

**Laboratorio Nacional de Referencia para Control  
de Procesos de Esterilización, Desinfección y Asepsia.**

**Hospital Pediátrico Docente “William Soler”.**

Todos los derechos reservados

**Fecha de publicación 30/03/11**

**Título:** Alternativa rápida y efectiva del proceso de limpieza y esterilización  
aplicado al procedimiento de regulación menstrual.

**Autores:** Roxana Hidalgo Rodríguez<sup>1</sup>, Sonia Chiroles Despaigne<sup>2</sup>,

Odalis Villavicencio Betancourt<sup>3</sup>, Ángel Martínez Muñoz<sup>4</sup>

Nevis Maria Hernández Jiménez<sup>5</sup>

**Dirección:** Calle San Francisco Esq. Perla. Altahabana. Boyeros, Ciudad de La  
Habana, Cuba

---

<sup>1</sup> Master en Microbiología General. Especialista en Laboratorio.

<sup>2</sup> Técnico Medio en Farmacia.

<sup>3</sup> Técnico Medio en Microbiología.

<sup>4</sup> Médico Especialista en Ginecología.

<sup>5</sup> Técnico Medio en Enfermería.

## RESUMEN

En el presente trabajo se realizan estudios químico-microbiológicos a dos productos, un detergente enzimático (Neo Proteozim Plus 500) con propiedades biocida y una solución esterilizante (Sporexín) empleadas en el Servicio de Ginecología del Policlínico “Salvador Allende” perteneciente al municipio Boyeros, en la Ciudad de La Habana. Los estudios se realizaron utilizando normas internacionales estandarizadas por la asociación francesa de normalización, ensayos químicos de valoración expuestos en la farmacopea británica y métodos “in situ” para determinar actividad germicida rápida. Los resultados obtenidos permitieron demostrar la efectividad del proceso de limpieza con el empleo de tensoactivos de composición enzimática y la rápida acción esterilizante al reducir totalmente los niveles de biomasa celular partiendo de una cepa microbiana productora de endosporas (*Bacillus subtilis* var. *Niger*) concentrada  $1 \times 10^6$  ufe/ ml durante un tiempo de contacto mínimo de 1 hora por inmersión de los dispositivos médicos (cánulas de regulación menstrual).

**Frases Claves:** Limpieza, esterilización por inmersión, cánulas de regulación menstrual.

## **INTRODUCCION**

El perfil de los pacientes que se atienden en los centros asistenciales de salud ha cambiado como resultado de la aparición de nuevas enfermedades y la incorporación de tecnologías de avanzada para el diagnóstico y tratamiento.

La realización de procedimientos ambulatorios hace más difícil el seguimiento e identificación de infecciones derivadas de la atención asociada a procesos de limpieza y esterilización por lo que se requiere del cumplimiento de las normas establecidas para asegurar la calidad en el reprocesamiento de los dispositivos médicos.

El procedimiento de Regulación Menstrual realizado en los servicios de ginecología de los centros asistenciales de salud de atención primaria lleva implícito maniobras invasivas que requieren de un proceso de limpieza exhaustivo y esterilización final de los instrumentos.

Las cánulas son dispositivos médicos empleados en este procedimiento y están conformadas por cloruro de polivinilo (PVC) material sensible a la esterilización por vapor a altas temperaturas. Sus lúmenes internos son de diámetros muy pequeños por lo que el proceso de limpieza debe realizarse empleando detergentes enzimáticos que garanticen la total y rápida desfibrinación.

Teniendo en consideración la necesidad de aplicación de una alternativa de limpieza rápida y esterilización química que permita su aplicación dentro del propio servicio garantizando calidad en el procedimiento, nuestro equipo de trabajo evaluó "in vitro" e "in vivo" dos productos químicos, un detergente enzimático y una solución esterilizante con vista a estandarizar el método en los servicios de nuestro país.

## **MATERIALES Y METODOS**

Los ensayos se realizaron de manera conjunta entre nuestro laboratorio y el servicio de ginecología del policlínico “Salvador Allende” perteneciente al municipio Boyeros en la Ciudad de La Habana.

Los productos de análisis fueron un detergente líquido de composición plurienzimática (Neo Proteozim Plus 500) utilizado en doble función como solución descontaminante (desfibrinadora) y limpiadora. La dilución de trabajo utilizada fue de 1ml del producto en 500 ml de agua.

