



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE  
LA SALUD**

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

TESIS

“EFECTIVIDAD ANTISÉPTICA DEL ALCOHOL EN GEL Y SU  
RELACIÓN CON EL TIEMPO DE EXPOSICIÓN”

PARA OPTAR EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

GINO ANTONIO YOSHITOMI CRISTOBAL

ASESOR

MG. LISLY SEDANO INGA

LIMA PERÚ, JULIO 2018

Quiero dedicarle este trabajo a Dios que me dio la vida y fortaleza para culminar esta investigación. A mis Padres, abuela y hermano por estar ahí cuando más los necesité, por todo el apoyo y confianza que me brindaron.

Un agradecimiento especial para mi asesor Q.F Lisly Sedano Inga y al jefe de control de calidad Q.F Miguel Vera del Laboratorio Productos Jumam por darme su apoyo, sugerencias y consejos que me sirvieron para realizar este trabajo de investigación.

## ÍNDICE

<i>Dedicatoria</i>	<i>ii</i>
<i>Agradecimiento</i>	<i>iii</i>
<i>Índice</i>	<i>iv</i>
<i>Índice de tablas</i>	<i>vii</i>
<i>Índice de cuadros</i>	<i>viii</i>
<i>Índice de figuras</i>	<i>ix</i>
<i>Índice de gráficos</i>	<i>x</i>
<i>Resumen</i>	<i>xi</i>
<i>Abstract</i>	<i>xii</i>
<i>Introducción</i>	<i>xiii</i>

### **CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

1.1. Descripción de la Realidad Problemática.....	<b>14</b>
1.2. Problemas de investigación.....	<b>16</b>
1.2.1 Problema General.....	<b>16</b>
1.2.2 Problemas Específicos.....	<b>16</b>
1.3. Objetivos de la Investigación.....	<b>16</b>
1.3.1 Objetivo General.....	<b>16</b>
1.3.2 Objetivos Específicos.....	<b>17</b>
1.4. Justificación, importancia y limitaciones de la investigación.....	<b>17</b>

### **CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN**

2.1. Hipótesis de la investigación.....	<b>21</b>
2.1.1 Hipótesis general.....	<b>21</b>
2.1.2 Hipótesis específica.....	<b>21</b>
2.2. Variables de la investigación.....	<b>22</b>
2.2.1. Identificación y clasificación de variables.....	<b>22</b>

2.2.2. Operacionalización de variables.....	22
---	----

### **CAPÍTULO III: MARCO TEÓRICO**

3.1. Antecedentes de la investigación.....	23
3.1.1 A nivel Nacional.....	23
3.1.2 A nivel Internacional.....	24
3.2. Bases Teóricas.....	27
3.2.1. Antisépticos.....	27
3.2.1.1. Condiciones ideales de los antisépticos.....	29
3.2.1.2. Clasificación de antisépticos.....	30
3.2.1.2.1. Alcoholes.....	30
3.2.1.2.2. Agua oxigenada.....	31
3.2.1.2.3. Compuestos yodados.....	32
3.2.1.2.4. Nitrato de plata.....	33
3.2.1.2.5. Cloruro de benzalconio.....	34
3.2.1.2.6. Clorhexidina.....	35
3.2.1.2.7. Violeta de Genciana.....	36
3.2.1.2.8. Derivados del Mercurio.....	37
3.2.1.2.9. Permanganato de potasio.....	37
3.2.1.3. Factores que influyen en la efectividad.....	37
3.2.1.4. Prueba del desafío de antisépticos.....	41
3.2.1.5. Métodos para evaluar la efectividad.....	43
3.2.1.5.1. Coeficiente fenólico.....	43
3.2.1.5.2. Recuento en placa.....	44
3.2.1.5.3. Filtración por membrana.....	45
3.2.1.5.4. Técnica de dilución en tubo.....	46
3.2.1.5.5. Susceptibilidad microbiana.....	46
3.2.1.5.6. Neutralización por inhibición química.....	47
3.2.2. Mesófilos aerobios totales.....	49
3.2.3. <i>Escherichia coli</i> .....	50
3.2.4. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	52

3.2.5. Marco Legal.....	54
3.2.5.1. Producto cosmético.....	54
3.2.5.2. Resolución 1482 de la CAN.....	54
3.2.5.3. Decisión 516 de la CAN.....	55
3.2.5.4. Normas AFNOR.....	55
3.3. Definición de términos.....	55

#### **CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

4.1. Tipo y Nivel de la investigación.....	58
4.1.1. Tipo de investigación.....	58
4.1.2. Nivel de investigación.....	59
4.2. Método y Diseño de la investigación.....	59
4.2.1. Método de investigación.....	59
4.2.2. Diseño de investigación.....	59
4.3. Población y Muestra de la investigación.....	59
4.3.1. Población.....	59
4.3.2. Muestra.....	59
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	60
4.4.1. Técnicas.....	60
4.4.2. Instrumentos.....	60
4.5. Procedimiento de recolección de datos.....	60

#### **CAPÍTULO V: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

5.1. Análisis de cuadros, tablas y gráficos.....	67
5.2. Discusión de los resultados.....	84
CONCLUSIONES.....	88
RECOMENDACIONES.....	89
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90
ANEXOS.....	95

## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla N°1** Media de las unidades formadoras de colonias sobrevivientes de *Escherichia coli* a diferentes tiempos de exposición por muestra.....**69**

**Tabla N°2.** Estadística descriptiva de la efectividad antiséptica del alcohol en gel frente a la cepa patógena de *Escherichia coli*.....**70**

**Tabla N°3.** Media de las unidades formadoras de colonias sobrevivientes de *Staphylococcus aureus* a diferentes tiempos de exposición por muestra.....**77**

**Tabla N°4.** Estadística descriptiva de la efectividad antiséptica del alcohol en gel frente a la cepa patógena de *Staphylococcus aureus*.....**78**

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro N°1</b> Unidades formadoras de colonias sobrevivientes de <i>Escherichia coli</i> a diferentes tiempos de exposición.....	<b>68</b>
<b>Cuadro N°2.</b> Correlación de Pearson de la efectividad antiséptica frente a la cepa patógena de <i>Escherichia coli</i> vs el tiempo de exposición.....	<b>73</b>
<b>Cuadro N°3.</b> Unidades formadoras de colonias sobrevivientes de <i>Staphylococcus aureus.</i> a diferentes tiempos de exposición.....	<b>76</b>
<b>Cuadro N°4.</b> Correlación de Pearson de la efectividad antiséptica frente a la cepa patógena de <i>Staphylococcus aureus.</i> vs el tiempo de exposición..	<b>81</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura N°1</b> Flujo del proceso de la recolección de las muestras.....	<b>61</b>
<b>Figura N°2.</b> Muestras de alcohol en gel adquiridas.....	<b>62</b>
<b>Figura N°3.</b> Preparación de la suspensión de cepa patógena.....	<b>63</b>
<b>Figura N°4.</b> Dilución seriada de la suspensión bacteriana.....	<b>64</b>
<b>Figura N°5.</b> Prueba <i>in vitro</i> de la efectividad antiséptica del alcohol en gel.....	<b>66</b>

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico N°1.</b> Colonias sobrevivientes de <i>Escherichia coli</i> de las 15 muestras a diferentes tiempos de exposición.....	<b>70</b>
<b>Gráfico N°2.</b> Reducción de colonias sobrevivientes de <i>Escherichia coli</i> a diferentes tiempos de exposición.....	<b>71</b>
<b>Gráfico N°3.</b> Capacidad bactericida del alcohol en gel frente a la <i>Escherichia coli</i> .....	<b>72</b>
<b>Gráfico N°4.</b> Representación gráfica de la correlación de Pearson de la efectividad antiséptica frente a la cepa patógena de <i>Escherichia coli</i> .....	<b>75</b>
<b>Gráfico N°5.</b> Colonias sobrevivientes de <i>Staphylococcus aureus</i> de las 15 muestras a diferentes tiempos de exposición.....	<b>78</b>
<b>Gráfico N°6.</b> Reducción de colonias sobrevivientes de <i>Staphylococcus aureus</i> a diferentes tiempos de exposición.....	<b>79</b>
<b>Gráfico N°7.</b> Capacidad bactericida del alcohol en gel frente a la <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>80</b>
<b>Gráfico N°8.</b> Representación gráfica de la correlación de Pearson de la efectividad antiséptica frente a la cepa patógena de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>83</b>

## RESUMEN

El uso de los productos antisépticos tópicos, tales como el alcohol en gel comercializado sin receta, que ofrecen una cómoda alternativa cuando no es posible usar agua y jabón para lavarse las manos tienen la función de eliminar y/o inhibir microorganismos a un nivel aceptable que evite una infección bacteriana en las personas.

Son escasa las investigaciones científicas de estos antisépticos, es por ello, la Food and Drug Administration (FDA) solicita datos e información científica adicionales para respaldar la seguridad y eficacia de dichos productos. A causa de ello, el objetivo principal del presente estudio *in vitro* es determinar la efectividad antiséptica del alcohol en gel y su relación con el tiempo de exposición. Para ello, con el uso de cepas patógenas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 se realizó un análisis microbiológico en el Laboratorio Productos Jumam utilizando una prueba de efectividad recomendada por la Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists (AOAC,1984).

En la evaluación de la efectividad de los antisépticos se utilizó 15 frascos de alcohol en gel (marca: AVAL, PREMIUM 1 y Burbuja). La prueba consistió en la neutralización química del alcohol en gel en tiempos de exposición a los 10, 30, 120 y 300 segundos. Los resultados de esta prueba mostraron que existen variaciones en la reducción bacteriana a través del tiempo.

Se determinó que el alcohol en gel presenta una efectividad antiséptica superior al 99.99% y existe una relación de tendencia lineal entre la efectividad y el tiempo de exposición.

**Palabras clave:** efectividad antiséptica, tiempo de exposición, estudio *in vitro*, neutralización química.

## ABSTRACT

The use of topical antiseptic products, such as alcohol gel sold without a prescription, which offer a convenient alternative when it is not possible to use soap and water to wash hands have the function of eliminating and / or inhibiting microorganisms at an acceptable level. avoid a bacterial infection in people.

There is little scientific research on these antiseptics, which is why the Food and Drug Administration (FDA) requests additional data and scientific information to support the safety and efficacy of these products. Because of this, the main objective of the present *in vitro* study is to determine the antiseptic effectiveness of alcohol in gel and its relationship with the time of exposure. For this, with the use of pathogenic strains of *Escherichia coli* ATCC 8739 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 a microbiological analysis was carried out in the Jumam Products Laboratory using an effectiveness test recommended by the Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) ,1984).

In the evaluation of the effectiveness of the antiseptics, 15 vials of alcohol in gel were used (brand: AVAL, PREMIUM 1 and Bubble). The test consisted of the chemical neutralization of alcohol in gel at times of exposure at 10, 30, 120 and 300 seconds. The results of this test showed that there are variations in bacterial reduction over time.

It was determined that alcohol in gel has an antiseptic effectiveness higher than 99.99% and there is a linear trend relationship between effectiveness and time of exposure.

**Keywords:** antiseptic effectiveness, exposure time, *in vitro* study, chemic neutralization.

## INTRODUCCIÓN

La flora microbiana de las manos aumenta progresivamente por las múltiples actividades realizadas durante el día. La higiene de las manos constituye la medida primaria en la reducción de la contaminación cruzada y en la prevención de transmisión de enfermedades patógenas.

El alcohol en gel es un excelente producto cosmético antiséptico para las manos porque su formulación permite un alto grado de asepsia eliminando en pocos segundos microorganismos peligrosos a la salud humana. Estudios han demostrado la efectividad antimicrobiana que se puede conseguir con una buena higiene de manos utilizando un producto gel a base de alcohol solo en casos de no poder acceder al lavado de manos.

Actualmente, la existencia de fórmulas clandestinas afecta a la comunidad por utilizar un producto que no cumple con los análisis y especificaciones microbiológicas establecidas para evaluar su efectividad antiséptica. Para analizar esta problemática es necesario mencionar que la efectividad antiséptica del alcohol en gel puede verse afectado por múltiples factores, desde su proceso de elaboración hasta su aplicación. Uno de los factores externos que pueden modificar la efectividad antiséptica del alcohol en gel es el tiempo de exposición al instante de su aplicación.

La presente investigación, en la fase *in vitro*, evaluó la actividad bactericida del alcohol en gel (frente a bacterias gram negativas y gram positivas) en diferentes tiempos de exposición basado en las recomendaciones de los países de alta vigilancia. En las pruebas se utilizó suspensiones de las cepas patógenas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

# **CAPÍTULO I**

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1 Descripción de la Realidad Problemática**

Hoy en día, la población mundial está expuesta a miles de bacterias y virus que pueden ocasionar diferentes patologías por medio de las vías de transmisión. Dada esta situación problemática es necesario conocer las medidas y acciones de higiene que reduzcan el riesgo de la propagación de estas enfermedades <sup>1,2</sup>. Lamentablemente, existe la falta de sentido de responsabilidad en la sociedad ya que prima la cultura de no cumplir con las normas de higiene. La correcta higiene de las manos destaca un rol importante en la prevención contra el contagio de enfermedades infecciosas <sup>3,4</sup>.

Por ello, la protección debida y correcta no solo es en días de crisis, sino es una necesidad continua y hacernos de nuevos hábitos de

higiene y protección. Para esto, la Organización Mundial de la Salud recomendó la utilización del alcohol en gel <sup>5</sup>. En caso de no tener agua y jabón, como una alternativa, podemos utilizar el alcohol en gel (también conocido como gel antiséptico) para limpiarnos las manos ya que es una manera rápida y según estudios demuestran su efectividad antiséptica <sup>6-8</sup>.

Los antisépticos se usan sobre la piel para eliminar o disminuir la flora residente y transitoria de la misma, es decir, reducir considerablemente enfermedades diarreicas, respiratorias agudas, conjuntivitis, parasitosis, influenza, entre otras enfermedades, así como prevenir brotes epidémicos y disminuir el ausentismo escolar y laboral. La formulación del alcohol en gel fue desarrollada para la asepsia de las manos en hospitales, clínicas médicas y odontológicas, cocinas industriales, industrias farmacéuticas, industrias cosméticas, industria de alimentos y otros establecimientos institucionales <sup>9,10</sup>.

En 2015, la Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas (DIGEMID), el Ministerio Público y la Policía Nacional incautaron a un laboratorio clandestino ubicado en Los Olivos una gran cantidad de productos de limpieza, higiene personal y cosméticos. Estos productos eran comercializados pese a ser fabricados y almacenados en condiciones totalmente inadecuadas cuyo uso podría poner en riesgo la salud de las personas <sup>11,12</sup>.

Este trabajo surgió por la necesidad de evaluar *in vitro* la efectividad antiséptica del alcohol en gel en relación a distintos tiempos de exposición con el objetivo de saber si el alcohol en gel es el más propicio para una buena asepsia y si realmente disminuye la carga microbiana de las manos a niveles aceptados en el tiempo recomendado por las entidades reguladoras. Para ello, se realizó una prueba de funcionalidad para determinar si el alcohol en gel disponible

en las boticas, es capaz de disminuir el conteo bacterias presentes en las manos cumpliendo dichos parámetros.

## **1.2 Problemas de investigación**

### **1.2.1 Problema General**

¿Cuál es la relación entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel con el tiempo de exposición frente a cepas patógenas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*?

### **1.2.2 Problemas Específicos**

**1.2.2.1** ¿Cuál es la efectividad antiséptica del Alcohol en Gel *AVAL* durante diferentes tiempos de exposición, en cepas patógenas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*?

