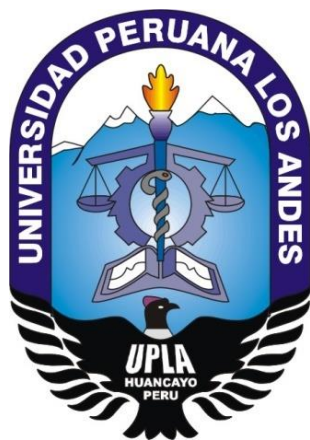


**UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**INFORME FINAL DE TESIS**

- Título** : **EFFECTO DE DOS DESINFECTANTES DE USO HOSPITALARIO SOBRE EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli***
- Para Optar el** : **Título profesional de Químico Farmacéutico**
- Autoras** : **Bachiller July Roxana Garcia De la Cruz**  
**Bachiller Rocio Isabel Romero Berrocal**
- Asesor** : **Mg. Paola Carroll Armaulia Pimentel**
- Área de investigación** : **Aplicación e interpretación de técnicas analíticas**
- Línea de investigación** : **Análisis microbiológicos, parasitológicos y bioclínicos**
- Lugar de investigación** : **Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé**
- Número de Resolución** : **Rersolucion N° 1159-DFCC.SS.-UPLA-2018**

**HUANCAYO – PERÚ**  
**2018**

## **DEDICATORIA**

A Dios, por la fuerza y energía que nos brinda para vivir cada día.

A mis padres, Ciro e Isabel, por su apoyo incondicional, comprensión y paciencia para el logro de mi gran objetivo.

A mi hija Isabela, porque tu afecto y cariño son los detonantes de mi felicidad, esfuerzo y ganas de buscar lo mejor para ti; aun a tu corta edad, me has enseñado y me sigues enseñando muchas cosas de esta vida, eres mi motivación más grande para concluir con éxito este anhelo.

*July Roxana Garcia De la Cruz*

## **DEDICATORIA**

Con cariño y amor para mis padres Roger y Gloria, porque con su bondad y sacrificio lograron hacer de mí la mujer que soy ahora, gracias por su permanente ayuda.

A Dios, por darme tan hermosa compañía y motivación para ser cada día mejor: a mi esposo Eder y mi querida hija Valentina, por su apoyo, prestarme el tiempo que les pertenecía y su amor infinito.

*Rocio Isabel Romero Berrocal*

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por permitirnos vivir cada día mejor, habernos guiado a lo largo de nuestra carrera profesional, darnos la fortaleza en los momentos de debilidad y sobre todo felicidad en nuestras vidas.

A nuestras familias e hijas, por haber sido el pilar de motivación y ayuda en los momentos más difíciles, siendo fuentes de inspiración a seguir.

A nuestros docentes, por habernos impartido sus conocimientos, brindarnos su paciencia y enseñanza al seno de nuestra *Alma mater* Universidad Peruana Los Andes en la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica.

Agradecemos la confianza, apoyo y dedicación de tiempo de nuestra Asesora Mg. Q.F. Paola Carroll Armaulía Pimentel, por sus palabras de motivación para seguir adelante con este proyecto.

## ÍNDICE

	<b>Página</b>
<b>DEDICATORIA</b>	ii-iii
<b>AGRADECIMIENTO</b>	iv
<b>ÍNDICE</b>	v
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	vii
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	viii
<b>RESUMEN</b>	ix
<b>ABSTRACT</b>	x
<b>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN</b>	
<b>1.1 Descripción del problema</b>	1
<b>1.2 Delimitación del problema</b>	2
<b>1.3 Formulación del problema</b>	2
<b>1.4 Justificación</b>	3
1.4.1 Social	3
1.4.2 Científica	3
1.4.3 Metodológica	3
<b>1.5 Objetivos</b>	3
1.5.1 Objetivo general	3
1.5.2 Objetivos específicos	4

<b>1.6</b>	<b>Marco teórico</b>	4
1.6.1	Antecedentes de estudio	4
1.6.2	Bases teóricas	5
1.6.3	Definición de términos	11
<b>1.7</b>	<b>Hipótesis</b>	12
<b>1.8</b>	<b>Operacionalización de las variables</b>	13
<b>CAPÍTULO II: METODOLOGÍA</b>		
<b>2.1</b>	<b>Método de investigación</b>	14
<b>2.2</b>	<b>Tipo de investigación</b>	14
<b>2.3</b>	<b>Nivel de investigación</b>	14
<b>2.4</b>	<b>Diseño de la investigación</b>	14
<b>2.5</b>	<b>Población y muestra</b>	15
2.5.1	Criterios de inclusión	15
2.5.2	Criterios de exclusión	15
<b>2.6</b>	<b>Técnicas e instrumentos de recolección de datos</b>	15
2.6.1	Técnicas microbiológicas	15
2.6.2	Instrumento de recolección de datos	15
<b>2.7</b>	<b>Procedimientos de la investigación</b>	15
2.7.1	Aislamiento e identificación de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>	15
2.7.2	Evaluación del efecto de los desinfectantes sobre el crecimiento <i>In vitro</i>	16
<b>2.8</b>	<b>Técnicas y análisis de datos</b>	16
<b>CAPÍTULO III: RESULTADOS</b>		17
<b>CAPÍTULO IV: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>		26
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES</b>		31
<b>CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES</b>		32
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>		33
<b>ANEXOS</b>		

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
Tabla N°1. Desinfectantes más comunes, mecanismos de acción y uso	7
Tabla N°2. Matriz de operacionalización de variables	13
Tabla N°3. Diámetro de los halos de inhibición (mm) para <i>Staphylococcus aureus</i>	20
Tabla N°4. Diámetro de los halos de inhibición (mm) para <i>Escherichia coli</i>	21

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
Figura N°1. Galería fotográfica del aislamiento e identificación de <i>Staphylococcus aureus</i>	18
Figura N°2. Galería fotográfica del aislamiento e identificación de <i>Escherichia coli</i>	19
Figura N°3. Esquema de trabajo para la realización de los antibiogramas	42
Figura N°3. Galería fotográfica de la realización de los antibiogramas	43



## RESUMEN

El presente estudio se planteó como objetivo determinar el efecto de dos desinfectantes de uso hospitalario sobre el crecimiento *In vitro* de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Fue una investigación de tipo aplicado, prospectivo, transversal y de nivel experimental; cuya población estuvo constituida por todos los desinfectantes de uso hospitalario, sometiendo a estudio al Hipoclorito de sodio (Clorox<sup>®</sup> 7,5%) y Amonio cuaternario (Betagen R-82F<sup>®</sup> 12%), utilizados en el Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé, entre marzo y abril del 2018, escogidos mediante muestreo no probabilístico intencional. Se emplearon métodos y técnicas microbiológicas para aislar e identificar a *S. aureus* y *E. coli* a partir de muestras clínicas (secreciones y heces). Para evaluar el efecto de los desinfectantes sobre el crecimiento *In vitro* se realizaron antibiogramas empleando la técnica de Kirby-Bauer con discos control negativo (agua destilada estéril), discos problema (0,05; 0,1 y 0,2% de cada tipo de desinfectante) y discos control positivo (Eritromicina, Cefaclor, Sulfametoxazol y Cloranfenicol). Se determinó que los desinfectantes Hipoclorito de sodio y Amonio cuaternario no tienen efecto significativo sobre el crecimiento *In vitro* de *S. aureus* y *E. coli*. Ambos cultivos presentaron resistencia frente a todas las concentraciones de Clorox<sup>®</sup>. Respecto al Betagen R-82F<sup>®</sup> *S. aureus* demostró resistencia a las concentraciones de 0,05 y 0,1%, siendo intermedio frente al 0,2%; *E. coli* se comportó como resistente a la concentración de 0,05% y como intermedio frente a 0,1 y 0,2%.

**Palabras clave:** Desinfectante, hospital, crecimiento *In vitro*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

## ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effect of two hospital disinfectants over the *In vitro* growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. It was a descriptive, prospective, transversal and experimental level research; whose population consisted of all the disinfectants for hospital use, under study sodium hypochlorite (Clorox® 7.5%) and quaternary ammonium (Betagen R-82F® 12%), used at the National Hospital Ramiro Prialé Prialé, between March and April 2018, chosen by intentional non-probabilistic sampling. Microbiological methods and techniques were used to isolate and identify *S. aureus* and *E. coli* from clinical samples (secretions and feces). To evaluate the effect of disinfectants on *In vitro* growth antibiograms were performed using the Kirby-Bauer technique with negative control disks (sterile distilled water), problem disks (0.05, 0.1 and 0.2% of each type of disinfectant) and positive control discs (Erythromycin, Cefaclor, Sulfamethoxazole and Chloramphenicol). It was determined that the disinfectants sodium hypochlorite and quaternary ammonium have no significant effect over the *In vitro* growth of *S. aureus* and *E. coli*. Both cultures showed resistance against all Clorox® concentrations. Regarding Betagen R-82F® *S. aureus* showed resistance to concentrations of 0.05 and 0.1%, being intermediate compared to 0.2%; *E. coli* behaved as resistant against the concentration of 0.05% and as an intermediate against 0.1 and 0.2%.

