Comparación De La Actividad Biológica De La Desinfección De Alto Nivel Y De La Esterilización En Dispositivos Médicos Y Equipos Biomédicos.

Adiela María Cortés Cortés¹
& Jhon Henry Galvis
García^{2*}

- 1 Directora Técnica del Departamento de Investigación y Desarrollo, Alkamedica S.A.S. Villamaria, República de Colombia.
- 2 Líder de Proyectos del Departamento de Investigación y Desarrollo, Alkamedica S.A.S. Villamaria, República de Colombia.

Resumen

La necesidad de seleccionar desinfectantes adecuados para los procesos de desinfección en equipos biomédicos y en el entorno hospitalario se ha destacado durante varias décadas en múltiples artículos científicos. Decenas de notas que documentan infecciones en pacientes también se han publicado después de procedimientos de desinfección inadecuados que se han aplicado a los elementos utilizados para su cuidado y tratamiento. Por lo tanto, el objetivo de la investigación fue comparar la actividad biológica de la desinfección de alto nivel y la esterilización en dispositivos médicos y equipos biomédicos con diferentes técnicas analíticas bioquímicas y moleculares (espectrofotometría, PCR, luminometría, etc.). Los hisopados se tomaron de dispositivos médicos y equipos biomédicos tratados con Desinfección de alto nivel (glutaraldehído 0,17%, pH = 6, sin activador) y diferentes métodos de esterilización (vapor, óxido de etileno, plasma, peróxido de hidrógeno, formaldehído, etc.) en diferentes instituciones de referencia en Colombia. Las muestras se sembraron en medios de cultivo específicos para el crecimiento de microorganismos de las especies *Bacillus subtilis*, *Clostridium difficile* y *Mycobacterium tuberculosis*. Los resultados obtenidos en este estudio evidenciaron la presencia de carga biológica en dispositivos y equipos biomédicos después de los procedimientos de esterilización, carga que contenía microorganismos altamente patógenos. Evento contrario cuando se realizaron los tratamientos con glutaraldehído al 0,17% (pH = 6, sin activador), ya que, no se observó el crecimiento de los microorganismos inoculados. Por lo cual se concluyó que los métodos de esterilización evaluados (óxido de etileno, plasma, formaldehído, vapor, etc.) evidencian fallas en la eliminación de formas reproductivas y vegetativas de microorganismos de interés patológico, específicamente *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus epidermidis*, *Brevibacterium* spp., *Pseudomona luteola*, *Sphingomonas paucimobilis* y siete (7) variantes polimórficas de *M. tuberculosis*.

Palabras Clave: *Bacillus subtilis*; *Clostridium difficile*; Glutaraldehído ; Desinfección de alto nivel; Sterilization; *Mycobacterium tuberculosis*.

Recibido: Octubre 11, 2017; **Aceptado:** Octubre 25, 2017; **Publicado:** Octubre 31, 2017

Introducción

Diversas organizaciones internacionales, incluidas la Association of Operating Room Nurses (1992, 1994), American Society for Testing and Materials (1994) y Centers for Disease Control (1985), han establecido lineamientos y reglamentación para el procesamiento de instrumentales, basados en las clasificaciones iniciales descritas por Spaulding (Crítico, Semicrítico y No-Crítico), basados en la ocurrencia de enfermedades nosocomiales (Spaulding 1968). Los dispositivos Críticos deben ser sometidos a procesos de Esterilización (Físico) o Desinfección de Alto Nivel (DAN) (Químico), para lo cual, se han desarrollados diferentes tecnologías en procesos de esterilización (Vapor, Óxido de Etileno, Plasma, Peróxido de Hidrógeno, entre otros) y Desinfección de Alto Nivel (DAN) (Formaldehído, Glutaraldehído, Ortoftaldehído, entre otros).

La DAN se logra sumergiendo el instrumental en un Germicida Químico Líquido (GQL), durante menos tiempo que el requerido para la esterilización. Por ejemplo, el Glutaraldehído al 2% (alcalino) activado, alcanza DAN en menos de 1 hora, sin embargo, puede no necesariamente inactivar un gran número de esporas bacterianas cuando se usa como desinfectante. El glutaraldehído al 2% es esporicida durante tiempos de remojo tan cortos como 10 minutos, no obstante, cualquier proceso de desinfección o esterilización puede fallar si el instrumental no se limpia a fondo, como primera instancia (American Society for Testing and Materials 1994, Volyes *et al.* 1995, Daschner 1994).

Autor Correspondiente:

Jhon Henry Galvis García

✉ liderproyectos@alkamedica.com

Líder de Proyectos del Departamento de Investigación y Desarrollo, Alkamedica S.A.S. Villamaria, República de Colombia.

