

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**“COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO DESINFECTANTE DE
CLORHEXIDINA Y CLORHIDRATO DE POLIHEXAMETILENO
GUANIDINA EN INSTRUMENTAL MÉDICO QUIRÚRGICO**

CONTAMINADO CON *Pseudomona aeruginosa*

ATCC 27853 Y *Staphylococcus aureus*,

ATCC 25923”, TACNA - 2019

TESIS

Presentada por

Bach. MARCO ANTONIO QUENTA QUISPE

Para optar el Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

TACNA – PERÚ

2021

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO DESINFECTANTE DE
CLORHEXIDINA Y CLORHIDRATO DE POLIHEXAMETILENO
GUANIDINA EN INSTRUMENTAL MÉDICO QUIRÚRGICO
CONTAMINADO CON *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853
Y *Staphylococcus aureus*, ATCC 2592, TACNA - 2019**

TESIS

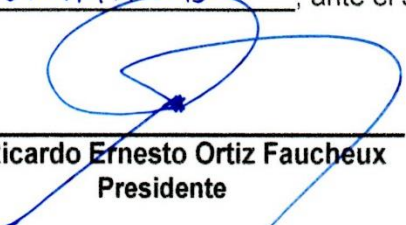
Presentada por:

Bach. MARCO ANTONIO QUENTA QUISPE

Para optar el Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

Aprobada por UNANIMIDAD, ante el siguiente jurado



Dr. Ricardo Ernesto Ortiz Faucheux
Presidente



Dr. Edgard Guido Calderón Copa
Miembro



Dr. Juan José Evaristo Changllo Roas
Miembro



Q.F. Orlando Agustín Rivera Benavente
Asesor

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi guía en todo momento y darme sabiduría para alcanzar este gran logro.

A mi madre, por su apoyo incondicional y por confiar en mí.

A mi esposa Elizabeth, gracias a su amor y comprensión he podido dar un paso más en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi alma mater y a mis docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, quienes me enseñaron los principios fundamentales de nuestra profesión y proporcionaron las herramientas imprescindibles para poder desempeñar en la vida profesional.

Mi más sincero agradecimiento a mi asesor Q.F. Orlando Agustín Rivera Benavente y a todos que ayudaron a concretar la elaboración de esta tesis.

ÍNDICE

Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Índice	v
Índice de Figuras	ix
Índice de Anexos	xi
Resumen	xiii
Abstract	xiv
Introducción	1

CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

1.1	Descripción del problema	5
1.2	Formulación Del Problema	10
1.2.1	Problema principal	10
1.2.2	Problemas secundarios	11
1.3	Justificación e importancia de la investigación	13
1.4	Alcances y limitaciones	14
1.5	Objetivos	16
1.5.1	Objetivo General	16

1.5.2	Objetivos Específicos	16
1.6	Hipótesis	18
1.6.1	Hipótesis General	18
1.6.2	Hipótesis Específicas.....	18
1.7	Variables	19
1.7.1	Variable X.....	19
1.7.2	Variable Y	20
1.7.3	Operacionalización de variables	21
 CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO		
2.1	Antecedentes de Investigacion.....	22
2.1.1	Antecedentes Internacionales.....	22
2.1.2	Nacionales.....	31
2.2	Bases Teóricas	34
2.2.1	Etapas de la desinfección de materiales.....	34
2.2.2	Compuestos químicos en desinfección.....	41
2.2.3	Bacterias en estudio	48
2.2.3.1	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	48
2.2.3.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	56

2.2.4	Cepa ATCC	60
2.2.4.1	Cepa <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853....	61
2.2.4.2	Cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	62

CAPÍTULO III, MARCO METODOLÓGICO

3.1	Tipo y Diseño de Investigación.....	63
3.1.1	Tipo de Investigación.....	63
3.1.2	Nivel de Investigación.....	64
3.1.3	Diseño de Investigación.....	64
3.2	Poblacion y muestra.....	65
3.2.1	Población.....	65
3.2.2	Muestra	65
3.3	Técnicas e instrumentos para la recolección de datos	67
3.3.1	Microrganismos de ensayo	67
3.4	Materiales y/o Instrumentos	68
3.4.1	Materiales.....	68
3.4.2	Instrumentos.....	70
3.4.3	Procedimiento de recojo de datos.....	70
3.5	Técnicas en Análisis de Datos	73

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

4.1. Resultados	74
4.2. Comprobación de Hipótesis	84
Discusión	89
Conclusiones	99
Recomendaciones	101
Referencias bibliográficas	102

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	99
Figura 2.	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	99
Figura 3.	Coloración Gram.....	100
Figura 4.	Prueba de la catalasa.....	100
Figura 5.	Prueba de la coagulasa.....	101
Figura 6.	Cultivo de <i>Staphylococcus aureus</i> en Agar sangre.....	101
Figura 7.	Crecimiento en Agar Manitol Salado.....	102
Figura 8.	Coloración Gram.....	103
Figura 9.	Prueba de la oxidasa.....	103
Figura 10.	Cultivo a 42 °C.....	104
Figura 11.	Agar TSI.....	104
Figura 12.	Utilización de citrato.....	105
Figura 13.	Prueba de la catalasa.....	105
Figura 14.	Preparación de la solución contaminante.....	106
Figura 15.	Contaminación de los instrumentos en un depósito.....	106
Figura 16.	Verificación de la impregnación bacteriana.....	107
Figura 17.	Desinfección con la Clorhexidina 2 %.....	107
Figura 18.	La muestra se coloca al final en la incubadora.....	108
Figura 19.	Contaminación de los instrumentos.....	108

Figura 20.	Verificación de la impregnación bacteriana.....	109
Figura 21.	Desinfección con Polihexametileno Guanidina 9 %.....	109
Figura 22.	Mediante hisopado tomar muestra.....	110
Figura 23.	Contaminación de los instrumentos.....	111
Figura 24.	Verificación de la impregnación bacteriana.....	111
Figura 25.	Proceder a la desinfección con el Hipoclorito de Sodio.....	112
Figura 26.	Toma de muestra de la cantidad UFC.....	112
Figura 27.	Contaminación de los instrumentos.....	113
Figura 28.	Verificación de la impregnación bacteriana.....	113
Figura 29.	Desinfección con la Clorhexidina 2% por sumersión.....	114
Figura 30.	Mediante hisopado tomar muestra de UFC adheridos.....	114
Figura 31.	Contaminación de los instrumentos.....	115
Figura 32.	Toma de datos del número de UFC/gérmenes.....	115
Figura 33.	Desinfección con el Polihexametileno Guanidina 9 %.....	116
Figura 34.	Mediante hisopado tomar muestra.....	116
Figura 35.	Contaminación de los instrumentos en un depósito.....	117
Figura 36.	Hisopado a cada instrumento.....	117
Figura 37.	Desinfección con el Hipoclorito de Sodio.....	118
Figura 38.	Toma de muestra de la cantidad UFC/gérmenes.....	118

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Matriz de consistencia.....	117
Anexo 2.	Instrumento de registro de datos.....	119
Anexo 3.	Flujograma del trabajo experimental	120
Anexo 4.	Esquema de trabajo	121
Anexo 5.	Caracterización fenotípica del microorganismo	122
Anexo 6.	Pruebas bioquímicas de <i>Staphylococcus aureus</i>	123
Anexo 7.	Pruebas bioquímicas para <i>Pseudomona aeruginosa</i>	125
Anexo 8.	Procedimiento de contaminación de los instrumentos con <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y desinfección con Clorhexidina 2 %.....	128
Anexo 9.	Procedimiento de contaminación de los instrumentos con <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y desinfección con Polihexametileno Guanidina 9 %.	131
Anexo 10.	Procedimiento de contaminación de los instrumentos con <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y desinfección con Hipoclorito De Sodio 0,5 %	133
Anexo 11.	Procedimiento de contaminación de los instrumentos con <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853 y desinfección con Clorhexidina 2 %.....	135

Anexo 12.	Procedimiento de contaminación de los instrumentos con <i>Pseudomona aeruginosa</i> y desinfección Polihexametileno Guanidina 9 %	137
Anexo 13.	Procedimiento de contaminación de los instrumentos con <i>Pseudomona aeruginosa</i> y desinfección con Hipoclorito de sodio 0,5 %.	139
Anexo 14.	Constancia de utilización de cepas <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853 Y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	141
Anexo 15.	Constancia que acredita que la parte experimental del trabajo de tesis se desarrolló en el laboratorio de Microbiología de la escuela profesional de Biología-Microbiología.....	142

RESUMEN

La finalidad de esta investigación fue comparar el efecto desinfectante de la Clorhexidina al 2 % y Polihexametileno Guanidina (PHMB) al 9 % en la inhibición de formación colonias de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en superficies de acero quirúrgico inoxidable. El tipo de investigación es de diseño comparativo, de corte longitudinal, prospectivo y analítico. Las unidades de estudio fueron los materiales de uso en procedimientos quirúrgicos, donde se realizó la siembra microbiológica. Se observa que la inhibición de Unidad Formadora de Colonia en superficies de acero quirúrgico de *Pseudomona aeruginosa* y del *Staphylococcus aureus* tratadas con Clorhexidina al 2 % es superior al 99 %. La reducción de UFC en superficies de acero quirúrgico tratadas con PHMB al 9 % es superior al 99 %. En conclusión, el efecto desinfectante de Clorhexidina 2 % y de PHMB 9 % son iguales y ambos pueden inactivar efectivamente los gérmenes seleccionados, pero frente a *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 el Polihexametileno guanidina 9 % tuvo mayor efectividad.

Palabras clave: *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Polihexametileno Guanidina, Clorhexidina y material quirúrgico

ABSTRACT

The purpose of this research was to compare the disinfecting effect of 2 % Chlorhexidine and 9 % Polyhexamethylene Guanidine (PHMB) on the inhibition of *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 on stainless surgical steel surfaces. The type of research is of comparative, longitudinal, prospective and analytical design. The study units were the materials for use in surgical procedures, where the microbiological seeding was carried out. It is observed that the inhibition of Colony Forming Unit on surgical steel surfaces of *Pseudomona aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* treated with 2 % Chlorhexidine is greater than 99 %. The CFU reduction on surgical steel surfaces treated with 9 % PHMB is greater than 99 %. In conclusion, the disinfecting effect of Chlorhexidine 2 % and PHMB 9 % are the same and both can effectively inactivate the selected germs, but against *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, Polyhexamethylene guanidine 9 % was more effective.

Keywords: *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Polyhexamethylene Guanidine, Chlorhexidine and surgical material

INTRODUCCIÓN

En el presente son dificultades de salud pública las infecciones intrahospitalarias. El aumento de pacientes con alta vulnerabilidad a padecer de infecciones durante la hospitalización, la aparición de bacterias resistentes a los antibacterianos, así mismo el crecimiento y la dificultad que sucede en las intervenciones y el desarrollo de diversos procedimientos invasivos en cirugía, provoca que sea muy complicado su eliminación.

En el transcurso de la hospitalización de los pacientes existe un problema renuente como la exposición a diversos microorganismos patógenos durante su hospitalización. La proximidad de tales agentes infecciosos con los pacientes realmente no origina una enfermedad intrahospitalaria, existen diversos agentes o causas que pueden afectar el desarrollo de las infecciones que puede contraer un paciente a lo largo de su tratamiento en un hospital, La transmisión por uno de estos patógenos posiblemente sea inoculada por un cuerpo o materias resultante del contacto con otros pacientes infectados y sea el centro de propagación de la infección (infección cruzada). La realización de un alto nivel de salubridad

y limpieza en toda área de trabajo asistencial es primordial para disminuir la transmisión de cualquier patógeno infeccioso.

El implemento fundamental a fin de prevenir la propagación de patógenos causantes de infecciones nosocomiales es el empleo adecuado de desinfectante ².

La limpieza y desinfección es la reducción o eliminación de microorganismos de los dispositivos médicos, las superficies y el medio ambiente, de manera que no puedan llegar a los sitios vulnerables para causar una infección ¹. Con el incremento del número de procedimientos quirúrgicos y el desafío de las infecciones que puede contraer un paciente a lo largo de su tratamiento en un hospital, la instauración sobre procesos de descontaminación por medio de productos seguros y apropiados en el entorno de atención médica es obligatoria.

Se ha determinado el grado de contaminación bacteriana en los instrumentos quirúrgicos después de las operaciones y su reducción por limpieza y / o desinfección. Aproximadamente el 60 % de los instrumentos usados transportaban < 10¹ microorganismos, el 80 % < 10² y el 90 % < 10³ ².

Los instrumentos quirúrgicos predisponen a estar infectados por agentes patógenos que habitan la piel y los órganos. Los instrumentos quirúrgicos podrían actuar como fómites para los patógenos de la infección del sitio quirúrgico, aun si el campo estéril no se encuentra aparentemente infectado por bacterias ³. Las contaminaciones son principalmente atribuibles a partículas en el aire que transportan microorganismos, principalmente *Staphylococcus aureus*, que se asientan en las manos y los instrumentos del cirujano ⁸. Las tasas de contaminación en cirugía limpia, son consistentemente aproximadamente del 1 al 2 % ⁸ en hospitales con excelentes cuidados preventivos, pero que obviamente serán mayores donde no existen las condiciones de bioseguridad.

No limpiar ni desinfectar debidamente el equipo quirúrgico reutilizable implica un peligro concomitante con el quebrantamiento de la barrera de protección. El grado de desinfección requiere del empleo establecido del objeto: elementos críticos son el instrumental quirúrgico, (se usan en cavidades y tejido estéril), artículos semicríticos (se usan en mucosas), y los elementos que no son críticos (que solo usan la piel intacta) necesitan procedimientos como la esterilización, desinfección de elevado nivel y bajo nivel, así mismo. La limpieza es el primer procedimiento a realizar antes de

la desinfección y esterilización de elevado nivel que el personal de salud debe considerar.

Por ello los resultados del estudio tiene el propósito de demostrar la eficacia de dos desinfectantes usados comúnmente contra bacterias nosocomiales para aportar una alternativa eficaz respecto a productos estandarizados en servicio en la región.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción del problema

La estadía del paciente durante su tratamiento en el hospital tiene un nexo directo con las infecciones intrahospitalarias. Es así que diversos estudios ^{2,3} evidencian que se constituyen un problema mundial para la salud observando que los pacientes hospitalizados tienen una frecuencia que va entre un 5 a 10 % por lo que es primordial identificar los agentes patógenos relacionados, las bacterias son las que tienen una alta relevancia epidemiológica, otros microorganismos menos habituales son los virus y hongos, pero de igual consideración en lo que a su atención indica. Entre las bacterias de mayor exposición en las infecciones nosocomiales estarían en primer lugar la *Pseudomona aeruginosa*. Actualmente es un patógeno de elevado efecto en las enfermedades intrahospitalarias. Oscila en los países como España (10 %) y EE.UU. (25 %). En segundo lugar, el *Staphylococcus aureus*, es un Gram positivo que aprovecha el momento ideal, porque produce

afecciones en los pacientes, sobre todo cuando éste pasa por episodios de vulnerabilidad vinculados a circunstancias atípicas que disminuyen y alteran el sistema inmunológico. pues produce diversas enfermedades en la población; sin embargo, dentro de los hospitales es el “punto” ideal de esta bacteria, en donde tiene el acceso con abundantes pacientes vulnerables, por enfermedades graves, traumatismos o quemaduras serias u otras lesiones, incluyendo las cirugías, o bien, porque les han sido realizado tratamientos que debilita las defensas de la célula o el uso erróneo del dispositivo médico en el paciente ³.

En nuestra región el Hospital Hipólito Unanue de Tacna, como hospital de referencia en el año 2018 se notificó un total 29 casos de infecciones nosocomiales. Las áreas más afectadas fueron: Neonatología, Medicina, Gineco-Obstetricia, UCI, Cirugía debido a pacientes con infecciones en el torrente sanguíneo, tracto urinario, neumonías, heridas operatorias asociados a la exposición de los procedimientos invasivos y/o quirúrgicos ⁴.

La práctica en la Región muestra que en algunos países hay una óptima atención de IAAS en los servicios sanitarios, pero es

difícil de evaluar, existen datos nacionales de intentos aislados de evaluación en diferentes hospitales del Perú incluida nuestra región que muestran cifras que oscilan entre el 10 - 18 % de prevalencia puntual. Aunque en el Hospital Hipólito Unanue de nuestra Región tiene un comité de infecciones intrahospitalarias y se realiza constantemente la vigilancia de estas infecciones, es escaso los datos que brindan las investigaciones que detallan las infecciones intrahospitalarias de una manera clínica y epidemiológica que permita la ejecución de disposiciones de prevención que tenga que realizar el profesional de salud ⁴.

El Ministerio de Salud del Perú, toca estos temas en forma organizada y sistémica y pone en funcionamiento múltiples enfoques como la conformación de los comités de Infecciones Intrahospitalarias y el establecimiento de las unidades de epidemiología en los establecimientos hospitalarios, el entrenamiento al profesional de salud. Además, la implementación de nuevos métodos y normas con el objeto de desarrollar y fortalecer la vigilancia, prevención y control de las infecciones nosocomiales, colaborando en mejorar la atención de salud en los servicios hospitalarios del país ⁴.

En tales circunstancias, los hospitales tiene la obligación en disponer comités de vigilancia delegado a disponer programas eficientes, con la finalidad de reducir la presencia de estas afecciones nosocomiales que puedan afectar al personal del establecimiento; los planes seleccionados tiene que permitir a realizar actos concretos de vigilancia, conteniendo desde las más simple (por ejemplo, la utilización de jabón líquido desinfectante cada vez que se atiende un paciente y el aseo de las manos).

