



Evaluación de la efectividad del hipoclorito de sodio como desinfectante en áreas críticas de una institución hospitalaria

Luis Enrique Quinchia Garzón

UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CENCIAS NATURALES
PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA
CALI
2017

**Evaluación de la efectividad del hipoclorito de sodio como desinfectante en
áreas críticas de una institución hospitalaria**

Luis Enrique Quinchia Garzón

Trabajo de grado para optar por el título de pregrado en Química Farmacéutica

Tutor: Andrés Felipe Dávalos Vélez, Msc

UNIVERSIDAD ICESI

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA

CALI

2017



APROBADO POR:

María del Carmen Rave.
María del Carmen Rave
Evaluador



Andrés Felipe Dávalos Msc.
Tutor del Proyecto.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a la Universidad ICESI por la excelente formación que me dio para convertirme en profesional, a todos los profesores que en el camino se hicieron presentes compartiendo su experiencia y conocimiento para llenarme de herramientas personales y laborales, en especial al profesor Andrés Dávalos quien me brindó su apoyo y direccionamiento a lo largo del proyecto al cual considero como un mentor. A mis amigos más cercanos, Diego, Andrés Angulo, Steven, Jeyson, Andrea y Annie quienes hicieron de ésta etapa de mi vida una fase de crecimiento personal y con sus diferentes puntos de vista permitieron darle diversidad a mis ideas y opiniones. Y Finalmente a mi familia, en especial a mis padres y mi hermano quienes estuvieron siempre apoyándome y a quienes les dedico éste logro en mi vida.

TABLA DE CONTENIDO

1. Resumen del proyecto	9
2. Descripción del Proyecto.....	11
2.1 Descripción del problema	11
2.2 Marco teórico y estado del arte	12
2.2.1 Contexto	12
2.2.2 Conceptos	13
2.2.4 Microorganismos de prueba	16
2.2.5 Panorama Nacional	17
2.2.6 Técnicas estadísticas para el procesamiento y análisis de los resultados.	18
2.2.7 Inferencia estadística para determinación de los Intervalos de confianza	18
3. Objetivos	20
2.3.1 Objetivo general	20
2.3.2 Objetivos específicos	20
4. Metodología propuesta	21
4.1 Determinación de la CMI del hipoclorito de sodio	21
4.2 Evaluación de la efectividad del desinfectante	23
Recolección y determinación del tamaño de la muestra	23
Procedimiento experimental	23
Siembra en profundidad	23
4.3 Evaluación de la actividad bactericida básica NTC 5150	23
Cultivos de trabajo	24
Suspensiones bacterianas	24
Soluciones del producto sometido a prueba	24
Recuento de las suspensiones bacterianas.	24
Procedimiento de prueba para verificar la actividad bactericida del producto. Método de filtración por membrana.	25
Recuento de la mezcla de prueba	25
4.3 Resultados	26
4.4.1 Determinación de la CMI del hipoclorito de sodio	26
4.4.2 Evaluación de la efectividad del desinfectante Hipoclorito de sodio como desinfectante hospitalario	30

4.4.3 Evaluación de la actividad bactericida básica NTC 5150.....	33
5. DISCUSION	34
5.1 Determinación de CMI para Hipoclorito de Sodio	34
5.2 <i>Evaluación de la actividad bactericida básica</i> NTC 5150 como método de prueba para la variable “Tiempo de contacto”	35
5.3 Evaluación de la efectividad del desinfectante Hipoclorito de sodio como desinfectante hospitalario.....	37
6. Conclusiones.....	41
7. Recomendaciones.....	42
8. Bibliografía	43

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1 Concentración mínima inhibitoria, ensayo de Fenol 5% contra P. aeruginosa.....	26
Tabla 2 Concentración mínima inhibitoria, ensayo de Fenol 5% contra S. aureus	27
Tabla 3 Concentración mínima inhibitoria, ensayo de Hipoclorito de Sodio 2,5% contra P. aeruginosa	28
Tabla 4 Concentración mínima inhibitoria, ensayo de Hipoclorito de sodio 2,5% contra S. aureus.....	29
Tabla 5 Comparación CMI de Fenol 5% e Hipoclorito de Sodio 2,5% para cada microorganismo.....	30
Tabla 6 Resultados de UFC para Agar Sabouraud	31
Tabla 7 Resultados de UFC para Agar Casoy	31
Tabla 8 Determinación de intervalos de confianza para la muestras de Agar Casoy	32
Tabla 9 Determinación de intervalos de confianza para las muestras de Agar Sabouraud	32
Tabla 10 Concentraciones de hipoclorito de sodio frente a P. aeruginosa para dos tiempos de contacto	33
Tabla 11 Concentraciones de hipoclorito de sodio frente a S. aureus para dos tiempos de contacto.....	34

LISTADO DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1 Fenol 5% contra P. aeruginosa.....	27
Ilustración 2 Fenol 5% contra S. aureus	28
Ilustración 3 Hipoclorito de Sodio 2,5% contra P. aeruginosa	28
Ilustración 4 Hipoclorito de Sodio 2,5% contra S. aureus.....	29

1. Resumen del proyecto

Estudios nacionales e internacionales sobre enfermedades asociadas al cuidado de la salud e infecciones nosocomiales, han reportado el impacto económico-social en términos de costos y mortalidad que tienen los procesos de vigilancia y control de microorganismos en áreas críticas de instituciones hospitalarias. Aunque el tema se encuentra muy desarrollado en países como Estados Unidos, donde se han establecido guías de higiene, saneamiento y limpieza, en Colombia aún, queda mucho por recorrer para alcanzar los objetivos de minimizar la incidencia de infecciones nosocomiales y el control de patógenos resistentes con los procesos y productos de desinfección.

Por esta razón, el objetivo de este proyecto fue generar información que contribuya a diagnosticar la eficacia de los procesos utilizados por clínicas y hospitales para controlar la diseminación de las infecciones nosocomiales, a través de la evaluación del hipoclorito de sodio, uno de los desinfectantes químicos de mayor uso en las instituciones hospitalarias de la ciudad de Cali.

Para alcanzar este objetivo se realizaron tres pruebas al desinfectante, determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), evaluación de la efectividad del desinfectante y determinación de la actividad bactericida básica (descrita en la NTC 5150).

La metodología que se empleó para la determinación de la efectividad del desinfectante fue: toma de muestras de las zonas de mayor contacto del personal del hospital, siembra en profundidad y conteo de unidades formadoras de colonias UFC. Comparación del efecto bactericida y bacteriostático de una solución de fenol al 5% contra diferentes concentraciones del desinfectante problema (hipoclorito de sodio) con el fin de determinar la CMI del hipoclorito de Sodio y finalmente la metodología de filtración por membrana tras haber colocado una concentración de microorganismo patógeno en contacto con una dilución del desinfectante para determinar el número de UFC tras un tiempo de contacto.

Se encontró que el Hipoclorito de sodio tiene una CMI de 7812,5 mg/L y 15625mg/L para *P. aeruginosa* y *S. aureus* respectivamente y que es capaz de ejercer su efecto en tiempos muy cortos de 1 y 5 minutos. Por lo tanto se demuestra su efectividad como desinfectante químico de uso hospitalario y se resalta la importancia de ésta determinación al ser un producto económico, de fácil acceso y relativamente seguro para el personal que lo emplea. Por ésta razón es posible emplearlo en casas, industria y hospitales con la tranquilidad de que desinfectará las superficies y zonas altamente contaminadas sin que los microorganismos desarrollen una resistencia frente al hipoclorito de sodio.

ABSTRACT

National and international studies on diseases associated with health care and nosocomial infections have reported the social-economic impact in terms of costs and mortality of surveillance and control of microorganisms in critical areas of hospital institutions. Although the subject is well studied in countries such as the United States, where hygiene, sanitation and cleanliness guidelines have been established, there is still much to be done in Colombia to achieve the objectives of minimizing the incidence of nosocomial infections and the control of resistant pathogens with the processes and products of disinfection.

For this reason, the objective of this project was to generate information that helps to diagnose the effectiveness of the processes used by clinics and hospitals to control the spread of nosocomial infections, through the evaluation of sodium hypochlorite, one of the chemical disinfectants most used in the hospital institutions of the Cali's city.

To reach this objective, three methodologies were tested on the disinfectant, determination of minimum inhibitory concentration (MIC), evaluation of disinfectant effectiveness and determination of basic bactericidal activity (described in NTC 5150).

The methodology used to determine the effectiveness of the disinfectant was: sampling of areas more contact by the hospital staff, deep seeding and counting of colony forming units. Comparison of the bactericidal and bacteriostatic effect of a 5% phenol solution against different concentrations of the problem disinfectant (sodium hypochlorite) in order to determine the MIC of the sodium hypochlorite and finally the membrane filtration method after having placed a known concentration of Pathogenic microorganism in contact with a dilution of the disinfectant to determine the number of CFUs after a contact time.

It was found that sodium hypochlorite has a MIC of 7812.5 mg / L and 15625 mg / L for *P. aeruginosa* and *S. aureus* respectively and is able to exert its effect in very short times of 1 and 5 minutes. Therefore its effectiveness as a chemical disinfectant for hospital use is demonstrated and the importance of this determination is highlighted as it is an economical product, easily accessible and relatively safe for the personnel that use it. For this reason it is possible to use it in homes, industry and hospitals knowing that it will disinfect highly contaminated areas and surfaces without the microorganisms developing resistance against sodium hypochlorite.

Key Words: Effectiveness, Sodium hypochlorite, MIC, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, nosocomial.

2. Descripción del Proyecto

2.1 Descripción del problema

Las infecciones nosocomiales adquiridas en el hospital, también llamadas infecciones asociadas al cuidado de la salud (HAI) son hoy, en una gran proporción, las complicaciones más frecuentes de los pacientes hospitalizados. Las enfermedades nosocomiales se convirtieron en el foco de atención de las oficinas de salud pública en el mundo, debido a una epidemia de infecciones que se desencadenó entre 1957-1958, producida por una cepa de *Staphylococcus sp.* El control de estas infecciones se ha desarrollado con ayuda de la epidemiología y vigilancia médica (Burke, 2003). Para el 2003, las infecciones nosocomiales afectaban, sólo en Estados Unidos, a dos millones de personas, 90,000 de estas fallecían y el presupuesto anual para el cuidado de los pacientes aumentaba en un promedio de \$5.1 billones de dólares (Burke, 2003). Éstas cifras son para nada despreciables si se tiene en cuenta que con los programas de limpieza y desinfección adecuados, se podría minimizar en alto porcentaje el fallecimiento de las personas.