Tel: +573128963570

Citación: Cortés AMC (2017) Comparison of the Biological Activity of High-Level Disinfection and Sterilization in Medical Devices and Biomedical Equipment. J Health Hyg. Vol.1 No.1:5

El calor y el gas de óxido de etileno (EtO) son los dos agentes de esterilización más utilizados para el reprocesamiento de instrumentos médicos. El vapor presurizado es la mejor opción para la esterilización, debido a su fiabilidad, disponibilidad y rentabilidad. Sin embargo, los endoscopios flexibles contienen componentes que pueden ser alterados por el calor, lo que impide la esterilización por este método (Muscarella 1996).

Los equipos que utilizan gas de EtO, se utilizan para reprocesar endoscopios flexibles y otros instrumentos sensibles al calor, pero, debido a que este proceso, a baja temperatura, requiere que el instrumento sea aireado durante 24 horas antes de su reutilización, la esterilización con EtO es inviable. Los institutos donde se realizan endoscopias suelen tener un suministro limitado de estos equipos y, por lo tanto, no pueden tolerar tiempos de reprocesamiento superiores a 1 hora (Muscarella 1996).

La DAN de endoscopios es el estándar mundial (Bond 1993), debido a que es de acción rápida, rentable y no se ha demostrado que plantee un riesgo de infección. Es recomendada por la Asociación de Profesionales en Control de Infecciones y Epidemiología (Rutala 1990), los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (Gardner & Favero 1996), la Asociación de Enfermeras de Sala de Cirugía (AORN 1994) y diferentes organizaciones para el reprocesamiento de instrumentos sensibles al calor (Martin & Reichelderfer 1994).

La DAN se logra con mayor frecuencia mediante remojo del instrumental en una solución acuosa de Glutaraldehído alcalino al 2% activado (Rutala *et al.* 1991, Gorse & Messner 1991, Babb & Bradley 1991), el cual no deteriora ni corroe los metales, gomas, plásticos, equipos ópticos o endoscopios (Dyas & Das 1985, Rutala *et al.* 1993).

Durante el reprocesamiento manual, el endoscopio generalmente se sumerge en una cubeta llena con este germicida (Omidbakhsh 2006). Esta práctica puede exponer al personal y al ambiente circundante a la solución de Glutaraldehído y sus vapores. Los reprocesadores automáticos de endoscopios, que desinfectan y enjuagan automáticamente el endoscopio, son alternativas al reprocesamiento manual. Son sistemas cerrados que reducen los niveles medidos de vapores de glutaraldehído en el aire a niveles muy inferiores a los permitidos al contener el germicida en cámaras internas (Vesley *et al.* 1992, Muscarella 1996).

De allí que, las soluciones de glutaraldehído sean más estables a pH ácido (3.0 a 6.3), pero tienen una menor actividad biocida que la solución básica. La solución de glutaraldehído activada (pH 7.5 - 8.5) solo es estable durante 14 días, aunque no es aconsejable utilizarla durante más de una semana, debido a que las moléculas polimerizan a pH superiores a 8.5, bloqueando los grupos aldehído responsables de la actividad biocida (Dyas & Das 1985, Vesley *et al.* 1992, Rutala *et al.* 1993, Muscarella 1996).

Así mismo, existe el riesgo de diluir progresivamente la solución tras sumergir en ella instrumental con restos de humedad. Para evitar este fenómeno, la frecuencia de renovación de la solución varía entre 24 horas y una (1) semana en función de la frecuencia de utilización, adicionalmente, debe comprobarse que el material está seco antes de sumergirlo en dicha solución activada. El Glutaraldehído diluido en agua en concentraciones del 0.1% al 1.0%, se usa como desinfectante en frío (químico) de equipo médico y científico que es sensible al calor, incluyendo los instrumentos de diálisis y de cirugía, los frascos de succión, broncoscopias, endoscopias, y el instrumental de oído, nariz y garganta. Su efectividad es más limitada frente a algas y hongos (Piédrola 2000).

Las soluciones de Glutaraldehído al 2% activado y pH 7.5 - 8.5 son efectivas contra formas vegetativas bacterianas en un tiempo inferior a 2 minutos, específicamente contra *Mycobacterium tuberculosis* (no todas las publicaciones coinciden en estos resultados) y, en hongos y virus, menos de 10 minutos. En el caso de las esporas de especies de los géneros *Clostridium* y *Bacillus* la efectividad se evidencia en 2 horas. Sin embargo, se ha mostrado resistencia en especies del género *Aspergillus* y *Mycobacterium*, para lo cual es necesario tiempos de contacto más prolongados (10 horas) para que se comporte como esporicida, es decir, para generar DAN (Leveau & Bouix 2002).