**1.2.2.2** ¿Cuál es la efectividad antiséptica del Alcohol en Gel *PREMIUM 1* durante diferentes tiempos de exposición, en cepas patógenas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*?

**1.2.2.3** ¿Cuál es la efectividad antiséptica del Alcohol en Gel *Burbuja* durante diferentes tiempos de exposición, en cepas patógenas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*?

## **1.3 Objetivos de la investigación**

### **1.3.1 Objetivo General**

Determinar la relación entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel con el tiempo de exposición frente a cepas patógenas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.



### **1.3.2 Objetivos Específicos**

**1.3.2.1** Evaluar la efectividad antiséptica del Alcohol en Gel *AVAL* durante diferentes tiempos de exposición, en cepas patógenas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

**1.3.2.2** Evaluar la efectividad antiséptica del Alcohol en Gel *PREMIUM 1* durante diferentes tiempos de exposición, en cepas patógenas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

**1.3.2.3** Evaluar la efectividad antiséptica del Alcohol en Gel *Burbuja* durante diferentes tiempos de exposición, en cepas patógenas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

## **1.4 Justificación, importancia y limitaciones de la Investigación**

### **1.4.1 Justificación de la Investigación**

Hoy en día, existe una variedad de productos antisépticos para reducir la flora microbiana, sin embargo, el tiempo de exposición inadecuado limita su eficacia y seguridad. Estudios científicos esclarecen que el tiempo de exposición es uno de los factores influyentes en la efectividad antiséptica del alcohol en gel. Por tal motivo, se consideró la necesidad de realizar la presente investigación determinándose la relación directa entre la efectividad antiséptica y el tiempo de exposición, así mismo, el tiempo óptimo de exposición que asegura la máxima reducción de microorganismos.

En la presente investigación *in vitro*, desde un enfoque metodológico, aporta significativamente a las industrias farmacéuticas, cosméticas y de alimentos la implementación de una prueba de efectividad para desinfectantes. Con este método se determina los diferentes tiempos en que actúa los desinfectantes utilizados tanto para manipuladores como equipos.

Mediante esta investigación *in vitro*, con un enfoque principalmente social y práctico, las personas conocerán el modo de aplicar este producto antiséptico que eliminará el 99.99% de microorganismos en el tiempo recomendado. Además, se educa a los consumidores en adquirir alcohol en gel en establecimientos formales y que no sean de dudosa procedencia.

La presencia de posibles bacterias resistentes a la acción del alcohol etílico puede disminuir la efectividad antiséptica del alcohol en gel, es por ello, en la presente investigación *in vitro* se utilizó cepas patógenas responsables de la transmisión de enfermedades infecciosas cuantificándose la efectividad del alcohol en gel y de esta manera se constató la posible resistencia de dichas bacterias frente al antiséptico, con lo explicado podemos observar que esta investigación tiene un enfoque teórico porque proporciona información necesaria para validar este argumento planteado que será de base para posteriores estudios *in vivo* y sus respectivos seguimientos a largo plazo de estos productos.

El alcohol en gel es un producto cosmético y como tal debe presentar su respectivo registro sanitario y datos científicos adicionales que respalden la seguridad y eficacia de sus ingredientes activos. Ciertamente, no hay una normativa nacional para la fabricación de este tipo de productos, pero mediante esta investigación, con un enfoque legal, se utilizó especificaciones de entidades reguladoras perteneciente a los países de alta vigilancia con la finalidad de ayudar a los laboratorios fabricantes a garantizar que los usos habituales de estos productos no presenten riesgos de seguridad y eficacia desconocidos.

#### **1.4.2 Importancia de la Investigación**

Un producto antiséptico debe demostrar que es eficaz y seguro para el uso previsto cuando es aplicado de acuerdo a las instrucciones de uso. Las investigaciones *in vivo* realizadas en otros países demuestran su efectividad biocida a diferentes tiempos de exposición frente a bacterias comunes. Por ello, la importancia de esta investigación radica en la utilización de cepas patógenas, tiempo óptimo de exposición y el alcohol en gel de marcas reconocidas que cumplen con las buenas prácticas de almacenamiento pero que aún no han sido objeto de estudio para evaluar y comprobar su efectividad antiséptica. Con lo detallado anteriormente, es necesario determinar *in vitro* la efectividad del alcohol en gel comercializado en las boticas y de esta manera dar a conocer los resultados obtenidos para fomentar el control estricto en diversas entidades que fabrican dicho producto antiséptico.

Gran parte de las técnicas utilizadas para determinar la efectividad antiséptica son del tipo cualitativas por causa de la viscosidad, sin embargo, la técnica que se utilizará en esta investigación para determinar la efectividad antiséptica pese a las características peculiares del producto a estudiar como la viscosidad, tendrá la finalidad de obtener datos cuantificables. Esta técnica podrá ser utilizada para futuras investigaciones así mismo implementadas por laboratorios para verificar la efectividad de sus productos antisépticos con características físicas similares.

En cuanto a su alcance, podemos ver que esta investigación abrirá nuevos caminos para estudios posteriores que presenten situaciones similares a las que aquí se plantea, sirviendo como marco referencial a éstas.

### **1.4.3 Limitaciones de la investigación**

La cantidad de muestras recolectadas fue un limitante en este estudio porque no garantiza en su totalidad la fiabilidad de los resultados obtenidos, sin embargo, estas muestras son representativas para poder darnos una interpretación generalizada de los resultados del presente estudio.

La prueba de efectividad antiséptica es aplicada generalmente a productos líquidos por su facilidad de manejo en el método microbiológico, sin embargo, en este estudio se tuvo que adaptar el método a un producto líquido con elevada viscosidad (gel). Es por ello, se realizó el análisis utilizando pesos y no volúmenes.

Los tiempos de exposición (10, 30, 120 y 300 segundos) utilizados en la prueba de efectividad fueron controlados utilizando un cronómetro, sin embargo, es difícil controlar el tiempo exacto en segundos. Es por ello, el análisis se realizó por duplicado para promediar los resultados y de esa manera se obtuvo un resultado más confiable.

El conteo de colonias sobrevivientes en las placas es un limitante en este estudio porque existen múltiples técnicas de conteo exactas o inexactas, sin embargo, el uso de cuadrículas, conteo por sectores, con lupa entre otros, son técnicas bastante utilizadas que nos da valores próximos a lo real.

## CAPÍTULO II

### HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

#### 2.1 Hipótesis de la investigación

##### 2.1.1 Hipótesis general

El tiempo de exposición modifica la efectividad antiséptica del alcohol en gel comercializado en las boticas.

##### 2.1.2 Hipótesis específica

**1.4.2.1** El tiempo de exposición modifica la efectividad antiséptica del alcohol en gel *AVAL*, en cepas patógenas *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

**1.4.2.2** El tiempo de exposición modifica la efectividad antiséptica del alcohol en gel *PREMIUM 1*, en cepas patógenas *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

**1.4.2.3** El tiempo de exposición modifica la efectividad antiséptica del alcohol en gel *Burbuja*, en cepas patógenas *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

## 2.2 Variables de la investigación

### 2.2.1 Identificación y clasificación de variables

VARIABLES	CLASIFICACIÓN
Efectividad antiséptica	Dependiente
Alcohol en gel	Independiente

### 2.2.2 Operacionalización de variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	INDICADOR	VALORES FINALES	Escala
Efectividad antiséptica	Es la capacidad antimicrobiana del producto cosmético alcohol en gel.	Logaritmo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g o mL) a diferentes tiempos de exposición.	Reducción de UFC 5 log ≤ efectivo	Continua
Alcohol en gel	Es un producto cosmético del tipo antiséptico.	Marca	Muy bueno Bueno Malo	Ordinal

## CAPÍTULO III

### MARCO TEÓRICO

#### 3.1 Antecedentes de la investigación

##### 3.1.1 A nivel Nacional

3.1.1.1 En la siguiente investigación realizado por Soto Montoya M. Y., Perú (2015) “**Determinación del efecto antimicrobiano *in vitro* de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* rusby (asteraceae)**” para optar el grado de Químico Farmacéutico en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, hace referencia al uso del extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby integrándolo a una formulación para la elaboración de un gel con efecto antimicrobiano. Es así; que dicho producto elaborado a concentraciones de 12,5mg/mL y 25mg/mL; se evaluó su efectividad biocida mediante el método de difusión en agar, enfrentándolo a cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de muestra clínica hospitalaria y de la comunidad. En los resultados se observó un halo de inhibición frente a las cepas utilizadas, la cual midió 20mm en *Staphylococcus aureus* de la comunidad y 18mm en *Staphylococcus aureus* aisladas de muestras

clínicas hospitalarias. Se concluyó en este estudio *in vitro* entonces que el gel con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby tiene efecto antibacterial <sup>13</sup>.

**3.1.1.2** En la siguiente investigación realizado por Ramos Meléndez A., Perú (2014) “**Evaluación in vitro de la efectividad de diferentes agentes antimicrobianos en la desinfección de conos de gutapercha**” para optar el grado de Cirujano Dentista en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, hizo un estudio *in vitro*, experimental y comparativo de la efectividad antimicrobiana de diferentes desinfectantes (clorhexidina 2%, peróxido de hidrógeno 3%, hipoclorito de sodio 2,5%, alcohol etílico 70% y yodopovidona 10%) aplicados en 40 conos de gutapercha que se encontraban expuestos de su caja de empaque de fábrica. Los conos fueron sumergidos en cada solución de los desinfectantes durante 10 minutos, transcurrido el tiempo se retiraron y fueron cultivados en medios de cultivo BHI a 37°C por 24 horas para comprobar si había crecimiento de bacterias. En los resultados se observó que la clorhexidina 2%, peróxido de hidrógeno 3% y el hipoclorito de sodio 2,5% presentan una efectividad en la desinfección de los 40 conos, por otro lado, la yodopovidona 10% solo en la mitad de los casos fue efectiva y el alcohol etílico 70% no demostró eficacia. Se concluyó que solo la clorhexidina 2%, peróxido de hidrógeno 3% y el hipoclorito de sodio 2,5% presentan una similar y óptima efectividad en la desinfección de los conos de gutapercha <sup>14</sup>.

### **3.1.2 A nivel Internacional**

**3.1.2.1** En la siguiente investigación realizada por Flamenco Santos J. W., Guevara Avalos G. I., El Salvador (2011) “**Formulación de tres productos desinfectantes y evaluación de su actividad antimicrobiana**”, para optar el grado de licenciatura en Química y Farmacia en la Universidad de El Salvador, hace referencia a la elaboración de tres desinfectantes a base de Ácido peracético 0.26%,



Glutaraldehído 2% y el otro de Gluconato de clorhexidina 4% a los cuáles se les evaluó su efectividad antimicrobiana utilizando el método de dilución-neutralización. Los resultados indicaron una reducción logarítmica superior a cinco, demostrando la actividad microbicida ejercida por los desinfectantes expuestos a los microorganismos. Se concluyó en esta investigación que los desinfectantes elaborados son efectivos frente a los microorganismos: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis* y *Listeria monocytogenes*, porque demostraron una reducción superior a 5 logaritmos, cumpliendo con las especificaciones de la norma europea UNE-EN 1040:2006 <sup>15</sup>.

**3.1.2.2** En la siguiente investigación realizada por Alvarado D., García Jorge D., Arias Echandi M. L., Costa Rica (2010) “**Evaluación de la efectividad del alcohol-gel en la desinfección de manos y su estabilidad a través del tiempo**”, esta revista biomédica que fue publicada por la Facultad de Microbiología en la Universidad de Costa Rica, se estudió la comparación de la efectividad antiséptica entre 2 geles de marcas diferentes (distribuidas comercialmente y sin especificar su concentración final de alcohol) y el alcohol líquido con una concentración al 70%, en 5 tiempos de exposición diferentes. Se aplicó el alcohol en gel y el alcohol líquido a una muestra de 10 personas seleccionadas aleatoriamente.

Se concluyó en esta investigación *in vivo* que la forma de presentación del alcohol, sea de forma líquida o de gel, no interfiere en la eliminación y/o inhibición bacteriana, además que el tiempo de exposición óptimo para lograr una máxima reducción bacteriana es de 30 segundos para el alcohol en gel <sup>16</sup>.

**3.1.2.3** En la siguiente investigación realizada por Rodríguez Merchán K. E. y Rueda Buitrago J. G., Colombia (2009) “**Evaluación de la efectividad en guantes del producto Clean Hands® bajo**

**condiciones de uso en laboratorio clínico del Hospital de Suba E.S.E**”, para optar el grado de Microbiólogo Industrial en la Pontificia Universidad Javeriana, evaluó la efectividad del alcohol en gel durante la desinfección de los guantes del personal del laboratorio clínico del Hospital de Suba E.S.E. Realizó 3 pruebas usando la técnica de hisopado y recuento en placa. Se concluyó que el uso de alcohol en gel reduce significativamente las unidades formadoras de colonias (UFC), de hongos y bacterias, tanto para guantes como para manos <sup>17</sup>.

**3.1.2.4** En la siguiente investigación realizada por Marín Díaz J. C., Navarro Peña N. F. y Santos Arévalo N., Colombia (2008) **“Evaluación del método dilución neutralización aplicado a un desinfectante según la norma técnica colombiana 5473 de 2007”**, para optar el grado de Microbiólogo Industrial en la Pontificia Universidad Javeriana, hace referencia a la importancia de aplicar métodos confiables y seguros que demuestre la efectividad de los desinfectantes basado en la Norma Técnica Colombiana 5473. El estudio se realizó en temperaturas controladas y se evaluó a cuatro tiempos de exposición entre el desinfectante y los microorganismos (0, 2, 5 y 10 minutos). Las seis repeticiones en el ensayo dieron resultados que demostraron una disminución logarítmica superior a cinco, evidenciando la actividad antibacteriana ejercida por el desinfectante según los límites establecidos por la norma. Se concluyó, la aplicación del método dilución neutralización según la norma técnica colombiana 5473 es seguro y eficaz para evaluar la efectividad bactericida de los desinfectantes <sup>18</sup>.

**3.1.2.5** En la siguiente investigación realizado por Gallardo Troncoso M. D., Chile (2006) **“Acción antimicrobiana de un desinfectante de uso industrial y doméstico sobre cepas de *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli*”** para optar el grado de Ingeniero en Alimentos en la Universidad de Chile, hace referencia a la efectividad antimicrobiana que debe presentar todo desinfectante de uso industrial y doméstico, para

ello realizó un estudio comparación *in vitro* del desinfectante a diferentes tiempos de exposición y concentración frente a cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* salvaje, *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Escherichia coli* salvaje y *Escherichia coli*. Los resultados obtenidos fueron expresados en función de: velocidad específica de muerte, eficiencia germicida porcentual (%) y el tiempo de reducción decimal. La eficiencia germicida *in vitro* del desinfectante a 400ppm frente a cada una de las cepas utilizadas en la evaluación fue de 99,999% a los 15 minutos pero en el *Staphylococcus aureus* salvaje se observó un 99,850% de eficacia a la misma concentración y tiempo de exposición. Se concluyó en esta investigación que el desinfectante de uso industrial y doméstico presenta efectividad antimicrobiana frente a las cepas bacterianas. Además, se demostró que la cepa de *Staphylococcus aureus* salvaje y ATCC 29213 es más resistente que la *Escherichia coli* salvaje y ATCC 25922 <sup>19</sup>.