**Key words:** Disinfectant, hospital, *In vitro* growth, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

# **CAPÍTULO I**

## **INTRODUCCIÓN**

### **1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA**

A partir del desarrollo de prácticas antisépticas, particularmente a nivel quirúrgico, surgió la aplicación de sustancias químicas con capacidad de inhibir el crecimiento e incluso disminuir significativamente poblaciones microbianas. Indudablemente, el constante perfeccionamiento y diversidad en su creación, así como fabricación a nivel mundial ha permitido que tengan diferentes denominaciones según su naturaleza, apareciendo entonces los antisépticos y desinfectantes.<sup>1</sup>

La presencia de múltiples tipos de microorganismos contaminantes y causantes de infecciones intrahospitalarias ha determinado que estos elementos sean fabricados de forma constante y con mucha variación, pues los gérmenes son capaces de desarrollar resistencia a los compuestos químicos que los conforman; haciendo cada vez más difícil su eliminación de las superficies donde éstos se encuentren.<sup>2</sup>

El mantenimiento de una adecuada higiene y un óptimo nivel de desinfección en todo tipo de superficie y material utilizado en la práctica hospitalaria, hacen de los antisépticos y desinfectantes elementos importantes, cuya utilización se ha vuelto imprescindible.<sup>3</sup>

Por otro lado, en las últimas décadas han aparecido microbios resistentes a diferentes tipos de antibióticos, destacando *Staphylococcus aureus* y *Clostridium difficile*; los cuales han originado serios impactos sobre las tasas de morbilidad y mortalidad, afectando la economía del paciente en el entorno del sistema de salud. Si se tiene en consideración que existe presencia de virus, bacterias y hongos en superficies corporales (piel y manos) de personas enfermas, así como personal sanitario infectado; esto los convierte en fuentes de infección al tener contacto con otras personas, elevando por tanto los riesgos de transmisión agentes potencialmente patógenos.<sup>4-5</sup>

## **1.2 DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA**

Las investigaciones sobre contaminación microbiana, así como sus mecanismos de control se orientan hacia la búsqueda de sustancias capaces de disminuir y/o erradicar significativamente la cantidad de gérmenes presentes en ambientes y superficies, lo cuales además de encontrarse en suspensión en el aire, también se hallan sobre partículas de polvo, gotas de agua, etc. que les sirven como sustrato y medio de transporte; constituyendo un poderoso indicador del grado de limpieza, desinfección y erradicación total de agentes infecciosos aplicados en aquellos lugares o áreas sometidas a estudio.

Es por ello que esta investigación se limitó a evaluar el efecto bactericida de dos desinfectantes de uso hospitalario: Hipoclorito de sodio (Clorox® 7,5%) y Amonio cuaternario (Betagen R-82F® 12%), sobre el crecimiento *In vitro* de microbios indicadores como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* aislados de pacientes atendidos en el Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé de Huancayo entre los meses de marzo y abril del 2018.

## **1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿Cuál es el efecto de dos desinfectantes de uso hospitalario sobre el crecimiento *in vitro* de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*?

## **1.4 JUSTIFICACIÓN**

### **1.4.1 Social**

Esta investigación aporta con información importante sobre la eficacia de los desinfectantes empleados en el ambiente intrahospitalario, pues muchas veces los protocolos de limpieza y desinfección no cumplen su finalidad debido a la inadecuada utilización de las sustancias desinfectantes, lo cual conduce a la aparición de infecciones adquiridas por el contacto con superficies contaminadas, tanto para el personal médico, técnico y asistencial, como para los pacientes.

### **1.4.2 Científica**

Gracias al desarrollo de este estudio se enriquece y actualiza el conocimiento sobre la eficacia de los desinfectantes utilizados al interior de los hospitales, además de proporcionar datos sobre las consecuencias relacionadas con la presencia de agentes infecciosos y servirá para que futuras investigaciones de tipo aplicado y experimental se orienten hacia el diseño e implementación de protocolos rigurosos de limpieza y desinfección intrahospitalaria; lo cual reducirá al máximo la posibilidad de contraer algún tipo de infección a ese nivel.

### **1.4.3 Metodológica**

Para el desarrollo de este trabajo se utilizaron métodos y técnicas microbiológicas estandarizadas y actualmente disponibles que hicieron posible aislar e identificar microbios a partir de muestras de pacientes atendidos en el hospital, para luego realizar ensayos *In vitro* que determinaron el efecto bactericida de dos diferentes tipos de desinfectantes.

## **1.5 OBJETIVOS**

### **1.5.1 Objetivo general**

Determinar el efecto de dos desinfectantes de uso hospitalario sobre el crecimiento *In vitro* de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

### 1.5.2 Objetivos específicos

- Aislar e identificar cultivos de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* a partir de muestras clínicas de pacientes atendidos en el hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé (Huancayo).
- Evaluar el efecto de los desinfectantes Hipoclorito de sodio (Clorox® 7,5%) y Amonio cuaternario (Betagen R-82F® 12%), sobre el crecimiento *In vitro* de los cultivos aislados.

## 1.6 MARCO TEÓRICO

### 1.6.1 Antecedentes de estudio

Gallardo M. (2006),<sup>6</sup> evaluó el efecto antimicrobiano de un desinfectante de uso industrial y doméstico sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* silvestres y de colección, logrando determinar que a 400 ppm hubo eficiencia bactericida *In vitro* de 99,999%, para *E. coli* silvestre, *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 29213 a los 15 minutos. Por su parte, *S. aureus* salvaje y la cepa ATCC 29213 resultaron más resistentes.

Burguet N, Brito L, Cánovas I. (2013),<sup>7</sup> analizaron el efecto bactericida y fungicida del desinfectante LopHene ST, encontrando disminución en la concentración de bacterias entre 4,60 a 7,20 log, para levaduras entre 4,70 a 5,40 log y para un hongo filamentoso entre 4,10 y 5,50 log. Se demostró que el método de placas de contacto resulta válido para analizar efectividad, pues permite evidenciar la reducción en el número de colonias.

Vélez A. (2015),<sup>8</sup> determinó la concentración mínima inhibitoria en dos desinfectantes de uso hospitalario, logrando demostrar que el tanto el Nutral Q como el Alcohol glicerinado al 70% inhiben el crecimiento colonias. A su vez, el Nutral Q a 845 mg/L cumplió con la prueba de la CMI y el Alcohol glicerinado al 70% pudo usarse hasta 30 días, pues disminuye la carga microbiana en las manos de los trabajadores.

Menis A. y col. (2015),<sup>9</sup> evaluaron diferentes métodos de monitoreo (visual, trifosfato de adenosina por bioluminiscencia y microbiológico) para la limpieza y desinfección de superficies hospitalarias, encontrando disminución estadísticamente significativa de las concentraciones microbianas; siendo menos confiable la evaluación visual.

Herrera J. (2016),<sup>10</sup> analizó el efecto bactericida de dos desinfectantes sobre cultivos de *Escherichia coli* y *Listeria innocua* en superficies utilizadas en industria alimentaria, encontrando como resultado que el desinfectante “A” fue más eficiente que el “B”, actuando a 0,5% por 5 minutos. También fue posible determinar, mediante los valores de k y TRD, que *L. innocua* fue menos resistente que *E. coli* frente a ambas sustancias y no hubieron diferencias entre la acción germicida sobre acero inoxidable y plancha de PEHD.

## **1.6.2 Bases teóricas**

### **A. Limpieza y desinfección intrahospitalaria**

#### **1. Limpieza<sup>11</sup>**

El término proviene del latín *limpidus*, *límpida* o *limpidum* cuyo significado es claro, transparente, sin mancha. Se debe entender entonces como un procedimiento mediante el cual se eliminará la suciedad presente en determinada superficie, la cual podrá disminuir cerca del 80% de microbios.

A pesar de que las superficies poseen bajos riesgos para la transmisión directa de infecciones, pueden contribuir a la contaminación cruzada secundaria a través de las manos del personal sanitario, así como de todo elemento e instrumental que esté en contacto con ellas y luego sea empleado en pacientes o logre contaminar otras superficies.