Todos los productos a base de aldehídos y derivados, incluidos aquellos cuya finalidad sea DAN, no poseen un mecanismo de validación de concentración en solución por métodos de titulación ácido-base, es decir, verificación de pH, debido a que este último parámetro no permite la determinación de la concentración, ya que no es un método analítico de cuantificación de la misma. Adicionalmente, las "tirillas de verificación" (Utilizadas erróneamente para la cuantificación de la concentración de sustancias), las cuales, en el sentido estricto, son tirillas de verificación de pH, no se encuentran estandarizadas para determinar este parámetro en cualquier solución (son diseñadas para un producto en particular), lo cual va en contra de todo método analítico de determinación de concentración (Vesley *et al.* 1992, Muscarella 1996).

Materiales y Métodos

Área de estudio

El estudio se realizó en 3 Instituciones de Salud de referencia en Colombia, de las cuales, por razones de confidencialidad, no se divulgará información correspondiente al personal ni de la razón social de las instituciones que avalaron la investigación. En cada lugar, se tomaron muestras (hisopados), por triplicado, de instrumental (procesado y sin procesar) de servicios como consulta externa, hospitalización, cirugía y laboratorio. Las muestras fueron tomadas siguiendo la notación y metodología del Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA *et al.* 2005), los cuales fueron transportadas al Laboratorio Clínico de la Fundación Hospital Universitario Metropolitano y al Laboratorio de Estudios Ambientales en Agua y Suelo de la Universidad de Caldas. Dichas muestras fueron conservadas bajo los parámetros descritos en los protocolos de la APHA *et al.* (2005). Las muestras se procesaron, con el fin de determinar la presencia de microorganismos patógenos de interés en salud humana.

Bioensayos *in situ*

Con el fin de evaluar la prevalencia (presencia/ausencia) de microorganismos, se recolectaron muestras (hisopado) antes y después de la aplicación del desinfectante de alto nivel (Glutaraldehído 0,17% en solución, pH=6, sin activador) y del proceso de esterilización (Óxido de Etileno, Formaldehído, Peróxido de Hidrógeno), evaluando la limpieza y desinfección por medio de Luminometría (SystemSURE Plus) (Boyce *et al.* 2009, Dávila-Ramírez *et al.* 2014). Dicho hisopado fue sembrado en medios de cultivo específicos para el crecimiento de *Bacillus* (Agar Nutritivo), *Clostridium* (Agar BD para *Clostridium difficile* suplementado con sangre de oveja al 7%) y *Mycobacterium* (Agar Löwestein-Jensen y Agar Stonebrick) (Lebrun *et al.* 1992, Nolte *et al.* 1993, EUCAST 2014, Madigan *et al.* 2004, Mc Farland 1907). Posterior al periodo de incubación, se determinó el crecimiento microbiano por medio de la turbidez medida por espectrofotometría a 570 nm de emisión (Countess II FL – Cell Counter Thermo Fisher) (Sundstrom & Nilsson 1976; Haenni *et al.* 2012).

Extracción de ADN para PCR y secuenciación parcial de ARNr

La extracción de ADN de la micobacteria se modificó a partir del protocolo previamente publicado de Woo *et al.* (2003). Brevemente, los inóculos de las colonias de micobacterias en medio Löwenstein-Jensen se lavaron con 500 ml de Tris / HCl 0,1 M (pH 7,5) y el sedimento se suspendió en 100 ml de solución de lisis que contenía 0,1% de NaOH y 0,025% de SDS. La mezcla se incubó a 60°C durante 45 minutos, seguido de la adición de 100 ml de Tris/HCl 0,1 M (pH 7,5). El extracto de ADN se almacenó a 220°C antes de la PCR.

PCR por complejo MTB y MAC

Cada reacción de PCR contenía 10 ml de extracto de ADN. Se realizó una PCR anidada manual de un solo tubo para IS6110 en el complejo de MTB (Chan *et al.*, 1996, Drancourt *et al.*, 2000, Yam *et al.*, 1998, Yuen *et al.*, 1997). La PCR para MAC se realizó de acuerdo con el protocolo publicado por Li *et al.* (1996), con modificaciones menores. De los dos cebadores directos, MAC1 (59-GGACCTCAAGACGCATGTCTTCTG-39) se derivó de las posiciones 138-161 del gen 16S rRNA de *M. avium*, y MAC2 (59-GGACCTTTAGGCGCATGTCTTTAG-39) se derivó de las posiciones 128-151 de la *M. intracellulare* del gen 16S rRNA. El diseño del cebador inverso MACR (59-GCTCTTTACGCCAGTAATTCCGG-39) se basó en una secuencia que es común para ambas especies. Una mezcla de reacción de 100 ml consistió en Tris/HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl₂ 2 mM, dNTP 0,2 mM, 0,4 mM de cada cebador, y 2 U de la polimerasa AmpliTaq Gold (Perkin Elmer).