## **3.2 Bases Teóricas**

### **3.2.1 Antisépticos**

Los antisépticos son compuestos químicos biocidas de naturaleza inorgánica u orgánica comercializados en diferentes presentaciones, como soluciones, geles, jabones, spray o toallitas con una formulación para aplicación tópica sobre tejidos vivos (mucosa, piel intacta, heridas, etc.) con la finalidad de inhibir o eliminar, al no tener una actividad selectiva, la proliferación de microorganismos patógenos y no patógenos (microbiota transitoria), así que constituye un método de rectificación del lavado de manos y permite disminuir los riesgos de infección asociada a la colonización de las heridas por parte de esta flora, inocua en primera instancia <sup>13,14,20</sup>.

Terapéuticamente hablando, el rol de los antisépticos es el de coadyuvar con los medios naturales de defensa de la piel en el control de la microflora residente y transitoria siendo uno de los

factores causante de las infecciones cutáneas. Dicho esto, es necesario enfatizar que se producen el mínimo de irritaciones y resequedad de la piel utilizando estas preparaciones <sup>13,20,21</sup>.

Algunos de los antisépticos son aplicados sobre la piel intacta o membranas mucosas, quemaduras, laceraciones o heridas abiertas para la prevención de infecciones cruzadas en los centros de salud y evitar la transmisión de enfermedades dentro de la comunidad <sup>13,14,16,20</sup>.

La acción antimicrobiana de los antisépticos puede variar de un producto a otro en su espectro de acción, el tiempo que inicia su activación, el tiempo que dura su actividad biocida, el efecto del residuo, toxicidad, capacidad de penetración y posibles materiales que modifican o inactivan a los antisépticos <sup>13,14,21,22</sup>.

- Selección de un agente antiséptico de manos y sitios de intervención quirúrgica. En el ámbito hospitalario, las manos y los sitios de intervención quirúrgica son desinfectados para reducir mediante la eliminación y/o inhibición de la flora residente y transitoria (p.ej., *Streptococcus pyogenes*) y los *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* resistentes a la metilina, que presentaron una implicancia en infecciones hospitalarias. Se ha demostrado que el uso de antisépticos para la desinfección de manos es más efectivo que el uso de agua y jabón para la reducción del recuento de bacterias en la piel; el uso repetido de antisépticos reduce aún más el recuento. En la industria farmacéutica, por ser un rubro donde tener un proceso de desinfección es importante y necesario, estos principios pueden ser aplicados a los operadores de los cuartos limpios <sup>14,21,22</sup>.

Los antisépticos más comunes contienen en su composición hexaclorofeno al 3%, clorhexidina al 4%, alcohol isopropílico al 70%, clorhexidina al 0,5% en alcohol al 95% y povidona yodada al 10% <sup>14,21,22</sup>.

### 3.2.1.1 Condiciones ideales de los Antisépticos.

- Aún estando diluido presenta una elevada actividad antibacteriana
- A baja concentración debe tener un amplio espectro de acción sobre diferentes tipos de microorganismos (Gram positivas, Gram negativas, micobacterias, virus, hongos).
- Ser un agente microbicida mejor que bacteriostático y producir la muerte de microorganismos en forma gradual y en un corto tiempo.
- Presentar una estabilidad óptima por varios meses permaneciendo activo en sus preparados comerciales.
- Mantener estable su efectividad en presencia de materia orgánica y otros factores.
- Poseer una homogeneización uniforme en el diluyente para que el ingrediente activo tenga la misma concentración en toda su masa.
- Debe ser de preferencia soluble en soluciones acuosas porque penetrarían mejor los exudados, el pus, la sangre, etc., donde podría haber microorganismos.
- Presentar una baja tensión superficial y viscosidad para que penetre fácilmente las membranas de la piel.
- Ser compatibles con otros productos.
- No ser tóxico e irritable para los tejidos humanos y animales.
- No ser corrosivo, ni teñir el material que se trate.
- Sus propiedades organolépticas (olor, sabor, etc.) no deben ser desagradables.
- No debe inducir ni desarrollar resistencia <sup>14,17</sup>.

### 3.2.1.2 Clasificación de Antisépticos

Los antisépticos químicos se clasifican dependiendo de su composición química. Esto incluye a los alcoholes, aldehídos, peróxidos, halógenos, compuestos de amonio cuaternario y compuestos fenólicos <sup>22,23</sup>.

#### 3.2.1.2.1 Alcoholes

Son compuestos químicos orgánicos, incoloros, volátiles e higroscópicos. El etanol (alcohol etílico) e isopropílico, solubles en agua, son los alcoholes más utilizados y tienen propiedades desinfectantes y antisépticas. Presentan una mejor y rápida acción bactericida, más que su acción bacteriostática, sobre formas vegetativas de bacterias; son fungicidas y virucidas pero no destruyen las esporas producidas por las bacterias. Su actividad antiséptica disminuye notablemente al diluir su concentración por debajo de 50% <sup>14</sup>; siendo la concentración bacteriana óptima en un rango del 65% al 95%, según la FDA <sup>2</sup>. Se estima que la máxima eficacia del alcohol se da a una concentración de 70%, según la Organización Mundial de la Salud <sup>5</sup>. Las elevadas concentraciones de alcohol, siendo un factor influyente, pueden deshidratar a los microorganismos y los conservan en vez de destruirlos. Los alcoholes pueden ser utilizados como vehículo de otros antisépticos o desinfectantes <sup>22,23</sup>.

#### - Mecanismo de acción

Los alcoholes actúan destruyendo a nivel de la membrana celular y desnaturalizan las proteínas. La presencia de agua influye en su eficacia, porque estos compuestos acuosos ingresan con mayor facilidad en las bacterias y células permitiendo así un trastorno a la membrana celular y una

desnaturalización de las proteínas aproximadamente a los 15 segundos de exposición <sup>16</sup>, interfiriendo posteriormente en el metabolismo y lisis celular, aunque no tiene efecto persistente. Por ello, presenta una potencia intermedia bactericida, frente a las bacterias patógenas comunes Gram+ y Gram- a una determinada concentración <sup>14,22,23</sup>.

### 3.2.1.2.2 Agua oxigenada (peróxido de hidrógeno)

La solución de peróxido de hidrógeno es un agente químico líquido bastante estable e incoloro a temperatura ambiente soluble en agua y muy empleado como antiséptico a diferentes concentraciones considerado el antiséptico y desinfectante más natural, pero actualmente ha caído en desuso, debido a que puede ser descompuesta por algunas bacterias resistentes de acción catalasa y peroxidasa ocasionando una duración corta de acción. Sin embargo, el agua oxigenada es bastante utilizada para la limpieza de heridas, también tiene la ventaja de ser coagulante en casos de pequeñas hemorragias. La dilución del agua oxigenada es utilizada en afecciones bucales o de garganta <sup>14,23</sup>.

#### - Mecanismo de acción

El peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) tiene efectos oxidantes por producir  $OH\cdot$  y radicales libres, estas moléculas atacan dirigiéndose a los componentes esenciales de los microorganismos como los lípidos, proteínas y ADN. La liberación de moléculas de oxígeno  $O_2$  por las catalasas tisulares, actúan impidiendo la activación de esporas de los anaerobios. Por ello, la solución de agua oxigenada presenta un amplio espectro de acción bactericida, bacteriostático o esporicida según la concentración y condiciones de utilización. En general, presenta mayor actividad bactericida

frente a Gram- que Gram+. Frente a hongos, esporas y algunos virus su acción es un poco más lenta <sup>14,23</sup>.

### 3.2.1.2.3 Compuestos yodados

Los compuestos yodados (por ejemplo: la yodopovidona, solución de yodo al 5% y la tintura de yodo) son agentes oxidantes, combinándose irremediablemente con residuos de tirosina de las proteínas. Actúan precipitando las proteínas y ácidos nucleicos de los microorganismos. Alteran la estructura de las membranas celulares al unirse a los enlaces C=C de los ácidos grasos <sup>14,22</sup>.

#### - Povidona yodada

Es un portador de yodo denominado polividona, povidona o iodopolivinilpirrolidona a los productos formados por una solución de povidona y yodo molecular, generalmente a una concentración del 10%. Este producto es empleado frecuentemente como antiséptico, principalmente para el tratamiento de cortes menores en la piel. El yodo forma un complejo con el nitrógeno pirrolidona de la povidona (polivinilpirrolidona). Tiene el objeto de prevenir los efectos tóxicos del yodo. Las concentraciones utilizadas son generalmente del 2% al 10% teniendo un rango de actividad amplio. Actúa por liberación lenta del yodo causando oxidación tóxica y reacciones de sustitución en el interior del microorganismo <sup>14,22</sup>.

La yodopovidona presenta una efectividad antiséptica frente a bacterias Gram-, Gram+, hongos, virus y micobacterias. Su acción es rápida con una duración de varias horas. Actúa disminuyendo los requerimientos de oxígeno de los microorganismos aerobios, interfiriendo la cadena respiratoria



bloqueando el transporte de electrones a través de reacciones electrolíticas con enzimas <sup>14,22</sup>.

#### 3.2.1.2.4 Nitrato de plata

Los compuestos de plata son utilizados como agentes antimicrobianos, principalmente para el tratamiento de las quemaduras. Tanto el nitrato de plata como la sulfadiazina de plata son los más ampliamente utilizados como antisépticos. Las sales de nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) presentan un potencial antimicrobiano que dependiendo de su concentración destruyen una gran parte de microorganismos. Estos compuestos son sólido inodoro, blanco o transparente que se vuelve gris en contacto con la luz y la materia orgánica. Es soluble en agua, alcohol y ligeramente soluble en éter. Una solución acuosa del producto presenta un pH de 5.5 <sup>14,22</sup>.

Presente una buena efectividad frente a bacterias Gram- (principalmente *Pseudomonas*, *Proteus* y *Neisseria gonorrhoeae*). Poco activo frente a bacterias Gram+, sin embargo, posee una buena actividad frente a hongos y moderada frente a virus. No posee actividad frente a micobacterias ni endosporas bacterianas. Según las concentraciones utilizadas actúa como bacteriostático o bactericida <sup>14,22</sup>.

#### - Mecanismo de acción

La plata está estrechamente relacionado a la interacción de los iones plata con grupos sulfhidrilo (-SH), y esta actividad antimicrobiana dependerá de bajas concentraciones de iones plata en una acumulación intracelular, que interactúan con las

proteínas, enzimas y ácidos nucleicos ocasionando alteraciones estructurales en la membrana celular, pared celular bacteriana y ácidos nucleicos afectando su viabilidad <sup>14,22</sup>.

### **3.2.1.2.5 Cloruro de benzalconio**

El cloruro de benzalconio es un compuesto químico del tipo amonio cuaternario de uso tópico (se aplica sobre la piel) destinado a la limpieza de lesiones superficiales y heridas infectadas. También se le conoce como cloruro de alquildimetilbencilamonio o cloruro de zephira <sup>14,22</sup>.

Es utilizado como medida en la prevención de infecciones en la piel intacta y en las membranas de mucosas, así como en el tratamiento de la queratoconjuntivitis (alteración que se produce cuando la superficie del ojo se encuentra seca debido a falta de lágrimas, ocasionando irritación e inflamación). También es un espermicida (inhibe la actividad de los espermatozoides) efectivo y se usa como anticonceptivo <sup>14,22-24</sup>.

El cloruro de benzalconio presenta diferentes concentraciones, a veces disuelto en alcohol (tintura) o agua (solución acuosa), y puede ser aplicado en mucosas, heridas o sobre piel sana previo a una cirugía. Antes de su aplicación, la piel tiene que ser lavada delicadamente y los restos de jabón enjuagarse con cantidad suficiente de agua, ya que éste puede anular la acción antiséptica. Es muy raro que genere alergia <sup>14,22,24</sup>.

Posee propiedades antimicrobianas frente a bacterias Gram+, pero con una mínima efectividad frente a bacterias Gram-,

particularmente *Pseudomonas*, ya que ejerce su acción sobre la membrana celular de las bacterias alterando su permeabilidad <sup>14,22,24</sup>.

#### **3.2.1.2.6 Clorhexidina**

Considerado un antiséptico de prescripción profesional. Utilizada en la medicina odontológica como un antiséptico de uso tópico (aplicado en la encima) para las lesiones leves de la mucosa bucal, también es utilizado para el tratamiento de la gingivitis y periodontitis (enfermedades de las encías) y para la prevención de infecciones durante o después de intervenciones que impliquen operatoria o cirugía bucal (exodoncias o extracciones) <sup>14,20,22-25</sup>.

Las presentaciones más comunes de la clorhexidina para su aplicación en la odontología, son colutorios en varias concentraciones (por ejemplo, al 0.2%, 0.12% y 0.10 %), así como también en forma de geles, sprays y pastas dentales <sup>14,20,22</sup>.

Presenta una afinidad por las estructuras que se encuentran cargadas negativamente debido a su carga positiva. Los tejidos dentarios y componentes peri-dentarios (mucosa bucal, mucina salival y película dental) se encuentran con carga negativa, de tal modo que la clorhexidina se une a estas estructuras, y se libera al medio bucal por 6 a 8 horas posterior a su aplicación, lo que se llama sustantividad <sup>14,20,23</sup>.

Las bacterias generalmente presentan carga negativa, de tal modo que la clorhexidina también se une a ellas, específicamente en su pared bacteriana, que es una estructura de vital importancia para la vida de los

microorganismos. En primera instancia este antiséptico es bactericida, es decir, produce la muerte de las bacterias.

En segunda instancia, a una concentración disminuida (debido a la sustantividad, la concentración va bajando paulatinamente) es considerado un agente bacteriostático, o sea no produce la muerte a las bacterias, pero impide su reproducción; las bacterias envejecen y mueren sin dejar descendencia <sup>14,20,22,23</sup>.

### **3.2.1.2.7** Violeta de genciana

La Violeta de Genciana también denominada con otros nombres: Cristal Violeta o Violeta de Metilo. Es un colorante con actividad antiséptica frente a bacterias gram+, especialmente *Staphylococcus sp.* y algunas levaduras patógenas como *Candida sp.*, siendo mucho menos efectivo frente a bacterias gram- y totalmente ineficaz en el caso esporas bacterianas. Un pH ácido (cambios en la acidez de la piel) o por contacto con materia orgánica (las proteínas disminuyen su actividad antiséptica por tal motivo no debe emplearse para su aplicación una torunda de algodón que haya sido previamente utilizada) así como en combinación con preparados que contengan en su composición Bentonita y Zinc, ya que disminuyen su efectividad antiséptica. La solución preparada a concentraciones entre el 0,5% y el 1% son utilizadas generalmente en infecciones dérmicas sensibles al Violeta especialmente en Candidiasis. En Onicomycosis la duración del tratamiento tiene una duración aproximada de 12 meses y como fungicid, los tratamientos pueden durar hasta 4 semanas. Probablemente pueden llegar a producir pigmentación permanente si se aplica sobre heridas. Se ha comprobado su acción carcinogénica en

animales, por lo que deberá usarse con precaución en el hombre <sup>19,22,24,25</sup>.

#### **3.2.1.2.8 Derivados del mercurio**

Los más habituales son tiomersal (solución al 0.1%) y merbromina (al 2%), que se utilizan para desinfectar la piel raspada, aunque pueden producir irritación notable <sup>21,22,25</sup>.

#### **3.2.1.2.9 Permanganato potásico o de potasio**

No es tan común como los anteriores, pero es de utilidad para prevenir infecciones por hongos (tiñas) e incluso detenerlas en sus primeras etapas <sup>21,22,25</sup>.