El implemento fundamental a fin de prevenir la propagación de patógenos causantes de infecciones nosocomiales es el empleo adecuado de desinfectante ² y esto ayuda al profesional sanitario contar con un instrumento importante para eludir la propagación de patógenos infecciosos.

Aunque los instrumentos quirúrgicos, materiales y las áreas en los servicios sanitarios son aplicados con desinfectantes, algunos patógenos pueden permanecer y propiciar problemas en el ámbito de salud pública. Hay investigaciones que indican una reacción de resistencia en los diversos organismos microscópicos luego de la

limpieza y desinfección ⁵, la supervivencia o tolerancia a diversas sustancias es una dificultad en los servicios de salud que está sucediendo a nivel global posteriormente del invento de los antibióticos. El uso de los antibióticos sin un control y el empuje selectivo realizado por los desinfectantes y productos antisépticos ha causado una reacción de resistencia que los adecua para eludir con mucha eficacia la acción bactericida de varios agentes desinfectantes ⁶.

Actualmente se procura explicar si existen mecanismos en común entre medicamentos antibacterianos, antisépticos y productos desinfectantes que les faculta a las bacterias y otros agentes patógenos a modificar genes que posiblemente generen una menor susceptibilidad a los desinfectantes y antibióticos provocando resistencia y tolerancia a estos agentes ⁷.

Los desinfectantes son un instrumento importante en los hospitales y otras áreas sanitarias para controlar la proliferación de gérmenes en distintas aplicaciones (esterilizar dispositivos médicos y desinfectar áreas y superficies).

Numerosos informes explican la resistencia de las bacterias después de la limpieza y desinfección al mostrar resistencia a tal tratamiento, esto puede ser provocado por diversos métodos que poseen los microorganismos para resistir o tolerar el efecto de los desinfectantes.

Por lo que resulta útil evaluar la eficacia de los agentes existentes y/o buscar alternativas que ayuden a combatir los microorganismos de alta patogenicidad, que contaminan el instrumental médico quirúrgico.

1.2. Formulación del Problema

1.2.1. Problema principal

¿Cuál es el efecto desinfectante de Clorhexidina comparada con el efecto desinfectante del Polihexametileno Guanidina (PHMB) en la formación de colonias de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable?

1.2.2. Problemas secundarios

- a) ¿Cuál es el efecto desinfectante de Clorhexidina en el control de formación de colonias de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable?
- b) ¿Cuál es el efecto desinfectante de Clorhexidina en el control de formación de colonias de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable?
- c) ¿Cuál es el efecto desinfectante de Clorhidrato de Polihexametileno Guanidina (PHMB) en el control de formación de colonias de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 en la superficie de material quirúrgico de acero inoxidable?
- d) ¿Cuál es el efecto desinfectante de Clorhidrato de Polihexametileno Guanidina (PHMB) en el control de

formación de colonias de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en la superficie de material quirúrgico de acero inoxidable?

e) ¿Existe diferencia significativa respecto a un grupo control de Hipoclorito de Sodio en la densidad bacteriana y mitigación o eliminación colonias de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 en la superficie de material quirúrgico de acero inoxidable?

f) ¿Existe diferencia significativa respecto a un grupo control de Hipoclorito de Sodio en la densidad bacteriana y mitigación o eliminación colonias de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en la superficie de material quirúrgico de acero inoxidable?

1.3. Justificación e importancia de la investigación

1.3.1. Social

Este estudio aporta con información importante sobre la eficacia del efecto inhibitorio de la formación de colonias de *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* de dos desinfectantes empleados en el ambiente intrahospitalario en instrumental médico quirúrgico, pues muchas veces los protocolos de limpieza y desinfección no cumplen su finalidad debido a la inadecuada utilización de las sustancias desinfectantes, Los cuales tienen varios efectos adversos en los pacientes que se someten a cirugía, como complicaciones postoperatorias desfavorables, necesidad de tratamiento adicional, estadía prolongada en el hospital e incluso mortalidad.

1.3.2. Teórica

El desarrollo de este estudio enriquece y actualiza el conocimiento sobre la eficacia de la Clorhexidina y del

Polihexametileno Guanidina frente a estas cepas, asimismo de proporcionar antecedentes sobre las consecuencias relacionadas con la existencia de estos patógenos y proporcionará a futuros trabajos de investigación se guíen para crear y poner en funcionamiento protocolos de limpieza y desinfección intrahospitalaria; lo cual reducirá la posibilidad de contraer algún tipo de infección a ese nivel.

1.3.3. Metodológica

Para el avance de este trabajo se utilizaron procedimientos estandarizadas en Microbiología que hicieron posible aislar e identificar a partir de cepas ATCC, para luego realizar ensayos *In vitro* que determinaron el efecto inhibitorio de colonias de *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* para prevenir la contaminación de material quirúrgico.

1.4. Alcances y limitaciones

El presente trabajo aporta y actualiza el conocimiento sobre la eficacia de la Clorhexidina y del Polihexametileno Guanidina frente a estas cepas y proporcionará a futuros trabajos de investigación para que se guíen a crear y poner en funcionamiento protocolos de limpieza y desinfección nosocomial; lo cual reducirá la posibilidad de contraer algún tipo de infección a ese nivel en nuestra región con evidencia investigativa respecto a productos estandarizados y proporcionar una alternativa para el uso de los desinfectantes.

La presencia de contaminación de las muestras con otros gérmenes. Para controlar dicho fenómeno se individualizará los gérmenes por cultivos especializados.

La carencia de equipos, materiales para la realización de este trabajo dificulta la investigación al poner en riesgo de contagio por trabajar con cepas peligrosas.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo General

Comparar el efecto desinfectante de Clorhexidina y Polihexametileno Guanidina en la inhibición de formación colonias de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable.

1.5.2. Objetivos Específicos

- a) Medir el efecto desinfectante de Clorhexidina en la formación de colonias de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable
- b) Medir el efecto desinfectante de Clorhexidina en la formación de colonias de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable

- c) Medir el efecto desinfectante de Clorhidrato de Polihexametileno Guanidina en la formación de colonias de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 en la superficie de material quirúrgico de acero inoxidable
- d) Medir el efecto desinfectante de Clorhidrato de Polihexametileno Guanidina en la formación de colonias de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en la superficie de material quirúrgico de acero inoxidable
- e) Comparar con grupo control de Hipoclorito de Sodio, el efecto desinfectante de Clorhexidina y Polihexametileno Guanidina según presencia de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y densidad bacteriana (unidad formadora de colonias).
- f) Comparar con grupo control de Hipoclorito de Sodio, el efecto desinfectante de Clorhexidina y Polihexametileno Guanidina según presencia de *Staphylococcus aureus*

ATCC 25923 y densidad bacteriana (unidad formadora de colonias).

1.6. Hipótesis

1.6.1. Hipótesis General

El efecto desinfectante de la Clorhexidina y Polihexametileno Guanidina (PHMB) es estadísticamente diferente en la inhibición de colonias de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable.

1.6.2. Hipótesis Específicas

- a) El Polihexametileno Guanidina (PHMB) es más efectivo en el control y erradicación de colonias de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable.

b) La Clorhexidina es más efectiva en el control y erradicación de colonias de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable.

1.7. Variables

1.7.1. Variable X

- Contaminación: Presencia de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853
- Contaminación: Presencia de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Dimensiones

- Unidad de formación de colonias (UFC)
- Densidad bacteriana por campo

1.7.2. Variable Y

- Desinfectante

Dimensiones

- Clorhexidina
- Polihexametileno Guanidina (PHMB)
- Grupo Control: Hipoclorito de Sodio

1.7.3. Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicador	Técnica de verificación	Valor	Escala
Variable X Contaminación microbiológica	Presencia de gérmenes en y superficie que se desarrollan en colonias (UFC)	Microorganismos de ensayo caracterizados fenotípicamente	<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853	UFC Densidad por campo (enumeración bacteriana)	Prueba Bioquímica Cultivo (UFC) Microscopia	Presencia= 1 Ausencia= 0	Nominal
			<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	UFC Densidad por campo (enumeración bacteriana)	Prueba Bioquímica Cultivo (UFC) Microscopia	Presencia= 1 Ausencia= 0	Nominal
Variable Y Desinfectante	Producto químico capaz de ser bactericida y bacteriostático	Selección de 2 desinfectantes de uso hospitalario	Clorhexidina	Concentración al 2 %	Especificaciones del producto y lavado con 50 ml por 10 minutos	50 ml del producto	Razón
			Polihexametileno Guanidina (PHMB)	Concentración al 9 %	Especificaciones del producto y lavado con 50 ml por 10 minutos	50 ml del producto	Razón
		Selección de producto control	Hipoclorito de sodio	Concentración al 0,5 %	Especificaciones del producto y lavado con 50 ml durante 5 minutos	50 ml	Razón

Fuente: Elaboración propia

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Saito et al. ⁸ el año 2014 desarrollaron su estudio en la Universidad de Tokio, denominado “*Contaminación microbiana de instrumentos quirúrgicos utilizados para laparotomía*”, su estudio fue comparativo descriptivo donde realizó el examen microbiológico en 140 pares de fórceps utilizados en 24 laparotomías electivas. Su trabajo consistió determinar el riesgo de contaminación de los instrumentos quirúrgicos según el tipo de instrumento y el procedimiento quirúrgico. Teniendo como resultado que total de 66 cepas de microbios de 44 instrumentos recolectados (31 %), con recuentos microbianos que oscilan entre 0 y 296 unidades formadoras de colonias. Entre los microbios recuperados, predominaron los cocos gramnegativos. Los microbios restantes incluyeron 6 cepas de bacilos grampositivos y 4 cepas de bacilos gramnegativos. Concluye que el instrumental quirúrgico tiende a

estar infectado durante las operaciones por microorganismos que habitan la piel y los órganos, por consiguiente, podría actuar como fomites para los patógenos de la infección en el área quirúrgica, aun si el campo no está aparentemente inoculado con estos patógenos, mediante la aplicación de prácticas adecuadas que se adhieran a las pautas de infección del sitio quirúrgico.

Hopman et al.⁹ el año 2018 realizó su estudio en Países Bajos denominado *“Evaluación del riesgo después de una infección hospitalaria grave asociada a Pseudomonas aeruginosa productora de carbapenemasa”* en el cual evaluó el riesgo de una infección inesperada, grave y letal adquirida en el hospital causado por *Pseudomonas aeruginosa* en el entorno hospitalario del Centro Médico de la Universidad de Radboud realizado en 11 pacientes ingresados en la cirugía combinada cardiotorácica y pulmonar afirma que la resistencia de los bacilos gramnegativos está surgiendo rápidamente en todo el mundo y demostró que la transmisión plausible de *Pseudomonas aeruginosa* existe una relación de las cepas del paciente en la ducha, lavamanos y muestra de aire.

Forrester et al.¹⁰ el año 2018 en Estados Unidos, desarrollo la investigación denominada *“Reprocesamiento de instrumentos quirúrgicos en países con recursos limitados: una revisión del alcance de los métodos, políticas y barreras existentes”*. Realizó una revisión del alcance de los artículos en inglés en las bases de datos de PubMed, Web of Science y Google Scholar para el reprocesamiento de instrumentos quirúrgicos. A lo cual identificó novecientos setenta y dos resúmenes. La mitad discutió las deficiencias en la capacitación del personal. La esterilización (n = 38, 95 %), la verificación de la esterilización (n = 19, 48 %) y la limpieza y descontaminación del instrumento (n = 16, 40 %) fueron las prácticas de reprocesamiento de instrumentos más comunes examinadas. Refiere que las infecciones quirúrgicas son uno de los importantes motivos de morbilidad y mortalidad en los países de ingresos bajos y medianos (LMIC) y Los instrumentos quirúrgicos inadecuadamente reprocesados pueden ser un vector para patógenos. Existen grandes brechas entre las prácticas de reprocesamiento de instrumentos en los LMIC y las políticas / procedimientos recomendados. Las áreas de mejora identificadas incluyen la limpieza y descontaminación de los instrumentos, los aspectos de esterilización del reprocesamiento de los instrumentos

y la verificación de la esterilización. La educación y capacitación del personal responsable de los instrumentos de reprocesamiento y las políticas y procedimientos realistas y definidos son fundamentales y se prestan para mejorar las intervenciones.

Rutala et al.¹¹ el año 2004 en Estados Unidos, estudio la *“Desinfección, esterilización y antisepsia: principios, prácticas, temas de actualidad, nuevas investigaciones y nuevas tecnologías”* evidenciando que las intervenciones invasivas que lleva al contacto por medio de un dispositivo quirúrgico con el tejido estéril o mucosas de un paciente. El nivel de desinfección o esterilización va a depender de su uso: crítico (se usan en contacto con tejido estéril, como instrumentos quirúrgicos), semicríticos (se usan en membrana mucosa), y no crítico (se usan en piel intacta) los artículos requieren un proceso como desinfección de alto nivel y desinfección de bajo nivel, proporcionalmente. La limpieza es el primer procedimiento previo a la desinfección y esterilización. Además, que los antisépticos son esenciales para la prevención de infecciones como parte de un programa de higiene de las manos, así como varios otros usos, como la antisepsia quirúrgica de las manos y la preparación preoperatoria de la piel.

Walczak et al. ¹² el 2014 en Polonia desarrollo la investigación “*El efecto de los derivados del clorhidrato de polihexametilenguanidina (PHMG) introducidos en la polilactida (PLA) sobre la actividad de las enzimas bacterianas*”. en el cual tuvo como objetivo investigar las propiedades bactericidas de las películas de polilactida (PLA) que contienen tres derivados diferentes del Hidrocloruro de Polihexametileno Guanidina y el efecto de los derivados sobre las enzimas hidrolíticas extracelulares y las deshidrogenasas intracelulares. Todos los derivados de PHMG tuvieron un efecto bactericida ligeramente más fuerte en *Staphylococcus aureus* que en *Escherichia coli*, pero solo la cera de Polietileno Granular de PHMG (a una concentración de al menos 0,6 %) tiene un efecto bactericida. Los derivados de PHMG introducidos en PLA afectaron en pequeña medida la actividad de las hidrolasas microbianas. Esto significa que la introducción de derivados de PHMG en PLA no reducirá significativamente su biodegradación enzimática. Por otro lado, los derivados de PHMG introducidos en PLA afectaron fuertemente la actividad de las deshidrogenasas en *Staphylococcus aureus* que en *Escherichia coli*.

Oulé et al.¹³ el 2018 en Estados Unidos, desarrollo la investigación “*Desinfectante a base de Polihexametileno guanidina clorhidrato: una nueva herramienta para combatir el Staphylococcus aureus resistente a la meticilina y las infecciones nosocomiales*”, en la cual probó la eficacia del Hidrocloruro de Polihexametileno Guanidina, biocida antimicrobiano de la familia de la Guanidina, frente a cepas de control de calidad de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis*, *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA) y *Escherichia coli*. La actividad bactericida contra *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *Salmonella choleraesuis* se determinó utilizando procedimientos de análisis y con las modificaciones recomendadas por la Junta General de Normas de Canadá. Para MRSA y *E. coli*, la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Bactericida Mínima para calcular se utilizó la técnica de dilución en caldo. Los experimentos se llevaron a cabo a 20 grados C bajo un rango de condiciones que incluían una concentración variable de PHMGH (0,001 - 0,1 %), tiempo de contacto (0,5 - 10 min) y tipo de agua (destilada, agua del grifo y agua dura). Los valores del coeficiente de fenol determinados con *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis* y *Pseudomona aeruginosa* fueron 7,5, 6,1 y 5 respectivamente. No

importa qué tipo de agua se usó para hacer las diluciones, PHMGH destruyó MRSA y *Escherichia coli* en concentraciones tan bajas como 0,04 y 0,005 % (p / v), respectivamente, dentro de 1,5 min. El modo de acción de la PHMGH se dilucidó mediante microscopía electrónica de transmisión: se rompió la envoltura celular, lo que provocó una fuga de contenido celular en el medio. La finalidad de esta investigación es determinar que la PHMGH se puede usar como un desinfectante inodoro, incoloro, no corrosivo e inofensivo para instalaciones hospitalarias y domésticas.

Henao et al. ¹⁴ el año 2017 en Colombia, desarrollaron la investigación “*Evaluación de la actividad antimicrobiana de dos soluciones multipropósitos comercializadas en Colombia frente a las cepas de staphylococcus aisladas de la microbiota conjuntival*”, en la cual evaluaron el efecto antibacteriano de dos soluciones multipropósito comercializadas en Colombia teniendo por composición al Polyhexametileno Guanidina confrontando con *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* obtenidas de la conjuntiva de pacientes sanos, para la prueba en laboratorio se tiene como referencia a la norma ISO 14729. Se evalúa la actividad antibacteriana de las dos soluciones multipropósitos inhiben en el

tiempo como señala el laboratorio, teniendo más de 3,0 log las UFC de cada prueba con cada una de las bacterias estudiadas teniendo una media de reducción logarítmica para los dos patógenos mayor de 5,0 como requiere la norma ISO 14729, que proporciona una inhibición máxima al 99,9 % de las cepas. Las investigaciones del efecto antibacteriano frente a otras soluciones teniendo el principio activo PHMG como agente desinfectante cumplen con lo que especifica y pide la norma ISO 14729 y lleva a cabo la perspectiva en este desinfectante con una media de reducción logarítmica mayor de 3,0 en las cepas de *S. aureus* notando su eficacia.