Para activar la Taq polimerasa, la mezcla se incubó primero a 94°C durante 10 min. La mezcla de reacción se sometió después a 50 ciclos de amplificación (94°C durante 1 minuto, 68°C durante 1 minuto y 72°C durante 1 minuto), con una extensión única final a 72°C durante 10 minutos. Una alícuota de 10 mL de producto de PCR se sometió a electroforesis durante 1 h a través de un gel de agarosa al 2% en 1 x TBE, y la banda objetivo de 390 pb se visualizó bajo iluminación UV.

Secuenciación parcial del gen 16S ARNr

El cebador de amplioespectro285 (59-GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-39) y el cebador específico de micobacterias 264 (59-TGCACACAGGCCACAAGGA-39) se usaron para la amplificación, correspondientes a las posiciones 9-30 y 1027-1046 de ARNr de *Escherichia coli* 16S, respectivamente (Kirschner *et al.*, 1993). El tamaño del amplicón fue de aproximadamente 1040 pb, dependiendo de la especie. La PCR se llevó a cabo en una mezcla de reacción de 50 ml que contenía 5 ml de plantilla de ADN, Tris/HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl₂ 2 mM, dNTP 0,2 mM, 0,4 mM de cada cebador y 2 U AmpliTaq Gold polimerasa. Para activar la Taq polimerasa, la mezcla se incubó primero a 94 ° C durante 10 min.

La mezcla de reacción se sometió luego a 35 ciclos de amplificación (94°C durante 1 minuto, 65°C durante 1 minuto y 72°C durante 2 minutos), con una extensión única final a 72°C durante 10 minutos. Una alícuota de 5 mL del producto de PCR se sometió a electroforesis durante 1 hora a través de un gel de agarosa al 2% en 1 x TBE. Posteriormente, los productos de PCR se purificaron usando el kit de purificación QIAquick PCR (Qiagen) para eliminar los cebadores no polimerizados y desoxinucleósido trifosfatos antes de la secuenciación del ciclo. Las secuencias de nucleótidos de ambas hebras de ADN se determinaron usando el mismo cebador directo 285 y el cebador inverso 259 (59-TTTCACGAACAACGCGACAA-39) correspondientes a la posición 590-609 de rRNA de 16S de *E. coli* (Kirschner *et al.*, 1993). El fragmento purificado se sometió a secuenciación cíclica mediante el kit

de Reacción Listo para Ciclo de Terminador ABY PRISM Dye Terminator (versión 3.0), a un cuarto del volumen de reacción recomendado, y un Analizador Genético ABI 377 (Applied Biosystems).

Para todas las muestras, se determinaron las secuencias de ambas cadenas de los amplicones. Las secuencias generadas fueron ensambladas y editadas usando el programa EDITSEQ versión 4.0 en el software DNASTAR (Lasogene) (DEMO), seguido de una búsqueda FASTA (DEMO) en Diferenciación Ribosómica de Microorganismos Médicos (RIDOM). Se utilizó una coincidencia de secuencia de $\geq 99\%$ con la de la secuencia de deformación del prototipo en un repositorio como criterio para la identificación de especies, grupos o niveles complejos (Drancourt *et al.*, 2000). Una secuencia se consideró adecuada si la secuencia editada tenía un 1% o menos de ambigüedad (Drancourt *et al.*, 2000). Una cepa de referencia, *Mycobacterium smegmatis* (ATCC 700084), se ejecutó en paralelo como control.

Análisis estadístico

El procesamiento de datos se realizó mediante pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk; además de Análisis de Varianza Factorial, con el fin de establecer diferencias entre tratamientos y pruebas pos hoc de Tukey ($p < 0,05$), con el fin de verificar la máxima variación. Se realizaron pruebas de diferencias de medias y medianas, con el objetivo de establecer diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y antes y después del procedimiento de limpieza y desinfección (DAN y Esterilización).

Resultados

Los análisis luminométricos se realizaron en diferentes dispositivos y equipos biomédicos, procurando que dicho lugar no tuviera un proceso previo de desinfección. De acuerdo con la **tabla 1**, se evidencian diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los datos reportados al inicio del proceso de desinfección, donde, los resultados obtenidos con el proceso de DAN (Glutaraldehído 0,17% en solución, pH=6, sin activador), presentan una marcada disminución de los valores luminométricos con porcentajes de remoción superiores al 50%, siendo 55,7% el menor valor de remoción.

De acuerdo con los reportes microbiológicos, se evidencia la presencia de diferentes microorganismos patógenos en los dispositivos sometidos a esterilización, por ejemplo, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas luteola* y *Sphingomonas paucimobilis* (**Figura 1**).