#### **3.2.1.3 Factores que influyen en la efectividad del antiséptico**

La Organización panamericana de la salud (OPS) indica que hay factores que aumentan la eficacia de la desinfección y la primera es la limpieza previa. La eficacia de los desinfectantes depende de una serie de factores, donde la concentración, temperatura y tiempo de contacto son de primera importancia. Los factores más importantes son <sup>14,17,22-24</sup>:

Entonces, la eficacia de un antiséptico depende de su actividad biocida intrínseca, la concentración del antiséptico, el tiempo de contacto o de exposición, la naturaleza de la superficie desinfectada, la dureza del agua usada para diluir el antiséptico, la cantidad de material orgánico presente en la superficie, y el tipo y la cantidad de microorganismos presentes.

#### **- Condiciones de crecimiento**

Los desinfectantes deben tener el más amplio espectro posible de actividad en contra de virus, bacterias, hongos y esporas. Y

deberán tener una acción biocida en contra de los microorganismos en una variedad de condiciones y estadios de crecimiento.

La cantidad de microorganismos, influye en la eficacia biocida del antiséptico, por lo que es importante reducir esta carga con el lavado de manos clásico con agua y jabón <sup>14,17,22-24</sup>.

#### - Cepas Microbianas

La actividad de los antisépticos depende en gran parte de la resistencia de los microorganismos de prueba. Suelen emplearse cepas representativas, procedentes de colecciones internacionales, cuya estabilidad genética está controlada para así poder estandarizar más los métodos de estudio <sup>14,22,24</sup>.

#### - Sustancias interferentes

Las eficiencias de los desinfectantes se reducen con la presencia de sustancias interferentes, especialmente materia orgánica o inorgánica, por dos principales causas <sup>14,22-24</sup>:

La materia orgánica puede actuar no específicamente con el desinfectante consumiendo parte del producto aplicado, lo que hace disminuir su concentración efectiva, por lo que se evidencia una pérdida de potencial biocida <sup>14,17,22-24</sup>.

Algunos desinfectantes pueden ser también afectados por materias inorgánicas, como las sales presentes en el agua dura <sup>14,22,24</sup>.

Además, en una forma no reactiva, la materia orgánica e inorgánica forman una barrera protectora, de tal manera, que los microorganismos son protegidos de sus efectos <sup>14,17,22,24</sup>.

#### - pH

Los desinfectantes pueden verse afectados por el pH del agua en que se diluyen, por lo que sólo deberán ser utilizados en el intervalo de pH especificado por los productores. El pH afecta tanto la carga superficial de los microorganismos como el grado de ionización del producto. Las formas ionizadas de los productos pasan mejor las membranas biológicas, y por lo tanto, son más efectivos, por lo que agentes aniónicos pueden ser más efectivos a pH ácido y agentes catiónicos a pH alcalinos <sup>14,17,22-24</sup>.

#### - Temperatura

Los antisépticos deberán ser efectivos a temperaturas mínimas de aproximadamente 5°C, que son temperaturas propias de la refrigeración, y máximas de hasta 55°C, así mismo, para la mayoría de los usos deberán mantener su nivel de acción a temperatura ambiente. Por lo general, al aumentar la temperatura aumenta la eficacia de los desinfectantes. Para muchos productos el aumento de 10° C supone duplicar la tasa de mortalidad. Pero con el fenol, este mismo aumento representa aumentar de 5 a 8 veces la eficacia <sup>14,17,22-24</sup>.

#### - Tiempo de contacto

Para la reacción entre el antiséptico y los microorganismos es un requisito indispensable el contacto entre ambos. Para ello, un tiempo de contacto suficiente es crítico para asegurar la asepsia en la mayoría de los casos, siendo generalmente aceptado un mínimo de 30 segundos. Generalmente al aumentar el tiempo de contacto, aumenta la tasa de letalidad <sup>14,17,22-24</sup>.

#### - Concentración

La relación entre la muerte microbiana y la concentración del antiséptico no es lineal. Inicialmente, la población microbiana es difícil de matar a concentraciones bajas, pero a medida que se

elevan se alcanza una máxima mortalidad. Más allá de esta concentración, los microorganismos se vuelven más resistentes con lo que sobrevive un número variable. Es importante, por lo tanto, utilizar las concentraciones recomendadas por los productores ya que los cambios a estas recomendaciones pueden no resultar en mejores efectos <sup>14,17,22-24</sup>.

#### - Concentración y Tiempo de contacto

La actividad del desinfectante es proporcional a la concentración y al tiempo

de acción, de acuerdo con la ley establecida por Watson (1908):

$$C^n \times t = K$$

C: concentración del desinfectante

K: constante.

T: tiempo necesario para una acción letal.

n: exponente de concentración.

#### - Resistencia microbiana a los antisépticos

El desarrollo de resistencia microbiana a los antibióticos es un fenómeno ampliamente descrito. El desarrollo de resistencia microbiana a los antisépticos es menos probable que ocurra a niveles significativos, ya que los desinfectantes son agentes biocidas más poderosos que los antibióticos. Además, se aplican normalmente en mayores concentraciones contra poblaciones de microorganismos más bajas que, por lo general, no están en crecimiento activo; es por ello que la presión selectiva para el desarrollo de resistencia es menos profunda. Sin embargo, los microorganismos asilados con mayor frecuencia de un programa de desinfección para comprobar su susceptibilidad ya que hay diferencias reales entre las especies distintas con respecto a su resistencia a los efectos letales de sanitizantes diferentes <sup>22-24</sup>.



#### 3.2.1.4 Prueba del desafío de antisépticos

Conforme a la Agencia de Protección Ambiental (siglas en inglés, EPA) exige que las empresas que registran productos plaguicidas antimicrobianos para la salud pública, incluyendo desinfectantes, agentes sanitizantes, agentes esporicidas y esterilizantes, garanticen la seguridad y eficacia de los productos antes de su venta o distribución. Las empresas que registran estos productos deben declarar la composición química del producto, incluir datos toxicológicos para documentar que el producto es seguro si se emplea según las instrucciones de la etiqueta, incluir datos de eficacia para documentar la efectividad declarada contra organismos específicos y para respaldar las instrucciones de uso del etiquetado, y deben además presentar un etiquetado que refleje los elementos que se requieren para el uso efectivo y seguro del producto. Si bien estas instrucciones proveen información valiosa, es probable que no sean de utilidad en relación con el uso de estos productos como desinfectantes en un entorno de fabricación <sup>23,24</sup>. En los Estados Unidos, la AOAC International publica los métodos oficiales de prueba de desinfectantes, que incluyen la Prueba de Coeficiente de Fenol, la Prueba del Método de Dilución de Uso, el Método de Portador en Superficie Dura y la Prueba de Portador de Esporicida. El estudio científico que se someta a revisión de la EPA para obtener el registro del desinfectante debe conducirse en las instalaciones de un laboratorio que cumpla con las normas de Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP, por sus siglas en inglés, descritas en 21 CFR 58). Para demostrar la eficacia de un desinfectante en un entorno de fabricación de productos farmacéuticos puede considerarse necesaria la realización de las siguientes pruebas: (1) pruebas de dilución de uso (analizar la eficacia de los desinfectantes a varias concentraciones y tiempos de contacto contra una amplia variedad de organismos estándares de prueba y aislamientos ambientales); (2) pruebas de desafío de

superficie (usando microorganismos estándares de prueba y microorganismos que son aislamientos ambientales típicos, aplicando desinfectantes sobre las superficies a la concentración de uso seleccionada y durante un tiempo de contacto especificado y determinando la reducción del logaritmo de los microorganismos de desafío); y (3) una comparación estadística de la frecuencia de aislamiento y números de microorganismos aislados antes y después de la implementación de un nuevo desinfectante. Esto se considera necesario ya que, según lo establecido por las normas de Buenas Prácticas de Fabricación (GMP, por sus siglas en inglés), los pasos críticos de un proceso, como la desinfección de áreas de procesamiento aséptico, requieren validación, y porque los requisitos de registro de la EPA no incluyen instrucciones sobre cómo usar los desinfectantes en las industrias farmacéutica, biotecnológica y de dispositivos médicos. Para las pruebas de desafío de superficie, los organismos de prueba se enumeran por medio de métodos de hisopado, enjuague de superficie o placa de contacto. Los neutralizantes que inactivan desinfectantes deberían incluirse ya sea en el diluyente o los medios microbianos usados en el recuento microbiano o en ambos <sup>23,24</sup>.

La prueba de eficacia de desinfectantes debe tener un criterio de aceptación realista. En la práctica, es necesario inocular una cantidad suficiente de organismos en un cuadrado de 2 pulgadas x 2 pulgadas de la superficie que está siendo descontaminada, es decir, un cupón (coupon), para demostrar una reducción de al menos 2 log (para esporas bacterianas) a 3 log (para bacterias vegetativas) durante un tiempo de contacto predeterminado (es decir, 10 minutos por encima de la recuperación observada con la aplicación de un desinfectante de control). La eficacia de los neutralizadores y su capacidad para recuperar del material los microorganismos inoculados debería demostrarse durante los

estudios de dilución de uso o de desafío de superficie. Es importante recordar que los desinfectantes son menos efectivos contra los números más altos de microorganismos usados en las pruebas de desafío de laboratorio que contra los números encontrados en cuartos limpios; que los inóculos de la fase de crecimiento logarítmico, comúnmente empleados en los laboratorios, son más resistentes, salvo las esporas que se forman durante la fase estacionaria, que aquellos de un cultivo estacionario o en extinción o que los organismos bajo estrés en el ambiente; y que los microorganismos pueden eliminarse físicamente durante la aplicación del desinfectante en el área de fabricación <sup>23,24</sup>.

### **3.2.1.5 Métodos para evaluar la efectividad de los antisépticos**

Una concentración recomendada y demostrada permite obtener una óptima efectividad del antiséptico y es observable porque reduce rápidamente el número de microorganismos patógenos y no patógenos a niveles que sean seguros para la salud pública. Generalmente se pueden tener en cuenta tres aspectos para la evaluación de un producto: la eficiencia inmediata de la formulación (hace referencia a la remoción mecánica y la inactivación inmediata de microorganismos), constancia antimicrobiana duradera de la efectividad (es la capacidad que presenta el producto para prevenir la recolonización microbiana en la superficie después de la aplicación del producto) y las propiedades residuales antimicrobianas de la formulación. Para poder llegar a evaluar estas características se emplean los métodos que se exponen a continuación <sup>16-18,24,26</sup>.

#### **3.2.1.5.1 Coeficiente Fenólico**

La determinación del coeficiente fenólico es una técnica de estandarización para determinar la eficiencia bactericida de un compuesto químico con relación al fenol <sup>16,17,18,24,27</sup>.

Es una indicación teórica y aproximada acerca del grado en que un producto desconocido tiene menor actividad desinfectante frente al fenol. Es un procedimiento de dilución en tubo en el cual se recomienda preparar al menos tres diluciones de la muestra: la que proporciona el fabricante, una más concentrada y una menos concentrada <sup>16-18,24,27</sup>.

Se valoran las muestras luego de cinco, diez y quince minutos de exposición. Esta técnica es viable cuando se van a evaluar desinfectantes cuyo mecanismo sea semejante al del fenol, es decir, que la muerte de la totalidad de los microorganismos se dé a los diez minutos de exposición y no antes. Los riesgos más frecuentes en esta prueba son: la existencia de microorganismos con diferencias en su susceptibilidad al fenol y que la temperatura a la cual se realiza la prueba sea diferente a la temperatura con la que se utiliza el desinfectante <sup>16-18</sup>.

#### **3.2.1.5.2 Recuento en Placa**

Las diluciones sucesivas de la suspensión del microorganismo se incorporan en un medio de cultivo sólido junto con una concentración del desinfectante para luego ser incubado. Después del periodo de incubación se observa la ausencia o disminución del crecimiento de microorganismo sobreviviente en las placas Petri. Con el resultado obtenido del recuento en placa se puede determinar la mínima concentración inhibitoria en la que actúa el desinfectante sobre una determinada cantidad de microorganismos <sup>16-18,24,25</sup>.

La técnica se basa en contar las “unidades formadoras de colonias” o UFC presentes en un gramo o mililitro de muestra. Se considera que cada colonia que se desarrolla en el medio de cultivo seleccionado según los requerimientos de la bacteria

después de un cierto tiempo de incubación a la temperatura adecuada, proviene de un microorganismo o de un agregado de ellos, de la muestra bajo estudio; ese microorganismo o microorganismos son capaces de formar la colonia, es decir una unidad formadora de colonia. Para que las colonias puedan contarse de manera confiable y lo más exacta posible, se hacen las diluciones decimales necesarias de la muestra, antes de incorporarlas en el medio de cultivo; la técnica para realizar este procedimiento se describe en “Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico” <sup>17,18,24</sup>.

### **3.2.1.5.3 Filtración por Membrana**

Este método tiene la ventaja de ser rápido su aplicación porque pueden obtenerse los resultados en poco tiempo y, en consecuencia, permitirá llevarse a cabo rápidamente acciones correctivas y operar en la planta de agua de nuevo en forma normal. Esta técnica puede aplicarse en el análisis de casi todos los tipos de agua, también se utiliza en el análisis de leche y otros alimentos líquidos <sup>16-18</sup>.

Considerado uno de los métodos analíticos más efectivo para la evaluación de la eficiencia de los desinfectantes. Básicamente se enfrenta directamente una mezcla de células o esporas con el agente desinfectante a diferentes tiempos de exposición y posteriormente su filtración por las membranas. Se puede emplear papel de filtro húmedo o seco <sup>16-18,24,25</sup>.

Los filtros de membrana son filtros de superficie, que muestran una estructura microporosa precisa. Durante la filtración las partículas mayores son retenidas por los poros de la membrana de forma fiable en la superficie de la misma. Solo pueden pasar por el filtro las partículas más pequeñas <sup>16-18,25</sup>.

#### **3.2.1.5.4 Técnica de Dilución en Tubo**

Consiste en la dilución del agente desinfectante o antiséptico. El mismo volumen de cada dilución del agente químico se distribuye en los tubos estériles, a cada tubo se le agrega la misma cantidad de una suspensión del microorganismo utilizado como prueba en el método. A determinados intervalos de tiempo se transfiere una alícuota determinada de cada tubo a otro tubo que contenga medio de cultivo seleccionado. Estos tubos inoculados se incuban a una temperatura óptima para el crecimiento del microorganismo utilizado durante 24 o 48 horas. Después de transcurrir el tiempo determinado se examina el crecimiento del microorganismo mediante la aparición de una turbidez en el tubo (crecimiento+) o ausencia de turbidez (crecimiento-) <sup>16-18,24,25</sup>.

Aquellos que presenten crecimiento negativo indican la dilución a la cual ese agente químico elimina al microorganismo utilizado como prueba cuando este es expuesto al desinfectante durante determinado tiempo de exposición <sup>16-18,24</sup>.

#### **3.2.1.5.5 Susceptibilidad Microbiana**

Se puede realizar mediante el método de difusión en agar, conocido como el método de Baver & Kirby, se basa en la difusión que presenta un agente antimicrobiano, impregnado en un disco de papel de filtro, sobre la superficie de agar. Se utiliza una suspensión de microorganismo semejante al tubo 0.5 de McFarland. Se mezclan 0.001 mL de la suspensión del microorganismo con 9 mL de agar licuado y se incorpora en una placa Petri que contenga el agar nutritivo o BHI, luego de un periodo de 5 minutos se colocan sobre la superficie del agar los discos impregnados con las concentraciones del agente químico a ensayar, iniciando el método por la menos concentrada. Para la

lectura se miden las zonas de inhibición alrededor del disco  
16,18,24,25,28

### 3.2.1.5.6 Neutralización por inhibición química

Los neutralizantes más conocidos son el Caldo Letheen y Thioglicolato, cumplen la función de inactivar químicamente la acción de muchos biocidas. Se demostró originariamente la eficacia de los neutralizantes con *Staphylococcus aureus* y luego con otros microorganismos. El Caldo Letheen es efectivo en la recuperación de bacterias expuestas a los alcoholes, compuestos de amonio cuaternario y biguanidas, Por otro lado, el medio Thioglicolato inhibe la acción química de agentes mercuriales. El uso de estos neutralizantes puede ser conveniente debido a su acción rápida a pesar de su toxicidad<sup>16,18,24</sup>.