Espitia, Holguin et al. ¹⁵ el año 2007 en Colombia, realizaron el *Estudio in vitro de la capacidad de proliferación de la bacteria Pseudomonas Aeruginosa y la levadura candida albicans a los materiales de lentes de contacto blandos y la eficacia antimicrobiana de las soluciones de mantenimiento*, en donde evaluaron la capacidad de crecimiento y multiplicación de la bacteria *Pseudomona aeruginosa* en 5 distintas presentaciones de lentes de contacto con materiales diferentes. Su trabajo indica que el agente patógeno puede incrementar con facilidad y tamaño con el material Balafilcon A y en menos proporción en los demás lentes de la misma

manera verificó la actividad antibacteriana de las soluciones de mantenimiento codificadas como: solución dymed (Polihexametileno biguanida al 0,0001 %) esta solución es óptima contra *Pseudomonas aeruginosa*, pues muestra una acción bactericida. La PHMB es un desinfectante con carga positiva que tiende a adherirse facultativamente a la pared celular de los fosfolípidos con carga negativa provocando deterioro en la membrana, por ende, la muerte celular.

Huérfano et al. ¹⁶ el año 2011 en Colombia, desarrollaron la investigación *Relación entre resistencia bacteriana a antibióticos y antisépticos más usados a nivel hospitalario*, evaluaron los mecanismos de supervivencia de cepas multirresistentes a antibacterianos (*Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*) frente a un antiséptico (alcohol glicerinado) y un producto con excipiente de clorhexidina al 2 % a fin de fijar un nexo con la resistencia a los antibacterianos y los productos desinfectantes. Como resultado se determinó una supervivencia frente al alcohol con glicerina frente a *Klebsiella pneumoniae* evidenciando un desarrollo de 16 minutos. En el lado de *Pseudomonas aeruginosa*, presenta un desarrollo aproximado de los cuatro minutos esto demuestra una

tolerancia frente al antiséptico en estudio. además, en la apreciación con clorhexidina al 2 % se determina que hay una disminución total de *Klebsiella pneumoniae* y la *Pseudomonas aeruginosa* presenta mecanismos de resistencia mostrando crecimiento aproximadamente en dos minutos se concluye que ambas cepas examinadas muestran tolerancia y resistencia al usar alcohol glicerinado por tal motivo es necesario una mejora en la formulación y producción del antiséptico, Además establece que el desinfectante de clorhexidina al 2 % es efectivo en *Klebsiella pneumoniae* pues elimina por completo el crecimiento bacteriano y . en cambio, existe una tolerancia a la clorhexidina con *Pseudomonas aeruginosa* mostrando crecimiento y desarrollo en dos minutos.

2.1.2. Nacionales

Mendoza ¹⁷, en 2018 realiza un estudio denominado “*Eficacia de dos desinfectantes de uso hospitalario frente a biopelículas de Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus aureus formadas sobre acero inoxidable*” fue de tipo comparativo. Determinó la actividad de dos desinfectantes de uso nosocomial Dezavid (cloruro de benzalconio 0,001 % y PHMB 0,009 %) y Supersafe-D (amonio

cuaternario de última generación 0,25 %) frente a biopelículas de *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* desarrolladas en materiales de acero quirúrgico. Concomitantemente comparó lo mismo con un grupo control a base de Hipoclorito de Sodio (lejía) de utilidad casera. Se sembró una biopelícula contaminada con los gérmenes en cuestión y luego de 6 días mediante sumersión con soluciones de 0,05, 0,10 y 1,00 % de Dezavid; Supersafe-D y lejía común. A continuación, se midió las UFC/disco comparando frente a una solución control sin desinfectante. Los productos con mejor efecto fue el Dezavid 1,00 %; 0,10 % y Supersafe-D para *S. aureus*. Para *P. aeruginosa* los mejores fueron Dezavid 1,00 % y Supersafe-D. La lejía (1:20) demostró igualdad con el Dezavid 1,00 %; 0,10 % y Supersafe-D frente a *S. aureus*. Para la bacteria *Pseudomona aeruginosa*, la lejía (1:20) tuvo la misma acción que Dezavid® 0,10 %.

Arias ¹⁸, en el año 2018 realizó su estudio denominado “*Efecto antibacteriano in vitro del Propóleo, Hipoclorito de Sodio y Gluconato de Clorhexidina frente a Enterococcus faecalis y Staphylococcus aureus*”, fue de tipo comparativo. Determinó la acción antibacteriana y germicida *in vitro* del propóleo, lejía y un desinfectante a base de

Clorhexidina contra las cepas de *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*. En esta investigación trabajo con 96 discos de sensibilidad ordenados en doce placas de antibiograma que se dividió en dos grupos. Guiada bajo norma de análisis de varianza concluyendo que presenta una distancia estadísticamente proporcional entre la acción antibacteriana frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* ($P < 0,05$), demostrando que: la Clorhexidina 2 % con una media de halo de $20,68\text{mm} \pm 2,21$ en los dos agentes, hipoclorito de sodio 4 % con una media de $11,87\text{mm} \pm 2,26$, Propóleo 30 % con una media de $11,02\text{mm} \pm 2,3$. En conclusión, determina que la Clorhexidina tiene un eficiente efecto antibacteriano frente al propóleo y la lejía además tiene un efecto germicida contra *enterococcus faecalis* y *staphylococcus aureus*.

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Etapas de la desinfección de materiales

Esta terminología es empleada en los diversos puntos para la vigilancia y prevención de enfermedades (CDC) en los documentos “Pautas para el Control de Infecciones Ambientales en Salud-Instalaciones de Salud” ¹⁹ y “Pautas para la desinfección y esterilización en instalaciones de atención médica” ²⁰.

a. Descontaminación

La descontaminación es el proceso para reducir o eliminar los microorganismos de los dispositivos médicos, las superficies y el medio ambiente, de manera que no pueden llegar a los sitios vulnerables para causar infecciones ²¹. Consiste en una limpieza a fondo sola o en combinación con desinfección o esterilización. El nivel de descontaminación debe ser tal que no exista riesgo de infección al usar el equipo posteriormente.

Los objetivos de descontaminación son:

- Eliminar la materia orgánica, por ejemplo, Fluidos corporales, alimentos y suelo, que pueden contener o apoyar el crecimiento de organismos patógenos.
- Para evitar la acumulación de polvo que puede contener organismos patógenos.
- Eliminación de peligros químicos.

Hace casi 40 años, Spaulding ²² ideó una justificación con respecto al enfoque de descontaminación que aún hoy utilizan los profesionales de control de infecciones.

La elección del método depende de:

- Uso previsto del material
- Naturaleza de la contaminación.
- Tiempo requerido para el procesamiento

- Calor, presión, humedad y tolerancia química del objeto.
- Disponibilidad del equipo de procesamiento.

b. Limpieza

Es la eliminación de materiales extraños, como suciedad, grasa y materia orgánica (suero, sangre, pus o material fecal). Esto reduce la cantidad de microorganismos presentes, así como el suelo. Es el proceso importante en la descontaminación. No existe un único agente de limpieza que pueda eliminar todos los tipos de suelo. La limpieza se realiza generalmente usando agua con detergentes o productos enzimáticos para eliminar el material residual. Puede ser manual usando fricción (frotar / restregar el área manchada con un cepillo) y fluidos (fluidos a presión) o mecánicos usando limpiadores ultrasónicos o lavadoras / desinfectadoras, que pueden servir para reducir el tiempo de manejo y contacto de los contactos del personal. A veces se recomienda la desinfección general usando Hipoclorito de

Sodio al 0,5 –1 % (5000–10,000 ppm de Cl_2) (lejía doméstica) o un desinfectante con actividad apropiada.

Los agentes de limpieza contienen las siguientes propiedades:

- Saponificación
- Emulsificación
- Surfactación
- Dispersión
- Peptización
- Ablandamiento del agua
- Enjuague libre y no tóxico.

La limpieza es esencial para cualquier dispositivo antes de la desinfección y / o esterilización, ya que el material orgánico puede desactivar los desinfectantes químicos y proteger a los microorganismos del proceso de descontaminación. Se ha demostrado que la limpieza manual y mecánica logra aproximadamente una reducción de 4-log^{10} en organismos contaminantes ²³.

c. Desinfección

Son procedimientos físicos o químicos con la finalidad de lograr inhibir y también eliminar los gérmenes de formas vegetativas en distintos materiales o herramientas ²⁴.

La desinfección son mecanismos y maneras de matar e inhibir diversos agentes patógenos (excepto las esporas y los priones bacterianos) de objetos, a un nivel que no es perjudicial para la salud.

d. Desinfectante

Es una sustancia química que se coloca sobre áreas u objetos inertes, para eliminar los microorganismos y así evitar las infecciones ²⁵.

Un desinfectante ideal tendría una alta actividad germicida incluida las esporas. Unos pocos matarán las esporas bacterianas con tiempos de exposición prolongados.

Tabla 1. Propiedades del desinfectante ideal

Propiedad	Descripción
Amplio espectro	Poseer amplio efecto germicida y ser eficiente contra diversos microorganismos.
Rápida acción	Tiene que provocar una destrucción eficaz.
No ser dañado por diversos factores del medio ambiente	En materia orgánica debe ser eficaz (sangre, esputo, heces) y poder combinarse con detergentes y diversas sustancias químicas.
No toxico	No tiene que ser lesivo para la piel.
Compatibilidad con diversas superficies	No dañar materiales como metales, plásticos, gomas, etc.
Sin olor	Tener olor suave o ser inodoro.
Que no sea costoso	El precio tiene relación con la preparación y la seguridad al usar.
Estabilidad	En la concentración y dilución en uso.
Limpieza	Tener buenas características de limpieza.
Fácil de manipular	La complicado en la preparación y uso puede establecer dificultad en el usuario.
No toxico en las superficies	Tiene que degradarse facilmente y al usarlo que no provoque irritación en la piel, mucosas otras reacciones adversas.
Soluble en agua	Para poder desechar el desinfectante.

Fuente : Rutala W. Selection and use of desinfectants in health care. In: Mayhall. Hospital Epidemiology and Infection Control. Maryland: G. Baltimore. 1996 ²⁶.

e. Esterilización

Es un proceso diseñado para erradicar diversas formas viables de vida microbiológica, incluidos virus, esporas producido por bacterias y micobacterias de la superficie de un artículo o en un fluido para prevenir la transmisión de enfermedades asociadas con el uso de ese artículo. Sin embargo, desde la década de 1950, ha habido un aumento en los dispositivos fabricados con plásticos que requieren esterilización a baja temperatura. La esterilización exitosa depende de los tres elementos interdependientes de la tríada de esterilización:

- Contacto íntimo y adecuado entre el esterilizante y todas las superficies del dispositivo
- Minimización de la carga biológica (suelo) (limpieza a fondo)
- Equipo de esterilización y esterilización validado y apropiado para lograr la combinación correcta de temperatura y esterilización.

Cuando se realiza correctamente los procedimientos en la desinfección nos asegura el uso seguro de material médico.

2.2.2. Compuestos químicos en desinfección

a. Clorhexidina

Es un antiséptico químico, eficaz contra microorganismos con tinción positivas y negativas con efecto de acción tanto bactericidas como bacteriostáticos. Este agente no tiene efecto en las esporas, bacilos de la Tuberculosis y solo tiene un efecto limitado en los virus. La Clorhexidina está disponible en varias concentraciones ²⁷.

Mecanismo de acción: Su absorción es por difusión pasiva mediante la membrana celular, es de efecto rápido en bacterias, hongos y levaduras. A mínimas concentraciones proporciona una variación negativa de la permeabilidad osmótica y una disminución proteínas

enzimáticas del periplásma. En concentraciones elevadas produce alteraciones de las proteínas y ácidos nucleicos.

Efecto: son bactericidas y fungicidas y de efecto virucida variable.

Ventajas y desventajas:

- Su efecto bactericida proporciona un amplio espectro germicida y se puede trabajar si hay materia orgánica.
- Presenta una acción prolongada y rápida acción germicida.
- Se absorbe poco en la piel y provoca mínimas reacciones alérgicas. Salvo el uso con concentraciones elevadas es posible la aparición de reacciones adversas tóxicas ²⁸.

Concentraciones de uso:

Tiene usos a diferentes concentraciones. Como antiséptico de la piel existe presentaciones al 4 y con excipientes detergentes al 2 % para la desinfección y limpieza corporal antes de la cirugía del paciente además del lavado de las manos ²⁵.

b. Hipoclorito de Sodio

Es eficaz para tratar el derrame de sangre y el riesgo de transmisión de virus (por ejemplo, hepatitis viral). Es un oxidante fuerte y altera las reacciones oxidativas de las bacterias al liberar el Cloro para dañar las paredes celulares de las bacterias. Las bacterias se matan en 1 minuto. Los hongos y los virus son extremadamente susceptibles, pero los bacilos de la tuberculosis son más resistentes. El compuesto puede ser corrosivo dependiendo de la concentración de metales, algunos plásticos y telas, y debe eliminarse a fondo después. También es inactivado por la materia orgánica ¹.

Mecanismo de acción:

Proporciona un efecto inhibitorio de los procesos enzimáticos, las proteínas comienzan a desnaturalizarse además los ácidos nucleicos se inactivarán y precipitarán.

Efecto:

Contra virus, hongos, bacterias.

Ventajas y desventajas:

El efecto es inmediato, además de un costo económico para obtenerlo y practicidad al manejarlo. Contiene actividad desodorizante.

El gran inconveniente es que al contacto es corrosivo y es inerte al usar cuando hay materia orgánica, desencadena efectos adversos en las mucosas, además que se polimeriza al exponerlo al sol afectando su actividad.

c. Glutaraldehído

Rápidamente (tiempo de desinfección de 10 minutos) destruye las bacterias y los virus rápidamente vegetativos (incluyendo la hepatitis B, el VIH), pero solo es lentamente efectiva contra las esporas y las micobacterias. El Glutaraldehído actúa por proteínas celulares desnaturizantes. Es relativamente económico compatible con diversos materiales. Sin embargo, el vapor de Glutaraldehído puede causar irritación respiratoria, tiene un olor acre, causa dermatitis alérgica de contacto y además coagula la sangre. La mayoría de los dispositivos (por ejemplo, endoscopios) sensibles al calor se desinfectan por inmersión en Glutaraldehído al 2 % o un equivalente.

d. Clorhidrato de Polihexametileno Guanidina

Los Oligómeros de Olyguanidine, en particular el oligómero de polihexametilenbiguanida, se utilizan de forma extensa y segura como desinfectantes y biocidas. El

efecto bactericida del PHMB se atribuye a su acción con los componentes de la membrana del sótano. Sin embargo, las estructuras moleculares detalladas y los componentes de los Oligómeros de Poliguanidina son todavía vagos y aún no se han aprendido. Wei et al preparó un Oligómero de Polihexametileno Guanidina por policondensación de Hexametilendiamina y Clorhidrato de Guanidina, y su estructura molecular y sus componentes se analizaron en detalle utilizando una espectrometría de masas de tiempo de vuelo por electrospray (ESI-TOF-MS). Se determinaron siete tipos de estructuras moleculares de PHMG, incluidos tres tipos lineales y cuatro cíclicos o ramificados, y sus contenidos relativos variaron con las condiciones de reacción. Además, se investigó la relación entre la actividad antibacteriana y la media del peso molecular (M_w) de PHMG. Los resultados mostraron que una solución acuosa de PHMG ($M_w > 640$) a una concentración tan baja como 1,0 ppm mostró una tasa antibacteriana por encima del 90,0 % ²⁹.

Mecanismo de acción:

El Polihexametileno Guanidina, es un polímero con carga positiva. Es por eso que al tener diferencia de carga eléctrica sucede un efecto magnético con el agente patógeno. Provocando que el polímero se adhiera al microorganismo y rodeando la superficie de la bacteria formará una capa muy delgada e impenetrable que impedirá el intercambio de oxígeno, sustancias alimenticias incluso el cambio de sustancias alimenticias que pasan en la membrana. El microorganismo buscará la manera de liberarse y en su interior ocasiona un aumento de presión produciendo que su membrana precipite y produzca la muerte del microorganismo ³⁰.

Tiene efecto bactericida, virucida, fungicida, esporicida ³¹.

Ventajas y desventajas:

Efectivo contra gérmenes que causan infecciones intrahospitalarias. No daña los objetos tratados, no

decolora el tejido, no fija la suciedad orgánica y no provoca la corrosión de los metales.

Las soluciones del producto no son inflamables, explosivas ni dañinas contra el medio ambiente. Además, no tiene acción de resorción a través de la piel y desensibilización ³².

Concentraciones de uso:

En el mercado encontramos presentaciones al 9 %.

Necesita un tiempo aproximado de 10 minutos para tener una desinfección de alto nivel mediante sumersión ³¹.

2.2.3. Bacterias en estudio

2.2.3.1. *Pseudomona aeruginosa*

Las infecciones intrahospitalarias más recurrentes con bacterias con resistencia y tolerancia además con peor pronóstico, son ocasionadas por *Pseudomonas aeruginosa*.

Este agente patógeno tiene la facultad de adaptarse a situaciones que no le favorecen como el pH y la osmolaridad de la orina. Son microorganismos que principalmente producen infecciones en atención de salud y en personas inmunodeprimidas. Es oportunista porque tiene varios mecanismos de patogenicidad, inclusive resistencia y tolerancia a los antibacterianos es por eso que dificulta el tratamiento de estas afecciones ³³.

Las infecciones causadas por este organismo farmacorresistente son complicadas de realizar tratamientos por eso su incremento en la morbilidad y la mortalidad ³⁴.

La capacidad adquirida para plantear infecciones mediante la manipulación de las interacciones de patógenos del huésped. La resistencia a los antibióticos este patógeno representó una amenaza al siguiente nivel al limitar la eficacia de los antibióticos aprobados para usos clínicos. A menudo, estos mecanismos existen simultáneamente, lo que confiere resistencia combinada a muchos antibióticos ³⁵.

Es un miembro del género *Pseudomonas*, Es una bacteria aerobia gramnegativa, varilla móvil, no formadora de esporas, oxidasa positiva y no fermentadora de lactosa. Debido a la producción de pigmentos solubles en agua como la piroidina que es un pigmento fluorescente de color verde amarillento y la pirocianina que es un pigmento azul verdoso, es fácilmente detectable en el agar ³⁶.