Se tomaron muestras de los microorganismos que presentaron crecimiento en los medios de cultivo sólidos, con el fin de verificar su identidad genética, reportando para el caso del género *Mycobacterium*, 7 espilogotipos de *Mycobacterium tuberculosis* procedentes de dispositivos y equipos biomédicos que fueron previamente llevados a procesos de esterilización de alta y baja temperatura (Plasma Periódico de Hidrógeno, Vapor y Formaldehído). Los dispositivos y equipos biomédicos sometidos a DAN (Glutaraldehído 0,17% en solución, pH=6, sin activador), no reportaron crecimiento en los medios de cultivo sólidos específicos para cada microorganismo de interés (**Tabla 2**).

Tabla 1. Evaluación de acción biológica de los procesos de Esterilización y DAN.

Servicio	Tipo de superficie	Representación	Muestra	Resultado						
				Inicio	¹Final		²ANOVA (p Valor)		% Remoción promedio	
					HLD	³STR.	HLD	STR.	HLD	STR.
Cirugía	Horizontal	Equipo Biomédico, Mesa de Mayo, lámparas, sifones, entre otros.	Mesa de mayo Auxiliar	112	0	NA	NC	NC	100%	NC
			Autoclave	5	NA	0	NC	NC	NC	100%
Central de Esterilización	Horizontal	Equipo Biomédico, Mesa de Mayo, lámparas, sifones, entre otros.	Autoclave Plasma H2O2	NC	NC	25	NC	NC	NC	NC
			Aspa Lavadora Automática	NC	NC	140	NC	NC	NC	NC
			Mesa empaque instrumental	NC	NC	89	NC	NC	NC	NC
			Plasma H ₂ O ₂	NC	NC	32	NC	NC	NC	NC
			Pinza Kelly	NC	290	NC	NC	NC	NC	NC
Central de Esterilización	Geometría 1	Todos los que tenga caja de traba	Pinza Armónica	NC	164	NC	NC	NC	NC	NC
			Cánula de Ferguzón**	NC	3	NC	NC	NC	NC	NC
	Geometría 2	Todos los que tengan medida de profundidad	Trocar Liposucción**	NC	730	NC	NC	NC	NC	NC
			Cánula Laparoscópica**	NC	25	NC	NC	NC	NC	NC
			Cistoscopio	13	0	0	NC	NC	100%	100%
			Equipo A (Endoscopio)	913	19	13	0,0300282	0,0300335	97.9%	98.5%
			Equipo B (Endoscopio)	669	47	78	0,0194816	0,489435	92.9%	88.3%
			Equipo C (Endoscopio)	176	6	21	0,112955	0,0233128	96.5%	88,1%
	Geometría 4	Cajas varias o contenedores	Bandeja de DAN	213*	90	NA	NC	NC	57.7%	NC
			Bandeja Enzimático	78	21	NA	NC	NC	73.1%	NC

1. NA: No Aplica. 2. NC: Dato No Calculado 3. Posterior al proceso de Esterilización. *La superficie fue lavada previamente con Virkon (B-Broun) por parte de la Instrumentadora del servicio. **Pre-Esterilización.

INFORME CLÍNICO FINAL

FUNDACIÓN HOSPITAL UNIVERSITARIO METROPOLITANO
Cra 42 F No. 75 B - 18 Laboratorio Clínico Piso 5o. 15/06/2017
Barranquilla Atlántico

A. ID equipo:	AUTOCLAVE FORMALDEHIDO PANEL DIGITAL	Nombre del test	N° aisl.	Resultado
Referencia:	170621	NMIC/ID-406	1	Completo
No de acceso:	17 - 06 - 21	PMIC/ID-89	2	Completo
Fecha de recogida:	13/06/2017 15:49:22	Nombre del organismo		
		1	CHRMULT	<i>Pseudomonas luteola</i>
		2	BREISPE	<i>Brevibacterium</i> spp.

B. ID equipo:	AUTOCLAVE MOTO CHONA PANEL DIGITAL	Nombre del test	N° aisl.	Resultado
Referencia:	170623	PMIC/ID-89	1	Manual completo
No de acceso:	17 - 06 - 23	NMIC/ID-406	2	Manual completo
Fecha de recogida:	13/06/2017 15:49:22	Nombre del organismo		
		1	STAEPI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
		2	BREISPE	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
		Marcadores de resistencia		
		1	BLACT	<i>Staphylococcus productor de betalactamasa</i>
		1	MRS	<i>Staphylococcus resistente a meticilina</i>
		1	MRS	<i>Staphylococcus resistente a meticilina</i>

C. ID equipo:	MESA DE ZONA DE EMPAQUE	Nombre del test	N° aisl.	Resultado
Referencia:	170613	PMIC/ID-89	1	Completo
No de acceso:	17 - 06 - 13	Nombre del organismo		
Fecha de recogida:	11/06/2017 11:05:03	1	STAWAR	<i>Staphylococcus warneri</i>
		Marcadores de resistencia		
		1	BLACT	<i>Staphylococcus productor de betalactamasa</i>
		1	MRS	<i>Staphylococcus resistente a meticilina</i>
		1	STAMLS	Fenotipo MLSb de <i>Staphylococcus</i>

