREX) se hizo de la siguiente manera:



22554  
21

Dilución	Desinfectante Sol. al 1% (ml)	Agua Destilada (ml)	Volumen (ml)	Descartar (ml)	Volumen Final (ml)
1:110	10	1	11	6	5
1:120	10	2	12	7	5
1:130	10	3	13	8	5
1:140	10	4	14	9	5
1:150	10	5	15	10	5
1:160	5	3	8	3	5
1:180	5	4	9	4	5
1:200	5	5	10	5	5
1:225	4	5	9	4	5
1:250	4	6	10	5	5
1:275	4	7	11	6	5
1:300	4	8	12	7	5
1:325	4	9	13	8	5
1:350	4	10	14	9	5
1:375	4	11	15	10	5
1:400	2	6	8	3	5
1:450	2	7	9	4	5
1:500	2	8	10	5	5
1:550	2	9	11	6	5
1:600	2	10	12	7	5
1:650	2	11	13	8	5
1:700	2	12	14	9	5
1:750	2	13	15	10	5
1:800	1	7	8	3	5
1:900	1	8	9	4	5
1:1000	1	9	10	5	5

1.6. Se enumeraron 6 diluciones seriadas realizadas previamente como se indica en el cuadro anterior.

1.7. Se prepararon 3 series de tubos con caldos nutritivos y se enumeraron en la misma forma que los contentivos de las diluciones del fenol y de los desinfectantes en estudio.

1.8. Se agitó el cultivo de prueba de la cepa y a intervalo de 30 segundos se añadió 0,5 ml de cultivo a cada uno de los tubos contentivos del fenol o de los desinfectantes con sus respectivas diluciones, esto se hizo comenzando por la dilución más baja y mezclando moderadamente cada tubo después de la adición del cultivo.

1.9. Cinco minutos después de adición el cultivo al primer tubo de las diluciones del fenol o de cada desinfectantes, se removi6 con un asa una gota de la mezcla de la primera dilución y se transfiri6 a un tubo de caldo nutritivo.

1.10. A intervalos de 30 segundos se removi6 una gota de cada uno de los desinfectantes diluido o de la soluci6n fenol y se transfiri6 a caldo nutritivo. En esta primera serie se cumpli6 los cinco minutos de contacto de la soluci6n desinfectante con la cepa determinada.

1.11. Despu6s de 5 minutos de haber efectuado la primera siembra, se repiti6 el procedimiento utilizando los tubos de caldo nutriente de la segunda serie (10 minutos) y de igual manera para la tercera serie (15 minutos).

1.12. Luego de realizar este procedimiento para la soluci6n fenol como para los desinfectantes en estudio, se procedi6 a la

incubación de estos tubos a 37C° observándose a las 24 y 48 horas en busca de ensayos positivos (turbidez) o negativos. La presencia de crecimiento fue confirmada con ayuda del microscopio, se realizaron las discusiones pertinentes y se sacaron las conclusiones.

1.13. Luego de obtenidos los resultados se calculó el coeficiente fenólico para cada desinfectante con las diferentes cepas de reacción.

## 2. Caracterización de las bacterias usadas en el estudio:

Mediante los siguientes ensayos bioquímicos: Oxidasa, Catalasa, utilización de carbohidratos como: Glucosa, Lactosa, Maltosa, Sacarosa y manitol, utilización del almidón, lípidos, gelatina, pruebas de termotolerancia a 60°C y ebullición , prueba de halotolerancia en NaCl al 6,5% y potencial H<sup>+</sup> (pH4 y pH9).

### 2.1. Prueba de Oxidasa:

La positividad está dada por un cambio de color de la colonias hacia un violeta o negro, utilizando los método del disco.

### 2.2. Prueba de Catalasa:

Esta prueba se interpreta positiva si hay presencia de burbujas en la lámina.

### 2.3. Utilización de Carbohidrato:

Esto se llevó a cabo mediante la siembra en caldos de glucosa, maltosa, sacarosa, lactosa y manitol; incurbándose a 37°C y observándose a las 24 y 48 horas. La positividad y utilización se interpretó por el cambio del indicador del medio rojo de fenol.

#### 2.4. Utilización del Almidón:

A las colonias presentes en el medio de almidón se agregó unas gotas de solución yodada para evidenciar la positividad o utilización del almidón.

#### 2.5. Utilización de Proteínas:

Para su interpretación se guardó el medio de gelatina en nevera durante 5 ó 10 minutos en busca de solidificación o licuefacción.