- Factores que afectan la neutralización de los antimicrobianos se rige bajo cuatro criterios que deben ser tenidos en cuenta en el diseño de un estudio de neutralización<sup>16,18,24</sup>:

El neutralizante debe inhibir efectivamente la acción química de la solución biocida.

El neutralizante no debe ser por sí mismo tóxico para los microorganismos de ensayo.

El neutralizante y el agente químico no se deben combinar para formar un compuesto tóxico.

Estos criterios deben ser demostrados bajo condiciones similares a las condiciones normales para el empleo del desinfectante.

- Métodos para neutralizar las propiedades antimicrobianas

Se utilizan tres métodos comunes para neutralizar las propiedades anti microbianas de un producto: inhibición química, dilución y filtración y lavado.

#### Inhibición Química

Los neutralizantes conocidos para diversos agentes antimicrobianos químicos y la toxicidad informada de algunos neutralizantes químicos para microorganismos específicos. Sin embargo, a pesar de su potencial toxicidad, la conveniencia y acción rápida de los inhibidores químicos fomenta su utilización. La inhibición química de bactericidas es el método preferido para la prueba de eficacia antimicrobiana. El potencial de utilidad de los inhibidores químicos se debe considerar en las pruebas de esterilidad por filtración por membrana y por transferencia directa. Los antibióticos pueden no ser susceptibles a la neutralización por medios químicos, siendo en estos casos útil el tratamiento enzimático (p.ej., penicilinas). Estas enzimas pueden utilizarse cuando se requieran <sup>18,24</sup>.

#### Dilución

Un segundo enfoque para neutralizar las propiedades antimicrobianas de un producto es a través de la dilución, debido a que la concentración de un bactericida químico ejerce un gran efecto sobre su potencia. La relación entre la concentración y el efecto antimicrobiano difiere entre los agentes bactericidas, pero es constante para cada agente antimicrobiano. Esta relación es de naturaleza exponencial, con la fórmula general:

$$C^nt = k$$

en donde C es la concentración; t es el tiempo requerido para matar un inóculo estándar; k es una constante; y el exponente de



concentración,  $n$ , es la pendiente de la gráfica del logaritmo de  $t$  en función del logaritmo de  $C$ . Los agentes antimicrobianos con altos valores de  $n$  se neutralizan rápidamente por dilución, mientras que aquellos con valores de  $n$  bajos no son buenos candidatos para la neutralización por dilución <sup>18,24</sup>.

#### Filtración por Membrana

Un enfoque que se utiliza comúnmente, especialmente en pruebas de esterilidad, es la neutralización mediante filtración por membrana. Este enfoque se basa en la retención física del microorganismo en la membrana filtrante, mientras que el agente antimicrobiano pasa a través del filtro hacia el filtrado. Luego se incubaba la membrana para la recuperación de los microorganismos viables. Sin embargo, la filtración sola puede no quitar cantidades suficientes del agente bactericida como para permitir el crecimiento de los microorganismos sobrevivientes. La adherencia de los agentes antimicrobianos residuales a la membrana puede inhibir el crecimiento. La filtración a través de materiales filtrantes de poca capacidad de unión, tales como el difluoruro de polivinilideno, ayuda a minimizar esta inhibición de crecimiento. Además, el conservante puede diluirse o eliminarse del filtro por lavado con un líquido propicio. Los neutralizantes químicos en el líquido de enjuague pueden asegurar que los residuos anti microbianos en la membrana no interfieran con la recuperación de microorganismos viables <sup>18,24</sup>.

#### **3.2.2 Mesófilos Aerobios Totales:**

La materia orgánica a temperaturas que oscilan entre 30 y 40°C puede descomponer las bacterias mesofílicas <sup>28</sup>.

Las bacterias mesofílicas aerobias proporcionan información básica y necesaria acerca del número de bacterias viables, por lo que

representan un recurso importante y adicional para determinar el grado de exposición de los alimentos a la contaminación por microorganismos. El recuento total de estos microorganismos representa un respaldo al significado atribuido a los resultados obtenidos en los análisis de los coliformes. Durante la determinación de bacterias mesófilas aerobias, se observan valores muy variados dentro de los diferentes lugares de muestreo, esta variación puede deberse a factores tales como: la temperatura y el tiempo de almacenamiento<sup>28</sup>.

Las bacterias mesófilas aerobias son consideradas como un grupo variado de bacterias capaces de crecer entre 15 y 45 °C, con una temperatura óptimo de 35°C. La presencia de este tipo de microorganismos es indicativo básico de la calidad sanitaria de los productos analizados indicando, además de las condiciones higiénicas de la materia prima utilizada, además de la forma como fueron manipulados. Mediante el recuento de microorganismos aerobios mesófilos se estima la microbiota, pero no se pueden identificar los tipos de microorganismos<sup>28</sup>.

### **3.2.3 *Escherichia coli***

El sistema digestivo de los animales contiene siempre microorganismos. Se pueden encontrar microorganismos patógenos reconocidos como *Shigella* y *Salmonella*, y otros microorganismos nativos como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *enterococos*, *lactobacilos*, diversos miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, *clostridios* y una gran variedad de *protozoos*. Los microorganismos que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* son bacilos Gram- anaerobios facultativos que fermentan la glucosa. Las entero bacterias están ampliamente distribuidas generalmente en las plantas, los suelos y en el intestino de los humanos y animales. Estas bacterias se encuentran

asociados con muchos tipos de infecciones como neumonías, abscesos, septicemia, meningitis e infecciones intestinales, urinarias y heridas. La *Escherichia coli* se localiza siendo parte de la flora normal fecal de humanos y animales inferiores. Sin embargo, algunas cepas patógenas pueden producir infecciones del tracto urinario, de heridas y entéricas, ocasionalmente pueden producir meningitis y septicemia <sup>28,29</sup>.

El síndrome urémico hemolítico (SUH) es una entidad clínica y anatomopatológica caracterizada por la presentación aguda de un daño del tipo renal, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia, que puede afectar además a otros parénquimas como páncreas, intestino, sistema nervioso central y el corazón. Esta enfermedad sindrómica puede presentarse en dos formas, una típica de etiología infecciosa y de características endemoepidémicas, que está precedida por un período prodrómico con diarrea, generalmente sanguinolenta, y que puede presentar además vómitos, fiebre y dolor abdominal. La forma atípica puede ser desencadenada por distintos cuadros como hipertensión arterial, neoplasias, rechazo de trasplante renal, uso de anticonceptivos orales, drogas, post parto, etc <sup>28,29</sup>.

Se ha reconocido a *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC), como agente causal de la forma postentérica de SUH. Otros agentes infecciosos como *Shigella dysenteriae* tipo 1, *Campylobacter sp.*, *S. pneumoniae*, entre otros, han sido asociados a casos de SUH. *Escherichia coli* O157:H7, identificado por primera vez como patógeno humano en 1982, es el serotipo prevalente asociado a grandes brotes y casos esporádicos de colitis hemorrágica (CH) y SUH. Sin embargo, más de 100 serotipos poseen un potencial patogénico similar <sup>28,29</sup>.

A un subgrupo de serotipos de STEC (O26:H11; O103:H2; O111:NM; O121:H19; O145:NM; O157:H7), asociado a enfermedad severa en el hombre, se lo denomina E. coli enterohemorrágico. Se han clasificado a las cepas STEC en cinco sero-patotipos (A-E) teniendo en cuenta su potencial patogénico y epidémico, su asociación a enfermedades severas en el hombre y su capacidad para producir brotes <sup>28,29</sup>.

Su presencia en un producto de uso o consumo humano implicaría una posible presencia de contaminación fecal en especial en productos de consumo oral y en materias primas de origen natural <sup>28,29</sup>.

La *Escherichia coli* hace parte de la gran familia de las Enterobacteriaceae o bacterias entéricas, que también está conformada por otra serie de bacterias como la *Salmonella*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Shigella*, quienes hacen parte de las bacterias más importantes desde el punto de vista médico <sup>28,29</sup>.

Dentro de las características principales de *Escherichia coli* se encuentra que es un microorganismo aerobio facultativo, es Gram negativa y vive en el tracto intestinal de animales sanos como enfermos. Esta bacteria es oxidasa negativa y fermenta la glucosa produciendo ácido y gas. Fisiológicamente es muy versátil y se adapta muy bien a sus hábitats característicos; el tipo nativo de *Escherichia coli* no presenta limitantes en cuanto a factores de crecimiento y metabólicamente pueden transformar <sup>28,29</sup>.

#### **3.2.4 *Staphylococcus aureus***

El género *Staphylococcus* está ampliamente distribuido en la naturaleza, se lo encuentra en la piel y mucosas de humanos y de otros primates. Es frecuentemente encontrado en la boca, sangre,

glándulas mamarias, intestino, tracto genitourinario y vías aéreas respiratorias de sus huéspedes. *Staphylococcus aureus* se trata de un coco Gram positivo perteneciente a la familia *Micrococcaceae* <sup>28,29</sup>.

Está bien documentado que *Staphylococcus aureus* es un patógeno oportunista humano y es una de las mayores causas de infecciones agudas y piogénicas; si no es tratada, puede extenderse al tejido circundante o por vía de una bacteriemia a otros órganos. Muchas de las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* envuelven la piel con episodios de celulitis, impétigo, e infecciones post operatorias en diversos sitios. Otras infecciones mayores en las que está implicado este microorganismo son: bacteriemia, neumonía, osteomielitis, endocarditis aguda, meningitis, abscesos en músculo, entre otros <sup>28,29</sup>.

La presencia del genero *Staphylococcus* y particularmente *Staphylococcus aureus* en una materia prima o producto farmacéutico o cosmético, indica que la fuente de contaminación puede ser humana, o sea los operadores. Estos microorganismos pueden ser transportados por el polvo, piel, ropa y microgotas de humedad que se generan al moverse, hablar y estornudar <sup>28,29</sup>.

Es una especie bacteriana Gram positivo perteneciente a la familia *Micrococcaceae*, encontrada en la flora de algunas zonas de la piel y mucosas, como en la boca, sangre, glándulas mamarias, intestino, tracto genitourinario y vías aéreas respiratorias de, sin producir infección, debido al alto grado de resistencia natural en la piel de sus huéspedes <sup>13,28,29</sup>.

*Staphylococcus aureus* es un coco patógeno oportunista humano, causante de infecciones agudas y piogénicas, que si no es bien

tratada puede llegar a infectar a órganos por vía de una bacteriemia<sup>13,28,29</sup>.

Estos microorganismos pueden ser transportados por el polvo, piel, ropa y microgotas de humedad que se generan al moverse, hablar y estornudar, es por esa razón que la presencia de *Staphylococcus aureus* es un indicador de que la fuente de contaminación puede ser de los operadores<sup>13,28,29</sup>.

La morfología de las colonias de *Staphylococcus aureus*, en Agar Manitol Salado son de color amarillo y con un medio circundante de color amarillo<sup>13,28,29</sup>.

### **3.2.5 Marco Legal**

#### **3.2.5.1 Producto Cosmético**

Según lo establecido en el reglamento de la Comunidad Andina de las Naciones, el producto cosmético es toda formulación o sustancia destinado a la aplicación local de la superficie del cuerpo humano. La acción de los cosméticos es superficial por lo que ofrece placer, confort y cuidado a la persona. Sus componentes no están formulados para que ingresen profundamente y tengan acción sistémica. Un producto cosmético no podrá ser comercializado si produce efectos que vaya más allá de los que se permite<sup>30</sup>.

#### **3.2.5.2 Resolución 1482 de la CAN**

La resolución 1482 del 2002 emitida por la comunidad andina de naciones (CAN) hace referencia en el Control y Vigilancia Sanitaria de Productos Cosméticos sobre la estandarización de parámetros respecto al límite de contenido microbiológico que debe tener el producto cosmético, con la finalidad de mantener el seguimiento cosmetovigilancia del producto en el mercado y de

verificación para que los productos cosméticos fabricados o comercializados cumplan con las especificaciones técnicas <sup>31</sup>.

### **3.2.5.3 Decisión 516 de la CAN**

Plataforma uniforme entre los Países Miembros de la CAN (Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú), de las cuales regula el comercio de los productos cosméticos, con el fin de salvaguardar la salud del público consumido rigiéndose a que el comercio de los productos comprendidos se ejerza de manera transparente, como también el reconocimiento del producto mediante la notificación obligatoria sanitaria para su acceso al mercado con el fin de verificar la calidad de los productos en el mercado <sup>30</sup>.

### **3.2.5.4 Normas AFNOR**

Hasta 1997 no existían normas europeas de evaluación de desinfectantes. Los diferentes agentes desinfectantes eran evaluados según normas oficiales en algunos países, siendo las más comunes las normas francesas de la Association Francaise de Normalisation (AFNOR) y las estadounidenses EPA y AOAC (Association of Official Analytical Chemists) <sup>17</sup>.

### **3.2.5.5 Norma AENOR UNE-EN 1040**

Esta norma europea especifica un ensayo cuantitativo de suspensión bacteriana para la evaluación de la efectividad bactericida básica de los desinfectantes y antisépticos químicos.

## **3.3 Definición de términos**

### **Limpieza**

Es un proceso físico – químico con la finalidad de arrastrar todos los materiales ajenos (detritus, sangre, proteínas, etc.) que se adhieren a los diferentes objetos que se pretende limpiar.

### **Desinfección**

Es considerado un proceso químico o físico que puede inactivar o eliminar diferentes tipos de agentes patógenos tales como bacterias, virus y protozoos con ello impidiendo el crecimiento de microorganismos patógenos en fase vegetativa que se encuentren en objetos inertes.

### **Esterilización**

Proceso de eliminación, generalmente mediante el uso de la autoclave, de toda forma de vida microbiana, incluyendo hongos, virus y todas las formas de bacterias y sus esporas.

### **Microorganismos**

Los microorganismos, también denominados microbios, son organismos de tamaño pequeño, pueden ser observados únicamente con la ayuda del microscopio. La Biología tiene a la Microbiología como una de sus ramas encargadas del estudio de los microorganismos.

### **ATCC**

American Type Culture Collection (ATCC), es un material biológico con certificación utilizado como referencia para los análisis. La colección certifica que se suministra un cultivo puro de una determinada cepa, y que se han observado las determinadas pruebas moleculares, morfológicas y bioquímicas correspondientes.

### **Medios de Cultivo**

Es una solución gelatinosa o líquida que en su composición contiene los nutrientes necesarios e importante para el crecimiento de los microorganismos. Estos medios de cultivo pueden clasificarse por su consistencia, por su composición y por su función.

### **Unidades Formadoras de Colonias (UFC)**



En el campo de la microbiología, la unidad formadora de colonias (abreviadamente, UFC) es una unidad de medida utilizada para cuantificar los microorganismos viables en una muestra sólida o líquida.

### **Estudios *in vitro***

Son un tipo de técnicas para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente y factores influyentes controlados fuera del organismo vivo.

### **Estudios *in vivo***

En ciencia hace referencia a la experimentación realizada dentro o en el tejido de un organismo vivo, por oposición a uno parcial o muerto.