#### **2. Asepsia<sup>12</sup>**

Es considerada como un conjunto de medidas y procedimientos orientados a impedir la contaminación por microbios en superficies de materiales, medio ambiente hospitalario, pacientes y personal sanitario; logrando disminuir el riesgo de infección. Un material está aséptico cuando no presenta formas infecciosas en su superficie, implicando que está desinfectado o es estéril, con lo cual se impide que un objeto seguro pueda contaminarse.

### 3. Desinfección<sup>13</sup>

Consiste en la utilización de cualquier medio físico o químico que reduzca la presencia de microbios sobre objetos inanimados, aunque no se asegura la eliminación de esporas bacterianas, por lo que un material desinfectado no implica que sea estéril.

#### a. Niveles de desinfección

- **Desinfección de alto nivel (DAN).**- Emplea agentes químicos o líquidos a temperaturas que eliminan todos los microbios, excepto esporas bacterianas, durante 12 a 45 minutos de exposición. Destacan el glutaraldehído al 2%, ácido peracético, dióxido de cloro, peróxido de hidrógeno y formaldehído.
- **Desinfección de nivel intermedio (DNI).**- Llevada a cabo por sustancias químicas que logran eliminar a *Mycobacterium tuberculosis*, bacterias vegetativas, la mayoría de virus y hongos, pero tampoco esporas bacterianas, durante 10 minutos. Aquí se incluyen los fenoles y compuestos de amonio cuaternario.
- **Desinfección de bajo nivel (DBN).**- Basada en el uso de elementos químicos que eliminan bacterias vegetativas, algunos hongos y algunos virus durante período menores a 10 minutos. Aquí se incluye el grupo de amonio cuaternario.



**Tabla N°1.**

**Desinfectantes más comunes, mecanismos de acción y uso**

Agente químico	Acción	Usos
Etanol (50-70%)	Altera y precipita las proteínas del microorganismo	Antiséptico de aplicación tópica
Isopropanol (50-70%)	Desnaturaliza proteínas y solubiliza lípidos	Antiséptico de aplicación tópica
Formaldehído (8%)	Reacciona con grupos NH <sub>2</sub> , -SH y -COOH	Desinfectante, mata endosporas
Tintura de yodo (2% I <sub>2</sub> en 70% de alcohol)	Inactiva proteínas	Antiséptico usado en piel
Cloro (Cl <sub>2</sub> ) gas o derivados como hipoclorito de sodio	Forma ácido hipocloroso (fuerte agente oxidante)	Desinfección en general y en particular para agua potable
Nitrato de plata (AgNO <sub>3</sub> )	Precipita proteínas	Antiséptico en general y usado en ojos de recién nacido
Cloruro de mercurio o trimerosal	Inactiva proteínas por reacción con los grupos sulfuro	Desinfectante, en ocasiones usado como componente en antisépticos para la piel
Detergentes (amonio cuaternario)	Ruptura de membranas celulares	Desinfectante antiséptico para piel
Compuestos fenólicos (hexilresorcinol, hexaclorofenol)	Desnaturalizan proteínas y rompen membranas celulares	Antisépticos a bajas concentraciones, desinfectantes a elevadas concentraciones
Óxido de etileno (gas)	Agente alquilante	Desinfectante empleado sobre objetos sensibles al calor (goma y plásticos)

Fuente: Clavell L, Pedrique de Aulacio M. (1992).<sup>14</sup>

**B. Tipos de desinfectantes**

**1. Hipoclorito de sodio**

Es una sustancia química fuertemente oxidante (NaClO) cuya disolución acuosa estable a pH alcalino se conoce como lejía, empleada como agente desinfectante; además, destruye muchos colorantes, por lo que se emplea en lavandería como blanqueador. Al acidular en presencia de cloruro libera cloro elemental, que en condiciones normales se combina para formar el gas dicloro, el cual es tóxico.<sup>15</sup>

## **2. Amonio cuaternario<sup>16</sup>**

Este tipo de compuestos corresponden a una familia de sustancias antimicrobianas debido a su poder desinfectante. Son agentes catiónicos detergentes que no presentan color o suelen ser amarillentos, no causan irritación y actúan como desodorantes. Debido a su estructura química basada en el ión amonio ( $\text{NH}_4$ ) pueden dar origen a diferentes generaciones, además de tener tendencia a gelificar cuando se hallan a temperaturas bajas, pero rápidamente vuelven al estado líquido al ser calentados, presentando gran solubilidad en el agua y alcohol.

Existen diversos agentes derivados del amonio cuaternario, siendo el cloruro de benzalconio la primera sustancia con estas características sometida a comercialización, también conocida como Cloruro de N-Alquil Dimetil Bencil Amonio, cuya cadena alquílica puede variar debido al número de átomos de carbono; pero generalmente aquellas cadenas alquílicas que poseen 12 y 14 carbonos poseen mayor capacidad antibacteriana. Debido a estas condiciones esta molécula se utiliza ampliamente en la actualidad para llevar a cabo labores de desinfección hospitalaria y veterinaria, además de ser base fundamental en la formulación de talcos para pies y sustancias antisépticas de aplicación tópica.

## **C. Susceptibilidad antibacteriana|**

### **1. Definición**

Se considera como respuesta de un microorganismo frente a un tipo específico de fármaco, pudiendo determinarse normalmente mediante métodos de análisis microbiológicos *In vitro*.<sup>17</sup>

### **2. Evaluación de la susceptibilidad antibacteriana<sup>18-19</sup>**

Cuantifica la potencia *In vitro* de una determinada solución de antibacteriano, así como establecer la respuesta de un microbio frente a diferentes concentraciones del mismo. Esta evaluación se puede realizar a través dos métodos principales:

**a. Método de dilución.-** Se basa en determinar el crecimiento de un microorganismo frente a concentraciones crecientes del antimicrobiano que se encuentra diluido en el medio de cultivo (sólido o líquido). Sirve para establecer la Concentración mínima inhibitoria (CMI) y Concentración mínima bactericida (CMB) de los antimicrobianos.

**b. Método de difusión en agar.-** Consiste en preparar un medio de cultivo sólido inoculado con el microbio de prueba, para luego colocar sobre la superficie discos de papel de filtro impregnados con diferentes antibióticos, los cuales se humedecen y permiten la difusión radial del antimicrobiano en el agar dando lugar a la formación de los halos de inhibición. Con este método no se puede establecer la CMI, pero es útil para determinar la respuesta del microbio como sensible (S), intermedia (I) o resistente (R).

### **3. Técnica de Kirby-Bauer<sup>20-21</sup>**

Se basa en un método de difusión, cuya técnica implica la aplicación de diferentes concentraciones del antimicrobiano impregnadas en discos de papel de filtro que entrarán en contacto con la superficie del medio de cultivo sólido (agar Mueller-Hinton), sobre la cual previamente se ha sembrado por diseminación el microorganismo sometido a prueba. Luego de la incubación el fármaco difundirá sobre el agar y formará un gradiente de concentración alrededor del disco y la susceptibilidad del microbio estará determinada por el tamaño (diámetro) de la zona de inhibición del crecimiento.

El diámetro del halo de inhibición obtenido dependerá de diferentes factores, entre los cuales destacan: características del microorganismo (susceptibilidad, tiempo de generación, tamaño del inóculo y fase de crecimiento), concentración del fármaco en el disco, características del medio de cultivo (grosor del agar, pH y composición), capacidad de difusión del antimicrobiano, temperatura y atmósfera de incubación.

Al aplicar esta técnica para cada antimicrobiano se pueden establecer “concentraciones críticas” o “puntos de corte” que permiten clasificar a los

microorganismos en tres categorías (sensible, resistente y con sensibilidad intermedia), las cuales se aplican para cada bacteria frente a determinado agente antimicrobiano según el tamaño del halo de inhibición obtenido en milímetros.

**a. Sensible (S).**- Un microbio será sensible frente a un antimicrobiano cuando la infección originada por el mismo sea combatida convenientemente con la dosis recomendada de dicho fármaco, pues el microorganismo resulta vulnerable.

**b. Resistente (R).**- Se considera a un microorganismo como resistente cuando éste no es destruido o inhibido significativamente por acción de un fármaco, lo cual implica que probablemente una infección causada por este microbio no responda al antimicrobiano en cuestión cualquiera sea la dosis empleada.

**c. Sensibilidad intermedia (I).**- Este término se aplica frente a dos condiciones distintas:

- Se trata de cepas con sensibilidad disminuida frente a un antimicrobiano, el mismo que podría emplearse exitosamente para combatir una infección si se administran dosis más elevadas, al ser éste fármaco poco tóxico.
- Incluye cepas con sensibilidad intermedia a los antimicrobianos que por ser más tóxicos no pueden emplearse en dosis más altas, considerándose como una zona de transición entre cepas sensibles y resistentes, lo cual previene pequeños errores causados por factores técnicos.