El área de los hospitales donde es más crítico el control de los microorganismos, debido a la incidencia de infecciones y al estado de salud de los pacientes, es la unidad de cuidados intensivos (UCI). El centro de control y prevención de la enfermedad (CDC) realizó un estudio en el cual demostró la eficacia de los programas de vigilancia para prevenir las infecciones nosocomiales. El mayor reto, como se mencionó anteriormente, está en la UCI porque se presenta el mayor número de infecciones adquiridas en el hospital, principalmente asociadas al uso de dispositivos médicos (DAI). Dentro de esta clasificación sobresalen infecciones en el torrente sanguíneo central y la uretra a causa de catéteres centrales y urinarios. (Alvarez, Rosenthal, Olarte, & Villamil, 2006).

En los países desarrollados HAI es una causa mayor de morbilidad y mortalidad, por esta razón en algunos lugares como Australia, Canadá, Alemania y Estados Unidos, se han estandarizado medidas que hacen de la vigilancia institucional una práctica necesaria en los hospitales (Alvarez, Rosenthal, Olarte, & Villamil, 2006). Dentro de estos planes estandarizados por el CDC se incluye lavado de manos, uso y recambio de prendas estériles para los procedimientos quirúrgicos de implantación de dispositivos y planes de rotación de los desinfectantes para disminuir resistencia microbiológica adquirida en los hospitales.

Los resultados obtenidos por Álvarez y et. al. En su estudio estadístico realizado en UCI de 9 hospitales de Colombia, se puede inferir que el país cuenta con un buen nivel de control y e índices de morbilidad de los HAI, en relación con el resto latinoamericanos; sin embargo, al contrastar los resultados con Estados Unidos,

se encuentra que estos indicadores se pueden mejorar aún con la implementación de mecanismos superiores para el manejo de las infecciones adquiridas en los hospitales (Alvarez, Rosenthal, Olarte, & Villamil, 2006). Entendiendo el impacto que tienen las enfermedades asociadas al cuidado sobre la salud de las personas y el presupuesto nacional, cabe indagar qué control o sistema de intervención es crítico para reducir las tasas de morbilidad y mortalidad asociados a infecciones nosocomiales.

El principal método para el control de dichas infecciones son los procesos de desinfección, cuyo principal objetivo es eliminar o detener a los microorganismos patógenos. La desinfección requiere una planeación, control y monitoreo de la totalidad del proceso, pues si en alguna de las etapas o áreas ocurre un percance, se compromete la salud de los pacientes e incluso de los profesionales de la salud que entran en contacto con los agentes infecciosos. (Martinez, 2005)

En este contexto, el proyecto busca proporcionar información útil sobre la efectividad del hipoclorito de sodio como desinfectante químico, empleado en una institución hospitalaria de la ciudad de Cali, para desinfectar áreas y dispositivos médicos y así reducir el índice de incidencia de enfermedades nosocomiales. En este orden de Ideas, la investigación se guía por la pregunta central: ¿El hipoclorito de sodio, a la concentración que lo emplean, está eliminando completamente los microorganismos endémicos de las instituciones? Y también es adecuado preguntarse ¿Se encuentra presente algún microorganismo resistente a la desinfección con este producto? Al responder estas preguntas el proyecto pretende aportar información que sirva para realizar un diagnóstico del estado de los métodos de control para las enfermedades adquiridas en los hospitales.

2.2 Marco teórico y estado del arte

2.2.1 Contexto

En la historia de la humanidad los conceptos de limpieza y desinfección han sido influenciados por los conocimientos fisiopatológicos de las enfermedades y los avances que ha realizado la medicina. Estos conceptos surgieron en el siglo XIX, donde se pudo demostrar que las infecciones eran producidas por microorganismos patógenos. Pasteur desestimó la teoría de la generación espontánea e incursionó, con sus experimentos, en el uso del calor para la conservación. Esto le dio cabida a Tyndall, quien en sus observaciones describió que las células vegetativas morían en el proceso de ebullición, pero las esporas, de algunas especies, sobrevivían el proceso. Sin embargo, si se les daba tiempo a estas esporas de germinar, su progenie moría repitiendo el proceso de

calentamiento, así fue cómo surgió la Tyndalización, proceso que se mantuvo hasta la aparición de la autoclave. (Hugo, 1991)

En cuanto a los desinfectantes químicos, las primeras civilizaciones empleaban los metales pesados como antisépticos. En 1835 Agostino Bassi, fue la primera persona en describir una enfermedad animal asociada a un microorganismo específico, la “muscardina”, un mal que afectaba al gusano de seda, era generada por un hongo que eventualmente se denominaría *Beauveria bassiana*. Bassi también se interesó en los antisépticos y desinfectantes, probó ácidos, álcalis, sulfuros, alcoholes, etc. Los productos que tenía a su disposición. En base a su investigación, años más tarde se determinó que el cloruro de mercurio, era la sustancia química más efectiva para la desinfección, pues lograba destruir las esporas resistentes. Por esta razón fue una sustancia ampliamente empleada hasta mediados del siglo XX, donde su uso, por cuestiones de toxicidad, empezó a desestimarse. (Hugo, 1991)

Como ocurrió con el cloruro de mercurio, el uso de otras sustancias bastante efectivas en la desinfección, como el formaldehído y el glutaraldehído, se han desestimado por problemas de toxicidad asociada. Además, cada día aparecen nuevos estudios y evidencia que cuestionan el uso de determinadas sustancias químicas en la desinfección de los hospitales. Por esta razón, no son muchos los productos que se pueden encontrar en el mercado que sirvan para combatir los microorganismos y prevenir las infecciones. Entonces, es de vital importancia desarrollar proyectos de investigación en los cuales se determine la efectividad de los productos que se emplean normalmente, con el fin de prevenir una resistencia bacteriana adquirida generalizada en los microorganismos de una población, ya que esto reduciría aún más las opciones que se tiene para combatir las infecciones nosocomiales y se podría desencadenar un problema grave de salud pública.

2.2.2 Conceptos

Limpieza: Se define como el proceso de separación, por medios mecánicos y/o físicos de la suciedad depositada en las superficies inertes que constituyen un soporte físico y nutritivo del microorganismo. No elimina microorganismos, pero los reduce al máximo y es un paso previo clave para alcanzar la desinfección o esterilización. El ejemplo más usado es el detergente. (Olarte & Valderrma, 2012)

Aunque las superficies contaminadas pueden servir como depósitos de patógenos, estas no están asociadas generalmente de forma directa a la transmisión de enfermedades a los pacientes o al personal. La transmisión se da cuando las manos entran en contacto con dicha superficie contaminada, por esta razón la

limpieza de las manos es muy importante en la prevención de las enfermedades asociadas al cuidado. (Olarde & Valderrma, 2012)

Desinfección: Es el proceso que elimina la mayoría de los microorganismos patógenos y no patógenos de objetos inanimados, exceptuando esporas, mediante el uso de agentes físicos o químicos. Se debe considerar la naturaleza del artículo que se desinfectará, el número de microorganismos presentes y la resistencia natural de esos microorganismos frente al germicida. (Olarde & Valderrma, 2012)

Esterilización: Es el proceso mediante el cual se alcanza la muerte de todas las formas de vida microbianas, incluyendo bacterias y sus formas esporuladas altamente resistentes, hongo y virus. Entiéndase por muerte, la pérdida irreversible de la capacidad reproductiva del microorganismo. Es un término absoluto, un objeto está estéril o no lo está. (Universidad de la República, Instituto de Higiene, 2002)

2.2.3 Desinfectantes

Los agentes antimicrobianos se pueden categorizar según el efecto que causen en los microorganismos. Los principales efectos son, intervenir la síntesis de pared celular, inhibir la síntesis de proteínas, interferir en la formación del ADN sustituyendo ácidos nucleicos, inhibir una ruta metabólica y romper la membrana celular. Y así como los mecanismos antimicrobianos son variados, también lo son las estrategias que desarrollan las bacterias para contrarrestar los dichos mecanismos, por ejemplo, las bacterias pueden producir enzimas para destruir o metabolizar el agente desinfectante, expresar sistemas “efflux” para promover la salida de las sustancias extrañas o también modificar la diana del agente antimicrobiano. (Tenover, 2006)

Aunque práctica y sencilla, la clasificación anterior está definida por el efecto que tienen algunas sustancias, sobre todo fármacos antibióticos, para desencadenar daño en las bacterias a través de sus procesos fisiológicos. Pero para el contexto de desinfectantes químicos que se está desarrollando en este proyecto conviene más guiarse por la clasificación que proponen Rodríguez, Delgado y Dujarric, pues clasifican los desinfectantes por su grupo químico (Rodríguez, Delgado, & Dujarric, 2007):

Agentes oxidantes (halógenos/cloro y derivados, peróxido de hidrogeno, permanganato de potasio)

- Agentes reductores (formaldehído, glutaraldehído)
- Metales pesados
- Alcoholes (etílico, isopropílico)
- Fenoles (fenol, hexilresorcinol, clorhexidina)
- Agentes tensoactivos (Aniónicos/ estearato de sodio, sulfato de alquilo, laurilsulfato de sodio Catiónicos/ derivados de amonio cuaternario)

Aunque difieren en clasificación, los autores están de acuerdo en que los grupos químicos actúan sobre las paredes y membranas celulares; Proteínas, enzimas y rutas metabólicas y, por último, alteración de los ácidos nucleicos.