#### 2.6. Prueba de Termotolerancia:

Se llevó a cabo mediante la exposición de las cepas a temperatura de 60°C y ebullición durante 10 minutos, por medio del mechero y en baño de maría. El ensayo se interpreta por la presencia de turbidez.

#### 2.7. Prueba de Halotolerancia en NaCl al 6,5%:

La positividad está dada por la presencia de turbidez.

#### 2.8. Potencial H<sup>+</sup>:

Las cepas se expusieron a pH4 y pH9 mediante la siembra en caldos con soluciones de Ácido Clorhídrico e Hidróxido de

Sodio respectivamente. La positividad dada por la presencia de turbidez.

#### 2.9. Lípidos:

Se realizó un agar yema de huevo, la prueba es positiva si se observa precipitado opaco alrededor de las colonias o gotas brillantes en forma de rocío.

## CAPITULO III

### RESULTADOS

El procesamiento de las 3 muestras (CIDEX, BATEX y CLOREX) adquiridas en el Hospital Universitario Dr. Ángel Larralde y en la Ciudad Hospitalaria Dr. Enrique Tejera de Valencia y estudiadas mediante el método del Coeficiente Fenólico A.O.A.C., arrojaron los siguientes resultados:

- En la Tabla Nº 1, se observan los valores numéricos de las diluciones más altas de los desinfectantes en estudio y del fenol (desinfectante patrón), en las cuales crece y muere la capa de Bacilos Gramnegativos (no Pseudomonas) en tiempos de 5,10 y 15 minutos. Las diluciones máximas bactericidas comparadas con el fenol (1:100) para la cepa, oscilan: CIDEX y CLOREX = 1:90 y BACTEX = 1:900. Puede observarse que los resultados presentan respuestas extremas en los tiempos de contacto establecidos.-

TABLA N° 1  
EFICACIA DE BACTERICIDAS MUESTREADOS EN HOSPITALES ,  
SOBRE BACIOS GRAMNEGATIVOS  
(NO PSEUDOMONAS)

BACTERICIDAS MUESTRA	TIEMPO EN MINUTOS			
	dil	5	10	15
CIDEX	1:90	-	-	-
	1:100	+	+	+
CLOREX	1:90	-	-	-
	1:100	+	+	+
BACTEX	1:900	-	-	-
	1:1000	+	+	+
FENOL *	1:100	+	-	-
	1:500	+	+	+

FUENTE: Experimentación propia. Método del Coeficiente Fenólico.

\* FENOL = Desinfectante patrón.

+ = Crecimiento bacteriano.

- = Muerte bacteriana.

- En la Tabla N° 2, se muestra las diluciones más altas de los desinfectantes y del fenol (patrón), a las cuales crecen y mueren los cocos Grampositivos aislados del ambiente hospitalario en tiempos de 5,10 y 15 minutos de contacto. Las diluciones bactericidas fueron: para el FENOL = 1:200, para el CIDEX = 1:3, para el BACTEX = 1:400 y para el CLOREX = 1:40. Se observa que el fenómeno es de respuesta extremas con la excepción de BATEX 1:400 que se ajusta a la norma del Coeficiente Fenólico.

**TABLA N° 2**  
**EFICACIA DE BACTERICIDAS MUESTREADOS EN HOSPITALES SOBRE**  
**COCOS GRAMPOSITIVOS**  
**(AISLADOS DEL AMBIENTE)**

BACTERICIDAS	TIEMPO EN MINUTOS			
	dil	5	10	15
CIDEX	1:3	-	-	-
	1:5	+	+	+
CLOREX	1:40	-	-	-
	1:48	+	+	+
BACTEX	1:400	+	-	-
	1:500	+	+	+
FENOL *	1:200	-	-	-
	1:300	+	+	+

FUENTE = Experimentación propia. Método del Coeficiente Fenólico

\* FENOL = Desinfectante Patrón.

+ = Crecimiento de la Bacteria.

- = Muerte de la Bacteria.

- En la Tabla N° 3; se aprecian los valores de las diluciones más altas de los desinfectantes en estudio y del fenol, en las cuales se obtuvo crecimiento y muerte de la cepa Pseudomonas; vale la pena destacar que estas cepas suministrada en el laboratorio, fue tomada como patrón por ser causante de la mayoría de las infecciones nosocomiales. Las diluciones bactericidas fueron las siguientes: FENOL = 1:80, CIDEX = 1:30, BACTEX = 1:80 y CLOREX = 1:90. Nuevamente se observa que los resultados presentan respuestas extremas en los tiempos de contacto establecidos.