## **CAPÍTULO IV**

### **METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **4.1 Tipo y Nivel de la investigación**

##### **4.1.1. Tipo de investigación**

- Cuantitativa: Esta investigación es cuantitativa porque se determinó la correlación entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel y el tiempo de exposición frente a cepas bacterianas haciendo uso del número de colonias obtenidas después de los respectivos ensayos, en fórmulas que indican la efectividad porcentual, velocidad y tiempo de eliminación bacteriana.
- Analítico: Porque esta investigación trata de demostrar la relación que existe entre las variables.
- Longitudinal: Porque en la presente investigación se analizaron los cambios que presentó la variable al ser medida en diferentes momentos.

- Científico: Porque se comprobó que el alcohol en gel presenta una efectividad antiséptica frente a las cepas patógenas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

#### **4.1.2. Nivel de investigación**

- Correlacional: Se comprobó, mediante la estadística, la relación existente entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel y el tiempo de exposición.

### **4.2 Método y Diseño de la investigación**

#### **4.2.1. Método de investigación**

- Inductivo: Porque los resultados del análisis de la efectividad antiséptica permiten generalizar que el alcohol en gel es un producto con acción antibacterial a diferentes tiempos de exposición.

#### **4.2.2. Diseño de investigación**

- No experimental: Porque en el presente estudio no se manipularon las variables de estudio. Los datos numéricos de las unidades formadoras de colonias se obtuvieron mediante la observación.

### **4.3 Población y Muestra de la investigación**

#### **4.3.1 Población**

Alcohol en gel comercializado en las boticas ubicadas en la avenida Gran Chimú de Zárate del distrito de San Juan de Lurigancho, durante el período de junio a octubre del 2017.

#### **4.3.2 Muestra**

15 muestras de alcohol en gel de 3 marcas diferentes comercializadas en boticas ubicadas en la avenida Gran Chimú de Zárate del distrito de San Juan de Lurigancho, durante el período de junio a octubre del 2017.

#### **4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

##### **4.4.1. Técnicas**

Se utilizó la prueba de efectividad de antisépticos y desinfectantes, basado en la neutralización química del alcohol, según la metodología recomendada por la AOAC.

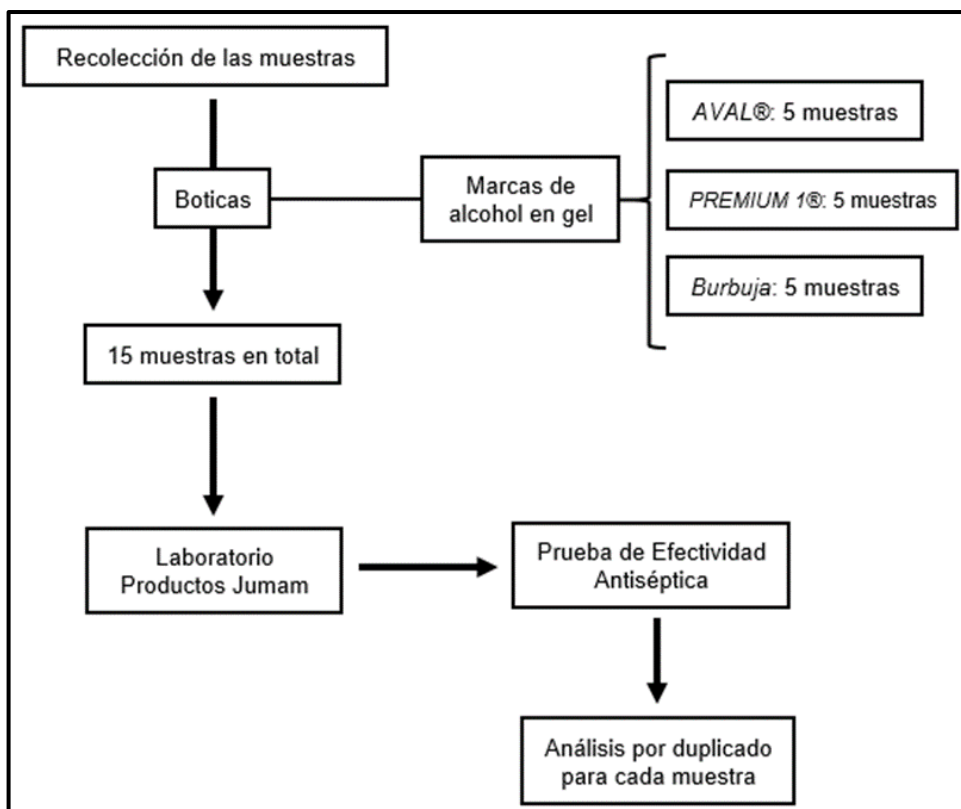
##### **4.4.2. Instrumentos**

Se utilizó una ficha de recolección de datos. (ver anexo 2)

#### **4.5 Procedimiento de recolección de datos**

##### **4.5.1 Recolección de las muestras y puntos de muestreo**

Las muestras de estudio fueron tres marcas de alcohol en gel comercializadas en las boticas de la avenida Gran Chimú en la urbanización de Zárate del distrito de San Juan de Lurigancho, recolectándose 5 muestras por cada marca dando un total de 15 muestras que fueron analizadas por duplicado en el Laboratorio Productos Jumam (ver anexo 1).



**Figura N°1.** Flujo del proceso de la recolección de las muestras.

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

#### 4.5.2 Evaluación de las características de las muestras de estudio

Se observó que cumpla con todas las normas del etiquetado para poder ser expendida, es decir contar con la marca, ingrediente activo, lote, fecha de vencimiento, contenido neto, empresa que lo elabora, entre otros, además nos aseguramos que las muestras de estudio estén completamente selladas sin tener características de haber sufrido un daño o alteración alguna.

Las 15 muestras de alcohol en gel presentaron como ingrediente activo el alcohol etílico (etanol) a una concentración del 62%. Además, todas las muestras se encontraron en buenas condiciones de almacenamiento ( $\leq 30^{\circ}\text{C}$  y  $\leq 80\%$  HR).



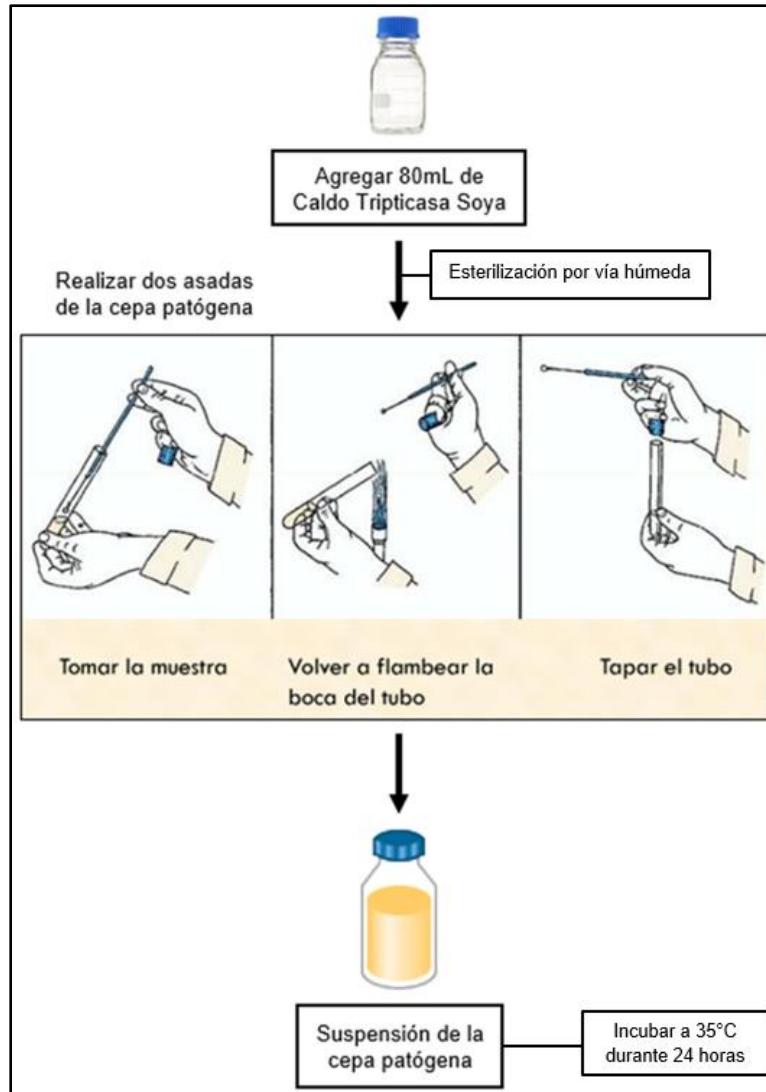
Figura N°2. Muestras de alcohol en gel adquiridas.

Fuente: Propia (2017)

#### 4.5.3 Obtención y recuento inicial de las cepas patógenas

En el cuarto de repique perteneciente al área de microbiología del departamento de Control de Calidad, se prepararon 80mL de Caldo Tripticasa Soya para cada uno de los dos frascos de 100mL destinados para la suspensión de las cepas patógenas. Luego, se esterizaron en la autoclave a 121°C durante 15 minutos a una presión de 15 libras. Después se dejaron enfriar los dos frascos hasta llegar a una temperatura aproximada de 35°C. Seguidamente, se inocularon en un frasco la cepa patógena de *Escherichia coli* ATCC 8739 y en el otro frasco *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 utilizando el asa de Kolle con un máximo de dos asadas por frascos para cada bacteria. Finalmente, se incubaron a 35°C durante 24 horas.

Los frascos fueron debidamente rotulados con datos de fecha de análisis, nombre de la cepa patógena. (Ver anexo 4).

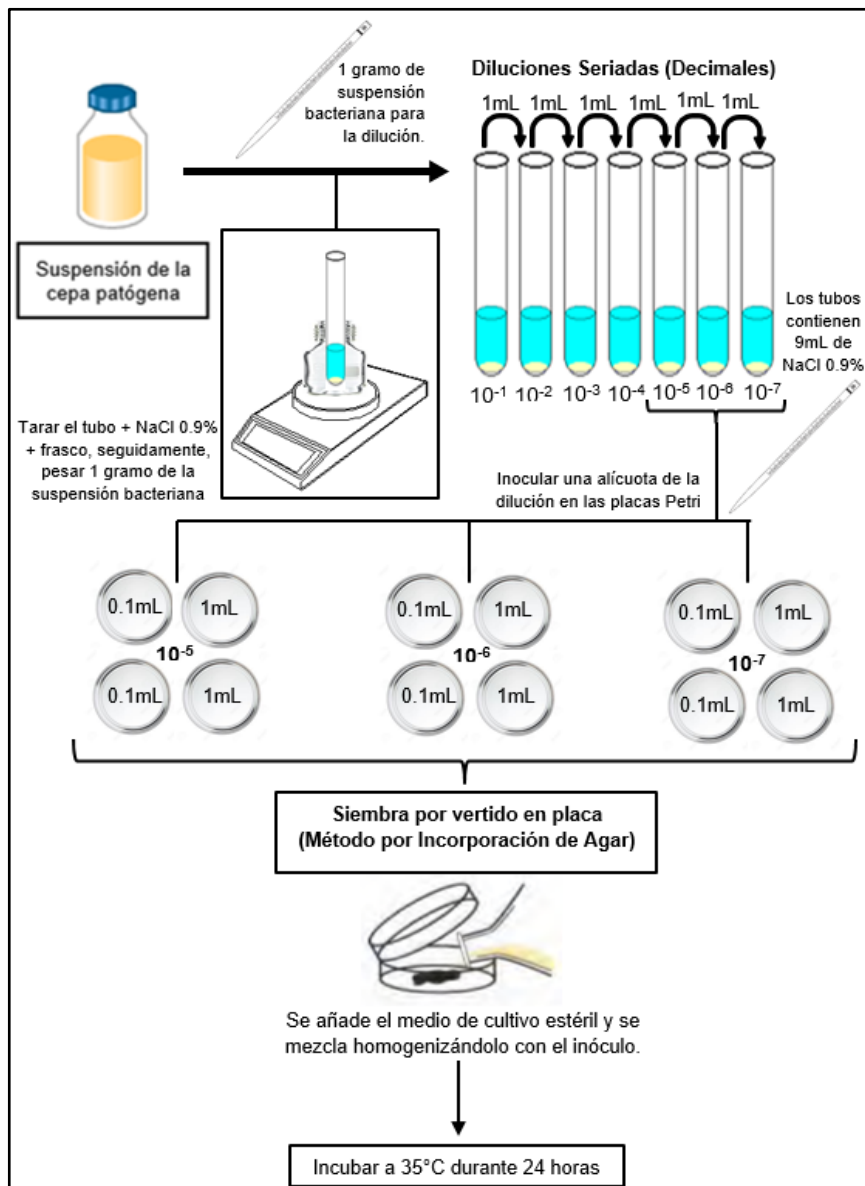


**Figura N°3.** Preparación de la suspensión de cepa patógena

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

Se realizaron diluciones seriadas para la cuantificación de la suspensión inicial madre de bacterias en ambos frascos. Se utilizaron 7 tubos de ensayo con tapa rosca que contenían 9 mL suero fisiológico al 0.9% NaCl, para identificar la dilución decimal que sea cuantificable mediante el método de conteo en placa Petri, según las especificaciones de ICMSF (1978). Generalmente, suele usarse las 3 últimas diluciones ( $10^{-5}$ ;  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$ ) por presentar un número de colonias sobrevivientes cuantificables en las placas. Para la obtención más exacta posible de colonias sobrevivientes se utilizaron 2 alícuotas

de 1 mL y 2 alícuotas de 0.1 mL mediante el método de vertido en placa (método por incorporación). En cada caso las placas fueron incubadas a 35°C durante 24 horas en agar solidificado de Mac Conkey y Manitol Salado para las cepas patógenas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, respectivamente. Finalmente, los resultados de unidades formadoras de colonias observados en las placas Petri posterior a la incubación, indicaron una cuantificación ideal en la dilución  $10^{-7}$  para ambas bacterias.



**Figura N°4.** Dilución seriada de la suspensión bacteriana.

**Fuente:** Elaboración propia (2017).



#### 4.5.3 Determinación de la actividad antibacteriana

La metodología utilizada fue la recomendada por la AOAC (1984), para medir la efectividad antiséptica del alcohol en gel sobre microorganismos de prueba.

Se esterilizó por vía húmeda 4 tubos con tapa rosca para la prueba con *Escherichia coli* y 4 tubos con tapa rosca para la prueba con *Staphylococcus aureus*.