Es importante tener en cuenta que no toda sustancia con poder bactericida o bacteriostático puede emplearse para la desinfección o esterilización de las áreas en un hospital y mucho menos si son las áreas críticas del mismo, como la central de mezclas, quirófanos o unidad de cuidados intensivos. El agente desinfectante debe cumplir con una serie de requisitos para garantizar el bienestar de los pacientes y evitar un riesgo potencial, de no ser así, los profesionales de la salud (médicos, enfermeras y químicos farmacéuticos, etc.) tendrían que preocuparse de un problema adicional, como si no bastara con las infecciones nosocomiales, pues algunos de los grupos químicos anteriores presentan altos niveles de toxicidad o capacidad para reaccionar con los equipos, deteriorando su integridad y generando peligros en los tratamientos en lugar de proveer alivio para su enfermedad. Así pues, los requisitos que Rodríguez sugiere para un desinfectante ideal son principalmente: Amplio espectro de acción en microorganismos, soluble, estable, inocuo para el hombre y la naturaleza, no ser corrosivo, ser barato y de fácil adquisición. (Rodríguez, Delgado, & Dujarric, 2007). Sin embargo, hasta ahora no se cuenta con un producto ideal, pues todos se saltan uno o más de los requisitos.

La selección del desinfectante más apropiado para realizar el saneamiento de un área del hospital debe considerar características propias del sitio, tales como:

- ✓ Evaluar los diferentes tipos de microorganismos que se van a tratar, debido a que los desinfectantes tienen diferentes mecanismos de acción al entrar en contacto con bacterias, bien sea Gram positivas o Gram negativas y las esporas son más resistentes que las células vegetativas. (Bedoya, O, & Holguín, 2011)
- ✓ El lugar o material donde se va a realizar la desinfección, bien sea inerte o para usarlo sobre la piel, ya que esto determina la sustancia que se va a utilizar para evitar efectos tóxicos o deterioro del equipo/instrumento que se desinfectará. (Bedoya, O, & Holguín, 2011)

- ✓ Los factores ambientales que intervienen en el proceso, como pH, tiempo de contacto, humedad, etc. (Bedoya, O, & Holguín, 2011)

2.2.4 Microorganismos de prueba

Para la determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI) y la aplicación de la norma técnica 5150 se emplearán los siguientes microorganismos:

- Salmonella typhi*: Bacilo Gram-negativo, anaerobia facultativa, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae es una bacteria omnipresente y resistente que puede sobrevivir varias semanas en un entorno seco y varios meses en agua (OMS, 2016). Habita el tracto intestinal de muchos animales, por ejemplo, aves de corral y ganado vacuno. Cuando llega al estómago del ser humano, la *Salmonella*, se une a la mucosa del intestino delgado. (Brooks, Balel, & Morse, 2004). La salmonelosis, causada por la bacteria *Salmonella*, es una de las enfermedades de transmisión alimentaria más comunes y ampliamente extendidas. Se estima que afecta anualmente a decenas de millones de personas en todo el mundo y provoca más de cien mil defunciones. (OMS, 2016)
- Staphylococcus Aureus*: cocos Gram-positivos de 0,5 a 1,5 μm de diámetro, son bacterias muy resistentes al calor y la desecación, además pueden crecer en ambientes de alta salinidad. Es una bacteria que hace parte de la microbiota normal del cuerpo, aproximadamente el 20 o 50% de la población sana la poseen, principalmente, en las fosas nasales. Las infecciones a causa de esta bacteria suelen ser absceso con reacción inflamatoria, pero si *Staphylococcus aureus* se disemina, puede generar complicaciones graves como la endocarditis o infección pulmonar. (Pahissa, 2009).
- Pseudomonas aeruginosa*: Son Bacilos aerobios Gram-negativos, se distribuyen en el suelo y agua, coloniza al ser humano, por lo general, cuando se encuentra en estado de inmunosupresión, infecta heridas o quemaduras y suele causar desde infecciones en el aparato urinario hasta meningitis. Es una de las bacterias de mayor difícil manejo ya que presenta resistencia a muchos agentes antimicrobianos. (Murray & Faller, Microbiología Medica, 2009). Se atribuye la resistencia de este microorganismo a que posee una membrana excepcionalmente impermeable (Gómez, Leal, Pérez, & Navarrete, 2005)

Las bacterias, como se describió anteriormente, poseen una variada y amplia gama de mecanismos para defenderse de los agentes antimicrobianos, la razón más aceptada para justificar el desarrollo de estos mecanismos es la alta tasa de reproducción que tienen estos seres microscópicos. En sólo cuestión de horas, en condiciones de temperatura y humedad moderadas, una sola célula de

Escherichia coli puede generar miles de individuos a partir de ella. Esta elevada de generación de individuos hace que una tasa mutación de 1 por cada 10^6 bases nucleotídicas (Malpica, y otros, 2002) no sea algo irrelevante. Pues al generarse una cantidad tan grande de individuos, estos pueden fácilmente adquirir diversas mutaciones que pueden desencadenar mecanismos de resistencia que les permitirán superar procesos de desinfección. Las bacterias también pueden obtener estas medidas de defensa ya sea mutando directamente, como se describió anteriormente, o bien, incorporando genes foráneos, de otras células que mutaron, a su información genética con los mecanismos celulares de transformación, conjugación y transducción. (Tenover, 2006).

2.2.5 Panorama Nacional

En el estudio que lideró Álvarez a lo largo de 3 años en las Unidades de cuidados intensivos de 9 hospitales en Colombia, se detectó que el 65.4% de las infecciones estafilococicas fueron causadas por cepas meticilino-resistentes, 40.0% de las Enterobacterias aisladas fueron resistentes a ceftriaxona y 40% de los aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* se encontraron resistentes a fluoroquinolonas. (Alvarez, Rosenthal, Olarte, & Villamil, 2006). Esta evidencia muestra que el estado microbiológico de los hospitales tiene grandes puntos por fortalecer, desde el manejo de los dispositivos de implantación (catéteres centrales o urinarios), pasando por la higiene del personal hospitalario y finalmente, el eje central de este proyecto, los procesos de saneamiento en las áreas críticas de los hospitales. Se debe tener en cuenta que en los hospitales de nivel III y IV, por lo general, se tienen bien identificadas las cepas resistentes endémicas de cada institución, el problema está cuando uno de los pacientes (incluso algún empleado de la institución) ingresa una nueva cepa no identificada, debido a que las guías farmacoterapéuticas se basan en la epidemiología de cada institución (o al menos es lo que debería garantizar el comité de farmacia), los tratamientos estándares no logran acabar con los microorganismos resistentes foráneos y sólo se detectan hasta que han desencadenado una alerta en el hospital.

Entonces, es bueno aplicar tanto los mecanismos de vigilancia como las estrategias de control para las enfermedades asociadas al cuidado de la salud, implementar los procedimientos/protocolos de limpieza y desinfección de manos y áreas de los hospitales que se han estandarizado en los consorcios internacionales. Pero no se debe dejar de lado la investigación en nuestro país, pues, aunque las variables que afectan el crecimiento de microorganismos (temperatura, pH, humedad) son las mismas en todos los lugares de del mundo, no lo es la población de cada país ni las cepas de cada hospital.

2.2.6 Técnicas estadísticas para el procesamiento y análisis de los resultados.

MUESTREO ALEATORIO SIMPLE PARA ESTIMAR PROPORCIONES.

Para la determinación de la efectividad del desinfectante, hipoclorito de sodio, se enfrentará a tres microorganismos en un área crítica de un hospital de nivel IV. Para calcular el tamaño de la muestra que debe recolectarse se utilizará el muestreo aleatorio simple para estimación de proporciones, ya que es útil para estudios exploratorios o descriptivos, en los cuales se conoce poco sobre el comportamiento de las variables a estudiar. (Klinger, 2006)

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2}{2} * P(1-P) \quad \text{Ec. 1}$$

Dónde:

P: Es la proporción esperada de muestras que contienen la característica de interés.

Z: Es el valor de Z de la distribución normal para el nivel de confiabilidad determinado

e: Es el grado de error (distancia máxima que se está dispuesto a soportar entre el estimador y el parámetro real), que para el caso de muestra con proporciones debe ser menor a 0.1

2.2.7 Inferencia estadística para determinación de los Intervalos de confianza

Cuando se realiza una medición puntual de una muestra para entender el comportamiento o característica de una población se debe tener en cuenta que, al ser una medición estadística, los resultados obtenidos no se pueden establecer como un valor fijo y con margen de error. Así pues, se hace importante establecer que margen de oscilación llegarían a tener los resultados si se repitiese el experimento, a través de los intervalos de confianza. Cuando los intervalos de confianza adquieren valores extremos, que se acercan a cero y cien, la metodología tradicional para calcular los intervalos de confianza presenta inconvenientes. En estos casos se puede utilizar la metodología propuesta por

Agresti y Caffo que consiste en sumar al tamaño de muestra dos éxitos y dos fracasos y de igual forma añadir dos al número de éxitos de la experimentación.

$$\mathbf{ICAC}(\mathbf{p}) := \left(\tilde{P} - Z_{1-\frac{\alpha}{2}} * \sqrt{\tilde{P} * (1 - \tilde{P}) / \tilde{n}} , \tilde{P} + Z_{1-\alpha/2} * \sqrt{\tilde{P} * (1 - \tilde{P}) / \tilde{n}} \right)$$

Ec 2.

Dónde:

n: Es el tamaño de muestra

X: Es el número de éxitos obtenidos

$$\tilde{n} = n + 4$$

$$\tilde{p} = \frac{\tilde{X}}{\tilde{n}}$$

$$\tilde{X} = X + 2$$

3. Objetivos

2.3.1 Objetivo general

A partir de las pruebas de evaluación del desinfectante hospitalario hipoclorito de sodio, se espera para junio del 2017, generar información útil que contribuya a determinar la efectividad de los procesos de saneamiento que realizan las instituciones prestadoras de servicios salud en la ciudad de Cali.

2.3.2 Objetivos específicos

1. Evaluar la efectividad del hipoclorito de sodio para el saneamiento de equipos y áreas críticas de una institución hospitalaria.
2. Establecer la Concentración Mínima Inhibitoria del hipoclorito de sodio para las cepas de referencia
3. Aplicar los métodos de prueba y requisitos de la Norma técnica colombiana (NTC) 5150 como criterio de validación de la efectividad del desinfectante evaluado.