TABLA N° 3  
EFICACIA DE BACTERICIDAS MUESTREADOS EN HOSPITALES SOBRE  
UNA CEPA DE PSEUDOMONAS

BACTERICIDAS MUESTRAS	TIEMPO EN MINUTOS			
	dil	5	10	15
CIDEX	1:30	-	-	-
	1:40	+	+	+
CLOREX	1:90	-	-	-
	1:100	+	+	+
BACTEX	1:80	-	-	-
	1:90	+	+	+
FENOL *	1:80	-	-	-
	1:100	+	+	+

FUENTE: Experimentación propia. Método del Coeficiente.

Fenólico \* Fenol : Desinfectante patrón.

+ = Crecimiento de la bacteria.

- = Muerte de la bacteria.

- En las Tablas N° 4, 5 y 6, se representan las diluciones estimadas de los desinfectantes y del fenol (patrón) con el objeto de aproximarse a un número posible para determinar el coeficiente fenólico.

**TABLA N°4**  
**DILUCION EFICÁZ ESTIMADA Y COEFICIENTE FENÓLICO DEL**  
**DESINFECTANTE CIDEX SOBRE COCOS GRAMPOSITIVOS, BACILOS**  
**GRAMNEGATIVOS (NO PSEUDOMONAS) Y PSEUDOMONAS**

Desinfectante	Bacteria	Dil. estimada Cidex	Dil. estimada Fenol	Coefficiente Fenolico
Cidex	Cocos Grampositivos	1/4	1/250	0,02
	Bacilos Gramnegativos (no pseudomonas)	1/95	1/100	0,95
	Pseudomonas	1/35	1/90	0,38

FUENTE: Experimentación propia. Método Coeficiente Fenólico.

**TABLA N° 5**  
**DILUCIÓN EFICAZ ESTIMADA Y COEFICIENTE FENÓLICO DEL**  
**DESINFECTANTE CLOREX SOBRE COCOS GRAMPOSITIVOS, BASILOS**  
**GRAMNEGATIVOS (NO PSEUDOMONAS) Y PSEUDOMONAS**

Desinfectante	Bacteria	Dil. estimada Clorex	Dil. estimada Fenol	Coefficiente Fenolico
Clorex	Cocos Grampositivos	1/44	1/250	0,18
	Bacilos Gramnegativos (no pseudomonas)	1/95	1/100	0,95
	Pseudomonas	1/95	1/90	1,05

FUENTE: Experimentación Propia. Método Coeficiente Fenólico.

**TABLA N° 6**  
**DILUCIÓN EFICÁZ ESTIMADA Y COEFICIENTE FENÓLICO DEL**  
**DESINFECTANTE BACTEX SOBRE COCOS GRAMPOSITIVOS, BACILOS**  
**GRAMNEGATIVOS (NO PSEUDOMONAS) Y PSEUDOMONAS**

Desinfectante	Bacteria	Dil. estimada Bactex	Dil. estimada Fenol	Coefficiente Fenolico
Bactex	Cocos Grampositivos	1/400	1/250	1,60
	Bacilos Gramnegativos ( <i>no pseudomonas</i> )	1/950	1/100	9,50
	Pseudomonas	1/85	1/90	0,94

FUENTE: Experimentación Propia. Método: Coeficiente Fenólico.

- La Tabla N° 7, reúne los Coeficientes Fenólicos de los desinfectantes CIDEX, BACTEX y CLOREX sobre los tres tipos de bacterias utilizadas.

**TABLA N° 7**  
**COEFICIENTE FENÓLICO DE LOS DESINFECTANTES ESTUDIADOS**  
**FRENTE A COCOS GRAMPOSITIVOS, BACILOS GRAMNEGATIVOS (NO**  
**PSEUDOMONAS) Y PSEUDOMONAS**

Desifectantes	Cocos Grampositivos	Bacilos Gramnegativos ( <i>no pseudomonas</i> )	Pseudomonas
Cidex	0,02	0,95	0,38
Clorex	0,18	0,95	1,05
Bactex	1,60	9,50	0,94

FUENTE: Experimentación propia. Método Coeficiente fenólico.

En el Cuadro N° 1, se muestra un patrón mínimo de evaluación para la caracterización de las bacterias aisladas en el estudio; así como también la cepa de Pseudomonas.