D. ID equipo:	STERRAD PANEL DIGITAL	Nombre del test	N° aisl.	Resultado
Referencia:	17063	NMIC/ID-406	1	Completo
No de acceso:	17 - 06 - 3	Nombre del organismo		
Fecha de recogida:	11/06/2017 11:09:02	1	ACINBCX	<i>Acinetobacter baumannii calcoaceticus complejo (ABC)</i>

E. ID equipo:	EQUIPO LAPAROSCOPIA MANGO	Nombre del test	N° aisl.	Resultado
Referencia:	17068	NMIC/ID-406	1	Completo
No de acceso:	17 - 06 - 8	Nombre del organismo		
Fecha de recogida:	13/06/2017 15:49:22	1	PSEspe	<i>Pseudomonas</i> spp.

Figura 1 Determinaciones microbiológicas en dispositivos y equipos biomédicos. A. Autoclave Peróxido de Hidrógeno. B. Equipo de Laparoscopia. C. Autoclave Formaldehído. D. Mesa Zona de Empaque. E. Autoclave Vapor.

Discusión

Los resultados luminométricos (URL's) indican la presencia de materia orgánica en las muestras tratadas bajo procedimientos físicos de esterilización, sin embargo, este parámetro no permite realizar comparaciones referentes a la presencia/ausencia de microorganismos de interés clínico. La DAN (Glutaraldehído 0,17% en solución, pH=6, sin activador) ha demostrado ser un método eficiente para la eliminación de formas vegetativas de microorganismos de interés clínico, por ejemplo, *Bacillus subtilis*, *Clostridium difficile* y *Mycobacterium tuberculosis*.

Las comparaciones entre los métodos de esterilización (Óxido de Etileno, Formaldehído, Vapor, Plasma Peróxido de Hidrogeno, entre otros), obtenidas en este estudio evidencian falencias en el proceso de eliminación tanto de formas reproductivas como vegetativas de microorganismos de interés patológico, específicamente, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus epidermidis*, *Brevibacterium* spp., *Pseudomonas luteola* y *Sphingomonas paucimobilis*.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo hallado por Ramírez *et al.* (2013), quienes al conocer los resultados microbiológicos realizados en el Hospital General de zona 32, Mario Madrazo Navarro, Villa Coapa, encaminados a la evaluación de la presencia de *Acinetobacter baumannii* (Bacilo gramnegativo multiresistente), iniciaron los protocolos tendientes al control del brote presentado, tomando medidas referentes a la higiene y lavado de manos y equipos con la solución preparada de detergente monozimático antimicrobiano (Alkazyme®) y el desinfectante de alto nivel a base de Glutaraldehído 0,17% en solución, pH=6, sin activador (Alkacide®, 20mL de producto en 1L de Agua = 0.17%), efectuando la desinfección de los circuitos de ventilación.

Tabla 2. Determinación Mycobacterial en muestras de dispositivos y equipos biomédicos sometidos a los procesos de Esterilización y DAN.

Servicio	Tipo de Superficie	Repr.	Muestra	¹ BAAR+ (autoclave)	² BAAR+ (DAN: Glutaraldehído 0,17% en solución, pH=6, sin activador)	³ Aislamiento (DAN)		⁴ Aislamiento (autoclave)		PCR+	⁷ no. Espoligotipo	
						⁵ L-J UFC/mL	⁶ S-B UFC/mL	⁵ L-J UFC/mL	⁶ S-B UFC/mL			
Cirugía	Horizontal	Equipo Biomédico, Mesa de Mayo, lámparas, sifones, entre otros.	Mesa de Mayo Auxiliar	0	ND	0	0	ND	ND	0	0 Mtb	
			Autoclave	22	ND	*ND	*ND	6	7	48	7 Mtb 4 Mtb	
Central de Esterilización	Geometría 2	Todos los que tengan medida de profundidad.	Cistoscopio	24	0	0	0	1	4	22	1 Mtb 2 Mtb	
			Equipo A (Endoscopio)	0	0	0	0	0	2	44	0 Mtb 2 Mtb	
			Equipo B (Endoscopio)	1	0	0	0	0	0	0	0	0 Mtb
			Equipo c (Endoscopio)	1	0	0	0	2	0	44	1 Mtb 0 Mtb	
	Geometría 4	Cajas varias o Contenedores	Bandeja de DAN	0	ND	0	0	ND	ND	0	0 Mtb	
			Bandeja Enzimático	0	ND	0	0	ND	ND	44	1 Mtb 0 Mtb	

1. Presencia de bacilos resistentes a ácido-alcohol obtenidos del hisopado de instrumental sometido a esterilización. 2. Presencia de bacilos resistentes a ácido-alcohol obtenidos del hisopado de instrumental sometido a DAN. 3. Aislamiento después de tratamiento con DAN. 4. Aislamiento después de tratamiento con esterilización. 5. Medio Löwestein-Jensen. 6. Medio Stonebrick. 7. Espoligotipos resistentes *M. tuberculosis*. *ND: No Determinado.