4. Metodología propuesta

El desarrollo experimental de este trabajo se dividió en 3 fases o etapas, la determinación de la CMI, la evaluación de la norma técnica 5150 y finalmente la determinación de la efectividad del hipoclorito de sodio, además el diseño experimental acompañado de su respectivo análisis estadístico fue transversal a lo largo de los 3 procedimientos ya que se usó para la determinación del número de muestras y la interpretación los resultados expresados en conjunto con el establecimiento de intervalos de confianza.

4.1 Determinación de la CMI del hipoclorito de sodio

Este procedimiento requirió la preparación de los medios diluyentes, los microorganismos de prueba y el tratamiento de las muestras.

Preparación de los reactivos y medios de cultivo

Solución 1: Primero se preparó 1L de una solución buffer fosfato pH 7,2 con 35g (aprox) de fosfato monobásico disueltos 1L de agua destilada. Se tomó una alícuota de la solución anterior de 1,25 mL y se llevó a 1L de agua destilada.

Solución 2: A 1L de agua destilada fueron adicionados 50g de fenol para obtener una solución al 5% p/v. Esta fue la solución estándar frente a la cual se comparó el desinfectante de prueba.

Solución No1 MacFarland: Se preparó con 0,1 mL de BaCl₂ al 1% y 9,9mL de H₂SO₄ al 1%. Sirvió para tener una idea de la turbidez que generan 300x10⁶ unidades formadoras de colonia (UFC)/mL.

Para la Preparación de los medios de cultivo Caldo de tripticasa de Soya y agar Tripticasa de Soya, se realizó según las instrucciones encontradas en la etiqueta de cada medio.

Preparación de los microorganismos

Los microorganismos que se utilizaron para la determinación de la CMI y las otras dos fases del proyecto fueron *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, cepas estándares de referencia, sometidos previamente a un crecimiento en caldo tripticasa de Soya por 24 horas a 25°C.

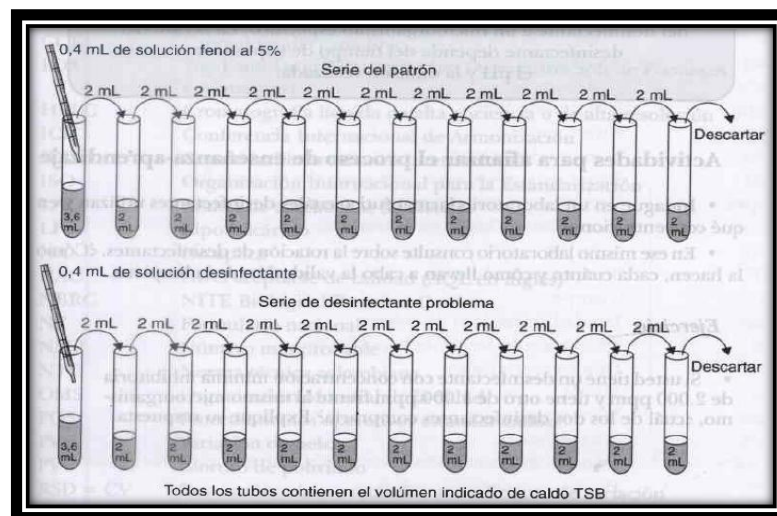
Se prepararon inicialmente soluciones principales con los microorganismos que fueron incubados, tomando aproximadamente 4 colonias aisladas con una espátula estéril y adicionándolas en un tubo de ensayo con 9 mL de buffer fosfato pH 7,2. Esta solución se comparó con el Tubo que contenía la solución No1 de Macfarland y fue ajustada la concentración/turbidez adicionando más inóculo o buffer fosfato pH 7,2 si estaba muy diluida o muy concentrada respectivamente.

Con las soluciones primarias de cada microorganismo preparadas, se realizaron diluciones secundarias para llevar a cabo el procedimiento, estas diluciones debían tener una concentración de 1×10^{-3} UFC. Fueron elaboradas de la siguiente forma: se tomó una alícuota de la solución principal y se diluyó en 9 mL de buffer fosfato pH 7,2, este se rotuló como el tubo 10^{-1} . Del tubo de ensayo anterior repetir el procedimiento con la alícuota de 1 mL para obtener la siguiente concentración. En otras palabras, consistió en realizar la dilución sucesiva del microorganismo hasta obtener la concentración deseada. Al igual que con las diluciones primarias, este procedimiento se repitió para cada microorganismo evaluado.

Tratamiento de las muestras

En una gradilla se ubicaron 12 tubos de ensayo debidamente rotulados con los No. 1-12, en el primer tubo fue adicionado 3,6 mL de caldo tripticasa de soya y 2,0 mL del mismo en los tubos restantes. Se agregó 0,4 mL del desinfectante en estudio (hipoclorito de sodio) en el primer tubo de ensayo y se mezcló muy bien. Con el primer tubo ya listo se transfirieron 2 mL al tubo No 2. Éste paso se repitió del No.2 al No.3 y así sucesivamente hasta que los 12 tubos de ensayo tuvieron 2 mL del tubo anterior. Los 2 mL finales que se obtuvieron del tubo 12 fueron descartados. (Ver **Ilustración.1**). Por último se adicionó, en cada tubo de ensayo, 1 mL del microorganismo de concentración 1×10^{-3} y se incubó a 35°C por 48 horas.

NOTA: El método anteriormente descrito se repitió para cada microorganismo de la prueba y en paralelo con la solución de fenol al 5%, en vez del producto desinfectante, con cada microorganismo para obtener el estándar frente al cual se compararon los resultados.



Diluciones para el Método de Ensayo aplicado a Desinfectantes (Olarte & Valderrma, 2012)

4.2 Evaluación de la efectividad del desinfectante

Recolección y determinación del tamaño de la muestra

Resolviendo la Ecuación 1. Con una proporción esperada de 0.005, un grado de error de 0.02 y un nivel α de confiabilidad 95.8%. Se obtuvo que el tamaño de muestra requerido era de 64.

La recolección de las muestras (64) se realizó justo después de que el personal de la institución llevó a cabo el procedimiento de limpieza para que los resultados reflejaran la calidad del proceso y así evitar errores asociados a contaminación posterior por parte de los operarios del área de central de mezclas.

Procedimiento experimental

Lo primero que se hizo fue una identificación de las superficies de mayor contacto con el personal, pues estas son las que poseen una mayor probabilidad de transmitir la contaminación microbiológica al personal o viceversa. Después, empleando una plantilla estéril de 25 x 25 cm y un hisopo estéril (previamente humedecido en caldo Casoy) se tomó la muestra en la totalidad del área delimitada, asegurándose de no repasar sobre zonas que ya había recorrido el hisopo. El hisopo con que se muestreó se introdujo en un tubo de ensayo con 9mL de caldo Casoy y se incubó por 30 minutos a 35°C.

Siembra en profundidad

Con la muestra previamente incubada se dispuso 1 mL en una caja Petri, se adicionaron 15 mL del medio de Agar Casoy y se incubó la muestra a 35°C por un periodo entre 48 a 72 h. Se repitió el procedimiento con Agar Sabouraud y se leyeron los resultados a las 72 horas de incubación. Se tuvo especial precaución para no adicionar los medios de cultivo a temperaturas muy altas pues de ésta forma hubiese sido posible generar falsos negativos en los resultados por una muerte de los microorganismos a causa de la elevada temperatura.

El procedimiento de siembra en profundidad se realizó con el propósito de asegurarse de que cualquier unidad formadora de colonia que creciera proviniera de la muestra y no del medio ambiente al momento de realizar el procedimiento.

4.3 Evaluación de la actividad bactericida básica NTC 5150

Esta prueba especifica un método y los requisitos mínimos para verificar la actividad bactericida de los antisépticos y desinfectantes químicos. La prueba se realizó con dos microorganismos *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus Aureus* cepas que se encontraban a disponibilidad en la universidad ICESI.

Cultivos de trabajo

Cultivos de trabajo de los organismos de prueba: Se subcultivó a partir de un cultivo de primera generación, mediante siembra sobre medio TSA fundido en rampa y se incubó a 36°C por un tiempo comprendido entre 18-24h. Se repitió el procedimiento a partir del primer subcultivo para obtener el segundo. En caso de que un subcultivo no pudiese realizarse en el día posterior se podía realizar con un subcultivo de máximo 48, siempre y hubiera permanecido la totalidad del tiempo en la incubadora.

Suspensiones bacterianas

Se tomaron 10 mL del diluyente y se depositaron en un matraz de 100mL con 5g de perlas de vidrio. Se transfirió un par de asadas de células desde los cultivos de trabajo al diluyente, se suspendieron y se agitó el matraz por 3 minutos. La suspensión sobrenadante fue retirada y transferida a otro tubo, posteriormente se ajustó el número de células a un valor entre $1,5 \times 10^8$ UFC/mL y 5×10^8 UFC/mL utilizando el diluyente. La estimación de este valor fue realizada con el método de turbidez de Mcfarland. Se sometió esta suspensión a un baño de agua a 20°C +/- 1°C y se utilizó antes de 2h.

Soluciones del producto sometido a prueba

Las soluciones del producto sometido a prueba deben ser recientemente preparadas y utilizadas durante un periodo de tiempo no superior a un día de trabajo. Deben prepararse al menos tres diluciones de diferente concentración para incluir dos en el intervalo activo. Las concentraciones deben disminuir en una progresión geométrica en un factor de al menos 2 (doblando el coeficiente de dilución). La concentración de la solución del producto que se probará debe ser 1,25 veces la concentración de prueba requerida.

Recuento de las suspensiones bacterianas.

A partir de las suspensiones preparadas anteriormente se realizaron diluciones 10^{-6} y 10^{-7} utilizando el diluyente. Se tomó una muestra de 1,0 mL de cada dilución por duplicado y se transfirió cada muestra a las placas Petri y se sembró en profundidad con TSA fundido enfriado a una temperatura de 45°C aproximadamente para evitar falsos negativos en el recuento a causa de una muerte de microorganismos generada por la elevada temperatura del medio de cultivo.