Se encuentra en el ecosistema del suelo, el agua y también se asocia con la infección de plantas, animales y humanos ³⁷.

La colonización humana comienza dentro del tracto gastrointestinal, y posteriormente se propaga a sitios cutáneos húmedos como el perineo y la axila. Como grupo, tienen condiciones nutricionales insignificantes para su crecimiento; a menudo solo necesita acetato y amoníaco como fuente de carbono y nitrógeno, respectivamente. Además, puede desarrollarse anaeróbicamente y obtiene alimento de la oxidación de los azúcares. Este requisito nutricional mínimo le permite crecer en entornos marginales,

como las superficies secas de los quirófanos, habitaciones de los hospitales, las clínicas y los equipos médicos, así como los lavamanos, las duchas e incluso la contaminación de agua destilada ³⁸.

Está involucrada en una variedad de infecciones adquiridas en el hospital que van desde una neumonía asociada a un ventilador hasta una infección en el torrente sanguíneo. Es el cuarto patógeno nosocomial más comúnmente aislado, es la segunda causa más común de neumonía y el tercer causante de infección del torrente sanguíneo ³⁹.

Componentes estructurales

Esta bacteria tiene la característica de provocar un extenso margen de afecciones causado por factores de patogenicidad que tiene ⁴⁰.

a) Factores de patogenicidad relacionado con la bacteria:

- El flagelo que le otorga movimiento a la célula, el flagelo tiene la proteína flagelar *FliD*, que le da al microorganismo la posibilidad de adherirse.
- Tiene una proteína con característica de flagelos (*FliC*), que le proporciona la secreción de sustancia peptídica antimicrobiana que causara la liberación de trampas extracelulares mediadas por neutrófilos.
- Para evitar la respuesta inflamatoria la bacteria elimina el orden del gen que se encarga de codificar la flagelina transformándolo a una cepa mucoide.
- Este agente patógeno posee un pili del tipo IV con lo que podrá adherirse y tener otro tipo de mecanismo de movimiento llamado “*swarming*”. provocando daño y proliferación de la bacteria ⁴⁰.

b) Factores de patogenecidad secretados por la bacteria:

- Forma una cápsula extracelular de alginato que le permite evadir la fagocitosis del sistema inmunológico.
- Produce dos tipos de biopelícula:
 - La adherencia inicial presenta una lámina prolija de estos agentes en la superficie.
 - La maduración esta relacionada con agregados celulares inmersos a la base de la biopelícula ⁴⁰.

Toxinas:

- Exo A: Impide el metabolismo de las proteínas y provoca la muerte celular
- Exo T: provoca demora en la cicatrización de las heridas.
- Exo S: Es una manera de evasión de la fagocitosis.
- Exo U: Ocasiona la muerte por apoptosis.
- Exo Y: Provoca la inhibición de la fagocitosis y el aumento en la permeabilidad endotelial ⁴⁰.

Metabolismo:

Es aerobio, catalasa positiva y oxidasa positiva, Considerado un patógeno oportunista. Es un microorganismo que tiene la capacidad de poder desarrollarse en condiciones mínimas de O₂. Vive a baja cantidad de micronutrientes y desarrollarse en temperaturas hasta 42 °C ⁴¹.

La mayor parte se desarrolla en medios mínimos, sin medios alimenticios de crecimiento, utilizando los componentes de amonio para obtener el nitrógeno y para obtener el carbono y energía lo metaboliza de la glucosa ⁴¹.

Epidemiología:

Lo encontramos en la piel especialmente de las zonas axilar y anogenital, en mínimas proporciones está presente en las o también que se le esté tratando con medicamentos antibacterianos. Este agente patógeno está presente en los lavamanos, las soluciones antisépticas y los recipientes para orina que se utilizan en los hospitales ⁴².

Los pacientes que se encuentran hospitalizados contraen estas infecciones con esta bacteria por fuentes externas e internas, pues un promedio de 5 a 10 % de las pacientes lo trae en el tracto respiratorio y gastrointestinal ⁴³.

Patogenia

Para que esta infección por este patógeno se desarrolle existen factores propician su evolución, como:

- Enfermedades malignas
- Hematológicas y
- Metabólicas.

Esta infección nosocomial se presenta en pacientes que le realizaron procedimientos instrumentales o tratamientos que se tenga que aplicar como cateterismo uretral, traqueotomías, punción lumbar e infecciones intravenosas.

El tratamiento prolongado con medicamentos inmunodepresores, antibacterianos, corticoides y terapias de radiación provoca que el paciente sea susceptible infecciones por *Pseudomona aeruginosa*.

Es un agente patógeno que ataca el tracto respiratorio en pacientes con fibrosis quística. Además, aparece en infecciones de heridas y quemaduras, como signo característico la presencia de pus de color azul verdoso.

Provoca neumonía necrosante: reportando más en pacientes hospitalizados con VIH y neumonía bacteriana ⁴³.

2.2.3.2. *Staphylococcus aureus*

Es una bacteria grampositiva que se encuentra un 20 a 30 % en las personas sanas. Las medidas de transporte de *S. aureus* en la piel alcanzan el 30 a 100 % ⁴⁴. Existen diversos factores de virulencia que especifica su patogenicidad y supervivencia antibacteriana, como las toxinas secretadas, enzimas y antígenos ⁴⁵. Estos factores

ocasionan que este patógeno evite las defensas del paciente

⁴⁶.

Puede portarse como un superantígeno común para activar las células T. Estos no necesitan procesarse y pueden adherirse a la superficie de la molécula de clase II del complejo principal de Histocompatibilidad (MHC) ocasionando una estimulación de células T policlonales ⁴⁷.

Componentes estructurales:

- **Biofilm.** Estas bacterias fabrican una película polisacárida extracelular llamada biofilm o biopelícula. Ésta ayuda a las cepas bacterianas a adherirse a distintas superficies ⁴⁸.
- **Cápsula.** Es una cápsula mucoide, que le proporciona la facilidad de adherirse a distintas células y darle la capacidad de evitar la fagocitosis.
- **Moléculas de adhesión.** Son proteínas que produce en su superficie y le permite la adherencia a los tejidos del hospedero ⁴⁹.

- **Enzimas.** Desarrolla diversas exoenzimas, proteínas de membranas activas y toxinas involucradas en el desarrollo de la enfermedad.
 - **Coagulasa:** Convierte el fibrinógeno en fibrina, provocando la coagulación del plasma, y por ende el desarrollo de sepsis y abscesos.
 - **Catalasa:** Degrada el peróxido de hidrógeno lo que le permite evitar la fagocitosis.
 - **Hialurodinasa:** degrada el ácido hialurónico lo que facilita la propagación de la infección.
 - **Lipasas, nucleasas y proteasas:** Estas destruyen los tejidos, además hidrolizan los ácidos nucleicos y estafiloquinasas
 - **Endonucleasas/DNasas:** hidrolisis de DNA.
 - **B-lactamasa:** Anula la penicilina hidrolizando el anillo β -lactámico ⁴⁸.
- **Toxinas**

- **Hemolisina:** Existen cuatro hemolisinas como: alfa, beta, gamma, delta, son capaces de realizar hemólisis y citólisis.
- La toxina Panton-Valentine
- Toxinas exfoliativas o epidermolíticas
- Las enterotoxinas ⁴⁸.

Metabolismo

Es oxidativo/fermentativo, catalasa-positivo y puede producir alimentos de diversos carbohidratos en ambientes aeróbicos, con la siguiente liberación de ácido acético con mínimas cantidades de bióxido de carbono; en condiciones anaerobias, el producto final es el ácido láctico ⁵⁰.

La temperatura de desarrollo es de 35 a 40 °C y el pH perfecto está en el rango de 7,0 y 7,5 pero es posible que soporten pH extremos ⁵¹.

Epidemiología

Es un agente patógeno que es saprófito, está presente en la piel como flora natural, pero cuando las defensas de la piel disminuyen puede provocar la enfermedad. El grupo con más probabilidad a contraer son los pacientes hospitalizados o inmunocomprometidos ⁵¹.

Patogenia

Una característica de esta bacteria es la infección directa a través de la piel y mucosas, normalmente se localizan en los tejidos blandos.

En las heridas, suturas quirúrgicas, catéteres intravenosos o urinarios y prótesis valvulares exista unos cuerpos extraños puede provocar un estado de inmunodepresión local y desarrolla la infección ⁵².

2.2.4. Cepa ATCC

Las cepas ATCC (American Type Culture Collection) son agentes patógenos certificados que podemos

emplearlo en los análisis de calidad en laboratorios microbiología y es usado en ramas como la clínica, alimenticia, farmacéutica, cosmética o ambiental. Sus propiedades genotípicas y fenotípicas proporcionan una identificación del microorganismo y al poseer esta documentación, el personal de laboratorio evitará realizar pruebas para la identificación de las bacterias, esto nos lleva a realizar trabajos de investigación en menos tiempo y mínimos recursos ⁵³.

Estas cepas se utilizan en los laboratorios de microbiología con el propósito de:

- Examinar la naturaleza de los medios de cultivo.
- Permite validar los estándares microbiológicos ⁵⁴.

2.2.4.1. Cepa *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853

Es un cultivo puro que certifica que tiene las características Morfológicas, Bioquímicas y moleculares como:

- Tener una elevada resistencia y tolerancia a diversos antibióticos existentes y además por su característica de tener mecanismos de resistencia durante la administración de antibacterianos es por eso que se utiliza en estándares de desempeño para las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos en disco.
- Ser microorganismos de prueba para medios de cultivo de uso común (dando información sobre el medio de cultivo, condiciones de cultivo, microorganismos de prueba, número de colección de cultivos de organismos de prueba y las reacciones esperadas) ⁵⁵.

2.2.4.2. Cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Es una cepa que certifica que tiene las características Morfológicas, Bioquímicas y moleculares para usos de pruebas de medios, control cualitativo de la prueba CAMP, pruebas de agar Mueller, exámenes de control de productos lácteos, difusión en disco y otros ⁵⁵.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

3.1.1. Tipo de Investigación

Según la intervención del investigador

El presente estudio es comparativo cuyo objetivo es estudiar variables que pertenecen al mismo grupo pero que diferencian en algunos aspectos ⁵⁶.

Según la planificación de las mediciones

Es prospectivo, porque la obtención de los datos fue realizada por el propio investigador (datos primarios) para el mayor control del sesgo ⁵⁶.

Según el número de mediciones

Es longitudinal porque la variable es medida en dos o más ocasiones. Es por eso que se realiza comparaciones ⁵⁶.

Según el número de variables

es analítico, porque se analiza más de una variable ⁵⁶.

3.1.2. Nivel de Investigación

Es explicativa debido a que explicare el comportamiento de una variable en relación de otra con la relación causa – efecto ⁵⁶.

3.1.3. Diseño de Investigación

Es comparativa, ya que permite, la diferenciación de fenómenos, con la intención de establecer semejanzas y diferencias entre ellos ⁵⁶.

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1. Población

La población de estudio es el conjunto de siete instrumentos quirúrgicos más usados en procedimientos de cirugía.

3.2.2. Muestra

Se realizó una muestra intencional (a conveniencia) por siembra microbiológica distribuida de la siguiente manera:

Se escogió siete instrumentos quirúrgicos más usados en procedimientos quirúrgicos. La selección del material a ser muestreado fue intencional seleccionando los materiales en el siguiente orden:

Instrumentos de Cirugía General:

- Tijera de mayo recta
- Tijera de mayo curva

- Pinza de disección sin dientes
- Pinza de disección con dientes
- Pinza *Kelly*
- Pinza Judo-Allis
- Escalpelo

3.2.3. Criterios de Inclusión y exclusión

3.2.3.1 Criterios de inclusión

- Material de acero inoxidable quirúrgico.
- Material más usado y que cuente principalmente con mediana dificultad de acceso (engranajes).
- De uso manual en acto quirúrgico
- Material que tenga contacto directo con organismo del paciente.
- Material reutilizable.

3.2.3.2 Criterios de exclusión

- Material con incrustaciones de otro material que no sea acero quirúrgico.
- Material desechable.

3.3. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

La metodología será en ensayo experimental del laboratorio de Microbiología de la escuela profesional de Biología – Microbiología de la Universidad Nacional “Jorge Basadre Grohmann”.

Se adquirirá el material quirúrgico experimental en las unidades planteadas. Se realizarán los medios, cultivos y lecturas con ayuda de biólogo (a) con experiencia en laboratorio.

3.3.1. Microrganismos de ensayo

a. *Staphylococcus aureus*, cepa (ATCC 25923) clínica obtenida del cepario del laboratorio de microbiología de la

escuela profesional de biología – microbiología de la Universidad Nacional “Jorge Basadre Grohmann”.

b. *Pseudomona aeruginosa*, (ATCC 27853) cepa clínica obtenida del cepario del laboratorio de microbiología de la escuela profesional de biología – microbiología de la Universidad Nacional “Jorge Basadre Grohmann”.

3.4. Materiales y/o Instrumentos

3.4.1. Materiales

Instrumentos de Cirugía General:

- Tijera de mayo recta
- Tijera de mayo curva
- Pinza de disección sin dientes
- Pinza de disección con dientes
- Pinza Kelly
- Pinza Judo-Allis
- Escalpelo

Materiales y reactivos de cultivo

- Agua peptona bufferada
- Agar Tripticasa de soya (TSA)
- Agar sangre
- Agar Manitol Salado

Equipos

- Autoclave
- Incubadora o estufa digital
- Balanza digital
- Agitador vórtex
- Micropipetas de 100-1000
- Placas petri estériles 15 x 100 mm
- Viales de vidrio

3.4.2. Instrumentos

Se registrarán los datos en fichas estructuradas donde se anotará las características de presencia y crecimiento de bacterias

3.4.3. Procedimiento de recojo de datos

a. Caracterización fenotípica de microorganismos Cultivo en Agar Tripticasa Soya (TSA) incubado a 37 °C por 24 horas.

- Pruebas bioquímicas para *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923
 - i. Coloración Gram
 - ii. Prueba de catalasa
 - iii. Prueba de la coagulasa
 - iv. Crecimiento en Agar sangre
 - v. Crecimiento en Agar manitol salado

- Pruebas bioquímicas para *Pseudomonas aeruginosa*
ATCC 27853

- i. Coloración Gram
 - ii. Cultivo de oxidasa
 - iii. Cultivo a 42°C
 - iv. Agar TSI
 - v. Utilización de citrato
- b. Sembrado o inoculación en instrumental en zonas de fácil y difícil acceso.

El material fue previamente esterilizado en acetona por 10 minutos y etanol. El material luego será colocado en autoclave durante 15 minutos a 121 °C.

- Se prepara la suspensión bacteriana mediante el estándar de *Mc Farland*.
- Se colocará muestra bacteriana en medio de suspensión donde se sumergirá instrumental.
- Se dejará por 15 minutos.
- Se verifica la impregnación bacteriana y se realizara un hisopado a cada instrumento.

c. Tratamiento con desinfectantes

Cada pieza será tratada mediante sumersión con cada uno de los desinfectantes más un grupo control con hipoclorito de sodio y un segundo grupo control sin ningún producto.

d. Densidad bacteriana

1. Se calculará las Unidades Formadoras de Colonias
2. Determinación de porcentaje de reducción de colonias
 - Reducción logarítmica = $\text{Log } [N_0] - \text{Log } [N]$
 - N_0 =conteo de UFC/instrumento previo (control)
 - N: Conteo de UFC/después de tratamiento con desinfectante

3.5. Técnicas en Análisis de Datos

Los resultados obtenidos se procedió a digitar en un programa de base de datos en tabla Excel con codificaciones numéricas. Se empleará el sistema de datos SPSS versión 21 para la elaboración de las tablas de contingencia y pruebas estadísticas. Se calculará medidas de tendencia central (Media y Mediana) y medidas de dispersión (Desviación estándar e intervalos de la media). Se elaborarán gráficas de error con un intervalo de confianza del 95 %. Las eficacias de los desinfectantes en estudio se medirán mediante reducción logarítmica. Se contrastarán los valores de los 4 grupos (2 de los desinfectantes y 2 de grupos control) mediante contraste de medias. Asimismo, se utilizará el análisis ANOVA para el contraste intragrupos. Se considerará un valor p significativo menor de 0,05.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. RESULTADOS

Tabla 2. Reducción logarítmica y porcentaje de reducción de la Clorhexidina al 2 % para *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.

Bacteria <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853	Control UFC/Gérmenes adheridos al instrumento	UFC después del tratamiento	Reducción Logarítmica	% de reducción
Clorhexidina 2 %				
Instrumento 1	3,8 x 10 ⁷ UFC	1 UFC	7,579783597	99,9999974
Instrumento 2	3,5 x 10 ⁷ UFC	2 UFC	7,243038049	99,9999943
Instrumento 3	4,3 x 10 ⁷ UFC	0 UFC	7,633468456	99,9999977
Instrumento 4	2,8 x 10 ⁷ UFC	19 UFC	6,16840443	99,9999321
Instrumento 5	8,7 x 10 ⁶ UFC	0 UFC	6,939519253	99,9999885
Instrumento 6	3,0 x 10 ⁷ UFC	1 UFC	7,477121255	99,9999967
Instrumento 7	5,8 x 10 ⁶ UFC	1 UFC	6,763427994	99,9999828

Fuente: Programa Excel 2016

Interpretación:

En la presente tabla se observa la reducción logarítmica conseguida con Clorhexidina para *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853. En los siete instrumentos explorados, las UFC fueron muy baja a excepción del instrumento cuatro, que estuvo ligeramente elevada pero que cuya diferencia no es significativa por ser muy reducida. El porcentaje de reducción de las UFC en todos los instrumentos fue superior al 99 %.