### CUADRO N° 1

#### CARACTERÍSTICAS DE LAS BACTERIAS UTILIZADAS EN EL ESTUDIO

Prueba Bioquímica/Bacteria	Bacilos (GN)		
	Cocos (GP)	No Pseudomonas	Pseudomonas
Oxidasa	+	+	+
Catalasa	+	+	+
Maltosa	NF	NF	NF
Sacarosa	NF	NF	NF
Lactosa	NF	NF	NF
Glucosa	NF	NF	NF
Manitol	NF	NF	NF
Almidón	NU	SU	NU
Gelatina	NU	NU	NU
Lípidos	Lecitina +	-	-
NaCl 6,5%	SC	SC	SC
pH4	SC	SC	SC
pH9	NC	NC	NC
Temperatura 60°C	NC	NC	NC
Temperatura 100°C	NC	NC	NC

FUENTE: Experimentación propia.

- + = Presenta la enzima.
- = No presenta la enzima.
- NF = No fermentador.
- SU = Si utiliza.
- NU = No utiliza.
- SC = Si crece.
- NC = No crece.
- GP = Grampositivo.
- GN = Gramnegativo.

## CAPITULO IV

### DISCUSIÓN

En relación a la regla del método del Coeficiente Fenólico, en donde se establece que los desinfectantes de prueba deben dar crecimiento bacteriano a los 5 minutos pero no a los 10 y 15 minutos de contacto, se procedió a estimar la dilución máxima bactericida tomando el valor medio entre las diluciones extremas, este procedimiento se efectuó con cada uno de los desinfectantes en estudio a excepción del resultado obtenido con el BACTEX (1:400), utilizando la cepa de cocos grampositivos aislado del ambiente hospitalario, el cual se ajusto a la norma pre-establecida por el método, es decir, crecimiento de la bacteria a los 5 minutos pero no a los 10 y 15 minutos. Sin embargo, al realizar la estimación de esta dilución bactericida, se tuvo presente el amplio margen de probabilidad en donde se evidencia el cumplimiento de estas norma, por ejemplo, las diluciones extremas para el CIDEX utilizando la cepa de *Pseudomonas* fue de 1:30 (muerte bacteriana) y 1:40 (crecimiento de la bacteria) a los tres tiempos de contacto, en donde existe un gran número de alternativas posibles, incluyendo cifras enteras y decimales (1:31,1 ; 1:31,2 ; 1:31,3 ; etc.). Por lo tanto se pudo intuir que la dilución máxima bactericida estimada

correspondía a la media entre ambas diluciones, se procedió de igual manera para los demás casos.

Según los resultados obtenidos, el desinfectante que mostró mayor eficacia, fue el BACTEX (Bromuro de Lauril-dimetil-bencilamonio al 1%), con una dilución máxima bactericida de 1:900 y en coeficiente fenólico de 9,5 para la cepa de bacilos gramnegativos (no *Pseudomonas*), sin embargo, no es el desinfectante de mayor uso hospitalario, mientras que el CIDEX (Glutaraldehído al 2%) con menor coeficiente fenólico para las tres cepas utilizadas en el estudio, es ampliamente usado en este medio, por lo que debería considerarse el uso frecuente del BACTEX en ambos centros de salud.

En relación al CLOREX, es importante hacer notar que el coeficiente fenólico obtenido sobre la *Pseudomonas* indica actividad similar al fenol, pero deficiente sobre las cepas de cocos y bacilos aislados del medio hospitalario, aunque estos coeficientes fenólicos podrían ser mayores, considerando que la presencia de materia orgánica resta eficacia a este tipo de desinfectantes compuestos por cloro.

El CIDEX, resultó el desinfectante menos eficaz comparado con el fenol para los tres tipos de bacterias utilizadas, siendo

contradictorio con los fundamentos teóricos previos, donde es catalogado como excelente bactericida.

Según las especificaciones que debe poseer un desinfectante ideal, se demostró que el BACTEX reúne mayor número de éstas, por ser: incoloro, inodoro, no se inactiva con materia orgánica, produce desinfección rápidamente y no requiere procesos de dilución complicados.

En relación a las bacterias utilizadas en el estudio la cepa que presentó mayor resistencia a estos agentes bactericidas fue la de cocos grampositivos aislada del ambiente hospitalario, especialmente al estar en contacto con el desinfectante CIDEX, en donde fue necesario concentraciones más elevadas para su destrucción.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES

- Con relación a la eficacia bactericida determinada a los desinfectantes en estudio se comprobó que el BACTEX posee mayor efectividad.
- De acuerdo a las especificaciones planteadas para evaluar un desinfectante, se consideró al BACTEX el más adecuado para la desinfección de las diferentes áreas hospitalarias.
- El CIDEX, fue el desinfectante menos efectivo, debido a sus bajos coeficientes fenólicos.
- El CLOREX, mostró actividad intermedia entre el BACTEX y el CIDEX, considerándose la posible inactivación frente al material orgánico.
- La cepa de cocos grampositivos aislada del ambiente hospitalario, demostró mayor resistencia frente a los desinfectantes estudiados, lo que representa un riesgo para los pacientes hospitalizados, especialmente en los susceptibles.