Las placas fueron incubadas a 36°C +/- 1° por 24h. Se descartó cualquier placa que no permitía el recuento (debido a cualquier razón) y finalmente se procedió a realizar el conteo de unidades formadoras de colonia por placa. De nuevo se incubaron las cajas Petri por 24 y no se tuvieron en cuenta las placas en las cuales las colonias no se puedan contar por no estar bien separadas. Se determinó el número más alto de colonias para cada muestra de 1,0 mL y como último paso se calculó el número de ufc/mL en la suspensión de prueba.

**Procedimiento de prueba para verificar la actividad bactericida del producto.
Método de filtración por membrana.**

Se midió con ayuda de una pipeta 8,0 mL una de las soluciones del producto a someter la prueba y se añadió 1,0 mL de agua y 1,0 mL de una de las suspensiones bacterianas de la prueba que contenía entre $1,5 \times 10^8$ y 5×10^8 , se inició el cronómetro, se mezcló y se colocó en un recipiente en un baño de agua controlado a $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ$. La actividad del Hipoclorito de Sodio se determinó en un tiempo de contacto de 1 min y 5 min, pues los tiempos que tiene el desinfectante para actuar en los procedimientos estándares de limpieza de los oscila entre 30 segundos a dos minutos aproximadamente.

Justo antes de que el tiempo de contacto seleccionado finalizara, se agitó. Cuando el tiempo terminó se tomaron dos muestras de 0,1 mL de la mezcla de prueba y se transfirió cada muestra a los respectivos aparatos de filtración equipados con la membrana esterilizante de $0,2 \mu\text{m}$ y un contenido de 50 mL del líquido de aclarado. Se filtró de inmediato y se tuvo especial precaución con que el tiempo de filtración no superara 1 min. El volumen que se utilizó para aclarar fue de 150 mL. Y Finalmente se colocaron las membranas en la superficie de las respectivas placas de medio TSA (asegurándose que las bacterias estuvieran hacia la cara superior de la membrana cuando se ubicaron sobre el medio TSA).

Recuento de la mezcla de prueba

Se incubaron las placas a $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ$ por 24h. Se descartó cualquier placa que no fuera viable el recuento (debido a cualquier razón) y finalmente se procedió a realizar el conteo de unidades formadoras de colonia por placa. De nuevo se incubaron las cajas Petri por 24h y no se realiza el recuento en aquellas placas en las cuales las colonias, por su crecimiento excesivo no hará posible discriminar una de otra. Se determinó el número más alto de colonias para cada muestra de 1,0 mL y como último paso se calcula el número de UFC/mL en la suspensión de prueba.

4.3 Resultados

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en cada una de las fases establecidas en el proyecto de investigación. Primero la determinación de la CMI del hipoclorito de sodio como desinfectante, seguido por los resultados de la evaluación de la efectividad del hipoclorito de sodio y finalmente la evaluación de la actividad bactericida básica del desinfectante bajo los criterios de la NTC 5150.

4.4.1 Determinación de la CMI del hipoclorito de sodio

En las tabla 1, 2, 3 y 4 se presentan, respectivamente los resultados obtenidos en la prueba de determinación de la CM del hipoclorito de sodio para los microorganismos de prueba. Donde se buscaba determinar y comparar la concentración a la cual el hipoclorito de sodio inhibe el crecimiento frente a una solución de fenol al 5%. Se realizó cada ensayo de las soluciones bactericidas por triplicado para garantizar el mínimo estadístico que asegura la reproducibilidad experimental

Tabla 1 Concentración mínima inhibitoria, ensayo de Fenol 5% contra P. aeruginosa

Fenol 5%-Pseudo	N° De tubo											
Ensayo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
3	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+

Presenta crecimiento bacteriano (+); no presenta crecimiento bacteriano (-)

Ilustración 1 Fenol 5% contra *P. aeruginosa*

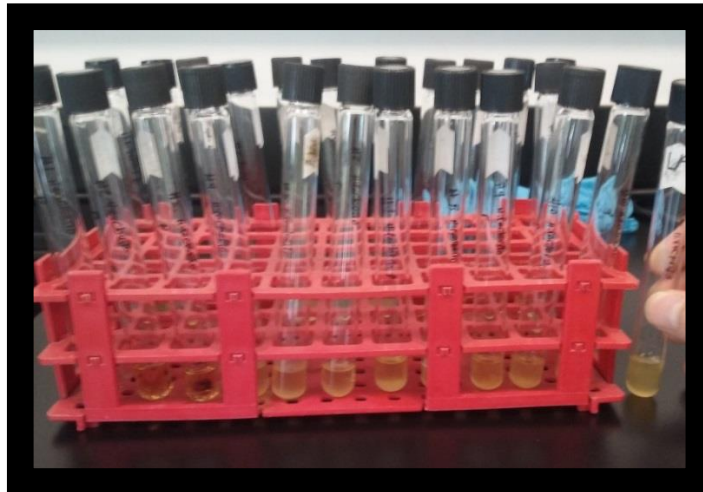


Tabla 2 Concentración mínima inhibitoria, ensayo de Fenol 5% contra *S. aureus*

Fenol 5%-Staph	N° De tubo											
Ensayo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Presenta crecimiento bacteriano (+); no presenta crecimiento bacteriano (-)

Ilustración 2 Fenol 5% contra S. aureus



Tabla 3 Concentración mínima inhibitoria, ensayo de Hipoclorito de Sodio 2,5% contra P. aeruginosa

Hipo 2.5%-Pseu	N° De tubo											
Ensayo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
2	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
3	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

Presenta crecimiento bacteriano (+); no presenta crecimiento bacteriano (-)

Ilustración 3 Hipoclorito de Sodio 2,5% contra P. aeruginosa

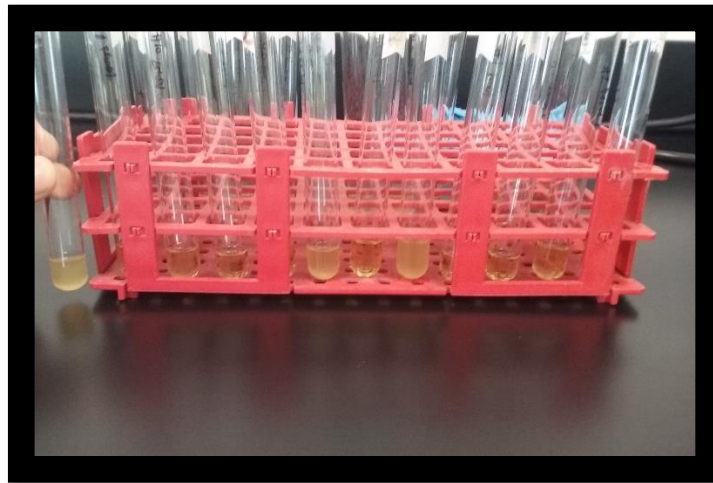


Tabla 4 Concentración mínima inhibitoria, ensayo de Hipoclorito de sodio 2,5% contra S. aureus

Hipo 2.5%- Staph	N° De tubo											
Ensayo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
3	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

Presenta crecimiento bacteriano (+); no presenta crecimiento bacteriano (-)

Ilustración 4 Hipoclorito de Sodio 2,5% contra S. aureus



Los resultados presentados anteriormente son de tipo cualitativo, pues el criterio no era la cantidad de colonias o bacterias presentes en la muestra, sino la concentración a la cual el crecimiento se ve detenido inhibido en su totalidad

Para determinar la CMI se utilizó el método de diluciones consecutivas y para conocer las concentraciones iniciales de cada tubo se emplearon las dos ecuaciones que se presentan a continuación:

$$\text{CONCENTRACION INICIAL DEL DESINFECTANTE : } \frac{\text{cantidad en gramos de desinfectante}}{100 \text{ ml de solvente}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} \quad \text{Ec. 3}$$

$$\text{concentracion inicial de fenol: } \frac{5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = 50000 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

Con las concentraciones iniciales de Fenol e hipoclorito establecidas en 5 y 2,5% respectivamente se transfiere una alícuota de 2mL de cada tubo al siguiente, es decir, el volumen equivalente a la mitad del volumen inicial y se recalculan con la Ecuación 4:

$$V_1 C_1 = V_2 C_2 \quad \text{Ec. 4}$$

$$2,0 \text{ ml} \times 50000 \frac{\text{mg}}{\text{L}} = 4 \text{ ml} \times C_2$$

$$25000 \frac{\text{mg}}{\text{L}} = C_2$$

Tabla 5 Comparación CMI de Fenol 5% e Hipoclorito de Sodio 2,5% para cada microorganismo

	Cantidad (mg/L)	CMI (%P/V)
Fenol- <i>P. aeruginosa</i>	62500	0,625
Hipoclorito de sodio- <i>P. aeruginosa</i>	7812,5	0,078125
Fenol- <i>S. aureus</i>	125000	1,25
Hipoclorito de sodio- <i>S. aureus</i>	15625	0,15625

Cabe resaltar que el procedimiento se realizó bajo las medidas higiénicas necesarios y en las condiciones asépticas requeridas para garantizar la idoneidad de los resultados, evitando con ello falsos positivos o contaminación producida por prácticas microbiológicas inadecuadas del experimentador.

4.4.2 Evaluación de la efectividad del desinfectante Hipoclorito de sodio como desinfectante hospitalario

Los resultados de ésta fase de la investigación se obtuvieron tras recolectar 64 muestras de las superficies de mayor contacto en el área de preparaciones farmacéuticas de una entidad hospitalaria de IV nivel de complejidad en las cuales se llevan a cabo algunos de los procesos más importantes del hospital. A los resultados obtenidos a partir de las placas incubadas durante 48 y 72 horas se les aplicó un tratamiento estadístico inferencial, que se explicará a detalle más

adelante, el cual permitió establecer los límites de intervalo. El resumen de frecuencia de UFC halladas en agar Sabouraud y Casoy se presenta en las Tablas 6 y 7 respectivamente.