De acuerdo con las investigaciones realizadas por Tupiza & Vilatuña (2015), se recomienda para el proceso de desinfección de alto nivel en equipos de endoscopia, el uso de Glutaraldehído 0,17% en solución, pH=6, sin activador (Alkacide[®], 0.17%), reportando que el producto destruye la mayoría de microorganismos incluido *Mycobacterium tuberculosis*, al igual que lo encontrado en la presente investigación.

De igual forma, Santiago (2010), evaluó diferentes productos a base de glutaraldehído, reportando que la fórmula a base de Glutaraldehído 0,17% en solución, pH=6, sin activador (Alkacide[®]), resuelve el problema de la rápida pérdida de estabilidad y disminuyen el tiempo de exposición, manteniendo una excelente actividad antimicrobiana

durante un período de 28 a 30 días.

Es importante enfatizar que, aunque el control biológico es uno de los indicadores más utilizados, con el fin de realizar la trazabilidad del proceso de esterilización, dicha herramienta se basa en la "idealidad" del proceso, es decir, no contempla la realidad del procedimiento. Para futuras investigaciones se recomienda la determinación de la presencia de genes que propicien procesos infecciosos de los espoligotipos hallados de *M. tuberculosis* con el fin de conocer las posibles consecuencias epidemiológicas de estos y el impacto en la salud pública.

Referencias

- Association of Operating Room Nurses (1992) Recommended practices. Disinfection. AORN J 56: 715-720.
- Association of Operating Room Nurses (1994) Proposed recommended practices for chemical disinfection. AORN J 60: 463-466.
- Centers for Disease Control-CDC (1985) Recommendations for preventing possible transmission of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus from tears. MMWR. 34: 533-534.
- Spaulding EH (1968) Chemical disinfection of medical and surgical materials, In: Lawrence CA, Block SS (Eds) Disinfection, Sterilization, and Preservation. Philadelphia, Lea Q Febiger, pp 517-531.
- American Society for Testing and Materials (1994). Standard practice for cleaning and disinfection of flexible fiberoptic and video endoscopes used in the examination of hollow viscera. In: Designation; pp: 854-859.
- Daschner E (1994) Steris System 1 in Germany. Infect Control Hosp Epidemiol 15:295-296.
- Volyes CR, Sanders DL, Simons JE (1995) Steam sterilization of laparoscopic instruments. Surg Endosc 5: 139-141.
- Muscarella LF (1996) High-Level Disinfection or "Sterilization" of Endoscopes.? Control and Hospital Epidemiology 17: 183-187.
- Bond WW (1993) Biological indicators for a liquid chemical sterilizer: A solution to the instrument reprocessing problem? Infect Control Hosp Epidemiol 14: 309-312.
- Rutala WA (1990) APIC guidelines for selection and use of disinfectants. Am J Infect Control 18: 99-117.
- Rutala WA, Clontz EP, Weber DJ (1991) Disinfection practices for endoscopes and other semi-critical items. Infect Control Hosp Epidemiol 12:282-288.
- Rutala WA, Gergen MF, Weber DJ (1993) Sporocidal activity of chemical sterilant used in hospitals. Infect Control Hosp Epidemiol 14:713-718.
- Garner JS, Favero MS (1986) CDC guidelines for the prevention and control of nosocomial infections. Guideline for handwashing and hospital environmental control, 1985. Supersedes guideline