Tabla 3. Reducción logarítmica y porcentaje de reducción del Polihexametileno Guanidina al 9 % para *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.

Bacteria <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853	Control UFC/Gérmenes adheridos al instrumento	UFC después del tratamiento	Reducción Logarítmica	% de reducción
Polihexametileno Guanidina 9 %				
Instrumento 1	3,8 x 10 ⁷ UFC	1 UFC	7,579783597	99,99999737
Instrumento 2	3,5 x 10 ⁷ UFC	0 UFC	14,54406804	99,99999999
Instrumento 3	4,3 x 10 ⁷ UFC	1 UFC	7,633468456	99,99999767
Instrumento 4	2,8 x 10 ⁷ UFC	0 UFC	14,44715803	99,99999999
Instrumento 5	8,7 x 10 ⁶ UFC	0 UFC	12,93951925	99,99999999
Instrumento 6	3,0 x 10 ⁷ UFC	0 UFC	14,47712125	99,99999999
Instrumento 7	5,8 x 10 ⁶ UFC	0 UFC	12,76342799	99,99999999

Fuente: Programa Excel 2016

Interpretación:

En la siguiente tabla se observa la reducción logarítmica conseguida con Polihexametileno Guanidina 9 % para *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853. En los siete instrumentos explorados, las UFC post tratamiento fue muy baja. El porcentaje de reducción en todos los instrumentos fue superior al 99 %.

Tabla 4. Reducción logarítmica y porcentaje de reducción del Hipoclorito de Sodio 0,5 % para *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.

Bacteria <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853	Control UFC/Gérmenes adheridos al instrumento	UFC después del tratamiento	Reducción Logarítmica	% de reducción
Hipoclorito de sodio 0,5 %				
Instrumento 1	3,8 x 10 ⁷ UFC	0 UFC	14,5797836	99,999999
Instrumento 2	3,5 X 10 ⁷ UFC	0 UFC	14,54406804	99,999999
Instrumento 3	4,3 X 10 ⁷ UFC	0 UFC	14,63346846	99,999999
Instrumento 4	2,8 X 10 ⁷ UFC	0 UFC	14,44715803	99,999999
Instrumento 5	8,7 X 10 ⁶ UFC	0 UFC	12,93951925	99,999999
Instrumento 6	3,0 X 10 ⁷ UFC	0 UFC	14,47712125	99,999999
Instrumento 7	5,8 X 10 ⁶ UFC	0 UFC	12,76342799	99,999999

Fuente: Programa Excel 2016

Interpretación:

En la siguiente tabla se observa la reducción logarítmica conseguido con Hipoclorito de Sodio 0,5 % para *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853. En los siete instrumentos explorados, las UFC post tratamiento fue nula. El porcentaje de reducción en todos los instrumentos fue superior al 99,99 %. La eficacia fue mayor comparado con Clorhexidina 2 % y con Polihexametileno Guanidina 9 %.

Tabla 5. UFC/Gérmenes Adheridos Al Instrumento en el Control.

Bacteria <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853	<u>Control</u> UFC/Gérmenes adheridos al instrumento
Sin desinfectante	
Instrumento 1	3,8 x 10 ⁷ UFC
Instrumento 2	3,5 X 10 ⁷ UFC
Instrumento 3	4,3 X 10 ⁷ UFC
Instrumento 4	2,8 X 10 ⁷ UFC
Instrumento 5	8,7 X 10 ⁶ UFC
Instrumento 6	3,0 X 10 ⁷ UFC
Instrumento 7	5,8 X 10 ⁶ UFC

Fuente: Programa Excel 2016

Interpretación:

En la presente tabla se observa UFC adheridos al instrumento en el grupo control, aquel que no recibió ningún tratamiento. Las UFC de colonias en los siete instrumentos fluctuaron entre 2,8 X 10⁷ hasta 8,7 X 10⁶ UFC, valores muy elevados.

Tabla 6. Reducción logarítmica y porcentaje de reducción de la Clorhexidina 2 % para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Bacteria <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Control UFC/gérmenes adheridos al instrumento	UFC después del tratamiento	Reducción Logarítmica	% de reducción
Clorhexidina 2 %				
Instrumento 1	4,5 x 10 ² UFC	0 UFC	4,653212514	99,9977778
Instrumento 2	2,9 X 10 ³ UFC	0 UFC	6,462397998	99,9999655
Instrumento 3	6,8 X 10 ² UFC	0 UFC	4,832508913	99,9985294
Instrumento 4	3,6 X 10 ³ UFC	0 UFC	6,556302501	99,9999722
Instrumento 5	7,4 X 10 ² UFC	0 UFC	4,86923172	99,9986486
Instrumento 6	8,9 X 10 ² UFC	0 UFC	4,949390007	99,9988764
Instrumento 7	4,2 X 10 ² UFC	0 UFC	4,62324929	99,9976190

Fuente: Programa Excel 2016

Interpretación:

En la presente se observa la reducción logarítmica conseguido con Clorhexidina 2 % para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. En los siete instrumentos explorados, las UFC post tratamiento fue nula. El porcentaje de reducción en todos los instrumentos fue superior al 99,99 %.

Tabla 7. Reducción logarítmica y porcentaje de reducción de Polihexametileno Guanidina 9 % para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Bacteria <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Control UFC/gérmenes adheridos al instrumento	UFC después del tratamiento	Reducción Logarítmica	% de reducción
Polihexametileno Guanidina 9 %				
Instrumento 1	4,5 x 10 ² UFC	0 UFC	4,653212514	99,997777
Instrumento 2	2,9 X 10 ³ UFC	0 UFC	6,462397998	99,999965
Instrumento 3	6,8 X 10 ² UFC	0 UFC	4,832508913	99,998529
Instrumento 4	3,6 X 10 ³ UFC	0 UFC	6,556302501	99,999972
Instrumento 5	7,4 X 10 ² UFC	0 UFC	4,86923172	99,998648
Instrumento 6	8,9 X 10 ² UFC	0 UFC	4,949390007	99,998876
Instrumento 7	4,2 X 10 ² UFC	0 UFC	4,62324929	99,997619

Fuente: Programa Excel 2016

Interpretación:

En la presente tabla se observa la reducción logarítmica conseguido con Polihexametileno Guanidina 9 % para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. En los siete instrumentos explorados, las UFC post tratamiento fue nula. El porcentaje de reducción en todos los instrumentos fue superior al 99,99 %.

Tabla 8. Reducción logarítmica y porcentaje de reducción del Hipoclorito de Sodio 0,5 % para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Bacteria <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Control UFC/gérmenes adheridos al instrumento	UFC después del tratamiento	Reducción Logarítmica	% de reducción
Hipoclorito de sodio 0,5 %				
Instrumento 1	4,5 x 10 ² UFC	0 UFC	4,653212514	99,9977778
Instrumento 2	2,9 X 10 ³ UFC	0 UFC	6,462397998	99,9999655
Instrumento 3	6,8 X 10 ² UFC	0 UFC	4,832508913	99,9985294
Instrumento 4	3,6 X 10 ³ UFC	0 UFC	6,556302501	99,9999722
Instrumento 5	7,4 X 10 ² UFC	0 UFC	4,86923172	99,9986486
Instrumento 6	8,9 X 10 ² UFC	0 UFC	4,949390007	99,9988764
Instrumento 7	4,2 X 10 ² UFC	0 UFC	4,62324929	99,9976190

Fuente: Programa Excel 2016

Interpretación:

En la presente tabla se observa la reducción logarítmica conseguido con Hipoclorito de Sodio 0,5 % para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. En los siete instrumentos explorados, las UFC post tratamiento fue nula. El porcentaje de reducción en todos los instrumentos fue superior al 99,99 %.

Tabla 9. UFC/Gérmenes Adheridos Al Instrumento en el Control.

Bacteria <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<u>Control</u> UFC/Gérmenes Adheridos al instrumento
SIN DESINFECTANTE	
Instrumento 1	4,5 x 10 ² UFC
Instrumento 2	2,9 X 10 ³ UFC
Instrumento 3	6,8 X 10 ² UFC
Instrumento 4	3,6 X 10 ³ UFC
Instrumento 5	7,4 X 10 ² UFC
Instrumento 6	8,9 X 10 ² UFC
Instrumento 7	4,2 X 10 ² UFC

Fuente: Programa Excel 2016

Interpretación:

En la presente tabla se observa UFC adheridos al instrumento en el grupo control, aquel que no recibió ningún tratamiento. Las UFC en los siete instrumentos fluctuaron entre 2,9 X 10³ hasta 8,9 X 10² UFC, valores muy elevados.

Tabla 10. Análisis de diferencia de Medias (t de students) de los desinfectantes y grupo control para *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.

<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Diferencias relacionadas					t	gl	p
	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95 % Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
Clorhexidina 2 % - control	-3811428	24616217,4	9304055,62	60880486,0	15348078,0	-4,097	6	0,006
Polihexametileno guanidina 9 % - control	-3811428	24616216,1	9304055,15	60880487,5	15348081,9	-4,097	6	0,006

Fuente : Programa SPSS, version 21

Interpretación:

En esta tabla observamos el contraste de la eficacia de Clorhexidina y Polihexametileno Guanidina para *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 según el grupo control. Ambas sustancias demostraron ser mejor que grupo control y de eficacia similar entre ellas ($p=0,006$).

Tabla 11. Análisis de diferencia de Medias (t de students) de los desinfectantes y grupo control para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

<i>Staphylococcus aureus</i>	Diferencias relacionadas						t	gl	p
	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia					
				Inferior	Superior				
Clorhexidina 2% - control	-1382,857	1301,598	491,958	- 2586,634	-179,080	-2,811	6	,031	
Polihexametileno Guanidina 9 % - control	-1382,857	1301,598	491,958	- 2586,634	-179,080	-2,811	6	,031	

Fuente : Programa SPSS, version 21

Interpretación:

En la presente tabla se observa el contraste de la eficacia de Clorhexidina y Polihexametileno Guanidina para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 según el grupo control. Ambas sustancias demostraron ser mejor que grupo control y de eficacia similar entre ellas ($p=0,031$).

4.2. COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS

Se ha evaluado la comparación *in vitro* del efecto desinfectante de Clorhexidina y Clorhidrato de Polihexametileno Guanidina en instrumental médico quirúrgico contaminado con *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”, Tacna – 2019.

- **Planteamiento de la hipótesis general**

Hipótesis nula (Ho): La eficacia de la Clorhexidina Y Polihexametileno Guanidina estadísticamente una de ellas es mejor en la inhibición de colonias de *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable.

Hipótesis alterna (H1): La eficacia de la Clorhexidina Y Polihexametileno Guanidina son iguales en la inhibición de colonias de *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable.

- **Establecer un nivel de significancia**

Tiene un nivel de Significancia (alfa) $\alpha = 5 \% = 0,05$

Calculamos el margen de error y su nivel de confianza de la siguiente manera; error del 5 % y que tenga una confianza del 95 %.

- **Seleccionar estadístico de prueba**

Escogemos la prueba de "t" de Student para hallar si presenta una diferencia notable entre los promedios de dos grupos la eficacia de la Clorhexidina Y Polihexametileno Guanidina (PHMB) en la inhibición de colonias de *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable.

- **Región de aceptación y rechazo**

Para resolver la región de aceptación y rechazo, se determina los grados de libertad para luego establecer el valor del T student según la tabla estadística.

$$g.l. = n - 1$$

$$g.l. = 7 - 1$$

$$g.l. = 6$$

$$t = 2,447$$

- **Cálculo De Las Pruebas Realizadas De Los Desinfectantes Y Grupo Control Para *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.**

Clorhexidina – control

Calculando tenemos el valor de t de student de -4,097 con un valor de p = 0,006

Polihexametileno Guanidina – control

Calculando tenemos el valor de t de student de -4,097 con un valor de p = 0,006

- **Conclusión estadística**

Para un contraste bilateral, el valor del T student con 6 grados de libertad es de -2,447 a 2,447 y el resultado es -4,097; posteriormente, se desestima la hipótesis nula y se admite la

hipótesis alterna, afirmando que la eficacia de la Clorhexidina Y Polihexametileno Guanidina son iguales en la inhibición de colonias de *Pseudomona aeruginosa* en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable.

- **Cálculo de las pruebas realizadas de los desinfectantes y grupo control para *Staphylococcus aureus*.**

- Clorhexidina 2 % – control

Calculando tenemos el valor de t de student de -2,811 con un valor de $p = 0,031$

- Polihexametileno Guanidina 9 % – control

Calculando tenemos el valor de t de student de -2,811 con un valor de $p = 0,031$

- **Conclusión estadística**

Para un contraste bilateral, el valor del T student con 6 grados de libertad es de -2,447 a 2,447 y el resultado es -2,811; por consiguiente, se desestima la Hipótesis nula y se admite la Hipótesis alterna, afirmando que la eficacia de la Clorhexidina Y

Polihexametileno Guanidina son iguales en la inhibición de colonias de *Staphylococcus aureus* en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable.

- **Interpretación**

Se encontró que la eficacia de la Clorhexidina Y Polihexametileno Guanidina son iguales en la inhibición de colonias de *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable.

DISCUSIÓN

Las infecciones intrahospitalarias ocasionados por *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* pueden ocurrir durante la estancia hospitalaria. Históricamente estas infecciones están presentes en los hospitales con mayor o menor incidencia y en una problemática de salud pública y una razón de prevenir y evitar en los establecimientos e institutos de salud a nivel global, por las consecuencias humanas, económicas y a nivel social que estas pueden traer ^{2,51}.

La *Pseudomona aeruginosa* en los últimos años ha incrementado la resistencia a los antibacterianos y las enfermedades producidas por estos agentes patógenos están relacionados a un incremento de la mortalidad. Asimismo, las cepas de *Staphylococcus aureus* pueden adherirse con gran facilidad a cuerpos extraños (instrumentos quirúrgicos y dispositivos médicos), por tal motivo pueden ocasionar diversas infecciones invasivas.

Es así que en este contexto transcendental los desinfectantes permiten al profesional de salud tener un instrumento fundamental con el objeto de evitar la propagación de agentes infecciosos.

La finalidad es comparar la eficacia de la Clorhexidina y Polihexametileno Guanidina en la inhibición de UFC de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable. Comparamos la eficacia de los desinfectantes Clorhexidina al 2 % y el Polihexametileno Guanidina al 9 %; con grupo control de Hipoclorito de Sodio 0,5 % que es un producto desinfectante que se usa habitualmente en los nosocomios y de eficacia reconocida.

La norma española UNE-EN- 13697 establece que para inhibir el número de agentes patógenos en superficies fijas es fundamental que la reducción de dichos agentes necesita ser medida con el objeto de obtener resultados que al final podamos comparar y reproducir. La reducción de gérmenes se expresa en unidades logarítmicas o niveles de Log. Cada nivel muestra la reducción bacteriana en una potencia de diez, por lo que 1 nivel de Log10 determina que se ha reducido en un 90 %. En otras palabras, de una cantidad inicial del 100, solo sobreviven 10. En otros entornos diferentes a la medicina, la desinfección es óptima cuando los agentes han disminuido en un factor mayor o igual a cuatro niveles de Log10, es decir, en un 99,99%. En consecuencia, de cada 10 000 gérmenes sobrevive un máximo de uno. Sin embargo, en medicina los requisitos y condiciones son

más rigurosos por este motivo un desinfectante para que tenga una alta eficacia tiene que presentar una reducción logarítmica $\geq 4 \log$ ($\geq 99,99 \%$)⁵⁸. Para Clorhexidina al 2 % en *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 tuvo una reducción logarítmica es de 7,12 log (99,99 %); en Polihexametileno Guanidina 9 % tuvo una reducción de 12,05 log (99,99 %) respectivamente. En cuanto al desinfectante Clorhexidina al 2 % y Polihexametileno guanidina al 9 % en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 obtuvimos en ambos una reducción de 5,28 log (99,99 %). En el caso del hipoclorito de sodio se usa una concentración de 0,5 % pues el manual de desinfección y esterilización del MINSA, es una dilución para desinfección de materiales¹⁶; en *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 resulto con una reducción logarítmica de 14,05 log (99,99 %) y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tuvo 5,28 log (99,99 %) respectivamente.

Los resultados muestran que los productos en ensayo, Clorhexidina y Polihexametileno Guanidina, pueden inactivar efectivamente los gérmenes seleccionados. Si bien se probaron en bacterias de observación común, el desafío a futuro es realizar estudios con otros patógenos incluidos los virus. La desinfección de material quirúrgico es el punto más difícil y exigente para mantener un espacio o área en desinfección, productos ensayados en ese medio, por obvias razones servirían para

cualquier otro ensayo. El aporte del presente trabajo es seleccionar los productos en cuestión por su bajo costo y fácil acceso y que podría reemplazar el tradicional uso dañino de material con Hipoclorito de Sodio.