Tabla 6 Resultados de UFC para Agar Sabouraud

Agar Sabouraud - Hipoclorito de sodio		
Número de UFC	48 horas	72 horas
0	64	0
2	0	1
4	0	1
5	0	1
10	0	0
>50	0	0
TOTAL	64	64

Tabla 7 Resultados de UFC para Agar Casoy

Agar Casoy - Hipoclorito de sodio		
Número de UFC	48 horas	72 horas
0	60	60
1	2	2
2	1	1
4	1	1
11	0	0
>50	0	0
TOTAL	64	64

Dentro de la metodología se estableció como condición que la presencia de un número superior a 50 UFC en alguna de las placas incubadas tras el muestreo, representaría la ineficacia del Hipoclorito de sodio como desinfectante hospitalario, el límite se estableció de acuerdo a los resultados obtenidos por Gallego 2015 en base a la investigación estadística que realizó y los criterios de la norma técnica colombiana 2455. Como se puede observar, en ninguno de los dos casos (Agar Casoy ni Sabouraud) las UFC superaron un valor de 15

La evaluación de la efectividad se realizó a través de un muestreo aleatorio simple porque la población de estudio tiene un tamaño desconocido y características muy variadas entre sus componentes además de que no se conoce un marco que describa un comportamiento determinado, lo que imposibilita el uso de un muestreo estratificado o muestreo aleatorio sistemático. Entonces para tener una idea más precisa de la proporción real de microorganismos se establecieron los intervalos de confianza que se presentan en las Tablas 8 y 9.

Tabla 8 Determinación de intervalos de confianza para la muestras de Agar Casoy

Agar Casoy	Hipoclorito de Sodio	
	48 Horas	72 Horas
Tamaño de muestra, n = 64	0	0
Número de Muestras con más de 50 UFC, X	0	0
Límite Inferior del Intervalo	0	0
Límite Superior del Intervalo	0,001209	0,001209

Tabla 9 Determinación de intervalos de confianza para las muestras de Agar Sabouraud

Agar Sabouraud	Hipoclorito de Sodio	
	48 Horas	72 Horas
Tamaño de muestra, n = 64	0	0
Número de Muestras con más de 50 UFC, X	0	0
Límite Inferior del Intervalo	0	0
Límite Superior del Intervalo	0,001209	0,001209

De lo anterior se puede interpretar que para un nivel de confianza del 95%, el porcentaje real de UFC que se pueden encontrar a 48 horas y 72 horas está entre 0,00% y 0,12% para bacterias y hongos. A pesar de que los intervalos de confianza adquieren valores iguales, pues la cantidad de éxitos (valores por encima de 50 UFC) fue cero en todos los casos, es de mayor relevancia el valor de las 72 horas pues si se interpretara solo la incubación tras dos días, se podría asumir erróneamente un porcentaje inferior al real ya que los microorganismos pueden tardar un poco más en aparecer en la placa según su tasa de crecimiento.

Al resolver la ecuación 2 con el método de Agresti y Caffo los límites inferiores adquieren valores negativos, pero en éste caso no tiene un sentido físico ya que el valor cero representa la ausencia total de microorganismo y un valor inferior significaría que hay menos que ninguna, lo cual es ilógico y deja a los valores negativos por fuera de interpretación, en este orden de ideas se asume que 0 es el límite inferior para todos los intervalos de confianza.

4.4.3 Evaluación de la actividad bactericida básica NTC 5150

En ésta etapa de la experimentación se evaluó el tiempo de contacto que requiere el desinfectante hipoclorito de sodio con las bacterias *P. aeruginosa* y *S. aureus* para lograr el efecto de desinfección con tres concentraciones dentro del espectro de acción determinado en la primera fase, a continuación se muestran los ensayos realizados por triplicado y el reporte de UFC en los tiempos de 1 minuto y 5 minutos, tiempos que fueron escogidos dentro de las opciones que establece la metodología debido a que en los procesos de limpieza y desinfección con el hipoclorito de sodio que se llevan a cabo en la institución hospitalaria, el desinfectante tienen un tiempo de acción de un minuto y treinta segundos aproximadamente para ejercer sus mecanismos de desinfección. El tiempo es muy corto ya que en los hospitales existen dos factores que limitan el tiempo de los procesos de desinfección. Primero es el fuerte poder oxidativo que tiene el desinfectante dentro de sus propiedades químicas, lo que puede ocasionar un deterioro en las superficies en las que se aplica y segundo, que los procedimientos que se desarrollan en un hospital en la mayoría de los casos no pueden permitirse darle un tiempo extenso a los productos de limpieza porque una diferencia de algunos minutos puede representar la diferencia entre la vida y la muerte para los pacientes.

Tabla 10 Concentraciones de hipoclorito de sodio frente a *P. aeruginosa* para dos tiempos de contacto

<i>P. aeruginosa</i>		
Tiempo de contacto	1 min	5 min
Hipoclorito 2,5%	0 UFC	0 UFC
Hipoclorito 2,5%	0 UFC	0 UFC
Hipoclorito 2,5%	0 UFC	0 UFC
Hipoclorito 0,625%	0 UFC	0 UFC
Hipoclorito 0,625%	0 UFC	0 UFC
Hipoclorito 0,625%	0 UFC	0 UFC
Hipoclorito dilución 0,16%	2 UFC	0 UFC
Hipoclorito dilución 0,16%	5 UFC	0 UFC
Hipoclorito dilución 0,16%	1 UFC	0 UFC

Tabla 11 Concentraciones de hipoclorito de sodio frente a *S. aureus* para dos tiempos de contacto

<i>S. aureus</i>		
Tiempo	1 min	5 min
Hipoclorito 2,5%	0 UFC	0 UFC
Hipoclorito 2,5%	0 UFC	0 UFC
Hipoclorito 2,5%	0 UFC	0 UFC
Hipoclorito 0,625%	0 UFC	0 UFC
Hipoclorito 0,625%	0 UFC	0 UFC
Hipoclorito 0,625%	0 UFC	0 UFC
Hipoclorito dilución 0,16%	1UFC	0 UFC
Hipoclorito dilución 0,16%	0UFC	0 UFC
Hipoclorito dilución 0,16%	2UFC	0 UFC

Según lo establece la *Norma técnica Colombiana 5150* para poder realizar la determinación de la cantidad de UFC se requieren al menos dos placas incubadas de la misma muestra (razón por la cual se midieron los tiempos por triplicado) y deben encontrarse un número de unidades formadoras de colonias entre 15 a 300 por placa para efectuar los cálculos que prueben la actividad bactericida básica.

5. DISCUSION

5.1 Determinación de CMI para Hipoclorito de Sodio

Primero es pertinente resaltar la importancia de que éste tipo de pruebas las realicen las empresas que desarrollan e investigan nuevos productos de limpieza y desinfección pues les permiten establecer la efectividad que tienen sus nuevos productos y si presentan una viabilidad en la relación costo/beneficio. No obstante las pruebas que determinan la capacidad bactericida de los productos emergentes de limpieza deben ser acompañadas por pruebas de toxicidad en modelos animales, y de ser posible en humanos, que garanticen la inocuidad del producto en la salud de las personas. Porque el personal que se encargue de fabricarlo a niveles industriales y aquél que lo utilice en su hogar u oficina se verá expuesto continuamente al producto y su calidad de vida puede verse afectada por problemas de salud a largo plazo. Por ejemplo enfisemas u otras enfermedades pulmonares crónicas obstructivas.

La determinación de la concentración mínima inhibitoria del hipoclorito de sodio se establece a través de un criterio cualitativo, a través de una característica o

propiedad que es fácilmente observable, la presencia o ausencia de turbidez en el medio de cultivo, que indica crecimiento del microorganismos o la inhibición del mismo respectivamente, en otras palabras, si las muestras se ven translucidas el desinfectante está inhibiendo el crecimiento reproducción del inóculo que fue añadido en la muestra.

Debido a que la turbidez no es un factor altamente preciso, pues su carácter cualitativo está sujeto a la interpretación del experimentador, es muy importante identificar desde el inicio, para tener especial cuidado, las fuentes de contaminación que puedan estar presentes a lo largo del proceso. De ésta forma tomar las medidas de precaución adecuadas para reducir al mínimo posible los errores que puedan afectar el resultado. Por consiguiente ésta fase del proyecto se realizó con las medidas de protección personal necesarias (guantes, tapabocas, cofia) y se llevó a cabo en la cabina de flujo laminar, entonces se puede asumir que todos los tubos de ensayo contenían la misma cantidad de inóculo proveniente del cultivo primario como única fuente de microorganismo.

La NTC 2455 “Desinfectantes; Limpiadores líquidos” establece que la concentración mínima inhibitoria de un desinfectante debe ser igual o menor (\leq) que la del Fenol al 5% para que se considere como eficaz contra un microorganismo determinado, para el caso del presente trabajo de investigación sería ≤ 62500 mg/L para *Pseudomona aeruginosa* y ≤ 125000 mg/L para *Staphylococcus aureus*. Los resultados para el producto de estudio arrojaron concentraciones de 7812 mg/L y 15625 mg/L para las respectivas cepas. Demostrando así, que el Hipoclorito de Sodio es efectivo a las concentraciones usualmente utilizadas a nivel hospitalario y las que se pueden adquirir en las presentaciones comerciales más comunes.

5.2 Evaluación de la actividad bactericida básica NTC 5150 como método de prueba para la variable “Tiempo de contacto”

Este proyecto hace parte de una línea investigativa que se desarrolló en la Universidad ICESI desde el año 2015 con los primeros trabajos de dos estudiantes del programa de Química Farmacéutica. La información que se obtuvo en dichos trabajos fue conocer la CMI de otros productos desinfectantes de uso comercial y clínico y la respectiva evaluación de su efectividad con una metodología similar a la que en éste trabajo se propone pero con ciertas diferencias. Los primeros resultados fueron satisfactorios y permitieron dar un primer diagnóstico del comportamiento de los microorganismos en una entidad hospitalaria de alta complejidad.