El producto Sporexin Plus es una solución esterilizante formada por la mezcla de compuestos químicos como glutaraldehído, P-cloro-m-cresol, O-fenil-fenol y fenol. Las soluciones de glutaraldehído sinergizadas con derivados fenólicos de grupos funcionales fenilos y halogenados actúan sobre el protoplasma celular, rompiendo pared y precipitando sus proteínas. La muerte celular se produce por inactivación del sistema enzimático y disminución de metabolitos esenciales que conforman la pared.

La dilución de trabajo utilizada fue de 250 ml del producto en 4.5 L de agua destilada (1:20).

## **METODOLOGIA DE ENSAYO**

Los análisis químicos realizados a ambos productos comenzaron con ensayos de compatibilidad de materiales, aplicando el método de inmersión de dispositivos médicos de diferente composición química según establece la norma cubana NC-233487<sup>1</sup>. La evaluación se llevó a cabo durante 14 días realizando ciclos de inmersión cada 10 minutos, que permitieron el cálculo del peso por dispositivo antes y después del contacto con los productos. Los

materiales están conformados por fragmentos de catéteres de cloruro de polivinilo (PVC), Teflón (FEP), metal y cristal.

La determinación de concentración real de los principios activos en el producto esterilizante diluido 1:20 se realiza a través de ensayos de identificación que permiten medir el porcentaje de glutaraldehído, de fenol y la concentración hidrogeniónica, se utiliza una misma muestra durante 14 días según la metodología descrita en la farmacopea americana USP XXIII y en la norma cubana de identificación NC- 3002694<sup>2</sup>.

Para la determinación de la actividad bactericida "in vitro" empleamos como cepa microbiana de referencia *Bacillus subtilis var. Niger* ATCC 9372 productor de endosporas. La obtención del inóculo se realizó partiendo de colonias aisladas en medio triptona soya agar, incubadas por 48 horas a 37<sup>0</sup>C y las diluciones de trabajo se realizaron en triptona soya caldo hasta obtener una dilución de  $1 \times 10^6$  ufe/ml.

Los métodos de ensayo desarrollados se corresponden con las normas ASTM estandarizada en 1996<sup>3</sup> y una modificación de la norma NF- T 1040 perteneciente a las normas francesas para la determinación de actividad biocida de productos esterilizantes, desinfectantes y antisépticos (AFNOR) estandarizada en 1997<sup>4</sup>.

En la metodología de ensayo para la determinación de actividad biocida del detergente enzimático las muestras fueron sembradas en placas de Petri posterior a los 10 minutos de interacción entre el producto y el microorganismo. La determinación de unidades formadoras de esporas (ufe/ml) se realizó por conteo de colonias en placas de Petri para lo cual se realizaron diluciones 1:10 partiendo de una dilución de  $1 \times 10^6$  hasta  $1 \times 10^3$ , se tomaron alícuotas de 1 ml y

se sembraron en 9 ml de triptona soya agar, el tiempo de incubación fue de 48 horas a 37<sup>0</sup>C. El ensayo se realizó por duplicado. En las placas donde se obtuvo un crecimiento  $\leq 3\log_{10}$  de unidades formadoras de esporas se interpretó como una reducción de biomasa igual a 95%.

Para la determinación de la actividad esporicida de la solución esterilizante se inocularon muestras de catéteres de PVC de 2 cm. de largo x 3mm de diámetro.

Para el inóculo se emplearon 20 $\mu$ l de una concentración de  $1 \times 10^6$  ufe/mL de la cepa de referencia *Bacillus subtilis var. Niger* ATCC 9372 en medio de cultivo triptona soya caldo enriquecido con albúmina, cloruro de sodio y glucosa. Los fragmentos de catéteres se dejaron secar en una cabina de seguridad biológica durante 12 horas.

Para cada análisis se tomaron 3 fragmentos de catéteres.

Dos de los fragmentos después de secos se pusieron en contacto 1 hora con la solución esterilizante, transcurrido el tiempo de contacto se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y se transfirió uno de los catéteres a un tubo con 2 ml de agua destilada estéril para determinar eficacia de esterilización.

Otro fragmento de catéter se transfirió a medio de cultivo para determinar conteo de viables.

El tercer catéter no se sometió al proceso, se sembró directamente en medio de cultivo para tener control de biomasa recuperada.