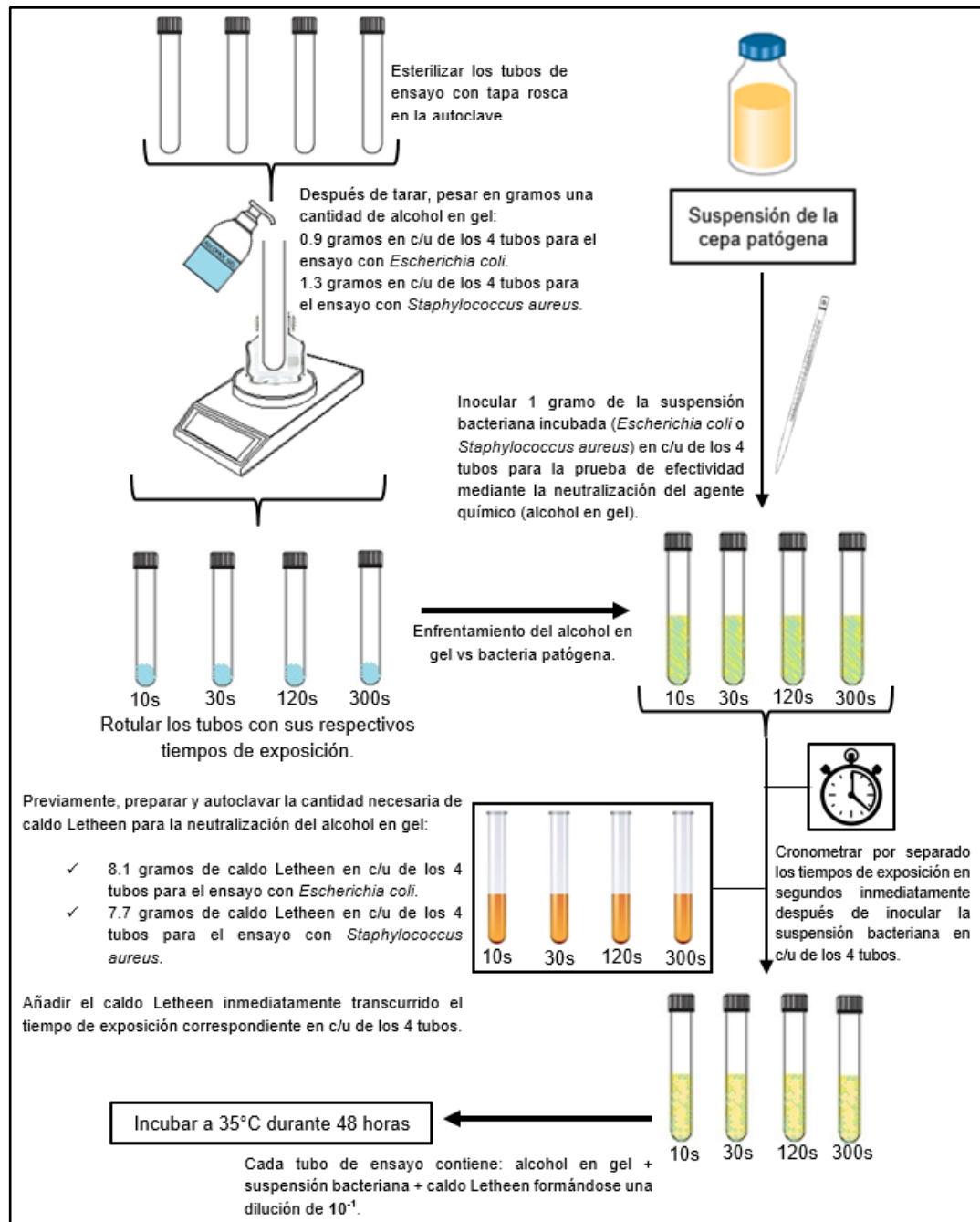
Se preparó 32.4 gramos (8.1 gramos para cada tubo) y 30.8 gramos (7.7 gramos para cada tubo) de caldo Letheen para neutralizar la acción del alcohol en gel inmediatamente transcurrido el tiempo de exposición en la prueba con *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, respectivamente.

Se pesó 0.9 gramos de alcohol en gel en cada tubo de ensayo para la prueba con *Escherichia coli* y 1.3 gramos de alcohol en gel en cada tubo de ensayo para la prueba con *Staphylococcus aureus*. Luego, se extrajo de la suspensión madre de bacterias una alícuota de 1 gramo y se puso en contacto, siendo cronometrado inmediatamente a 10, 30, 120 y 300 segundos de exposición en cada tubo de ensayo con el alcohol en gel. Por último, los tubos de ensayos utilizados en las pruebas de enfrentamiento se incubaron a 35°C durante 40 a 48 horas.

Se preparó el agar Mac Conkey o Manitol Salado como medios de cultivo para realizar el método de vertido en placa utilizando los 8 tubos que fueron incubados. Se realizó una siembra en cuatro placas Petri por cada tubo de ensayo. Se incubaron a 35°C durante 24 horas.

Finalmente, se hizo el conteo de unidades formadoras de colonias (sobrevivientes) por gramo presentes en cada placa Petri.

Los ensayos fueron realizados por duplicado y los resultados corresponden al promedio de ellos. Además, los resultados al no ser cuantificables se expresaron en logaritmos para una mejor interpretación estadística.



**Figura N°5.** Prueba *in vitro* de la efectividad antiséptica del alcohol en gel.

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

## CAPÍTULO V

### PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 5.1 Análisis de cuadros, tablas y gráficos

En el presente estudio se testaron productos cosméticos de tres marcas de alcohol en gel muy reconocidas ante el consumidor: **AVAL** (Gel A), **PREMIUM 1** (Gel B) y **Burbuja** (Gel C).

El ensayo *in vitro* aplicado mediante la prueba de efectividad, basado en la neutralización por inhibición química del agente antiséptico según la Asociación Francesa de Normalización (AFNOR), proporcionó los datos necesarios. Se determinó la efectividad antiséptica del alcohol en gel frente a cepas patógenas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 a diferentes tiempos de exposición establecido según normas vigentes, observándose la sensibilidad de las bacterias frente a los antisépticos. Los resultados (expresados en logaritmos) de la prueba *in vitro* son descritos estadísticamente en los cuadros y figuras siguientes:

**Cuadro N°1** Unidades formadoras de colonias sobrevivientes de *Escherichia coli* a diferentes tiempos de exposición.

Número de Unidades Formadoras de colonias por gramo, sobrevivientes por placa.		Tiempo de Exposición (segundos)			
		10	30	120	300
Gel A	Muestra 1	3,9703	3,7672	3,1206	1,3010
	Gel A1	3,9680	3,7627	3,1644	1,0000
	Promedio A1	3,9692	3,7649	3,1425	1,1505
	Muestra 2	3,9773	3,7582	3,1673	1,3010
	Gel A2	3,9809	3,7536	3,1818	1,0000
	Promedio A2	3,9791	3,7559	3,1746	1,1505
	Muestra 3	3,9713	3,7490	3,1673	1,0000
	Gel A3	3,9680	3,7559	3,1553	1,3010
	Promedio A3	3,9696	3,7524	3,1613	1,1505
	Muestra 4	3,9703	3,7634	3,1931	1,0000
	Gel A4	3,9652	3,7597	3,1732	1,0000
	Promedio A4	3,9678	3,7615	3,1832	1,0000
	Muestra 5	3,9609	3,7709	3,1399	0,0000
	Gel A5	3,9586	3,7642	3,1790	1,0000
	Promedio A5	3,9598	3,7675	3,1594	0,5000
Gel B	Muestra 6	3,9538	3,7551	3,1818	1,3010
	Gel B1	3,9600	3,7686	3,1644	1,0000
	Promedio B1	3,9569	3,7619	3,1731	1,1505
	Muestra 7	3,9590	3,7474	3,2068	1,3010
	Gel B2	3,9643	3,7566	3,1818	1,0000
	Promedio B2	3,9617	3,7520	3,1943	1,1505
	Muestra 8	3,9694	3,7701	3,1673	1,3010
	Gel B3	3,9671	3,7760	3,1987	1,4771
	Promedio B3	3,9682	3,7730	3,1830	1,3891
	Muestra 9	3,9633	3,7513	3,1931	1,0000
	Gel B4	3,9699	3,7559	3,1732	1,0000
	Promedio B4	3,9666	3,7536	3,1832	1,0000
	Muestra 10	3,9528	3,7664	3,1673	0,0000
	Gel B5	3,9600	3,7505	3,1761	1,0000
	Promedio B5	3,9564	3,7585	3,1717	0,5000
Gel C	Muestra 11	3,9763	3,7536	3,1847	0,0000
	Gel C1	3,9827	3,7672	3,1644	1,0000
	Promedio C1	3,9795	3,7604	3,1745	0,5000
	Muestra 12	3,9722	3,7767	3,2068	0,0000
	Gel C2	3,9754	3,7597	3,1818	1,3010
	Promedio C2	3,9738	3,7682	3,1943	0,6505
	Muestra 13	3,9689	3,7657	3,1987	1,0000
	Gel C3	3,9741	3,7672	3,1553	1,4771
	Promedio C3	3,9715	3,7664	3,1770	1,2386
	Muestra 14	3,9619	3,7634	3,2041	1,3010
	Gel C4	3,9633	3,7505	3,1732	1,3010
	Promedio C4	3,9626	3,7570	3,1887	1,3010
	Muestra 15	3,9609	3,7701	3,1673	1,0000
	Gel C5	3,9671	3,7760	3,1430	1,0000
	Promedio C5	3,9640	3,7730	3,1552	1,0000

**Fuente:** Elaboración propia. Base de datos experimentales (2017)

En el **Cuadro N°1** se presenta los resultados del análisis microbiológico por duplicado mediante la prueba de efectividad antiséptica en las 15 muestras del alcohol en gel indicando el número de unidades formadoras de colonias

sobrevivientes (expresado en logaritmo) para cada tiempo de exposición frente a la cepa patógena de *Escherichia coli* ATCC 8739 sabiendo que el conteo inicial por gramo de la suspensión madre de *Escherichia coli* fue de 9.3811 Log<sub>10</sub>. Los resultados a los 10, 30 y 120 segundos de exposición no presentan una diferencia significativa. El tiempo de exposición a los 300 segundos presentó menor cantidad de 0,9888 Log<sub>10</sub> unidades formadoras de colonias sobrevivientes en comparación a los otros tiempos de exposición.

**Tabla N°1** Media de las unidades formadoras de colonias sobrevivientes de *Escherichia coli* a diferentes tiempos de exposición por muestra.

Gel	Muestra	10 segundos	30 segundos	120 segundos	300 segundos
A1	Muestra 1	3,9692	3,7649	3,1425	1,1505
A2	Muestra 2	3,9791	3,7559	3,1746	1,1505
A3	Muestra 3	3,9696	3,7524	3,1613	1,1505
A4	Muestra 4	3,9678	3,7615	3,1832	1,0000
A5	Muestra 5	3,9598	3,7675	3,1594	0,5000
B1	Muestra 6	3,9569	3,7619	3,1731	1,1505
B2	Muestra 7	3,9617	3,7520	3,1943	1,1505
B3	Muestra 8	3,9682	3,7730	3,1830	1,3891
B4	Muestra 9	3,9666	3,7536	3,1832	1,0000
B5	Muestra 10	3,9564	3,7585	3,1717	0,5000
C1	Muestra 11	3,9795	3,7604	3,1745	0,5000
C2	Muestra 12	3,9738	3,7682	3,1943	0,6505
C3	Muestra 13	3,9715	3,7664	3,1770	1,2386
C4	Muestra 14	3,9626	3,7570	3,1887	1,3010
C5	Muestra 15	3,9640	3,7730	3,1552	1,0000

A1 – A5: Son 5 muestras de alcohol en gel de la marca AVAL®

B1 – B5: Son 5 muestras de alcohol en gel de la marca PREMIUM 1®

C1 – C5: Son 5 muestras de alcohol en gel de la marca Burbuja

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

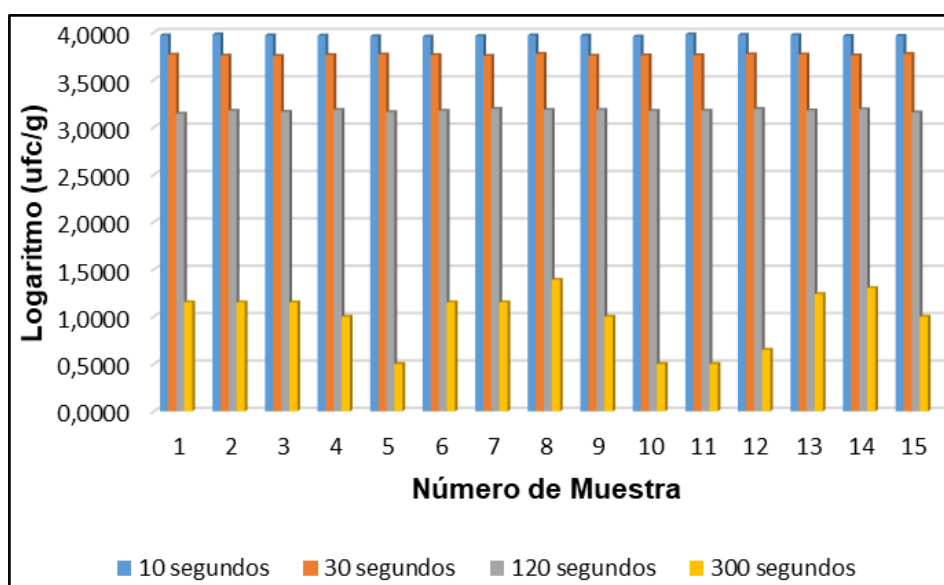
En la **Tabla N°1** indica los promedios de los resultados del análisis microbiológico por cada muestra recopilados del **Cuadro N°1** para una mejor interpretación estadística descriptiva e inferencial.

**Tabla N°2.** Estadística descriptiva de la efectividad antiséptica del alcohol en gel frente a la cepa patógena de *Escherichia coli*.

Parámetros	Tiempos de Exposición			
	10 segundos	30 segundos	120 segundos	300 segundos
Media	3,9671	3,7617	3,1744	0,9888
Mediana	3,9678	3,7615	3,1746	1,1505
Moda	-	3,773	3,1832	1,1505
Desviación estándar	0,007098578	0,006956484	0,014696938	0,302659987
Varianza	5,03898E-05	4,83927E-05	0,000216	0,091603067
Mínimo	3,9564	3,752	3,1425	0,5
Máximo	3,9795	3,773	3,1943	1,3891

**Fuente:** Elaboración propia (2017)

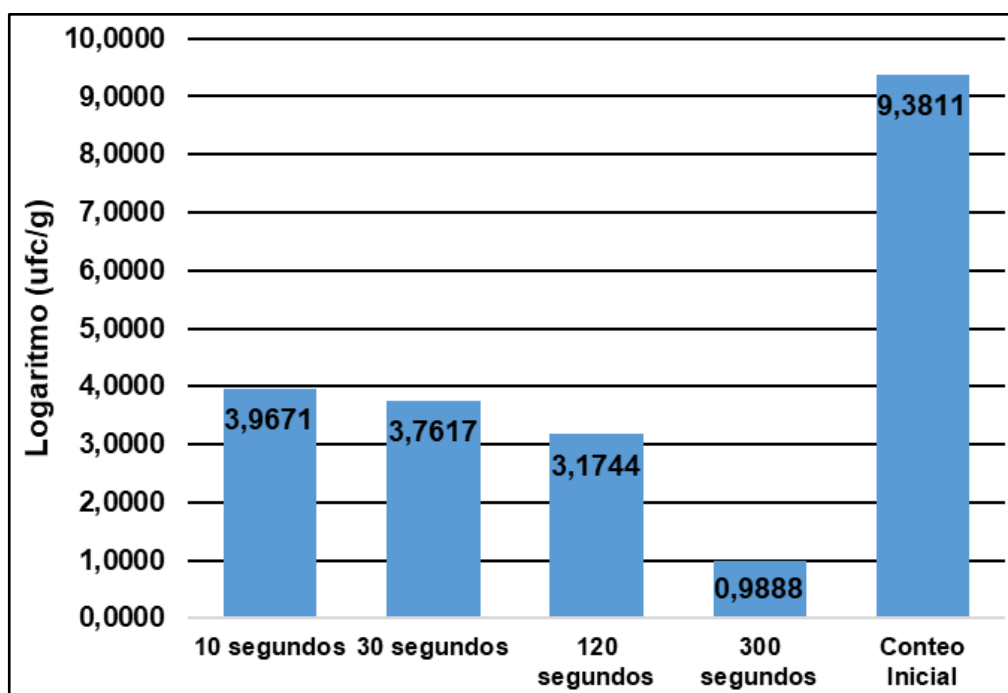
En la **Tabla N°2** se detalla parámetros básicos de una estadística descriptiva. La media de las 15 muestras analizadas a los 10, 30 y 120 segundos de exposición, indican una diferencia significativa respecto a la media de los resultados del análisis a los 300 segundos de exposición.