Sin embargo, no se tuvo en cuenta el tiempo de contacto que necesitaban dichos desinfectantes para ejercer su actividad bactericida y/o esporicida y/o germicida, lo cual es muy importante si se piensa que los procedimientos de saneamiento en las

clínicas, y en general en cualquier institución, tienen una duración muy corta en el proceso clásico de mojar, aplicar producto y enjuagar, Razón por la cual hace que surja una variable más como criterio para la elección del desinfectante ideal, el “Tiempo de contacto”. Pues no sería nada práctico un bactericida que necesite de largos periodos de tiempo para desarrollar su mecanismo de acción.

Debido a esto se tomó la norma técnica colombiana 5150 como referencia para determinar si el Hipoclorito de Sodio, a tres diferentes concentraciones, era capaz de eliminar los microorganismos en los menores tiempos que establece la norma. Para ésta prueba la norma sugiere que se prueben tres concentraciones de las cuales al menos 2 se encuentren dentro del rango efectivo del desinfectante, por lo cual se escogió Hipoclorito de sodio al 2,5%; 0,625% y 0,16% en %p/v según los resultados obtenidos en la determinación de la CMI de la primera fase del proyecto. Las tres concentraciones que se evaluaron en ésta fase del proyecto se encuentran dentro del rango que se estableció con los resultados de la determinación del CMI y adicionalmente se sustentó el uso de hipoclorito de sodio en la prueba a concentraciones entre 2,5% y 0,2% por los resultados obtenidos a partir de las investigaciones realizados por Sánchez et. al 2009 y León y colaboradores 2002 en sus respectivos trabajos de investigación y finalmente la concentración más baja (0,16%) se evaluó con el objetivo de indagar si a concentraciones incluso menores que el rango establecido el hipoclorito de sodio continuaba presentando su efecto biocida.

Las concentraciones mínimas inhibitorias que se encontraron para el hipoclorito de sodio enfrentado a cada microorganismo de prueba se reporta en la Tabla 5. Éstas concentraciones (7812,5 para *P. aeruginosa* y 15625 para *S. aureus*) fueron la únicas que presentaron crecimiento de patógenos en la prueba que evalúa el tiempo de contacto como criterio de la efectividad del hipoclorito de sodio. No obstante, no es un resultado alarmante pues esa concentración está más de aproximadamente diez veces por debajo de la concentración empleada para la desinfección de las áreas en el hospital. Pero se debe tener en cuenta que en la determinación de la CMI el hipoclorito de sodio ejerce actividad oxidante a lo largo de las 48 horas de incubación y aunque demuestra su capacidad de eliminar los microorganismos no genera información detallada de cuánto tiempo le toma acabar con las bacterias iniciales ni cuanto detener su reproducción. Por ésta razón toma importancia la determinación de la actividad bactericida en tiempos establecidos (1 min y 5 min) y se puede resaltar la capacidad que tiene el hipoclorito de sodio para eliminar las bacterias en periodos muy cortos de tiempo. Ésta capacidad le proporciona al desinfectante evaluado un valor agregado frente a otros productos biocidas que requieren de procedimientos de sanitización por tiempos prolongados, lo que los hace menos eficientes frente al hipoclorito de sodio.

5.3 Evaluación de la efectividad del desinfectante Hipoclorito de sodio como desinfectante hospitalario

En un proyecto de grado anterior realizado en la universidad ICESI en el año 2015 se evaluaron de forma similar dos desinfectantes empleados en un hospital de igual nivel de complejidad. En ese momento se determinó que el tamaño de muestra sería $n=102$ pues la proporción de éxitos esperados se estimó en 0.01 (Gallego, 2015). Analizando los resultados de dicha investigación se determinó que la proporción de éxitos esperados (entiéndase como éxito una placa con un número de UFC mayor a 50) para la efectividad del Hipoclorito de sodio podía reducirse a un 0.005, razón por la cual se logró disminuir la cantidad de muestras a 64 por cada medio de cultivo. Cuando se planteó el proyecto se esperaba tener acceso a algún área crítica del hospital como el quirófano o la unidad de cuidados intensivos UCI, ya que en ocasiones en ésta unidad se realizan procedimientos quirúrgicos menores e igualmente porque en éste lugar los pacientes están más predispuestos a adquirir una infección por microorganismos resistentes debido a su estado de inmunosupresión. No obstante la institución hospitalaria presentó inconvenientes con el acceso a estos lugares por ser de paso restringido y con el fin de garantizar la salud de los pacientes como prioridad.

Por lo anterior, las 64 muestras se recolectaron en el área de la farmacia hospitalaria, central de mezclas - sección de control de calidad y empaque, que fueron determinados como los puntos de mayor riesgo de contaminación y contacto del personal por los procesos que allí se efectúan. Las muestras se obtuvieron a través de hisopados estériles en áreas de 25cm x 25 cm tras la limpieza llevada a cabo por el personal e incubadas por 3 días con lecturas del crecimiento a las 48 y 72 horas. En las muestras más del 90% de los resultados indicaron un valor de cero UFC en los medios de cultivo y ninguna superó el valor de 50 UFC como valor indicativo de la efectividad del desinfectante como se muestra en las Tablas 6 y 7. A pesar que en algunas de los casos si se encontró cierto crecimiento de microorganismos la cantidad puede considerarse despreciable y no logra desestimar la efectividad del producto en estudio.

En un principio se planeó que el muestreo se dividiera en dos partes, antes del proceso de limpieza por el personal del hospital y después del mismo para así tener un panorama más claro de la reducción que generaba el desinfectante en términos de porcentaje de eliminación de la carga bacteriana inicial, pero con los resultados parciales de las fases uno y dos del proyecto (Determinación CMI y Tiempo de Contacto) y los resultados obtenidos por León en el 2002, donde se evaluaron micobacterias altamente patógenas y la capacidad del hipoclorito de sodio 0,2% p/v para eliminarlas. Se determinó que no era necesario porque la actividad bactericida era muy eficiente bajo las condiciones que se emplean en el proceso de sanitización estandarizado por la institución; En base a éstos resultados se determinó que el desinfectante era capaz de realizar una

disminución de hasta ocho logaritmos, lo cual es un valor considerable. Además, cuando se realizó el muestreo en la central de mezclas el hipoclorito de sodio se estaba usando siete días atrás. En este orden de ideas, los únicos microorganismos que estarían presentes en un muestreo pre-desinfección serían aquellos que tuvieran una resistencia adquirida al hipoclorito y se habrían encontrado presentes en las 64 muestras tomadas. Pero no fue así, los resultados fueron satisfactorios y estuvieron alineados con la suposición de solo realizar un muestreo post-desinfección con lo cual se optimizó el tiempo y los recursos de la investigación.

Los medios de cultivo que se emplearon en ésta evaluación fueron agar Casoy y agar Sabouraud. El agar Casoy es un medio de cultivo universal que carece de indicadores o capacidad selectiva de microorganismos, capaz de sustentar microorganismos aerobios y anaerobios en un ambiente osmóticamente equilibrado; Por otro lado el agar Sabouraud se emplea como medio de crecimiento para hongos dermatofitos y levaduras debido a su pH ligeramente ácido (5.6) los hongos están en un ambiente ideal para crecer y reproducirse (DIBICO S.A., 2017).

Una vez se obtuvieron la totalidad de las muestras encontradas, se realizó un análisis estadístico de los datos bajo un proceso inferencial, con el fin de determinar los límites de los intervalos de confianza que permitieran establecer un margen de movimiento u oscilación de los resultados, pues toda medición tiene asociado un valor de incertidumbre o error implícito a causa de varios factores que intervienen en la experimentación (Universidad de Sonora. Departamento de Física, 2017). Los intervalos de confianza se calcula a partir del tamaño de muestra y el número de éxitos encontrados en la misma siempre y cuando el número de éxitos no adquiera valores extremos muy cercanos a 0% o al 100%, como el caso de las 64 muestras tiende a presentar 0 en el porcentaje de éxitos fue necesario utilizar una ecuación que se ajustara a los requerimientos, propuesta por Agresti y Caffo, Ecuación 2 (Zhang & Gutiérrez, 2010). La cual consiste en hacer una modificación en la formula y añadir 2 éxitos y dos fracasos, para no alterar la proporción y de ésta forma poder encontrar límites de confianza más consistentes. De ésta forma, al aplicar la ecuación dos para la efectividad del Hipoclorito de Sodio, se determinó que se el experimento se repitiera en condiciones similares y bajo los mismos parámetros experimentales, existiría una posibilidad de encontrar muestras, con valores sobre 50 UFC, del 0,00 a ,012%, lo que reafirma la determinación de la efectividad del hipoclorito como desinfectante hospitalario.

Si bien es cierto que la capacidad bactericida/esporicida del hipoclorito de sodio es bien conocida en el ámbito microbiológico y su mecanismo de acción se encuentra ampliamente descrito en la literatura, se puede analizar desde otro punto de vista el hecho de que los resultados hayan sido tan buenos. Puede ser consecuencia de que la central de mezclas de los hospitales es un lugar de trabajo que posee un

ambiente controlado, el personal que desempeña su labor en ésta área usa los implementos de seguridad adecuados y finalmente es una zona de las clínicas donde, al menos en teoría, no llegan los microorganismos más difíciles de erradicar de la institución. Lo que se puede compensar con las otras dos fases de éste proyecto, pues al enfrentar al Hipoclorito con concentraciones de patógenos conocidas y en tiempos de acción muy cortos, ambas pruebas con reproducibilidad estadística, se observa claramente que si las condiciones del punto de muestreo no fueran tan exigentes en cuanto a limpieza, seguramente se obtendrían resultados comparables a los que se reportan a lo largo de ésta investigación.