Después de 10 minutos de contacto se tomaron alícuotas de 0.1 ml y se sembraron en placa de Petri con medio agarizado de triptona soya. Se incubó a 37<sup>0</sup>C durante 48 horas, para la obtención de resultados cuantitativos. El ensayo

se realizó por duplicado, tuvo un tiempo de duración de 30 días, tiempo activo de estabilidad de la solución propuesto por el fabricante.

Posterior a los tiempos de incubación, se determinó presencia o no de turbidez en el tubo contenedor del catéter; de no observarse turbidez, se declara el fragmento de catéter estéril; si se observa turbidez, se procede a un subcultivo del medio para especificar crecimiento del microorganismo.

El límite de detección por placa fue de 7 ufe/fragmento de catéter, teniendo en consideración que el mismo fue restituido en 2 mL de medio, del cual se tomaron 100  $\mu$ L para realizar la siembra, por lo que esta cantidad fue representada como  $1 \log_{10}$

Los controles negativos, estaban formados por fragmentos de catéteres estériles no inoculados. Fueron sometidos al mismo procedimiento de ensayo microbiológico.

## RESULTADOS

El resultado de los ensayos químicos de compatibilidad realizados a ambas soluciones detergente y esterilizante está conformado por los valores obtenidos en el peso promedio de tres dispositivos por cada ciclo. En la tabla 1 y 2 se muestran los valores expresados en gramos antes y después del contacto de tres muestras de fragmentos de dispositivos médicos de diferente composición químico- estructural con los productos Neo Proteozim Plus 500 y Sporexin Plus.

En la tabla 3 se resume los valores obtenidos en los ensayos de identificación de cada uno de los principios activos (glutaraldehído y fenol) que componen la solución esterilizante de Sporexin Plus a la dilución de trabajo (1:20) lo que determina la concentración real de los mismos expresada en porcentaje.

En la tabla 4 se exponen los resultados del efecto biocida de la solución detergente empleada a la dilución de uso (1:500). Se muestra el valor promedio de la biomasa recuperada en cada uno de los ensayos realizados con el microorganismo en el medio de cultivo, en presencia del neutralizante y posterior a 10 minutos de interacción con el producto durante 5 ciclos de limpieza realizados en cuatro preparaciones. Se parte de una concentración inicial de  $1 \times 10^6$  ufe/ml, de la cual se realizan diluciones 1:10 hasta  $1 \times 10^3$  ufe/ml.

El resultado de la actividad esporicida del producto Sporexin Plus se refleja en la tabla 5 donde se muestran los valores por duplicado de biomasa recuperada a partir de una concentración inicial de  $1 \times 10^6$  ufe/ml de *Bacillus subtilis var. Niger* ATCC 9372 y los valores obtenidos después de una hora de interacción

del producto con el microorganismo a través de los ensayos de eficacia, de viabilidad y de contaminación de la solución durante 5 semanas de análisis.

## DISCUSION DE RESULTADOS

Los resultados de los estudios de compatibilidad obtenidos en nuestros análisis corroboran la conservación de la textura de las paredes internas de los dispositivos médicos (cánulas) compuestos de cloruro de polivinilo, que aunque presentan bajos niveles de inercia química<sup>5</sup>, la migración de los agentes plastificantes no se incrementa con la aplicación de las soluciones detergentes de tipo enzimática y la posterior inmersión en el producto esterilizante, ambos de pH neutro, lo que evita el deterioro y pérdida de funcionalidad de los dispositivos, permitiendo el reuso.

Los valores de concentración de los principios activos que componen al producto esterilizante diluido se corresponden con lo planteado por el fabricante, por lo que el ensayo de identificación es satisfactorio.

El índice de reducción de biomasa obtenido en nuestros resultados al aplicar la solución de Neo-Proteozim se corresponde con lo descrito en la literatura sobre el uso de agentes tensoactivos de composición enzimática. La mezcla de proteasas y amilasas que componen el producto actúa hidrolizando los enlaces peptídicos de las proteínas, logrando fragmentar y despegar los tejidos de las paredes de los dispositivos, aumentando el fluido de las mucosidades al eliminar los restos orgánicos de hidratos de carbono<sup>6</sup>.