## CAPITULO VII

### RECOMENDACIONES

1. Se sugiere evaluar cada seis meses al desinfectante BACTEX (Bromuro de Lauril-Dimetil-Bencil-Amonio al 1%) para corroborar la eficacia bactericida, debido a que resultó el más adecuado para la desinfección de áreas hospitalarias.
2. Utilizar con mayor frecuencia el desinfectante BACTEX en ambos centros de salud, considerando la posible resistencia de algunas bacterias frente al desinfectante CIDEX (Glutaraldehído al 2%) el cual ha sido ampliamente utilizado.
3. Realizar estudios similares donde se evalúe la actividad fungicida de los desinfectantes, debido a la constante aparición de hongos durante el aislamiento de las cepas.

## LIMITACIONES

- El aislamiento de las cepas de interés resultó difícil de obtener, debido a la presencia de hongos en las áreas hospitalarias.
- La cepa de cocos grampositivos, manifestó resistencia, lo cual impidió la obtención rápida de la dilución máxima bactericida, especialmente para el CIDEX.
- Escasa bibliografía, lo que dificultó establecer comparaciones con estudios similares.

## BIBLIOGRAFIA

1. ARAUJO, María Amelia. "Esterilización e Desinfección de Instrumentos Rotatorio: Ovalización de Alteraes". Rev. Bras. Odontol; 51(4): 2-6. Julio-Agosto 1.994.
2. BONILLA, Pablo y Colbs. "Acción Germicida de los Rayos Ultravioleta". Rev. Méx. Anestesiol; 8(3): 131-5. Julio-Sept. 1.985.
3. CAÑAS, Pamela. "Sensibilidad a Antibióticos y Tolerancia a Desinfectantes en Cepas de Acinetobacter calcoaceticus anitratus". Bol. Hosp. Viña del Mar; 42(3) : 175-8, 1.986.
4. CORA, Ivone y Colbs. "Acción Antimicrobiana y Evaluación de 2 Desinfectantes Hospitalarios". Revista de Microbiología; 20(4) : 402-10 1.989.
5. FERNANDEZ, R. - Chehuet Navajas; R. Medina Díaz y otros. "Revista Latinoamericana de Microbiología". Vol. 34. Nº 1. Pág. 1-70. 1.992.
6. GARCIA R. J. A., Picazo J. J. "Microbiología Medica II". Editorial Mosby / Doyma. 1.996.
7. ICHIYAMA, Son. "Hospital management and the Role of Clinical Microbiology Laboratory for Preventing Nosocomial Infection". Rinsho Byori; 43(10) : 1005-9, 1.995.
8. LANE, V. McKeever y Colbs. "Glutaraldehído Surfactado (CIDEX) un nuevo Desinfectante, Particularmente útil en Urología". Journal of the Irish Medical Association, Vol. 48 Nº 346. Pág. 131. Abril 1.966.

9. LENMETTE E. H. (1.981). "Manual de Microbiología Clínica". Barcelona. Editorial Salvat. Editores S.A.
10. MINER, NA; Mc Dowell y Colbs. "Propiedades Antimicrobianas y otras de un nuevo Desinfectante / Esterilizante de Glutaraldehídos Alcalino Estabilizado". American Journal of Hospital Pharmacy. Vol. 34. Pág. 376-382. Abril 1.997.
11. ORSI GB; Tomao P., Visca P. "In Vitro Activity of Commercially Manufactured Desinfectants Against Pseudomonas Aeruginosa". Eur. J. Epidemiología. 11(4) : 453-7. Agosto 1.995.
12. PELCZAR, Michael (1.993). "Microbiología". Libros Mc Graw Hill de México. S.A. de CV Cuarta Edición.
13. RAMOS DE FOA, Bilma. "Desinfección y Esterilización en el Hospital: Asepsia Médica y Quirúrgica". Rev. Argent. Enferm; (27) : 21-9, Octubre 1.990.
14. REYBRONCK. "Posible Estandarización Internacional de Pruebas de Desinfectantes". LAB-DELD. Vol : 1. Pág. 59-61. 1.991 Febrero.
15. ZINSSER (1.989). "Microbiología". Editorial Médica Panamericana. Décima Octava Edición. Buenos Aires - Argentina.

# DISEÑO EXPERIMENTAL