Finalmente con la información obtenida en ésta experimentación se pudo determinar que el Hipoclorito de sodio tiene una actividad desinfectante amplia y que las instituciones están utilizándolo a concentraciones por encima de la mínima que se requiere para desinfectar. También, el tiempo que tiene el producto para efectuar su actividad bactericida no es un inconveniente ni obstáculo para asegurar las condiciones de limpieza que garanticen la integridad de los pacientes. Pero no se debe olvidar que el Hipoclorito de sodio debe hacer parte de un programa de rotación de productos de limpieza que aminore las probabilidades de que los microorganismos puedan adquirir mecanismos de resistencia en su contra como resultado de un uso continuo y prolongado durante el tiempo de un solo desinfectante. Con el uso del hipoclorito se puede realizar un mejoramiento de la calidad en la atención y seguridad a los pacientes a través de la disminución de las infecciones nosocomiales y las enfermedades adquiridas por el uso de dispositivos médicos (catéteres, cánulas, etc.). Sin embargo, el hipoclorito de sodio debe ser usado a concentraciones de eliminación efectivas para que pueda ejercer la alteración metabólica celular y la destrucción de los fosfolípidos de la membrana satisfactoriamente (Estrela, y otros, 2002), pues el uso inadecuado del hipoclorito (concentraciones sub-efectivas) podría generar que la alta mutación de los microorganismos y su capacidad de heredar información genética interespecies adquieran nuevos mecanismos para inhibir el efecto del desinfectante.

Como se mencionó anteriormente ésta investigación le da continuidad a dos proyectos anteriores realizados en la Universidad ICESI. En dichos proyectos se evaluaron dos desinfectantes comerciales por metodologías similares, lo que permite establecer una comparación entre el Nutral Q y Pursue con el Hipoclorito de sodio (ANEXO 2). En la comparación se observa que los desinfectantes NutralQ y Pursue tienen una concentración mínima inhibitoria menor que el hipoclorito de sodio, pero no se realizaron ensayos sobre la efectividad medida en el tiempo y se debe tener en cuenta la relación costo beneficio, ya que el Hipoclorito de sodio es un producto de bajo costo y amplia disponibilidad en el mercado, lo que lo convierte en una opción de primera mano para aquellas instituciones que no puedan afrontar un gasto demasiado elevado, pues el Pursue, por ejemplo, es aproximadamente 10 veces más costoso que las presentaciones

comerciales del hipoclorito de sodio. Y en la literatura no se reportan estudios que corroboren la efectividad de esos desinfectantes como si se reportan en trabajos de investigación en todo el mundo con el hipoclorito de sodio.

6. Conclusiones

- Se estableció que la concentración mínima inhibitoria del hipoclorito de sodio para *P. aeruginosa* y *S. aureus* es de 7812,5 mg/L y 15625mg/L respectivamente.
- Se halló, a través de la NTC 5150, que los tiempos de contacto uno y cinco minutos para el Hipoclorito de Sodio son suficientes para que realice su actividad desinfectante a concentraciones inferiores a las usadas en las instituciones hospitalarias.
- Se determinó la efectividad del Hipoclorito de sodio en su uso como desinfectante hospitalario por medio de un muestreo estadísticamente significativo.

7. Recomendaciones

Se recomienda realizar estudios a largo plazo con microorganismos expuestos a concentraciones bajas de hipoclorito de sodio para evaluar su capacidad para adquirir resistencia al hipoclorito de sodio.

Sería muy importante realizar estudios económicos para evaluar la viabilidad de las rotaciones de los desinfectantes con base en la relación costo/eliminación de microorganismos.

Las evaluaciones de la efectividad de los desinfectantes deberían estar acompañadas de pruebas de toxicidad que indiquen si es viable la producción industrial de los nuevos productos y que nos ponga en riesgo la salud de las personas por un alto poder bactericida.

8. Bibliografía

- Alvarez, C., Rosenthal, V., Olarte, N., & Villamil, W. (2006). Devie-Associated Infection rate and Mortality in Intensiver Care Units of 9 Colombian Hospitals: Findings of the international Nosocmial Infection Control Consortium. *Infection Contro and Hospital Epidemiology* , 349-355.
- Bedoya, A., O, F., & Holguín, G. (2011). *Evaluación de la Calidad de los Productos Farmacéuticos*. Medellín: Universidad de Antioquia.
- Brooks, G. R., Balel, J. S., & Morse, S. A. (2004). *Microbiología Médica*. México: El manual moderno.
- Burgos, V. (2013). *Deiagnóstico del Impacto Ambiental de uno de los servicios generales de la Universidad Icesi. Proyecto de Grado*. Cali.
- Burke, P. (2003). Infection Control- A problem for patient safety. *The new Englands journal of medicine* , 651-655.
- DIBICO S.A. (7 de Junio de 2017). *Medios de cultivo deshidratados y preparados para uso microbiológico*. Obtenido de DIBICO: www.dibico.com/fichas/1025.pdf
- Estrela, C., Estrela, C., Barbin, E., Spanó, J., Marchessan, M., & Pécora, J. (2002). Mechanism of Action of Sodium Hypochlorite. *Brazilian Dental Journal*, 113-117.
- Gallego, L. (2015). *EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE UN DESINFECTANTE DE USO HOSPITALARIO Y DE USO COMERCIAL*. Santiago de Cali.
- Gómez, C., Leal, A., Pérez, M., & Navarrete, M. (2005). Mecanismos de Resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*: entendiendo a un peligroso enemigo. *Revista de la facultad de Medicina*.
- Hugo, W. (1991). A brief histoyr of heat and chemical preservation and disinfection. *Journal of Applied Bacteriology*, 9-18.
- Klinger, R. (2006). Estadística, conceptos y Aplicaciones de los métodos de Muestreo. En E. d. Estadísitica. Universidad del Valle Programa Editorial.
- León, C., Pardo, Y., & Ramírez, C. (2002). Acción de algunos biocidas sobre las micobacterias no tuberculosas. *Biomédica* , 133-140.

- Malpica, J., Fraile, A., Moreno, I., Obies, C., Drake, J., & Garcia-Arenal, F. (2002). The Rate and Character of Spontaneous Mutation in an RNA virus. *Genetics Society of America* , 1505-15011.
- Martinez, J. (2005). Desinfección. *Medicina Veterinaria*, 11.
- Murray, P., & Faller, M. A. (2009). *Microbiología Medica*. España : Elsevier.
- Murray, P., & Faller, M. A. (2009). *Microbiología Medica*. España: Elsevier.
- Olarte, N., & Valderrma, I. (2012). Limpieza y desinfección. *Vigilancia epidemiológica*, 1-9.
- OMS. (29 de Octubre de 2016). *Centro de prensa: Organización mundial de la salud*. Obtenido de Organización mundial de la salud sitio web: <http://www.who.int/>
- Pahissa, A. (2009). *Infecciones Producidas por staphylococcus aureus*. Barcelosa : ICG MARGE.
- Rodriguez, A., Delgado, M., & Dujarric, M. (2007). Procedimientos antimicrobianos. Parte I: La desinfección en instituciones de la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*.
- Sánchez, F., Furuya, A., Arroniz, S., Gómez, A., & Gómez, L. (2009). Comparación de la actividad Bacetricida del Hipoclorito de sodio y Microcyn 60 . *Revista Odontológica Mexicana* , 9-16.
- Tenover, F. (2006). Mechanism of Antimicrobial resistance in Bacteria. *The american Journal of Medicine* , S3-S8.
- Universidad de la República, Instituto de Higiene. (2002). *Temas de Bacteriología y Virología para la CEFA*. Uruguay: Departamento de Bacteriología y virología, facultad de Medicina.
- Universidad de Sonora. Departamento de Física. (9 de Junio de 2017). *Manuales de Laboratorio*. Obtenido de Universidad de Sonora Web Site : <http://www.fisica.uson.mx/manuales/mecyfluidos/mecyflu-lab001.pdf>
- Zhang, H., & Gutiérrez, H. (2010). *Teoría Estadística: Aplicaciones y Métodos*. Bogotá D.C: Universidad Santo Tomás. Departamento de Publicaciones.

ANEXO 1

Muestreo por días

Hipoclorito de sodio (5%) control de bacterias			
DIA	PUNTOS DE MUESTREO	48 Horas	72 Horas
1	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
1	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
1	Agar Casoy área de empaque	1 UFC	1 UFC
1	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
2	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
2	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
2	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
2	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
3	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
3	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
3	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
3	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
4	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
4	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
4	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
4	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
5	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
5	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
5	Agar Casoy área de empaque	1 UFC	1 UFC
5	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
6	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
6	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
6	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC

6	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
7	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
7	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
7	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
7	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
8	Agar Casoy área control en procesos	4 UFC	4 UFC
8	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
8	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
8	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
9	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
9	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
9	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
9	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
10	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
10	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
10	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
10	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
11	Agar Casoy área control en procesos	2 UFC	2 UFC
11	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
11	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
11	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
12	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
12	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
12	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
12	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
13	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
13	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
13	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
13	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC

14	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
14	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
14	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
14	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
15	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
15	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
15	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
15	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
16	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
16	Agar Casoy área control en procesos	0 UFC	0 UFC
16	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC
16	Agar Casoy área de empaque	0 UFC	0 UFC

Hipoclorito de sodio (5) control de hongos			
DIA	PUNTOS DE MUESTREO	48 Horas	72 Horas
1	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
1	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
1	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
1	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
2	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
2	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
2	Sabouraud área empaque	0 UFC	5 UFC
2	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
3	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
3	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
3	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
3	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
4	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
4	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
4	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
4	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC

5	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
5	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
5	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
5	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
6	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
6	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
6	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
6	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
7	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
7	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
7	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
7	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
8	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
8	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
8	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
8	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
9	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
9	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
9	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
9	Sabouraud área empaque	0 UFC	4 UFC
10	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
10	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
10	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
10	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
11	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
11	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
11	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
11	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
12	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	1 UFC

12	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
12	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
12	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
13	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
13	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
13	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
13	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
14	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
14	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
14	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
14	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
15	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
15	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
15	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
15	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
16	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
16	Sabouraud área control en procesos	0 UFC	0 UFC
16	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC
16	Sabouraud área empaque	0 UFC	0 UFC

ANEXO 2

Comparación del Hipoclorito de sodio frente a otros desinfectantes comerciales

	NutraQ	Pursue	Hipoclorito de Sodio
<i>S. aureus</i>	528 (mg/L)	190 (mg/L)	15625 (mg/L)
<i>P. aeruginosa</i>	8450 (mg/L)	190 (mg/L)	7812 (mg/L)