### **1.6.3 Definición de términos<sup>22-26</sup>**

#### **A. Agente**

Sustancia, germen, energía, etc. que produce un efecto sobre el organismo; ejemplo: agente quimioterapéutico, agente infeccioso, agente patógeno.

#### **B. Bacteria nosocomial**

Bacteria causante de una infección contraída en el hospital por un paciente internado por una razón distinta de esa infección.

#### **C. Cepa bacteriana**

Colonia microbiana plenamente identificada, procedente de un solo germen obtenido de una fuente determinada y multiplicado por pases sucesivos en diferentes medios de cultivo hasta lograr su pureza.

#### **D. Contaminantes biológicos**

Seres vivos, con un determinado ciclo de vida que, al penetrar en el ser humano, ocasionan enfermedades de tipo infeccioso o parasitario.

#### **E. Detergente**

Todo producto que posee como finalidad la limpieza y que contiene en su formulación tensoactivos que reducen la tensión superficial del agua, facilitando su penetración, dispersión y emulsificando la suciedad.

#### **F. Espora**

Cuerpo microscópico unicelular o pluricelular que, sin fecundación sino por división propia, da nacimiento a nuevos organismos en vegetales criptógamos, hongos y algunas especies protozoarias llamadas esporozoarios.

#### **G. Limpieza química**

Acción de productos de limpieza con la finalidad de limpiar por medio de propiedades de disolución, dispersión y suspensión de la suciedad.

**H. Limpieza mecánica**

Acción física aplicada sobre una superficie para remover la suciedad resistente a la acción de los productos químicos (resistente a la acción del producto químico (fregar, friccionar, cepillar).

**I. Limpieza térmica**

Acción del calor que reduce la viscosidad de la grasa, facilitando la remoción por la acción química.

**J. Sanidad**

Conjunto de servicios para preservar la salud de los habitantes de una nación o de otra entidad administrativa.

**K. Riesgo biológico**

Riesgo determinado por la exposición a agentes biológicos por inhalación, contacto o manipulación (directo o indirecto) de sangre y fluidos corporal.

**1.7 HIPÓTESIS**

El empleo de dos desinfectantes de uso hospitalario inhibe significativamente el crecimiento *in vitro* de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en relación directa con su concentración y tiempo de contacto.

## 1.8 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Tabla N°2.

Matriz de operacionalización de las variables

Variables	Dimensión	Indicador	Criterio de medición	Tipo y escala
Efecto del desinfectante	Hipoclorito de sodio	Concentración	0,05%	Numérica discreta
			0,1%	
	0,2%			
	Amonio cuaternario	Concentración	0,05%	
			0,1%	
0,2%				
Crecimiento <i>In vitro</i>	<i>S. aureus</i> <sup>a</sup>	Sensible	$\geq 21,0$ mm	Categórica ordinal
		Intermedio	16,0 – 20,0 mm	
		Resistente	$\leq 15,0$ mm	
	<i>E. coli</i> <sup>b</sup>	Sensible	$\geq 16,0$ mm	
		Intermedio	11,0 – 15,0 mm	
Resistente	$\leq 10,0$ mm			

a = Punto de corte y CIM para Ciprofloxacina: (Disco de 5 µg), según INS 2002.<sup>27</sup>

b = Punto de corte y CIM para Trimetropim/sulfametoxazol (Disco de 1,25/23,75 µg), según NCCLS 2002.<sup>28</sup>

## **CAPÍTULO II**

### **METODOLOGÍA**

#### **2.1 MÉTODO DE INVESTIGACIÓN**

Se empleó el método analítico.<sup>29</sup>

#### **2.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN**

La investigación fue de tipo aplicado, prospectivo y transversal.<sup>30</sup>

#### **2.3 NIVEL DE INVESTIGACIÓN**

El estudio se ubicó en el nivel experimental.<sup>31</sup>

#### **2.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

Se empleó un diseño experimental con un grupo control.<sup>32</sup>



## **2.5 POBLACIÓN Y MUESTRA**

La población estuvo constituida por todos los desinfectantes de uso hospitalario. Se sometieron a estudio dos de ellos: Hipoclorito de sodio (Clorox<sup>®</sup> 7,5%) y Amonio cuaternario (Betagen R-82F<sup>®</sup> 12%), utilizados en el Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé, entre los meses de marzo a abril del 2018, escogidos mediante muestreo no probabilístico intencional, teniendo en cuenta los siguientes criterios:

### **2.5.1 Criterios de inclusión**

Desinfectantes empleados rutinariamente en el Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé, dentro del periodo de estudio.

### **2.5.2 Criterios de exclusión**

Antisépticos, jabones u otros, aplicados para otras labores, fuera del hospital o del periodo de estudio.

## **2.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

### **2.6.1 Técnicas microbiológicas**

Se emplearon métodos y técnicas microbiológicas que permitieron el aislamiento e identificación de microbios indicadores de contaminación microbiológica, así como posterior evaluación de susceptibilidad antimicrobiana.

### **2.6.2 Instrumento de recolección de datos**

Los datos fueron recopilados en una Ficha de recolección de datos (Anexo N°2).

## **2.7 PROCEDIMIENTOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **2.7.1 Aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli***

Se realizó a partir de muestras clínicas (secreciones y heces) de pacientes atendidos en el hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé –Essalud (Huancayo).

Se emplearon medios selectivos y diferenciales, para posteriormente proceder a la identificación en base a características macroscópicas, microscópicas y tintoriales de las colonias típicas.<sup>33</sup>

### **2.7.2 Evaluación del efecto de los desinfectantes sobre el crecimiento *In vitro***

#### **A. Preparación de los discos de sensibilidad<sup>34</sup>**

Se perforaron discos de papel de filtro (Whatman N°42), los cuales fueron procesados de la siguiente manera:

##### **1. Discos control negativo**

Fueron impregnados con agua destilada estéril durante 30 minutos.

##### **2. Discos problema**

Fueron embebidos con diferentes concentraciones (0,05; 0,1 y 0,2%) de cada tipo de desinfectante. Luego se les sometió a desecación en estufa entre 35 a 40°C durante 45 a 60 minutos, hasta la evaporación total de la humedad.

#### **B. Técnica de Kirby-Bauer**

A los cultivos de *S. aureus* y *E. coli* se les aplicó un antibiograma empleando agar Mueller-Hinton con los discos de sensibilidad control, negativos, problema y con discos comerciales según criterios del INS y NCCLS, para posterior incubación en estufa a 37°C por 24 horas. Posteriormente se procedió a la medición de los halos netos de inhibición y su comparación con las tablas estandarizadas.<sup>35</sup>

## **2.8 TÉCNICAS Y ANÁLISIS DE DATOS**

Los resultados de los recuentos se presentan mediante tablas cruzadas y figuras, siendo procesados e interpretados mediante estadísticos descriptivos (media aritmética y desviación estándar). Para la determinación del efecto de los desinfectantes sobre el crecimiento *In vitro* se aplicó un análisis de Varianza (ANOVA) de un factor ( $\alpha = 0,05$ ). Todos los datos fueron procesados con el Software SPSS 23.0.

**CAPÍTULO III**  
**RESULTADOS**

### 3.1 AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli* A PARTIR DE MUESTRAS CLÍNICAS



Fuente: Elaboración propia, marzo del 2018

**Figura N°1**  
**Galería fotográfica del aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus***



Fuente: Elaboración propia, marzo del 2018

**Figura N°2**  
**Galería fotográfica del aislamiento e identificación de *Escherichia coli***

**3.2 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LOS DESINFECTANTES SOBRE EL CRECIMIENTO *In vitro* DE LOS CULTIVOS AISLADOS**

**Tabla N°3.**  
**Diámetro de los halos de inhibición (mm) para *Staphylococcus aureus***

Ensayos	Tamaño del halo de inhibición (mm)								
	Discos problema			Discos control positivo			Discos control negativo		
	Hipoclorito de sodio (Clorox® 7,5%)			Amonio cuaternario (Betagen R-82F® 12%)			Eritromicina	Cefaclor	Agua destilada estéril
	0,05%	0,1%	0,2%	0,05%	0,1%	0,2%			
1	0	0	0	10	13	17	0	0	0
2	0	0	0	11	13	16	0	0	0
3	0	0	0	12	14	16	0	0	0
4	0	0	0	11	13	15	0	0	0
5	0	0	0	12	14	16	0	0	0
<b>Promedio</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>11,2</b>	<b>13,4</b>	<b>16,0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