Con los resultados alcanzados en los estudios microbiológicos de determinación de actividad esporicida en un tiempo de contacto de 1 hora al producto Sporexin Plus se corrobora que el glutaraldehído estabilizado a pH 7 (neutro) con una solución buffer potencia la actividad biocida del mismo polimerizando los grupos aldehídos libres (grupos activos encargados de hidrolizar enlaces sulfhídricos, hidroxilos y carboxiamino de los

microorganismos), se incrementa el tiempo de vida útil de la solución y se extiende el tiempo de inmersión del instrumental sin promover deterioro por corrosión<sup>7</sup>. La adición de fenol como principio activo a este producto permite disminuir la concentración de glutaraldehído a un 0.4% lo cual minimiza los niveles de toxicidad por inhalación sin variar su poder biocida.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Ensayos de compatibilidad de materiales para detergentes NC-233487
2. Ensayos de Identificación según Farmacopea USP XXIII. Determinación de concentración hidrogeniónica NC- 3002694.
3. ASTM. Método Estándar para determinar eficacia de proceso de esterilización en dispositivos médicos reusables: E1837-96, West Conshohocken, PA. 1996.
4. Asociación Francesada Normalización. Ensayo para la determinación de la actividad bactericida de productos esterilizantes, desinfectantes y antisépticos en forma líquida. AFNOR, 1997 (AFNOR NF- T 1040 y NF- T 72-190).
5. Vanek V W, Kupensky TD, Thomson DJ. Hypersensitivity- like Reactions Related to Insertion of Aquavene- based Midline and PICC Catheters. 1997; 20(1): 23-27.
6. Miller CH, Riggen SD, Sheldrake MA, Neeb JM. Presence of microorganisms in used ultrasonic solutions. Am J Indust Med. 1996; 29 (1): 99-110.
7. Hidalgo R R, Castellanos V, Chiroles D S, Villavicencio B O. Evaluación de la actividad biocida de una solución de glutaraldehído bufferada. Estudio comparativo de estabilidad. Rev. Cub. Higiene y Epidemiología. 2000; 38(2).

## ANEXOS

Tabla 1. Peso promedio en gramo de tres fragmentos de materiales de diferente composición químico- estructural antes y después del contacto con el detergente enzimático Neo Proteozim Plus 500.

Fragmentos Muestra	Peso (g) (antes)	Peso (g) (después)
Teflón (FEP)	0.17	0.17
Polivinilo	0.13	0.13
Metal	0.40	0.40
Cristal	4.19	4.19

Tabla 2. Peso promedio de tres fragmentos de materiales de diferente composición químico- estructural antes y después del contacto con al solución esterilizante Sporexin Plus.

Fragmentos Muestra	Peso (g) (antes)	Peso (g) (después)
Teflón (FEP)	0.20	0.20
Polivinilo	0.12	0.12
Metal	0.35	0.35
Cristal	3.48	3.48

Tabla 3. Valores de concentración real expresada en % de glutaraldehído, fenol e hidrógeno en la solución esterilizante Sporexin Plus.

Solución Muestra diluida 1:5	Concentración (%)
Glutaraldehido	0.4
Fenol	0.1
Hidrogeno	7.5

Tabla 4. Relación entre valores de biomasa (ufe/ml) promedios de cinco ciclos de limpieza en cuatro preparaciones de solución detergente diluida 1:500. Expresión logarítmica en base 10.

Control de suspensión bacteriana recuperada/ Preparación (ufe/ml)		Log <sub>10</sub> C	Control de medio de cultivo	Log <sub>10</sub> C	Medio de cultivo con albúmina (Neutralizante)	Log <sub>10</sub> C	Interacción con el producto	Log <sub>10</sub> C
10 <sup>6</sup>	975452	5.99	983216	5.99	976531	5.98	0	-
10 <sup>5</sup>	92361	4.96	89786	4.95	91875	4.96	0	-
10 <sup>4</sup>	8829	3.94	8859	3.94	8775	3.94	0	-
10 <sup>3</sup>	923	2.96	910	2.96	921	2.96	0	-

Tabla 5. Relación de valores obtenidos posterior a 1 hora de contacto entre el producto Sporexin Plus diluido y *Bacillus subtilis* concentrado  $1 \times 10^6$  ufe/ml durante 5 semanas de análisis.

<i>Bacillus subtilis</i> Ufe/ml (20 $\mu$ l)	Biomasa recuperada		Eficacia de Esterilización		Conteo de viables		Contaminación de la solución	
	$10^6$	995421	988361	0	0	0	0	0
$10^6$	943220	939812	0	0	0	0	0	0
$10^6$	992800	989789	0	0	0	0	0	0
$10^6$	896770	885481	0	0	0	0	0	0
$10^6$	932895	917863	0	0	0	0	0	0