- for hospital environmental control published in 1981. *Am J Infect Control* 14: 110-129.
- 14 Martin MA, Reichelderfer M (1994) APIC guidelines for infection prevention and control in flexible endoscopy. Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, Inc. 1991, 1992, and 1993 APIC Guidelines Committee. *Am J Infect Control* 22: 19-38.
- 15 Babb JR, Bradley CR (1991) The mechanics of endoscope disinfection. *J Hosp Infect* 18(suppl A): 130-135.
- 16 Dyas A, Das BC (1985) The activity of glutaraldehyde against *Clostridium difficile*. *J Hosp Infect* 6: 41-45.
- 17 Omidbakhsh N (2006) A new peroxide-based flexible endoscope-compatible high-level disinfectant. *AJIC* 34: 571-577.
- 18 Vesley D, Norlien KG, Nelson B (1992) Significant factors in the disinfection and sterilization of flexible endoscopes. *Am J Infect Control* 20: 291-300.
- 19 Piédrola G (2000) Preventive medicine and public health. (10th edn) Editorial Elsevier España.
- 20 Leveau JY, Bouix M (2002) Technical manual of hygiene, cleaning and disinfection. (1stedn). Madrid Spain . Mundi Press. p 623 .
- 21 APHA, AWWA, WEF (2005) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. (21st edn) American Public Health Association: Washington.
- 22 Boyce JM, Havill NL, Dumigan DG, Golebiewski M, Balogun O, et al. (2009) Monitoring the Effectiveness of Hospital Cleaning Practices by Use of an Adenosine Triphosphate Bioluminescence Assay. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 30: 678-84.
- 23 Dávila-Ramírez FA, Díaz-Villamil NT, Fajardo-Granados D, Jiménez-Cruz C (2014) Quality of hygiene in surgery rooms by adenosine triphosphate luminometry. *Rev Gerenc Polít Health* 13: 266-273.
- 24 Lebrun L, Espinasse F, Poveda JD, Vincent-Levy-Frebault V (1992) Evaluation of nonradioactive DNA probes for identification of mycobacteria. *J Clin Microbiol* 30: 2476-2478.
- 25 Nolte FS, Metchock B, McGowan JE, Edwards A, Okwumabua O, et al. (1993) Direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum by polymerase chain reaction and DNA hybridization. *J Clin Microbiol* 31: 1777-1782.
- 26 European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters 2011-01-05 (v 1.3).
- 27 Madigan MT, Martinko JM, Parker J (2003) In: Pearson Prentice Hall editor Brock: *Biology of Microorganisms*, Madrid,
- 28 McFarland J (1907) Nephelometer. *J Am Med Assoc* 14: 1176-1184.
- 29 Sundstrom C, Nilsson K (1976) Establishment and characterization of a human histiocytic lymphoma cell line (U-937). *International Journal of Cancer* 7: 565-577.
- 30 Haenni M, Ponsin C, Metayer V, Medaille C, Madec J (2012) Veterinary hospital-acquired infections in pets with a ciprofloxacin-resistant CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* ST15 clone. *Journal Antimicrobial Chemotherapy* 67: 770-776.
- 31 Woo PC, Ng KH, Lau SK, Yip KT, Fung AM, et al. (2003) Usefulness of the MicroSeq 500 16S ribosomal DNA-based bacterial identification system for identification of clinically significant bacterial isolates with ambiguous biochemical profiles. *J Clin Microbiol* 41: 1996-2001.
- 32 Chan CM, Yuen KY, Chan KS, Yam WC, Yim KH, et al. (1996) Single-tube nested PCR in the diagnosis of tuberculosis. *J Clin Pathol* 49: 290-294.
- 33 Drancourt M, Bollet C, Carlouz A, Martelin R, Gayral JP, et al. (2000) 16S ribosomal DNA sequence analysis of a large collection of environmental and clinical unidentifiable bacterial isolates. *J Clin Microbiol* 38: 3623-3630.
- 34 Yam WC, Yuen KY, Seto WH (1998) Direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory specimens using an automated DNA amplification assay and a single tube nested polymerase chain reaction. *Clin Chem Lab Med* 36: 597-599.
- 35 Yuen KY, Yam WC, Wong LP, Seto WH (1997) Comparison of two automated DNA amplification systems with a manual one-tube nested PCR assay for diagnosis of pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol* 35: 1385-1389.
- 36 Kirschner P, Springer B, Vogel U, Meier A, Wrede A, et al. (1993) Genotypic identification of mycobacteria by nucleic acid sequence determination: report of a 2-year experience in a clinical laboratory. *J Clin Microbiol* 31: 2882-2889.
- 37 Ramírez MLP, Aranza-Aguilar JL, Varela MA, García A, Vélez-Castro G, et al. (2013) Outbreak of nosocomial infection of the lower respiratory tract by *Acinetobacter baumannii* in an Internal Medicine service of a General Hospital of Mexico City. *Med Int Mex* 29: 250-256.
- 38 Tupiza MF, Vilatuña MF (2015) evaluation of the cleaning and disinfection process by administrative staff and auxiliary nursing staff in the ICU of Neonatology of H.G.O.I.A., QUITO JUNIO-AUGUST. Grade Work. Central University of Ecuador. p: 112.
- 39 Santiago C (2010) High-level sanitization and disinfection of inhalation equipment and equipment. *Revista Mexicana de Enfermería Cardiológica* 18: 40-42.
- 40 Li Z, Bai GH, Von Reyn CF, Marino P, Brennan MJ, et al. (1996) Rapid detection of *Mycobacterium avium* in stool samples from AIDS patients by immunomagnetic PCR. *J Clin Microbiol* 34: 1903-1907.