Fuente: Ficha de Recolección de datos, mayo 2018

**Tabla N°4.**  
**Diámetro de los halos de inhibición (mm) para *Escherichia coli***

Ensayos	Tamaño del halo de inhibición (mm)								
	Discos problema			Discos control positivo				Discos control negativo	
	Hipoclorito de sodio (Clorox® 7,5%)			Amonio cuaternario (Betagen R-82F® 12%)			Sulfametoxazol	Cloranfenicol	Agua destilada estéril
	0,05%	0,1%	0,2%	0,05%	0,1%	0,2%			
1	7	7	7	7	10	12	30	30	0
2	7	7	7	8	12	13	32	29	0
3	7	7	7	8	11	15	31	29	0
4	7	7	7	7	12	15	32	29	0
5	7	7	7	8	11	13	31	29	0
<b>Promedio</b>	<b>7,0</b>	<b>7,0</b>	<b>7,0</b>	<b>7,6</b>	<b>11,6</b>	<b>13,6</b>	<b>31,2</b>	<b>29,2</b>	<b>0</b>

Fuente: Ficha de Recolección de datos, mayo 2018

### 3.3 PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO

#### ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR

##### 1. Planteamiento de hipótesis

$H_0$  = Las medias de los halos de inhibición con Clorox<sup>®</sup> sobre *Staphylococcus aureus* son iguales.

$H_1$  = Al menos una medias de los halos de inhibición con Clorox<sup>®</sup> sobre *Staphylococcus aureus* es diferente de las demás.

##### 2. Regla de decisión

Aceptar  $H_0$  si la significancia (p valor) es  $> 0,05$

Rechazar  $H_0$  si la significancia (p valor) es  $< 0,05$

##### 3. Prueba estadística: ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,000	2	,000	.	.
Dentro de grupos	,000	33	,000		
<b>Total</b>	<b>,000</b>	<b>35</b>			

##### 4. Decisión estadística

Se acepta la Hipótesis  $H_0$  no habiendo p valor, dado que una de las variables permaneció constante y con valor cero. En consecuencia, no existen diferencias significativas entre las medias de los halos de inhibición con Clorox<sup>®</sup> sobre *Staphylococcus aureus*.



### 1. Planteamiento de hipótesis

$H_0$  = Las medias de los halos de inhibición con Betagen R-82F<sup>®</sup> sobre *Staphylococcus aureus* son iguales.

$H_1$  = Al menos una medias de los halos de inhibición con Betagen R-82F<sup>®</sup> sobre *Staphylococcus aureus* es diferente de las demás.

### 2. Regla de decisión

Aceptar  $H_0$  si la significancia (p valor) es  $> 0,05$

Rechazar  $H_0$  si la significancia (p valor) es  $< 0,05$

### 3. Prueba estadística: ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	140,389	2	70,194	115,340	,000
Dentro de grupos	20,083	33	,609		
<b>Total</b>	<b>160,472</b>	<b>35</b>			

### 4. Decisión estadística

Se rechaza la Hipótesis  $H_0$  siendo el p valor (0,000) menor al nivel de significancia (0,05). En consecuencia, existen diferencias significativas entre las medias de los halos de inhibición con Betagen R-82F<sup>®</sup> sobre *Staphylococcus aureus*.

### 1. Planteamiento de hipótesis

$H_0$  = Las medias de los halos de inhibición con Clorox<sup>®</sup> sobre *Escherichia coli* son iguales.

$H_1$  = Al menos una medias de los halos de inhibición con Clorox<sup>®</sup> sobre *Escherichia coli* es diferente de las demás.

### 2. Regla de decisión

Aceptar  $H_0$  si la significancia (p valor) es  $> 0,05$

Rechazar  $H_0$  si la significancia (p valor) es  $< 0,05$

### 3. Prueba estadística: ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,000	2	,000	.	.
Dentro de grupos	,000	33	,000		
<b>Total</b>	<b>,000</b>	<b>35</b>			

### 4. Decisión estadística

Se acepta la Hipótesis  $H_0$  no habiendo p valor, dado que una de las variables permaneció constante y con valor de siete. En consecuencia, no existen diferencias significativas entre las medias de los halos de inhibición con Clorox<sup>®</sup> sobre *Escherichia coli*.

### 1. Planteamiento de hipótesis

$H_0$  = Las medias de los halos de inhibición con Betagen R-82F<sup>®</sup> sobre *Escherichia coli* son iguales.

$H_1$  = Al menos una medias de los halos de inhibición con Betagen R-82F<sup>®</sup> sobre *Escherichia coli* es diferente de las demás.

### 2. Regla de decisión

Aceptar  $H_0$  si la significancia (p valor) es  $> 0,05$

Rechazar  $H_0$  si la significancia (p valor) es  $< 0,05$

### 3. Prueba estadística: ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	224,000	2	112,000	50,804	,000
Dentro de grupos	72,750	33	2,205		
<b>Total</b>	<b>296,750</b>	<b>35</b>			

### 4. Decisión estadística

Se rechaza la Hipótesis  $H_0$  siendo el p valor (0,000) menor al nivel de significancia (0,05). En consecuencia, existen diferencias significativas entre las medias de los halos de inhibición con Betagen R-82F<sup>®</sup> sobre *Escherichia coli*.

## **CAPÍTULO IV**

### **ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

Ante la necesidad de poder contar con mecanismos eficientes para el control de las cargas microbianas contaminantes presentes al interior de los diferentes tipos de ambientes hospitalarios se han desarrollado diversos tipos de sustancias con poder antiséptico y desinfectante; las cuales muchas veces no cumplen con su finalidad debido a múltiples factores, tales como inadecuado manejo en las concentraciones, forma de aplicación o tiempo de contacto; aunque en la gran mayoría de los casos su efecto se ve disminuido como consecuencia de la resistencia que presentan los microbios frente a dichos agentes.<sup>36</sup>

En tal sentido, surgió la inquietud de poder investigar el poder antibacteriano que presentan dos tipos de sustancias (hipoclorito de sodio y amonio cuaternario) utilizadas como desinfectantes en los hospitales, aunque también en otros tipos de ambientes, tales como domicilios, oficinas, industria, etc.; pues han evidenciado gran poder destructivo e inhibidor de las concentraciones microbianas, siendo accesibles al usuario que las requiere.

Con la finalidad de poder determinar el efecto que presentan los agentes anteriormente señalados se emplearon dos tipos de microbios, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, los cuales fueron aislados a partir de muestras obtenidas de pacientes atendidos en el Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé de la ciudad de Huancayo; ya que al ser cultivos de naturaleza silvestre y relacionados con patologías de tipo cutáneo-respiratorio e intestinal, respectivamente; constituyen un buen referente para evaluar de manera real la capacidad destructiva e inhibitoria de los desinfectantes escogidos.

En relación a los mencionados gérmenes es necesario considerar que *S. aureus* es parte de la flora normal de piel y mucosas del hombre, pudiendo convertirse en agente patógeno de las mismas, colonizar diversos tejidos y asociarse estrechamente con procesos purulentos;<sup>37</sup> por lo que su aislamiento e identificación se vio facilitado al contar con muestras adecuadas de secreciones muco-purulentas (Figura N°1).

Por su parte, *E. coli*, es una bacteria presente en el intestino grueso (colon) del hombre y animales, siendo considerada como parte de su flora normal; aunque es capaz de originar cuadros entéricos o infecciones urinarias en individuos susceptibles;<sup>38</sup> por lo que su aislamiento y posterior identificación pudo lograrse gracias al manejo de muestras de materia fecal (Figura N°2).

Tal como se mencionó en las respectivas bases teóricas, una de las mejores formas de evaluar *In vitro* el efecto inhibitorio de ciertas sustancias sobre los microorganismos es mediante la aplicación de un antibiograma mediante la técnica de difusión en agar de Kirby-Bauer, la cual permite establecer comparaciones con otros agentes (control positivo y negativo) en relación a tablas estandarizadas según el tipo de microbio sometido a estudio.

Para el caso de esta investigación se consideró trabajar con tres concentraciones semejantes para cada agente desinfectante (0,05; 0,1 y 0,2%), pues generalmente la concentración de 0,1% es la mayoritariamente empleada debido a su facilidad de preparación y gran espectro de acción sobre diversos tipos de microbios (Gram positivos, Gram negativos y hongos). Así mismo, con la finalidad de poder establecer comparaciones entre su poder se evaluaron concentraciones por debajo y por encima de lo utilizado convencionalmente.