Saito et al ⁸, refiere que el instrumental quirúrgico se puede contaminar durante las operaciones por agentes patógenos que habitan la piel y los órganos. y Hopman et al ⁹ afirma que la resistencia de las bacterias gramnegativas están desarrollando a nivel global especialmente estos acantonan en material de uso médico, dado su uso en personas hospitalizadas donde las infecciones nosocomiales son comunes. En estudio similar se evalúa el riesgo de una infección imprevisible, peligrosa y perjudicial causada por *Pseudomona aeruginosa* en el entorno hospitalario si bien Forrester ¹⁰ discutió que las áreas de mejora incluyen la limpieza y descontaminación de los instrumentos son las más importantes, incluso antes que los procesos de esterilización. Para esto la educación al personal de salud a través de la presentación de los logros que se obtuvieron en esta investigación resultan ser muy necesarios. coincidiendo con Forrester que refiere que la educación y capacitación del personal responsable de los instrumentos de reprocesamiento, las políticas, procedimientos realistas definidos son fundamentales y se prestan para mejorar las intervenciones. Con mayor profundidad, Rutala et al ¹¹, anota

que todo el procedimiento invasivo necesita la manipulación de un dispositivo o instrumento quirúrgico con el tejido biológico o las membranas mucosas de un paciente. Los antisépticos son esenciales para la prevención de infecciones y la preparación preoperatoria. Walczak et al ¹², tuvo como objetivo investigar las propiedades bactericidas del Polihexametileno guanidina demostrando en su población y región que todos los derivados de PHMG tuvieron un efecto bactericida ligeramente más fuerte en *Staphylococcus aureus*, cuestión que logramos replicar en nuestro medio con marcada eficacia. Por otro lado, Oulé et al ¹³, comprobó la eficacia del hidrocloreto de Polihexametileno Guanidina para *Pseudomona aeruginosa* que también era muy eficaz, incluso demostró que la PHMGH se puede usar como un desinfectante inodoro, incoloro, no corrosivo e inofensivo para instalaciones hospitalarias y domésticas.

Henao et al ¹⁴, evaluó el efecto antibacteriano de dos soluciones multipropósito vendidas en Colombia a base de Polyhexametilen guanidina frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*, para el estudio *in vitro* como base la norma ISO 14729. Las dos Soluciones Multipropósito inhibe en más de 3 log las UFC de agentes aislados de la microflora conjuntival y concluye que las Soluciones Multipropósito compuesta de PHMG está acorde a las normas antibacterianas de la norma ISO 14729,

inoculados en *Staphylococcus aureus*. Asimismo, en nuestra investigación tuvimos una reducción logarítmica de 7,12 log (99,99 %) demostrando la eficacia del Polihexametileno Guanidina frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 además lo realizamos en instrumental quirúrgico y su trabajo lo realizo con lentes de contacto que son uno de los factores de peligro para poder tener infecciones del segmento anterior del ojo y con solo esa cepa en nuestro trabajo se trabajó con dos desinfectantes y la comparación del efecto desinfectante frente a 2 cepas ATCC.

Espitia et al ¹⁵, investigó la capacidad de propagación de la bacteria *Pseudomona aeruginosa* en cinco diferentes lentes de contacto blandos hidrofílicos. Su trabajo demuestra que este microorganismo se puede propagar con facilidad en el material Balafilcon A y en menos cantidad en los otros de la misma manera evaluó la eficacia antibacteriana de los productos codificados como: solución dymed (sustancia desinfectante: Polihexametileno biguanida al 0,0001 %) esta sustancia que contiene biguanida es eficaz frente a *Pseudomonas aeruginosa*, demostró un efecto bactericida. La PHMB es una molécula de carga positiva y fácilmente se adhiere a la pared celular que tienen fosfolípidos con carga negativa provocando deterioro en la membrana y por consiguiente la célula muere.

Comparando los resultados que obtuvimos, se confirma la acción antibacteriana de estos.

Sin embargo, en nuestro trabajo también resulto efectivo teniendo un porcentaje de reducción en todos los instrumentos superior al 99 %, pero es a una concentración del 9 % mediante sumersión y con cepas con código ATCC esto ayuda que la cepa tenga todas las características virulentas como la adherencia y resistencia frente a desinfectantes.

Arias en Perú ¹⁸, Determinó la acción antibacteriana y germicida *in vitro* del propóleo, lejía y un desinfectante a base de Clorhexidina contra las cepas de *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*. En esta investigación trabajo con 96 discos de sensibilidad ordenados en doce placas de antibiograma que se dividió en dos grupos. Guiada bajo norma de análisis de varianza concluyendo que presenta una distancia estadísticamente proporcional entre la acción antibacteriana frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* ($P < 0,05$), demostrando que: la Clorhexidina 2 % con una media de halo de 20,68mm $\pm 2,21$ en los dos agentes, lejía al 4 % con una media de 11,87mm $\pm 2,26$, Propóleo 30 % con una media de 11,02 mm $\pm 2,3$. En conclusión, determina que la Clorhexidina tiene un eficiente efecto antibacteriano frente al

propóleo y la lejía además tiene un efecto germicida contra *enterococcus faecalis* y *staphylococcus aureus*. En nuestro trabajo si bien no se trabajó con la cepa *enterococcus faecalis* y si con *staphylococcus aureus* determinamos que la reducción logarítmica conseguido con Clorhexidina 2 % para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, las unidades formadoras de colonias post tratamiento fue nula. El porcentaje de reducción en todos los instrumentos fue superior al 99,99 % y tomamos al hipoclorito de sodio al 0,5 % como muestra control para el contraste final con cada desinfectante.

Huerfano ¹⁶ en Colombia evaluó los mecanismos de supervivencia de cepas multirresistentes a antibacterianos (*Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumonie*) contra un producto antiséptico (alcohol con glicerina) y un producto con excipiente de clorhexidina al 2 % a fin de fijar un nexo con la resistencia a los antibacterianos y los productos desinfectantes. Como resultado se determinó una supervivencia en alcohol con glicerina frente a *Klebsiella pneumonie* evidenciando un desarrollo de 16 minutos. En el lado de *Pseudomonas aeruginosa*, presenta un desarrollo aproximado de los cuatro minutos esto demuestra una tolerancia frente al antiséptico en estudio. además, en la apreciación con clorhexidina al 2 % se determina que hay una disminución total de *Klebsiella pneumonie* y la

Pseudomonas aeruginosa presenta mecanismos de resistencia mostrando crecimiento aproximadamente en dos minutos se concluye que ambas cepas examinadas muestran tolerancia y resistencia al usar alcohol glicerinado por tal motivo es necesario una mejora en la formulación y producción del antiséptico, Además establece que el desinfectante de clorhexidina al 2 % es efectivo en *Klebsiella pneumoniae* pues elimina por completo el crecimiento bacteriano y . en cambio, existe una tolerancia a la clorhexidina con *Pseudomonas aeruginosa* mostrando crecimiento y desarrollo en dos minutos.

En contraste con nuestro trabajo se determinó en los siete instrumentos explorados, las unidades formadoras de colonias fueron muy baja a excepción del instrumento 4, que estuvo ligeramente elevada pero que cuya diferencia no es significativa por ser muy reducida. El porcentaje de reducción en todos los instrumentos fue superior al 99 % pero debemos indicar que nosotros al realizar la desinfección utilizamos un tiempo de 10 minutos de sumersión y ellos solo 2 minutos cabe que la diferencia de resultados puede haber influenciado con el tiempo de contacto con el desinfectante.

De otro lado, Mendoza en el Perú ¹⁷ ensaya el efecto de dos desinfectantes de uso hospitalario Dezavid® (cloruro de benzalconio 0,001 % y PHMB 0,009 %) y Supersafe-D® (amonio cuaternario de última generación 0,25 %) frente a biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC y *Staphylococcus aureus* ATCC desarrolladas en acero inoxidable sus resultados fueron que los productos con mejor resultado y eficacia fue Dezavid® 1,00 %; 0,10 % y Supersafe-D® para *Staphylococcus aureus* ATCC. Para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC los mejores fueron Dezavid® 1,00 % y Supersafe-D¹⁰ Si bien utilizaron denominaciones comerciales, en nuestro trabajo logramos demostrar con los productos farmacológicos este proceso, sin conflicto de interés. Por tal razón recomendamos que se generen nuevos protocolos hospitalarios con el uso de las sustancias sugeridas dado su fácil acceso, bajo costo y daño a materiales de uso probadamente nulo.

Es complicado contrastar los resultados de los diferentes trabajos porque las situaciones para el crecimiento de las cepas bacterianas, así como la concentración de los desinfectantes y el tiempo en el que estará expuesto alteran los resultados y los diferentes estudios utilizan y comparan con distintas cepas y diferentes desinfectantes es por eso que al contrastar la

efectividad de los desinfectantes no son las mismas al trabajo que hemos realizado y estas diferencias pueden hacer compleja la comparación.

CONCLUSIONES

- PRIMERA** Al comparar el efecto desinfectante de Clorhexidina y Polihexametileno Guanidina sobre superficies de acero es superior al 99 %, es decir que estadísticamente son iguales.
- SEGUNDA** La reducción de UFC en superficies de acero quirúrgico de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 tratadas con Clorhexidina 2 % es superior al 99%.
- TERCERA** La reducción de UFC en superficies de acero quirúrgico de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tratadas con Clorhexidina 2 % es superior al 99%.
- CUARTA** La reducción de UFC en superficies de acero quirúrgico de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 tratadas con clorhidrato de Polihexametileno Guanidina 9 % es superior al 99 %.

- QUINTA** La reducción de UFC en superficies de acero quirúrgico de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tratadas con clorhidrato de Polihexametileno Guanidina 9 % es superior al 99%.
- SEXTA** Existe diferencia altamente significativa de eficacia respecto a grupo control de hipoclorito de sodio 0,5 % (p: 0,006) de Clorhexidina y Polihexametileno Guanidina 9 % en la desinfección de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- SEPTIMA** Si bien estadísticamente el efecto desinfectante de Clorhexidina 2 % y Polihexametileno Guanidina 9 % son iguales y ambos pueden inactivar efectivamente los gérmenes seleccionados notamos que en laboratorio frente a *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 el Polihexametileno guanidina 9 % tuvo una mayor efectividad que Clorhexidina 2 %.

RECOMENDACIONES

- PRIMERA** Realizar otros estudios para comparar la eficacia de los desinfectantes en otras concentraciones y con otras bacterias de importancia patogénica.
- SEGUNDA** Se sugiere efectuar estudios de comparación de efectividad de los desinfectantes en la concentración mínima inhibitoria contra las cepas estudiadas.
- TERCERA** Se recomienda a nuestra Universidad Jorge Basadre Grohmann, implementar los laboratorios de Microbiología que permitan realizar investigaciones de mayor profundidad y con procedimientos analíticos certificados que permitan trabajar con cepas de importancia patogénica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Solon JG, Killeen S. Decontamination and sterilization. Surg - Oxf Int Ed [Internet]. 1 de enero de 2019 [citado 24 de julio de 2019];37(1):51-7. Disponible en: [https://www.surgeryjournal.co.uk/article/S0263-9319\(18\)30240-0/abstract](https://www.surgeryjournal.co.uk/article/S0263-9319(18)30240-0/abstract)
2. Lebeque Pérez Y, Morris Quevedo HJ, Calás Viamonte N. Infecciones nosocomiales: incidencia de la *Pseudomonas aeruginosa*. Revista cubana de medicina [Internet]. 2006 [citado 23 de febrero de 2020];45(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232006000100005
3. Paz-Zarza VM, Mangwani-Mordani S, Martínez-Maldonado A, Álvarez-Hernández D, Solano-Gálvez S, Vásquez-López R. *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. Revista chilena de infectología [Internet]. 2019 [citado 23 de febrero de 2020];36(2). Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182019000200180
4. Comité de Control y Vigilancia de las Infecciones Intrahospitalarias. (12 de abril de 2018). Norma Técnica de Prevención y Control de Infecciones Intrahospitalarias/ Infecciones Asociadas a la Atención de

Salud - 2018 del Hospital Hipólito Unanue - Tacna. Obtenido de <http://www.hospitaltacna.gob.pe/wp-content/uploads/2018/04/Resolucion106.pdf>

5. Martin D, Denyer S, Mcdonenell G, Maillard J. (2008). Resistance and cross-resistance to oxidising agents of bacterial isolates freon endoscope washer disinfectors. J Hosp Infect.69(4): 377-383.
6. Cristina Eugenia Cabrera, M.Sc., Rommel Fabián Gómez, B.Sc, Andrés Edmundo Zúñiga, B.Sc. (2007). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. Colombia: Corporación Editora Médica del Valle.
7. Luz Chacón-Jiménez, Keilor Rojas-Jiménez. (2020). Resistencia a desinfectantes y su relación con la resistencia a los antibióticos. San Jose - Costa Rica.
8. Saito Y, Kobayashi H, Uetera Y, Yasuhara H, Kajiura T, Okubo T. Microbial contamination of surgical instruments used for laparotomy. Am J Infect Control [Internet]. 1 de enero de 2014 [citado 26 de julio de 2019];42(1):43-7. Disponible en: [https://www.ajicjournal.org/article/S0196-6553\(13\)01102-4/abstract](https://www.ajicjournal.org/article/S0196-6553(13)01102-4/abstract)

9. Hopman J, Meijer C, Kenters N, Coolen JPM, Ghamati MR, Mehtar S, et al. Risk Assessment After a Severe Hospital-Acquired Infection Associated with Carbapenemase-Producing *Pseudomonas aeruginosa*. JAMA Netw Open [Internet]. 1 de febrero de 2019;2(2): e187665. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30768189>
10. Forrester JA, Powell BL, Forrester JD, Fast C, Weiser TG. Surgical Instrument Reprocessing in Resource-Constrained Countries: A Scoping Review of Existing Methods, Policies, and Barriers. Surg Infect. septiembre de 2018;19(6):593-602.
11. Rutala WA, Weber DJ. Disinfection, sterilization, and antisepsis: An overview. Am J Infect Control [Internet]. 2 de mayo de 2016 [citado 27 de julio de 2019];44(5, Supplement):e1-6. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655315011256>
12. Walczak M, Richert A, Burkowska-But A. The effect of polyhexamethylene guanidine hydrochloride (PHMG) derivatives introduced into polylactide (PLA) on the activity of bacterial enzymes. J Ind Microbiol Biotechnol [Internet]. 2014 [citado 27 de julio de 2019];41(11):1719-24. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4201754/>

13. Oulé MK, Azinwi R, Bernier A-M, Kablan T, Maupertuis A-M, Mauler S, et al. Polyhexamethylene guanidine hydrochloride-based disinfectant: a novel tool to fight meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* and nosocomial infections. J Med Microbiol [Internet]. diciembre de 2008;57(Pt 12):1523-8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19018024>
14. Henao Avila, Y. (2017). Evaluación de la actividad antimicrobiana de dos soluciones multipropósitos comercializadas en Colombia frente a las cepas de *staphylococcus* aisladas de la microbiota conjuntival. Bogotá, Colombia: Universidad de La Salle.
15. Espitia Alarcon, M. D. (2007). estudio in vitro de la capacidad de proliferación de la bacteria *pseudomonas aeruginosa* y la levadura *candida albicans* a los materiales de lentes de contacto blandos y la eficacia antimicrobiana de las soluciones de mantenimiento. Bogotá, Colombia: Universidad de la Salle.
16. Huerfano Romero, B. M. (2011). Relación entre resistencia bacteriana a antibióticos y antisépticos más usados a nivel hospitalario. Bogota, Colombia: Pontificia Universidad Javeriana.
17. Mendoza Z, Madelyn L. Eficacia de dos desinfectantes de uso hospitalario frente a biopelículas de *Pseudomona aeruginosa* y

Staphylococcus aureus formadas sobre acero inoxidable. Univ Nac Mayor San Marcos [Internet]. 2018 [citado 27 de julio de 2019]; Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/9986>

18. Arias Yauri, j. (2018). Efecto antibacteriano in vitro del Propóleo, Hipoclorito de Sodio y Gluconato de Clorhexidina frente a *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*. Huancayo, Peru: Universidad Peruana Los Andes.
19. Sehulster L, Chinn RYW, CDC, HICPAC. Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). MMWR Recomm Rep Morb Mortal Wkly Rep Recomm Rep [Internet]. 6 de junio de 2003;52(RR-10):1-42. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12836624>
20. CDC A. Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, 2008 Update: May 2019 [Internet]. 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/pdf/guidelines/disinfection-guidelines-H.pdf>
21. Royal Cornwall Hospitals. Decontamination Policy. 2018; Disponible en: <https://doclibrary-rcht.cornwall.nhs.uk/DocumentsLibrary/Royal>

CornwallHospitalsTrust/Clinical/InfectionPreventionAndControl/DecontaminationPolicy.pdf

22. Rutala WA, Weber DJ. 2004. Disinfection and sterilization in health care facilities: what clinicians need to know. Clin. Infect. Dis.
23. Rutala WA, Weber DJ. FDA labeling requirements for disinfection of endoscopes: a counterpoint. Infect Control Hosp Epidemiol [Internet]. abril de 1995;16(4):231-5. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7636171?dopt=Abstract>
24. Minsa -Perú. Manual de desinfección y esterilización hospitalaria [Internet]. 2002. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/1444.pdf>
25. Sánchez-Saldaña L, Anduaga ES. Antisépticos y desinfectantes. :23.
26. Juárez J. Antisépticos y desinfectantes de uso hospitalario [Internet]. 2010; Universidad Mayor de San Marcos. Disponible en: http://www.digemid.minsa.gob.pe/Upload/Loaded%5CPDF/EURacMed/TrabSalud/ReuTec/RTM_Julio_2010/1_Potencias-Talleres-Antisep_desinfec.pdf
27. Dumville JC, McFarlane E, Edwards P, Lipp A, Holmes A. Preoperative skin antiseptics for preventing surgical wound infections after clean

surgery. Cochrane Database Syst Rev. 28 de marzo de 2013; (3):CD003949.