En la Tabla N°3 se muestran los resultados de los antibiogramas aplicados para el microbio *S. aureus*, donde se aprecia que el hipoclorito de sodio (Clorox® en las tres concentraciones) y los discos control positivo utilizados (Eritromicina y Cefaclor) no indujeron ningún halo de inhibición; lo cual demuestra que esta bacteria fue altamente resistente, tanto al desinfectante como a dos tipos de antibacterianos ampliamente empleados en el tratamiento de infecciones producidas por cocos y bacilos Gram positivos; lo cual representa un problema, pues queda comprobado que con el uso de estas sustancias no es posible controlar fácilmente la presencia de microbios de este tipo.

Así mismo, en la misma tabla se observa que el amonio cuaternario (Betagen R-82F®) sí presentó efecto inhibitorio sobre *S. aureus*, cuyos halos de inhibición fueron diferentes y proporcionales según las tres concentraciones evaluadas; encontrándose diferencias estadísticamente significativas según el análisis de varianza de un factor ( $\alpha = 0,05$ ), demostrando que a mayor concentración el efecto es mayor; pero en ninguno de los casos se alcanzó un tamaño mayor o igual a los 21 mm equivalente al punto de corte para señalar sensibilidad por parte de la bacteria.

Con respecto a estos resultados, queda confirmada una vez más la gran capacidad de resistencia que ha desarrollado este tipo de microbio, sobre todo cuando se relaciona

con procedencia de ambientes y/o muestras intrahospitalarias; pues ninguno de los discos control positivo y problema fue capaz de inducir un halo de inhibición de tamaño significativo.

Por otro lado, la Tabla N°4 permite apreciar los resultados de los antibiogramas aplicados a la bacteria *E. coli*, en cuyo caso si hubieron halos de inhibición en todos los discos problema y control positivo. Para el caso del Clorox® en sus tres concentraciones se obtuvieron halos de 7,0 mm que no alcanzaron el tamaño suficiente en relación al punto de corte de sensibilidad (16 mm); quedando demostrada también la capacidad de resistencia que presenta este germen frente a la lejía empleada comúnmente como desinfectante.

En la misma tabla se observa que el otro desinfectante (Betagen R-82F®) logró inducir halos de inhibición distintos y en proporción, presentando diferencias estadísticamente significativas según el ANOVA ( $\alpha = 0,05$ ), pero que en ningún caso lograron alcanzar el diámetro necesario para sensibilidad según el punto de corte para esta bacteria. Lo cual si se logró con los discos control positivo (Sulfametoxazol y Cloranfenicol), cuyos halos de inhibición fueron del tamaño suficiente para demostrar que dicho microbio fue sensible a los mismos.

Frente a estos resultados, es posible determinar que las bacterias empleadas como indicadores del efecto de los desinfectantes son altamente resistentes a los mismos, siendo mucho menos efecto el hipoclorito que el amonio cuaternario, los cuales difieren de lo reportado por Gallardo M. (2006),<sup>39</sup> quien demostró efecto antimicrobiano de un desinfectante de uso industrial y doméstico a 400 ppm sobre cultivos de *S. aureus* y *E. coli* silvestres y de colección.

Por su parte, también existen diferencias con los hallazgos de Vélez A. (2015),<sup>40</sup> quien determinó la concentración mínima inhibitoria del desinfectante Nutral Q 845 mg/L

y Alcohol glicerinado al 70% sobre diversos tipos de microbios; así como los reportes de Herrera J. (2016), quien demostró el efecto bactericida de dos desinfectantes a 0,5% sobre cultivos de *E. coli* y *L. innocua* en superficies utilizadas en industria alimentaria.



## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES**

1. Se determinó que los desinfectantes de uso hospitalario Hipoclorito de sodio (Clorox<sup>®</sup> 7,5%) y Amonio cuaternario (Betagen R-82F<sup>®</sup> 12%), no tienen efecto significativo sobre el crecimiento *In vitro* de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, entre marzo y abril del 2018.
  
2. Se logró aislar e identificar un cultivo de *Staphylococcus aureus* y otro de *Escherichia coli* a partir de diez muestras clínicas de secreciones y heces procedentes de pacientes atendidos en el hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé de Huancayo.
  
3. Ambos cultivos presentaron resistencia frente a todas las concentraciones de Clorox<sup>®</sup>. Respecto al Betagen R-82F<sup>®</sup> *S. aureus* demostró resistencia a las concentraciones de 0,05 y 0,1%, siendo intermedio frente al 0,2%; *E. coli* se comportó como resistente a la concentración de 0,05% y como intermedio frente a 0,1 y 0,2%.

## **CAPÍTULO VI**

### **RECOMENDACIONES**

1. Se recomienda proseguir con investigaciones acerca del efecto de diversos antisépticos y desinfectantes empleados en la práctica hospitalaria sobre el crecimiento In vitro de los indicadores de contaminación microbiana.
  
2. Se sugiere desarrollar estudios sobre concentración mínima inhibitoria y dosis letal media con distintas sustancias antisépticas y desinfectantes.
  
3. Se recomienda a la Universidad Peruana Los Andes, implementar los laboratorios de Microbiología que permitan realizar investigaciones de mayor profundidad y con procedimientos analíticos certificados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Maillard JY. Bacterial target sites for biocide action. *Journal of Applied Microbiology*. 2002; 92(1):16-27.
2. Maillard JY. Antimicrobial biocides in the healthcare environment: Efficacy, usage, policies, and perceived problems. *Ther Clin Risk Manag*. 2005; 1(4):307-320.
3. SCENIHR. Assessment of Antibiotic Resistance Effects of Biocides. Brussels: Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks Directorate-General for Health & Consumers; 2009.
4. Alfa MJ, Lo E, Olson N, MacRae M, Buelow-Smith L. Use of a daily disinfectant cleaner instead of a daily cleaner reduced hospital-acquired infection rates. *American Journal of Infection Control*. 2015; 43:141 - 146.
5. Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infectious Diseases*. 2005; 6:130-137.
6. Gallardo M. Acción antimicrobiana de un desinfectante de uso industrial y doméstico sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* [Tesis]. Santiago de Chile: Universidad de Chile; 2006.

7. Burguet N, Brito L, Cánovas I. Evaluación de la efectividad de un desinfectante mediante el método de placas de contacto. *Revista Cubana de Farmacia*. 2013; 47(2):185-192.
8. Vélez A. Evaluación de la concentración mínima inhibitoria en desinfectantes de uso hospitalario [Tesis]. Cali: Universidad ICESI; 2015.
9. Menis A, de Andrade D, Rigotti M, Gottardo de Almeida M, García O, Aires J. Evaluación de la desinfección de superficies hospitalarias por diferentes métodos de monitorización. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*. 2015; 23(3):466-474.
10. Herrera J. Efecto bactericida de desinfectantes sobre cepas de *Escherichia coli* y *Listeria innocua* en superficies de uso en la Industria Alimentaria [Tesis]. Santiago de Chile: Universidad de Chile; 2016.
11. Aguilar J. Protocolo de limpieza, desinfección y esterilización del material, equipamiento y vehículos sanitarios. Málaga: Emergencias.es.org editores; 2010.
12. Universidad de Cantabria. Asepsia y antisepsia e infección nosocomial [Internet]. Cantabria: Universidad de Cantabria; 2011 [citado 10 Set 2015]. Disponible en: <http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/enfermeria-clinica-2011/materialdeclase/bloquei/Tema%202.3%20Asepsia%20y%20antisepsia%20e%20infeccion%20nosocomial.pdf>.
13. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria de Brasilia. Limpieza y desinfección de superficies hospitalarias. Brasilia: Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria de Brasilia; 2010.
14. Clavell L, Pedrique de Aulacio M. Microbiología: Manual de métodos generales. 2<sup>da</sup> ed. Caracas: Universidad Central de Venezuela; 1992.
15. Chang C, Real J. Manual de producción de hipoclorito de sodio en sitio para

- desinfección de agua a nivel domiciliario. Washington D.C.: Organización Panamericana de la Salud, 1999.
16. Donaire C. Antisépticos y desinfectantes: usos y almacenajes. Chile: Pontificia Universidad Católica de Chile; 1993.
  17. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Washington D.C., USA: Universidad de Washington; 2003.
  18. Resistencia antimicrobiana en las américas: Magnitud del problema y su contención. Washington D.C.; 2000.
  19. Jorgensen J, Sahm D. Ensayo de susceptibilidad antimicrobiana: Consideraciones generales. En Murray P. & Pfaller M., eds. Manual de Microbiología clínica. 6<sup>ta</sup> ed. Washington D.C, USA: Sociedad Americana de Microbiología; 1995.
  20. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: Editorial: Ministerio de Salud; 2002.
  21. Bernal M, Guzmán M. El antibiograma de discos. Normalización de la Técnica de Kirby-Bauer. España: Editorial Biomédica; 1984.
  22. Brock T, Madigan M. Microbiología. 6<sup>ta</sup> ed. Madrid: Editorial Prentice Hall Hispanoamericana S.A.; 1993.
  23. Mims C, Playfair J, Roitt I, Wakelin D, Williams R, Anderson M. Microbiología médica. España: Editorial Mosby/Doyma Libros; 1995.
  24. Prescott P, Harley J, Klein D, Microbiología. 4<sup>ta</sup> ed. Madrid: Editorial McGraw Hill Interamericana; 2008.

25. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria de Brasilia. Limpieza y desinfección de superficies hospitalarias. Brasilia: Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria de Brasilia; 2010.
26. Hernández I, Delgado M, Gil A. Manual de Epidemiología y Salud pública. 2<sup>da</sup> ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2011.
27. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: Editorial: Ministerio de Salud; 2002.
28. NCCLS. Tablas complementarias para disco difusión: Comité Nacional para estándares de laboratorio clínico: Documento M100-S10; 2002. Disponible en: [http://www.acronymfinder.com/National-Committee-for-Clinical-Laboratory-Standards-\(NCCLS\).html](http://www.acronymfinder.com/National-Committee-for-Clinical-Laboratory-Standards-(NCCLS).html)
29. Hernández R, Fernández-Collado C, Baptista P. Metodología de la Investigación. 4<sup>ta</sup> ed. México: Editorial Mc Graw-Hill; 2006.
30. Sánchez H, Reyes C. Metodología y Diseños en la Investigación científica. Lima: Editorial Visión Universitaria; 2009.
31. Valderrama S. Pasos para elaborar Proyectos y Tesis de Investigación científica. Lima: Editorial San Marcos E.I.R.L.; 2010.
32. Pineda E, Alvarado E, Canales F. Metodología de la investigación. Washington: Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud; 1994.
33. Mims C, Playfair J, Roitt I, Wakelin D, Williams R, Anderson M. Microbiología médica. España: Editorial Mosby/Doyma Libros; 1995.

34. Brooks G, Butel J, Ornston L, Jawetz E, Melnick J, Adelberg Edward. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 15<sup>ta</sup> ed. México: Editorial El Manual moderno S.A. de C.V.; 1996.
35. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima, Perú: Editorial Ministerio de Salud; 2002.
36. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria de Brasilia. Limpieza y desinfección de superficies hospitalarias. Brasilia: Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria de Brasilia; 2010.
37. Mims C, Playfair J, Roitt I, Wakelin D, Williams R, Anderson M. Microbiología médica. España: Editorial Mosby/Doyma Libros; 1995.
38. Clavell L, Pedrique de Aulacio M. Microbiología: Manual de métodos generales. 2<sup>da</sup> ed. Caracas: Universidad Central de Venezuela; 1992.
39. Gallardo M. Acción antimicrobiana de un desinfectante de uso industrial y doméstico sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* [Tesis]. Santiago de Chile: Universidad de Chile; 2006.
40. Vélez A. Evaluación de la concentración mínima inhibitoria en desinfectantes de uso hospitalario [Tesis]. Cali: Universidad ICESI; 2015.

## **ANEXOS**



## ANEXO N°1

### MATRIZ DE CONSISTENCIA

#### EFECTO DE DOS DESINFECTANTES DE USO HOSPITALARIO SOBRE EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli*

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	FORMULACIÓN DE OBJETIVOS	VARIABLE DE INVESTIGACIÓN			METODOLOGÍA
		Variables	Dimensión	Indicador	
¿Cuál es el efecto de dos desinfectantes de uso hospitalario sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> ?	<p><b>Objetivo general</b> Determinar el efecto de dos desinfectantes de uso hospitalario sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>.</p> <p><b>Objetivos específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Aislar e identificar cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> a partir de muestras clínicas de pacientes atendidos en el hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé (Huancayo).</li> <li>Evaluar el efecto de los desinfectantes de uso hospitalario (Iodopovidona y Clorhexidina gluconato) sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de los cultivos aislados.</li> </ul>	Efecto del desinfectante	Hipoclorito de sodio	0,05%	<p><b>1. Método de investigación.-</b> Analítico.</p> <p><b>2. Tipo de investigación.-</b> Aplicado, prospectivo y transversal.</p> <p><b>3. Nivel de investigación.-</b> Experimental.</p> <p><b>4. Diseño de la investigación.-</b> Pre-experimental con un solo grupo (pre y post test).</p> <p><b>5. Población y muestra.-</b> La población estará constituida por todos los desinfectantes de uso hospitalario. Se someterán a estudio dos de ellos: Clorox® 7,5% y Betagen R-82F® 12% utilizados en el Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé, entre marzo a abril del 2018, escogidos mediante muestreo no probabilístico intencional.</p> <p><b>6. Técnicas e instrumento de recolección de datos</b></p> <p><b>6.1 Técnicas microbiológicas.-</b> Se emplearán métodos y técnicas microbiológicas que permitan el aislamiento, identificación y cuantificación de microbios indicadores de contaminación microbiológica y posterior determinación de susceptibilidad antimicrobiana.</p> <p><b>6.2 Instrumento de recolección de datos.-</b> Los datos serán recopilados en una Ficha de recolección de datos.</p> <p><b>7. Procedimientos de la investigación</b></p> <p><b>7.1 Aislamiento e identificación de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>.-</b> Se realizará a partir de muestras clínicas (secreciones y heces) de pacientes atendidos en el hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé (Huancayo). Se emplearán medios selectivos y diferenciales, para posteriormente proceder a la identificación en base a características macroscópicas, microscópicas y tintoriales de las colonias típicas.</p> <p><b>7.2 Evaluación del efecto de los desinfectantes sobre el crecimiento <i>in vitro</i></b></p> <p><b>A. Preparación de los discos de sensibilidad.-</b> Se perforarán discos de papel de filtro (Whatman N°42), los cuales serán procesados de la siguiente manera:</p>
				0,1%	
				0,2%	
			Amonio cuaternario	0,05%	
				0,1%	
				0,2%	
		Crecimiento <i>in vitro</i>	<i>S. aureus</i>	Sensible ≥ 21,0 mm	
				Intermedio 16,0 – 20,0 mm	
				Resistente ≤ 15,0 mm	
			<i>E. coli</i>	Sensible ≥ 16,0 mm	
				Intermedio 11,0 – 15,0 mm	
				Resistente ≤ 10,0 mm	