28. Arévalo JM, Arribas JL. Guía de utilización de antisépticos. :11.
29. Wei D, Ma Q, Guan Y, Hu F, Zheng A, Zhang X, et al. Structural characterization and antibacterial activity of oligoguanidine (polyhexamethylene guanidine hydrochloride). Mater Sci Eng C [Internet]. 1 de agosto de 2009 [citado 27 de julio de 2019];29(6):1776-80. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493109000459>
30. Sindeev A, Izquierdo AB. Nuevos enfoques en la desinfección hospitalaria new approaches in hospital disinfection. 2013;20.
31. Join Our Discussion. Presentación del producto Dezavid+ - Dezavid+ [Internet]. 2020 [citado 3 de agosto de 2020]. Disponible en: <https://sites.google.com/a/corpadler.com/dezavid/project-definition>
32. “Instituto Estatal de Investigación Científica de, Traumatología y Ortopedia de Rusia R.R. Vreden, de Tecnologías Médicas de Rusia”. instrucción No DP-02/08 Aplicación del producto desinfectante “Dezavid+” para la desinfección de material biológico (“Adequate

Technologies Co., LTD”, Rusia) [Internet]. 2008 [citado 3 de agosto de 2020]. Disponible en: <https://docs.google.com/viewer?a=v&pid>

33. Paz-Zarza VM, Mangwani-Mordani S, Martínez-Maldonado A, Álvarez-Hernández D, Solano-Gálvez SG, Vázquez-López R, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. Rev Chil Infectol [Internet]. abril de 2019 [citado 3 de agosto de 2020];36(2):180-9. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0716-10182019000200180&lng=es&nrm=iso&tlng=es
34. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, et al. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 1 de enero de 2009;48(1):1-12.
35. Physiology and Pharmacology [Internet]. [citado 27 de julio de 2019]. Disponible en: <http://ppj.phypha.ir/>
36. Lamont IL, Martin LW. Identification and characterization of novel pyoverdine synthesis genes in *Pseudomonas aeruginosa*. Microbiol Read Engl [Internet]. abril de 2003;149(Pt 4):833-42. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12686626>

37. Trautmann M, Lepper PM, Haller M. Ecology of *Pseudomona aeruginosa* in the intensive care unit and the evolving role of water outlets as a reservoir of the organism. Am J Infect Control [Internet]. junio de 2005;33(5 Suppl 1):S41-49. Disponible en: [https:// www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15940115](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15940115)
38. De Abreu PM, Farias PG, Paiva GS, Almeida AM, Morais PV. Persistence of microbial communities including *Pseudomona aeruginosa* in a hospital environment: a potential health hazard. BMC Microbiol [Internet]. 8 de mayo de 2014; 14:118. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24885173>
39. Afshari A, Pagani L, Harbarth S. Year in review 2011: Critical Care – infection. Crit Care [Internet]. 10 de diciembre de 2012 [citado 27 de julio de 2019];16(6):242. Disponible en: [https://doi.org/ 10.1186/cc11421](https://doi.org/10.1186/cc11421)
40. Paz-Zarza VM, Mangwani-Mordani S, Martínez-Maldonado A, Álvarez-Hernández D, Solano-Gálvez SG, Vázquez-López R, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: Pathogenicity and antimicrobial resistance in urinary tract infection. Rev Chil Infectol [Internet]. abril de 2019 [citado 27 de julio de 2019];36(2):180-9. Disponible en:

https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0716-10182019000200180&lng=en&nrm=iso&tlng=en

41. Ochoa SA, López-Montiel F, Escalona G, Cruz-Córdova A, Dávila LB, López-Martínez B, et al. Características patogénicas de cepas de *Pseudomona aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, asociadas con la formación de biopelículas. Bol Méd Hosp Infant México [Internet]. abril de 2013 [citado 3 de agosto de 2020];70(2):136-50. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1665-11462013000200010&lng=es&nrm=iso&tlng=es
42. Bush L. Infecciones por Pseudomonas y patógenos relacionados - Enfermedades infecciosas [Internet]. Manual MSD versión para profesionales. 2018 [citado 3 de agosto de 2020]. Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/bacilos-gramnegativos/infecciones-por-pseudomonas-y-pat%C3%B3genos-relacionados>
43. Llop Hernández A, Valdés-Dapena Vivanco M. Microbiología y Parasitología Médicas. Vol. I. Ciudad de La Habana; 2001. 302-309 p.
44. Krakauer T. Update on staphylococcal superantigen-induced signaling pathways and therapeutic interventions. Toxins [Internet]. 24 de

septiembre de 2013;5(9):1629-54. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24064719/>

45. Oliveira D, Borges A, Simões M. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Toxins and Their Molecular Activity in Infectious Diseases. *Toxins* [Internet]. 19 de 2018;10(6). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29921792/>
46. Tam K, Torres VJ. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Secreted Toxins and Extracellular Enzymes. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2019;7(2). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30873936/>
47. Tuffs SW, Haeryfar SMM, McCormick JK. Manipulation of Innate and Adaptive Immunity by Staphylococcal Superantigens. *Pathog Basel Switz* [Internet]. 29 de mayo de 2018;7(2). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29843476/>
48. Cervantes-García E, García-González R, Salazar-Schettino PM. Características generales del *Staphylococcus aureus*. :13.
49. Castañón-Sánchez CA. Patogenia molecular de *Staphylococcus aureus*. :6.

50. UNAM-México. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos. [Internet]. 2015. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/patogNOMStaphylococcus aureus ATCC 25923aureus_17365.pdf
51. Géminis Papeles de Salud. *Staphylococcus aureus* [Internet]. 2020. Disponible en: <http://www.herbogeminis.com/IMG/pdf/Staphylococcus aureus.pdf>
52. Cisterna R. Patogenia de la infección por *Staphylococcus aureus*. 2015; Disponible en: <https://esteve.org/wp-content/uploads/2018/01/136593.pdf>
53. Berns KI, B. E. (1996). Resource Sharing in Biomedical Research. Washington (DC): National Academies Press.
54. Científica, m. (20 de 09 de 2020). La importancia de las cepas ATCC Microbiologics en tus cultivos para microbiología. Obtenido de: <https://mdmcientifica.com/cepasatcc/#>:
55. (ATCC), A. T. (2019). Product Sheet *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 27853™). manassas, USA.
56. (ATCC), A. T. (2019). *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (ATCC® 25923™). Manassas, USA.

57. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación. Sexta edición ed. México DC: McGraw-Hill; 2014.
58. Norma Española. (2015). Une-En 13697: Antisépticos Y Desinfectantes. Ensayo Cuantitativo De Superficie No Porosa Para La Evaluación De La Actividad Bactericida Y/O Fungicida De Los Desinfectantes Químicos Utilizados En Productos Alimenticios, En La Industria, En El Hogar Y En Colectividad., 25-28.

ANEXOS

Anexo 1 Matriz de consistencia

TÍTULO: "Comparación in vitro del efecto desinfectante de Clorhexidina y clorhidrato de Polihexametileno Guanidina en instrumental médico quirúrgico contaminado con <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923", Tacna - 2019.			
Formulación	Objetivos	Hipótesis	Diseño
¿Cuál es la eficacia de la Clorhexidina comparada con el Polihexametileno Guanidina (PHMB) en la formación de colonias de <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable?	Comparar la eficacia de la Clorhexidina y Polihexametileno Guanidina (PHMB) en la inhibición de formación colonias de <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable.	La eficacia de la Clorhexidina y Polihexametileno Guanidina (PHMB) es estadísticamente diferente en la inhibición de colonias de <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable.	Variable X - Contaminación: Presencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853 - Contaminación: Presencia de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 Dimensiones - Unidad de Formación de Colonias (UFC) - Densidad Bacteriana por Campo
a. ¿Cuál es la eficacia de Clorhexidina en el control de formación de colonias de <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable?	a. Medir la eficacia de Clorhexidina en la formación de colonias de <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable		
b. ¿Cuál es la eficacia de Clorhexidina en el control de formación de colonias de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable?	b. Medir la eficacia de Clorhexidina en la formación de colonias de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable	a. El Polihexametileno Guanidina (PHMB) es más efectivo en el control y erradicación de colonias de <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable.	
c. ¿Cuál es la eficacia de clorhidrato de Polihexametileno Guanidina (PHMB) en el control de formación de colonias de <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853 en la superficie de material quirúrgico de acero inoxidable?	c. Medir la eficacia de clorhidrato de Polihexametileno Guanidina (PHMB) en la formación de colonias de <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853 en la superficie de material quirúrgico de acero inoxidable		
d. ¿Cuál es la eficacia de clorhidrato de Polihexametileno Guanidina (PHMB) en el control de formación de colonias de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en la superficie de material quirúrgico de acero inoxidable?	d. Medir la eficacia de clorhidrato de Polihexametileno Guanidina (PHMB) en la formación de colonias de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en la superficie de material quirúrgico de acero inoxidable.	b. La Clorhexidina es más efectiva en el control y erradicación de colonias de <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853 y <i>Staphylococcus</i>	Variable Y - Desinfectante Dimensiones - Clorhexidina - Polihexametileno Guanidina (PHMB) - Grupo Control: Hipoclorito de Sodio

e. ¿Existe diferencia significativa respecto a un grupo control de hipoclorito de sodio en la densidad bacteriana y mitigación o eliminación colonias de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 en la superficie de material quirúrgico de acero inoxidable?

f. ¿Existe diferencia significativa respecto a un grupo control de hipoclorito de sodio en la densidad bacteriana y mitigación o eliminación colonias de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en la superficie de material quirúrgico de acero inoxidable?

e. Comparar con grupo control de Hipoclorito de Sodio, el efecto desinfectante de Clorhexidina y Polihexametileno Guanidina según presencia de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y densidad bacteriana (unidad formadora de colonias).

f. Comparar con grupo control de Hipoclorito de Sodio, el efecto desinfectante de Clorhexidina y Polihexametileno Guanidina según presencia de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y densidad bacteriana (unidad formadora de colonias).

aureus ATCC 25923 en superficies de material quirúrgico de acero inoxidable.

Fuente: Elaboración propia

Anexo 2. Instrumento de registro

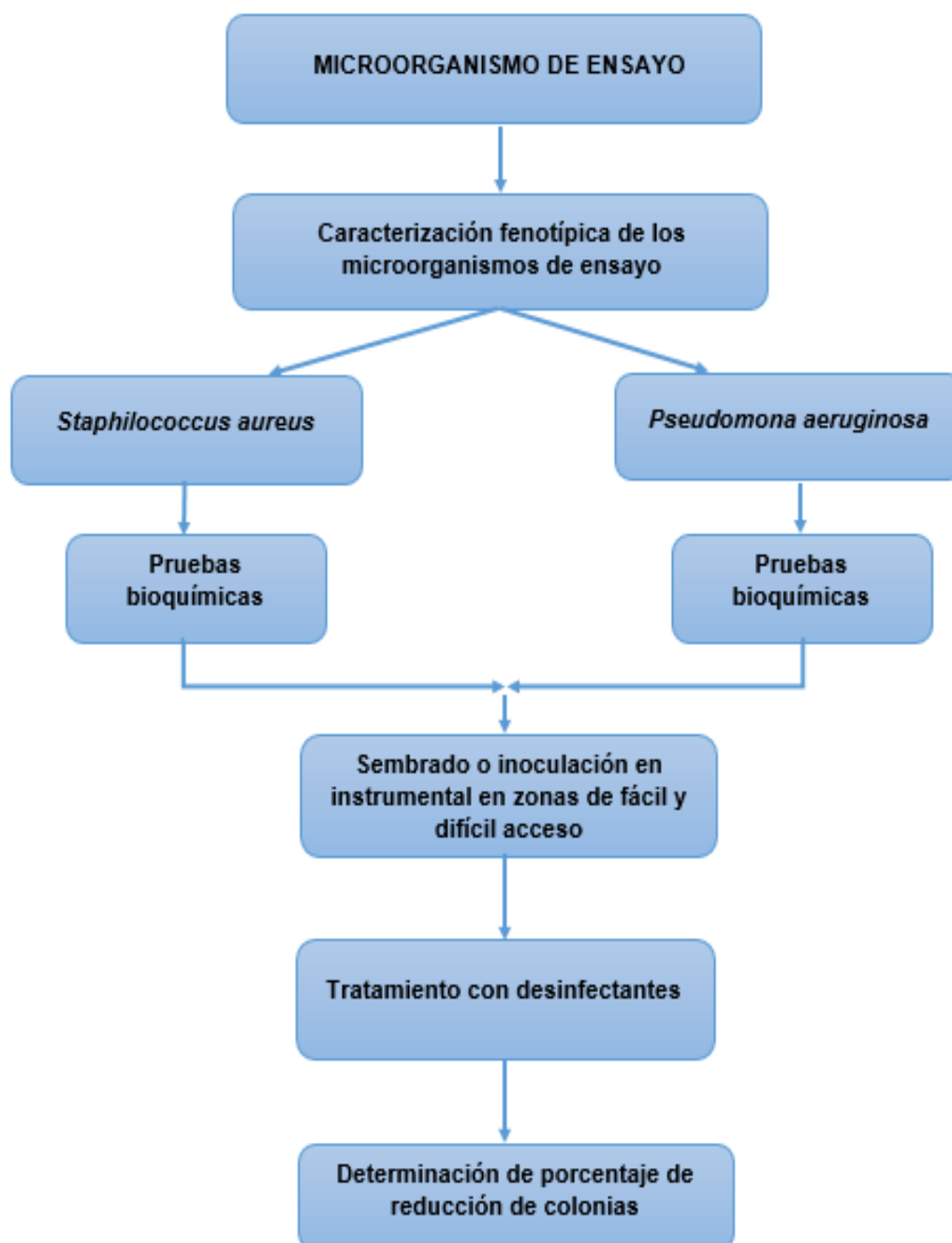
bacteria <i>Pseudomona Aeruginosa</i>	Contro UFC/instrumental	UFC despues de tratamiento	reduccion Logaritmica	% de reduccion
CLORHEXEDINA				
cultivo 1				
cultivo 2				
cultivo 3				
cultivo 4				
cultivo 5				
cultivo 6				
cultivo 7				

Bacteria <i>Pseudomona Aeruginosa</i>	Contro UFC/instrumental	UFC despues de tratamiento	reduccion Logaritmica	% de reduccion
CLORHIDRATO DE POLIHEXAMETILENO GUANIDINA				
cultivo 1				
cultivo 2				
cultivo 3				
cultivo 4				
cultivo 5				
cultivo 6				
cultivo 7				

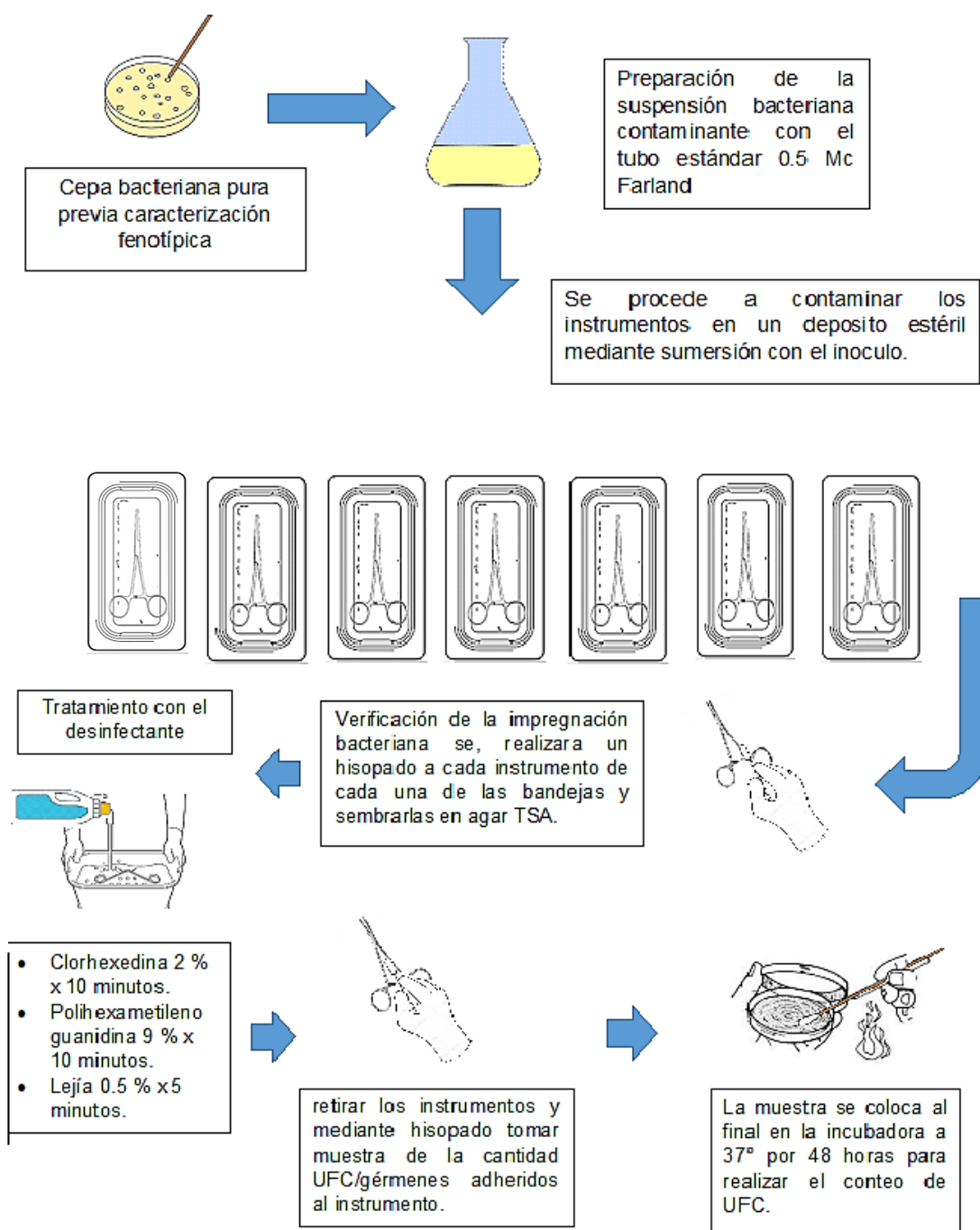
Bacteria <i>Pseudomona Aeruginosa</i>	Contro UFC/instrumental	UFC despues de tratamiento	reduccion Logaritmica	% de reduccion
SIN DESINFECTANTE				
cultivo 1				
cultivo 2				
cultivo 3				
cultivo 4				
cultivo 5				
cultivo 6				
cultivo 7				