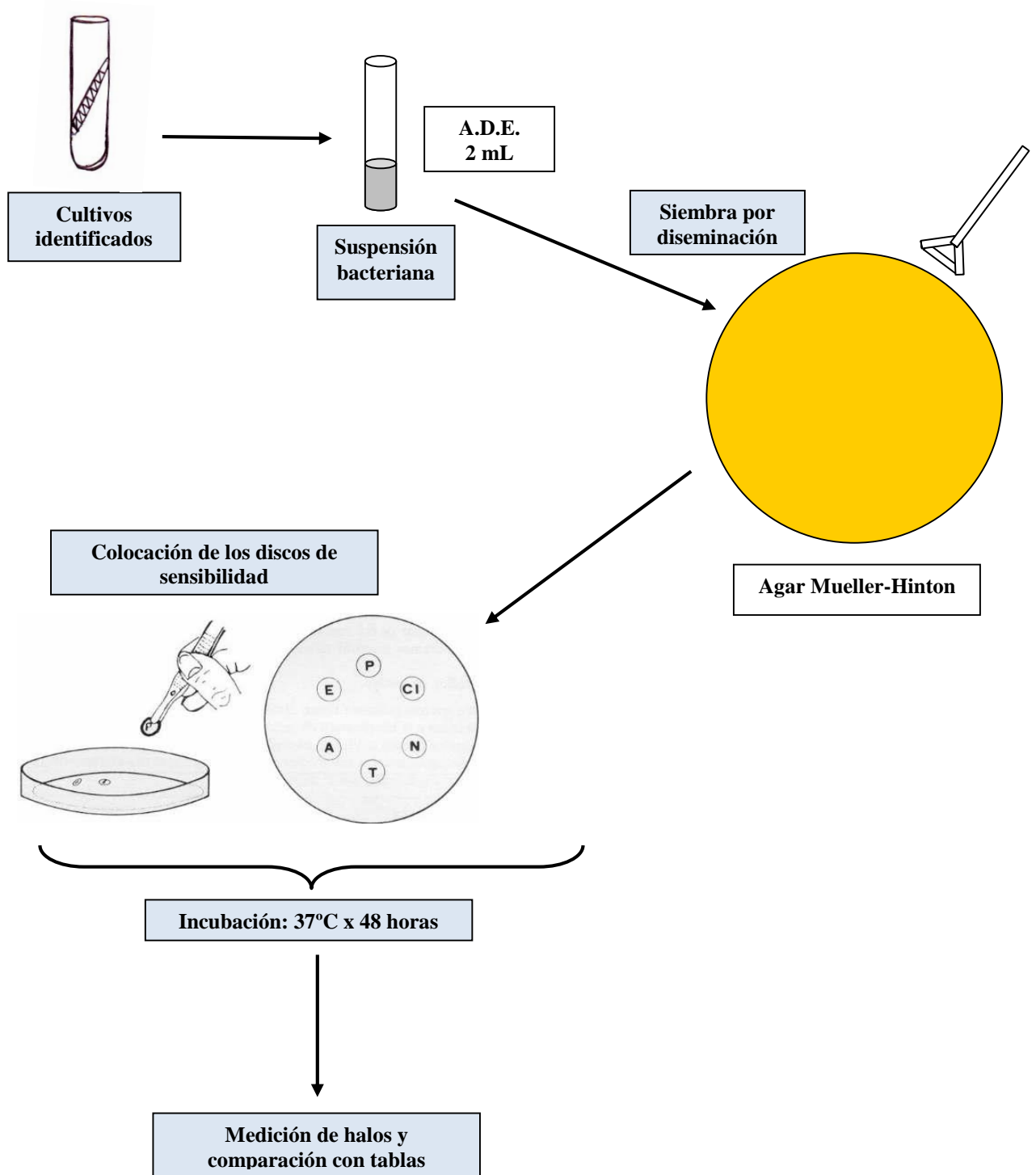
					<p><b>1. Discos control negativo:</b> Serán impregnados con agua destilada estéril durante 30 minutos.</p> <p><b>2. Discos problema:</b> Serán embebidos con diferentes concentraciones (0,05; 0,1 y 0,2%) de cada tipo de desinfectante. Luego se les someterá a desecación en estufa entre 35 a 40°C durante 45 a 60 minutos.</p> <p><b>B. Técnica de Kirby-Bauer.-</b> A los cultivos de <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i> se les aplicará un antibiograma empleando agar Mueller-Hinton con los discos de sensibilidad control, negativos, problema y con discos comerciales según criterios del INS y NCCLS, para posterior incubación en estufa a 37°C por 24 horas. Una vez realizados los antibiogramas, se procederá a la medición de los halos netos de inhibición y su comparación con las tablas estandarizadas.</p> <p><b>8. Técnicas y análisis de datos.-</b> Los resultados de los recuentos se presentarán mediante tablas cruzadas y figuras, siendo procesados e interpretados mediante estadísticos descriptivos (media aritmética). Para la determinación del efecto de los desinfectantes sobre el crecimiento <i>In vitro</i> se aplicará un análisis de Varianza (ANOVA) de un factor (<math>\alpha = 0,05</math>). Todos los datos serán procesados con el Software SPSS 23.0.</p>
--	--	--	--	--	---

**ANEXO N°2**  
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

<b>Número de muestra</b>					
<b>Fecha de colección</b>					
<b>Aislamiento en medios selectivos y diferenciales</b>					
<b>Placa N°1</b>	<b>Agar Mac Conkey</b>	<b>Positivo</b>		<b>Negativo</b>	
<b>Placa N°2</b>	<b>Agar Manitol salado</b>	<b>Positivo</b>		<b>Negativo</b>	
<b>Identificación macroscópica y microscópica</b>					
<b>Observación macroscópica</b>					
<b>Observación microscópica</b>					
<b>Identificación bioquímica</b>					
<b>Agar TSI</b>					
<b>Agar LIA</b>					
<b>Agar SIM</b>					
<b>Agar Citrato de Simons</b>					
<b>Coagulasa</b>					
<b>Catalasa</b>					
<b>Resultados del Antibiograma</b>					
		<b>Resistente</b>	<b>Intermedio</b>	<b>Sensible</b>	
<b>Desinfectante 1: Hipoclorito de sodio (Clorox® 7,5%)</b>					
<b>Concentración</b>	0,05%				
	0,1%				
	0,2%				
<b>Desinfectante 2: Amonio cuaternario (Betagen R-82F® 12%)</b>					
<b>Concentración</b>	0,05%				
	0,1%				
	0,2%				

Fuente: Elaboración propia, enero 2018

### ANEXO N°3

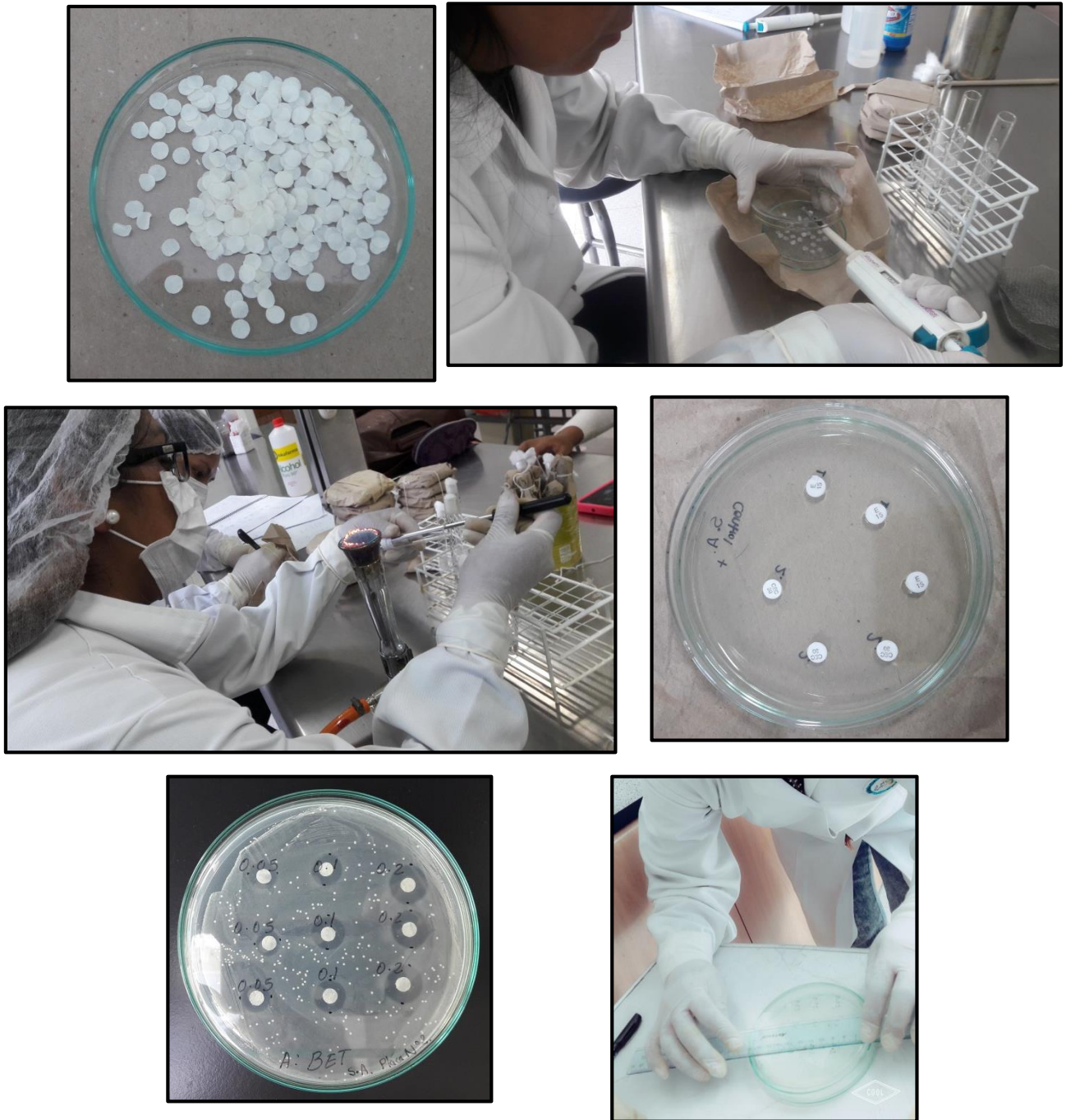


Fuente: Elaboración propia, enero 2018

Figura N°3.

Esquema de trabajo para la realización de los antibiogramas

## ANEXO N°4



Fuente: Elaboración propia, abril del 2018

**Figura N°4**  
**Galería fotográfica de la realización de los antibiogramas**