Bacteria <i>Pseudomona Aeruginosa</i>	Contro UFC/instrumental	UFC despues de tratamiento	reduccion Logaritmica	% de reduccion
HIPOCLORITO DE SODIO				
cultivo 1				
cultivo 2				
cultivo 3				
cultivo 4				
cultivo 5				
cultivo 6				
cultivo 7				

Anexo 3. Flujograma del trabajo experimental



Anexo 4. Procedimiento de trabajo



Anexo 5. Caracterización fenotípica de microorganismo en cultivo en agar tripticasa de soya (TSA)



Figura 1. *Staphylococcus aureus*
Fuente: Elaboración propia

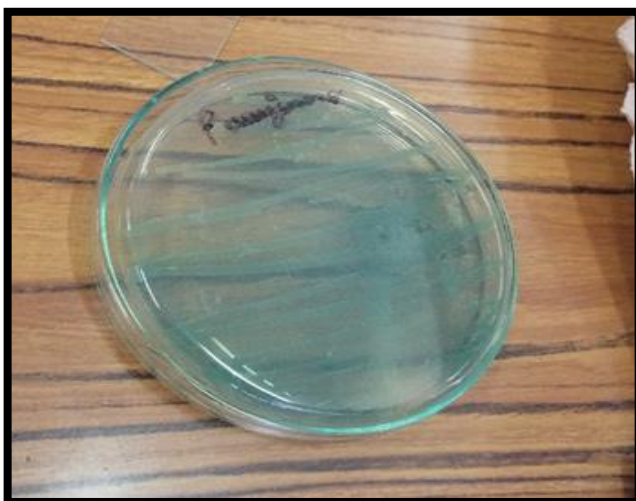


Figura 2. *Pseudomonas aeruginosa*
Fuente: Elaboración propia

Anexo 6. Pruebas bioquímicas de *Staphylococcus aureus*

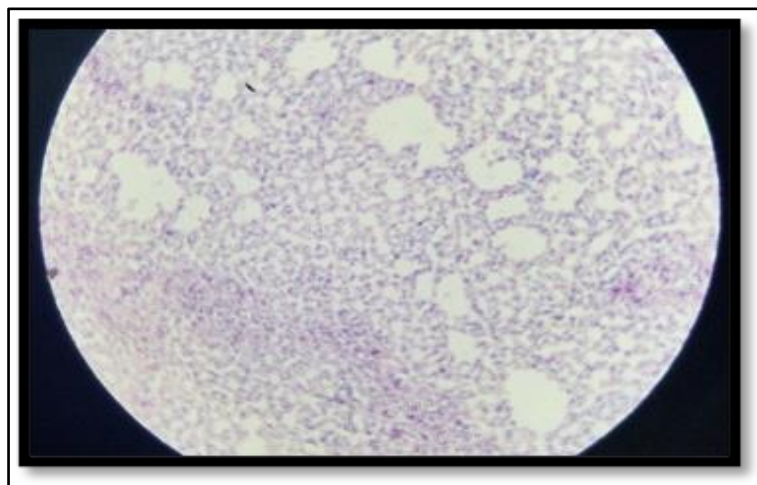


Figura 3. Identificación de Coloración Gram (positivo).
Fuente: Elaboración propia



Figura 4. prueba de la catalasa: La prueba es positiva.
Fuente. Elaboración propia

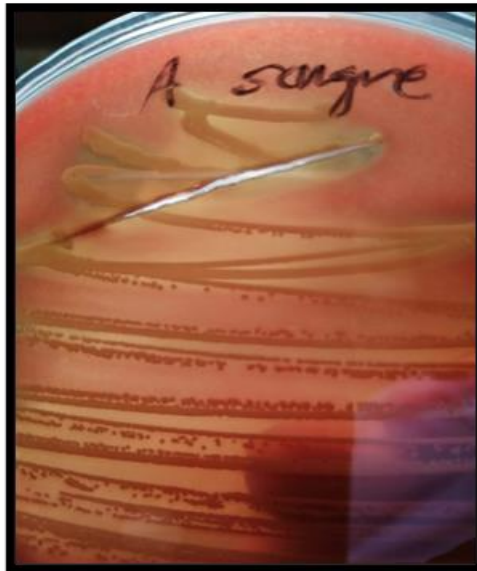


Figura 5. Cultivo de *Staphylococcus aureus* en Agar sangre.
Fuente: elaboración propia



Figura 6. Crecimiento en Agar Manitol Salado
Fuente: elaboración propia

Anexo 7. Pruebas bioquímicas para *Pseudomona aeruginosa*

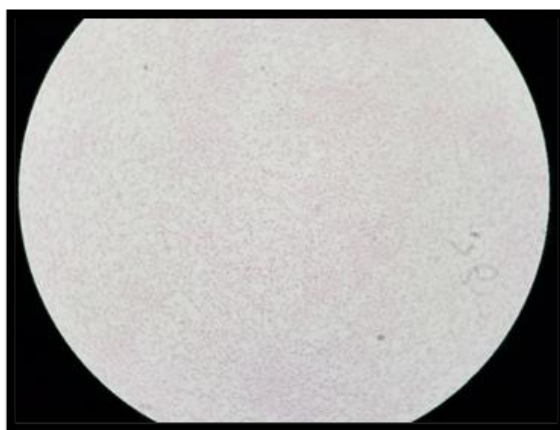


Figura 5. Coloración Gram(positiva).
Fuente. Elaboración propia

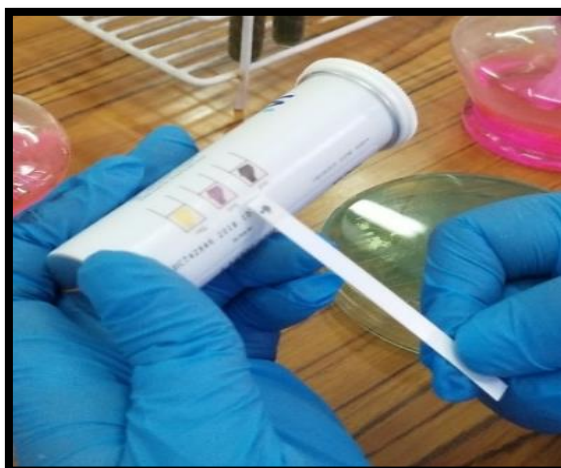


Figura 6. Prueba de la oxidasa: (positiva).
Fuente. Elaboración propia

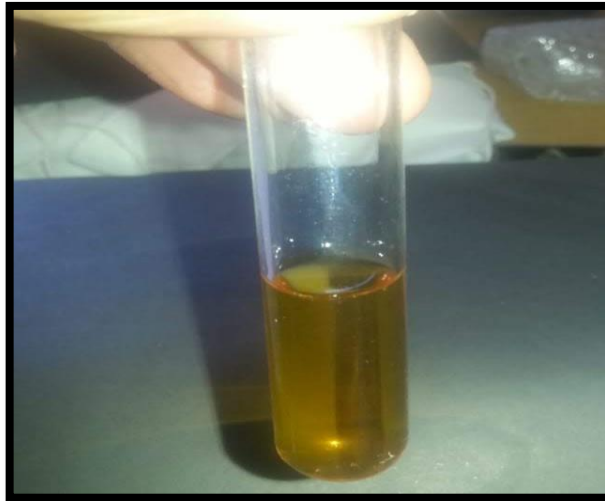


Figura 7. Cultivo a 42 °C: Es positiva
Fuente: elaboración propia

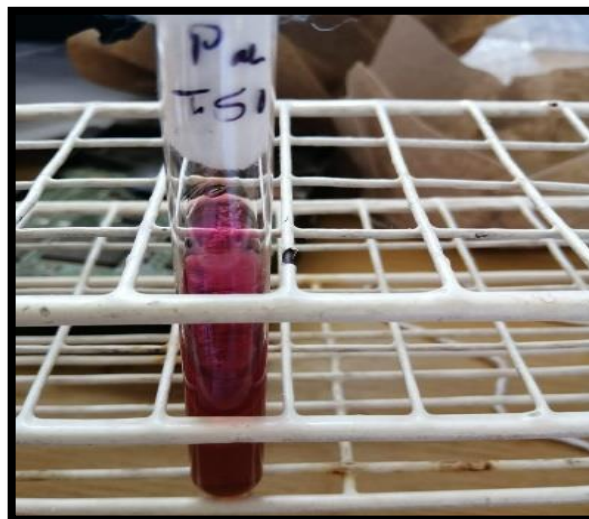


Figura 8. Agar TSI: es positiva
Fuente: elaboración propia

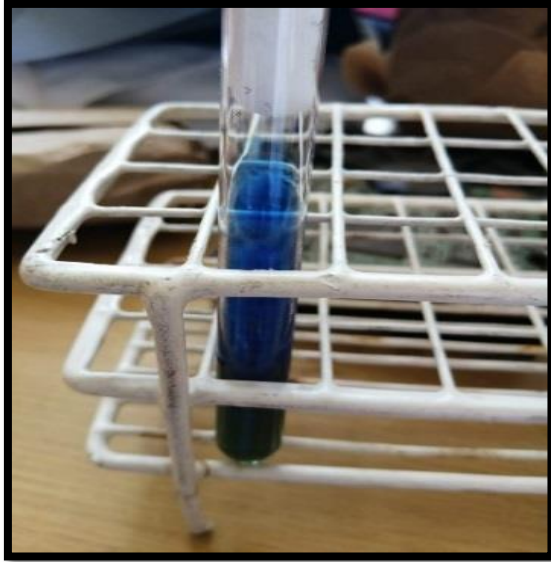


Figura 9. Utilización de citrato la prueba es positiva porque da una coloración azul intensa.
Fuente: elaboración propia



Figura 10. Prueba de la catalasa: (positiva)
Fuente: elaboración propia

Anexo 8. Procedimiento de contaminación de los instrumentos con *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y desinfección con Clorhexidina 2 %.



Figura 11. preparación de la solución contaminante con el estándar de mc Farland.

Fuente. Elaboración propia



Figura 12. Contaminación de los instrumentos por 15 min.

Fuente. Elaboración propia



Figura 13. Verificación de la impregnación bacteriana e hisopado a cada instrumento de cada una de las bandejas
Fuente. Elaboración propia



Figura 14. Desinfección con la Clorhexidina 2% por sumersión por 10 minutos y luego mediante hisopado tomar muestra.
Fuente. Elaboración propia.



Figura 15. La muestra se coloca al final en la incubadora a 37° por 48 horas.
Fuente. Elaboración propia

Anexo 9. Procedimiento de contaminación de los instrumentos con *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y desinfección con Polihexametileno Guanidina 9 %.



Figura 16. Contaminación de los instrumentos en un depósito estéril mediante sumersión con el inóculo y se le deja por 15 min.
Fuente. Elaboración propia



Figura 17. Verificación de la impregnación bacteriana
Fuente. Elaboración propia



Figura 18. Se procede a la desinfección con Polihexametileno Guanidina 9 % por sumersión por 10 minutos.
Fuente. Elaboración propia



Figura 19. Hisopado de los instrumentos para determinar la muestra de la cantidad UFC/gérmenes adheridos al instrumento.
Fuente. Elaboración propia

Anexo 10. Procedimiento de contaminación de los instrumentos con *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y desinfección con Hipoclorito De Sodio 0,5 %



Figura 20. Contaminación de los instrumentos por 15 min.
Fuente. Elaboración propia



Figura 21. Verificación de la impregnación bacteriana.
Fuente. Elaboración propia



Figura 22. Proceder a la desinfección con el Hipoclorito de Sodio por sumersión por 5 minutos.
Fuente. Elaboración propia



Figura 23. Luego de eso retirar los instrumentos y mediante hisopado tomar muestra.
Fuente. Elaboración propia

Anexo 11. Contaminación de los instrumentos con *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y desinfección con Clorhexidina 2 %.



Figura 24. Contaminación de los instrumentos esterilizados en un depósito mediante sumersión con el inóculo.

Fuente. Elaboración propia



Figura 25. Verificación de la impregnación bacteriana

Fuente. Elaboración propia



Figura 26. Luego proceder a la desinfección con la Clorhexidina 2% por sumersión por 10 minutos.
Fuente. Elaboración propia



Figura 27. Tomar muestra de la cantidad UFC/gérmenes adheridos al instrumento.
Fuente. Elaboración propia

Anexo 12. Contaminación de los instrumentos con *Pseudomona aeruginosa* y desinfección con Polihexametileno Guanidina 9 %



Figura 28. contaminación los instrumentos con *Pseudomona aeruginosa* y se le deja por 15 min.
Fuente. Elaboración propia



Figura 29. Sembrar en agar TSA, para luego tomar los datos del número de UFC/gérmenes adheridos al instrumento inicial
Fuente. Elaboración propia



Figura 30. Desinfección con el Polihexametileno Guanidina 9 % por sumersión por 10 minutos.
Fuente. Elaboración propia



Figura 31. Luego de eso retirar los instrumentos y mediante hisopado tomar muestra de la cantidad UFC/gérmenes adheridos.
Fuente. Elaboración propia

Anexo 13. Contaminación de los instrumentos con *Pseudomona aeruginosa* y desinfección con Hipoclorito de Sodio 0,5 %.



Figura 32. Contaminación de los instrumentos en sumersión con *Pseudomona aeruginosa* y por 15 min.

Fuente. Elaboración propia

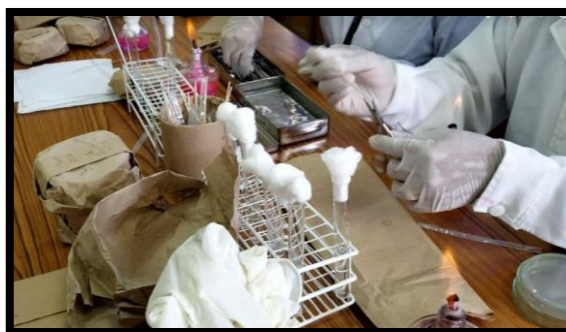


Figura 33. tomar datos de UFC/gérmenes adheridos al instrumento inicial.

Fuente. Elaboración propia



Figura 34. Se procede a la desinfección con el Hipoclorito de Sodio por sumersión por 5 minutos.
Fuente. Elaboración propia



Figura 35. Toma de muestra con hisopado la cantidad UFC/gérmenes adheridos.
Fuente. Elaboración propia

Anexo 14. Constancia de utilización de cepas *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 Y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 del cepario del laboratorio de Microbiología de la Escuela Profesional de Biología– Microbiología de la Universidad Jorge Basadre Grohmann.



Universidad Nacional "Jorge Basadre Grohmann" – Tacna
FACULTAD DE CIENCIAS

Escuela Profesional de: Biología-Microbiología, Física Aplicada y Matemática



QUIEN SUSCRIBE, JEFE DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA-MICROBIOLOGÍA, FACULTAD DE CIENCIAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN – TACNA DEJA:

CONSTANCIA

QUE EL BACH. MARCO ANTONIO QUENTA QUISPE, DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, HA UTILIZADO LAS CEPAS *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 QUE FORMAN PARTE DEL CEPARIO DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA PARA EL DESARROLLO DE SU TRABAJO DE TESIS TITULADO: COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO DESINFECTANTE DE CLORHEXIDINA Y CLORHIDRATO DE POLIHEXAMETILENO GUANIDINA EN INSTRUMENTAL MÉDICO QUIRÚRGICO CONTAMINADO CON *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus*, ATCC 25923, TACNA – 2019 (R.F. N° 10194-2020-FACS-UNJBG).

SE EXPIDE LA PRESENTE A SOLICITUD DEL INTERESADO Y PARA LOS FINES QUE ESTIME CONVENIENTE.

Tacna, 16 de junio del 2021.



M.Sc. Angela Choque Miranda
Jefe Lab. Microbiología

c.c.:

Ciudad Universitaria Av. Miraflores s/n
Apartado 316 Teléfono:052-583000 Anexo: 2102 - Fax: 2101

Anexo 15. Constancia que acredita que la parte experimental del trabajo de tesis se desarrolló en el laboratorio de Microbiología de la escuela profesional de Biología – Microbiología.



Universidad Nacional "Jorge Basadre Grohmann" – Tacna
FACULTAD DE CIENCIAS

Escuela Profesional de: Biología-Microbiología, Física Aplicada y Matemática



**QUIEN SUSCRIBE, JEFE DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA
DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA-MICROBIOLOGÍA,
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE
BASADRE GROHMANN – TACNA DEJA:**

CONSTANCIA

QUE EL BACH. MARCO ANTONIO QUENTA QUISPE, DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA, HA DESARROLLADO LA PARTE EXPERIMENTAL DE SU TRABAJO DE TESIS TITULADO: COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO DESINFECTANTE DE CLORHEXIDINA Y CLORHIDRATO DE POLIHEXAMETILENO GUANIDINA EN INSTRUMENTAL MÉDICO QUIRÚRGICO CONTAMINADO CON *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus*, ATCC 25923, TACNA – 2019 (R.F N° 10194-2020-FACS-UNJBG) EN ESTE LABORATORIO DURANTE EL MES DE NOVIEMBRE DEL AÑO 2019.

SE EXPIDE LA PRESENTE A SOLICITUD DEL INTERESADO Y PARA LOS FINES QUE ESTIME CONVENIENTE.

Tacna, 16 de junio del 2021.



M.Sc. Angela Choque Miranda
Jefe Lab. Microbiología

c.c.c.

Ciudad Universitaria Av. Miraflores s/n
Apartado 316 Teléfono:052-583000 Anexo: 2102 - Fax: 2101