**Gráfico N°1.** Colonias sobrevivientes de *Escherichia coli* de las 15 muestras a diferentes tiempos de exposición.

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

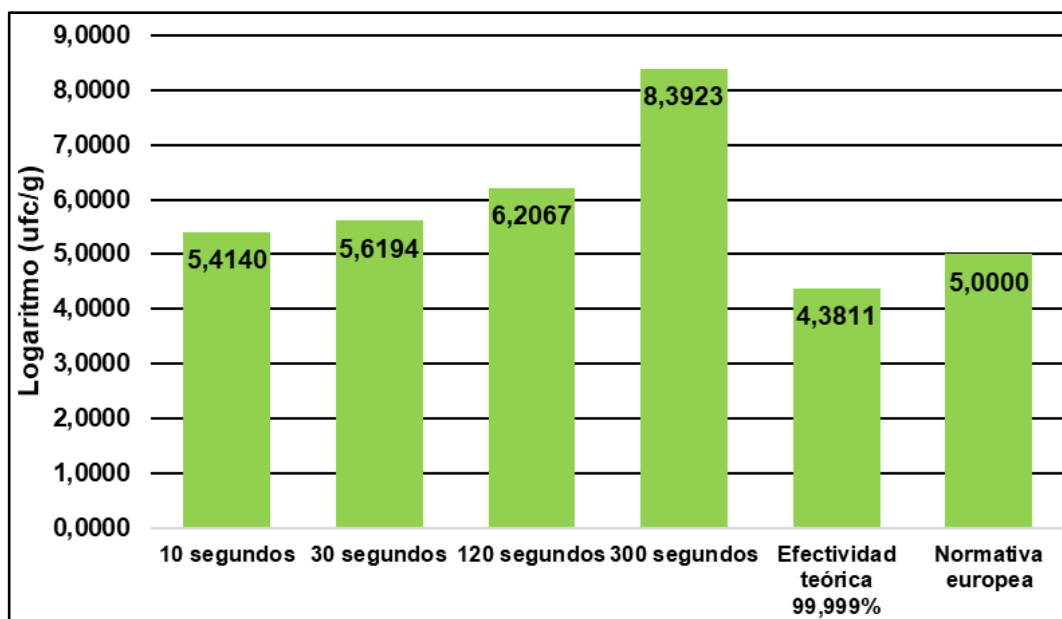
En el **Gráfico N°1** se muestra las unidades formadoras de colonias sobrevivientes (expresado en logaritmo) en cada una de las 15 muestras analizadas a diferentes tiempos de exposición. Se observa la semejanza que presenta la efectividad antiséptica del alcohol en gel en todas las muestras. Se observa una variación de colonias bacterianas sobrevivientes a los 300 segundos en todas las muestras.



**Gráfico N°2.** Reducción de colonias sobrevivientes de *Escherichia coli* a diferentes tiempos de exposición.

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

En el **Gráfico N°2** indica la reducción de unidades formadoras de colonias sobrevivientes (expresado en logaritmo) con respecto al conteo inicial de la suspensión madre de la cepa patógena de *Escherichia coli* ATCC 8739. El crecimiento de colonias bacterianas fue menor a los 300 segundos en comparación a los otros tiempos de exposición estudiados. Es notable la diferencia que presentan las ufc sobrevivientes entre los cuatro tiempos de exposición.



**Gráfico N°3.** Capacidad bactericida del alcohol en gel frente a la *Escherichia coli*.

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

En el **Gráfico N°3** se indica la capacidad bactericida del alcohol en gel a los diferentes tiempos de exposición. La efectividad antiséptica del alcohol en gel supera el 99,999% de efectividad mínimo a los 30 segundos de exposición establecido en las fichas técnicas del antiséptico. Además, según la normativa europea (UNE-EN1040:2006), la efectividad del alcohol en gel en todas las muestras es mayor a los 5 logaritmos de ufc eliminadas. A los 300 segundos se muestra una diferencia significativa en la reducción de unidades formadoras de colonias en comparación a los otros tiempos de exposición.



**Cuadro N°2.** Correlación de Pearson de la efectividad antiséptica frente a la cepa patógena de *Escherichia coli* vs el tiempo de exposición.

Tiempo de exposición (s)	Efectividad (ufc/g)		
10	3,9692	30	3,7730
10	3,9791	120	3,1425
10	3,9696	120	3,1746
10	3,9678	120	3,1613
10	3,9598	120	3,1832
10	3,9569	120	3,1594
10	3,9617	120	3,1731
10	3,9682	120	3,1943
10	3,9666	120	3,1830
10	3,9564	120	3,1832
10	3,9795	120	3,1717
10	3,9738	120	3,1745
10	3,9715	120	3,1943
10	3,9626	120	3,1770
10	3,9640	120	3,1887
30	3,7649	120	3,1552
30	3,7559	300	1,1505
30	3,7524	300	1,1505
30	3,7615	300	1,1505
30	3,7675	300	1,0000
30	3,7619	300	0,5000
30	3,7520	300	1,1505
30	3,7730	300	1,1505
30	3,7536	300	1,3891
30	3,7585	300	1,0000
30	3,7604	300	0,5000
30	3,7682	300	0,5000
30	3,7664	300	0,6505
30	3,7570	300	1,2386
		300	1,3010
		300	1,0000

*Correlación de Pearson:* -0,98482399

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

En el **Cuadro N°2** se muestra un método de estadística inferencial llamado Coeficiente Correlativo de Pearson, sirve para cuantificar la fuerza de la relación lineal entre dos variables cuantitativas. Dicho coeficiente oscila entre “-1” y “+1”. El valor obtenido fue -0,98482399 siendo próximo a “-1”,

esto indica que el tiempo de exposición y la efectividad del alcohol en gel presentan una correlación lineal excelente, además, el valor negativo indica que cuando una de las variables aumenta, la otra disminuye.

**Hipótesis de la prueba estadística Correlación de Pearson:**

H0: No existe correlación entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel y el tiempo de exposición frente a cepas patógenas de *Escherichia coli* ATCC 8739.

H1: Existe correlación entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel y el tiempo de exposición frente a cepas patógenas de *Escherichia coli* ATCC 8739.

**Nivel de significancia**

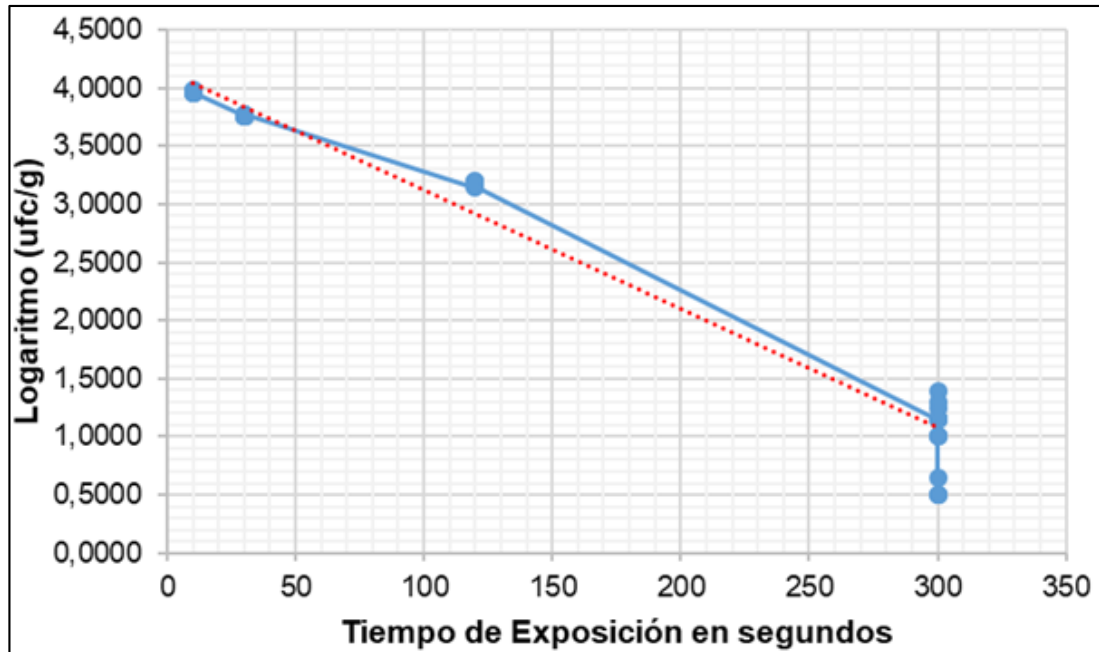
(alfa)  $\alpha = 5\% = 0.05$

**R de Pearson= -0,985**

**Valor de P= 0,000** (con una probabilidad de error del 0,000% existe correlación entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel y el tiempo de exposición frente a cepas patógenas de *Escherichia coli* ATCC 8739).

**Interpretación de la R de Pearson:** Existe excelente correlación (-0,985) entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel y el tiempo de exposición frente a cepas patógenas de *Escherichia coli* ATCC 8739.

**Decisión según la prueba estadística:** Existe correlación entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel y el tiempo de exposición frente a cepas patógenas de *Escherichia coli* ATCC 8739.



**Gráfico N°4.** Representación gráfica de la correlación de Pearson de la efectividad antiséptica frente a la cepa patógena de *Escherichia coli*.

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

En la **Gráfico N°4** se observa e interpreta según el valor del Coeficiente de Correlación de Pearson una relación lineal entre las dos variables cuantitativas de efectividad antiséptica y el tiempo de exposición. La línea azul de los resultados tabulados indica una tendencia a ser una recta lineal (línea de color rojo).

**Cuadro N°3.** Unidades formadoras de colonias sobrevivientes de *Staphylococcus aureus* a diferentes tiempos de exposición.

Número de Unidades Formadoras de colonias por gramo, sobrevivientes por placa.		Tiempo de Exposición (segundos)			
		10	30	120	300
Gel A	Muestra 1	4,0209	3,7846	2,3802	1,0000
	Gel A1	4,0069	3,7966	2,3802	0,0000
	Promedio A1	4,0139	3,7906	2,3802	0,5000
	Muestra 2	4,0398	3,7868	2,4771	1,0000
	Gel A2	4,0086	3,7853	2,4624	0,0000
	Promedio A2	4,0242	3,7860	2,4698	0,5000
	Muestra 3	4,0056	3,7259	2,3979	1,0000
	Gel A3	4,0362	3,8000	2,3617	0,0000
	Promedio A3	4,0209	3,7630	2,3798	0,5000
	Muestra 4	4,0133	3,7924	2,3802	0,0000
	Gel A4	4,0358	3,7966	2,3424	1,0000
	Promedio A4	4,0245	3,7945	2,3613	0,5000
	Muestra 5	4,0298	3,7868	2,4150	1,0000
	Gel A5	4,0346	3,7889	2,3979	0,0000
	Promedio A5	4,0322	3,7878	2,4065	0,5000
Gel B	Muestra 6	4,0065	3,7694	2,4624	1,0000
	Gel B1	4,0043	3,8000	2,4472	1,0000
	Promedio B1	4,0054	3,7847	2,4548	1,0000
	Muestra 7	4,0124	3,7797	2,4150	0,0000
	Gel B2	4,0133	3,7966	2,4314	0,0000
	Promedio B2	4,0128	3,7882	2,4232	0,0000
	Muestra 8	4,0103	3,7868	2,4314	1,0000
	Gel B3	4,0282	3,8000	2,3979	0,0000
	Promedio B3	4,0192	3,7934	2,4147	0,5000
	Muestra 9	4,0124	3,7789	2,3802	1,0000
Gel B4	4,0077	3,8000	2,3802	1,0000	
Promedio B4	4,0101	3,7895	2,3802	1,0000	
Muestra 10	4,0195	3,7797	2,4472	0,0000	
Gel B5	4,0052	3,7966	2,3617	0,0000	
Promedio B5	4,0124	3,7882	2,4044	0,0000	
Gel C	Muestra 11	4,0282	3,7868	2,3979	1,0000
	Gel C1	4,0249	3,7924	2,3617	1,0000
	Promedio C1	4,0265	3,7896	2,3798	1,0000
	Muestra 12	4,0302	3,7767	2,3802	1,0000
	Gel C2	4,0326	3,8000	2,3802	0,0000
	Promedio C2	4,0314	3,7884	2,3802	0,5000
	Muestra 13	4,0269	3,7797	2,4624	1,0000
	Gel C3	4,0013	3,7966	2,4314	1,0000
	Promedio C3	4,0141	3,7882	2,4469	1,0000
	Muestra 14	4,0342	3,7868	2,3979	1,0000
	Gel C4	4,0290	3,7853	2,3617	0,0000
	Promedio C4	4,0316	3,7860	2,3798	0,5000
	Muestra 15	4,0241	3,7774	2,3424	0,0000
	Gel C5	4,0298	3,7875	2,3222	0,0000
	Promedio C5	4,0269	3,7824	2,3323	0,0000

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

En el **Cuadro N°3** se presenta los resultados del análisis microbiológico por duplicado mediante la prueba de efectividad antiséptica en las 15 muestras del alcohol en gel indicando el número de unidades formadoras de colonias

sobrevivientes (expresado en logaritmo) para cada tiempo de exposición frente a la cepa patógena de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 sabiendo que el conteo inicial por gramo de la suspensión madre de *Staphylococcus aureus* fue de 8.9482 Log<sub>10</sub>. Los resultados a los 10, 30 y 120 segundos de exposición no presentan una diferencia significativa. El tiempo de exposición a los 300 segundos presentó menor cantidad de unidades formadoras de colonias sobrevivientes en comparación a los otros tiempos de exposición.

**Tabla N°3.** Media de las unidades formadoras de colonias sobrevivientes de *Staphylococcus aureus* a diferentes tiempos de exposición por muestra.

<b>Gel</b>	<b>Muestra</b>	<b>10 segundos</b>	<b>30 segundos</b>	<b>120 segundos</b>	<b>300 segundos</b>
A1	Muestra 1	4,0139	3,7906	2,3802	0,5000
A2	Muestra 2	4,0242	3,7860	2,4698	0,5000
A3	Muestra 3	4,0209	3,7630	2,3798	0,5000
A4	Muestra 4	4,0245	3,7945	2,3613	0,5000
A5	Muestra 5	4,0322	3,7878	2,4065	0,5000
B1	Muestra 6	4,0054	3,7847	2,4548	1,0000
B2	Muestra 7	4,0128	3,7882	2,4232	0,0000
B3	Muestra 8	4,0192	3,7934	2,4147	0,5000
B4	Muestra 9	4,0101	3,7895	2,3802	1,0000
B5	Muestra 10	4,0124	3,7882	2,4044	0,0000
C1	Muestra 11	4,0265	3,7896	2,3798	1,0000
C2	Muestra 12	4,0314	3,7884	2,3802	0,5000
C3	Muestra 13	4,0141	3,7882	2,4469	1,0000
C4	Muestra 14	4,0316	3,7860	2,3798	0,5000
C5	Muestra 15	4,0269	3,7824	2,3323	0,0000

A1 – A5: Son 5 muestras de alcohol en gel de la marca AVAL®

B1 – B5: Son 5 muestras de alcohol en gel de la marca PREMIUM 1®

C1 – C5: Son 5 muestras de alcohol en gel de la marca Burbuja

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

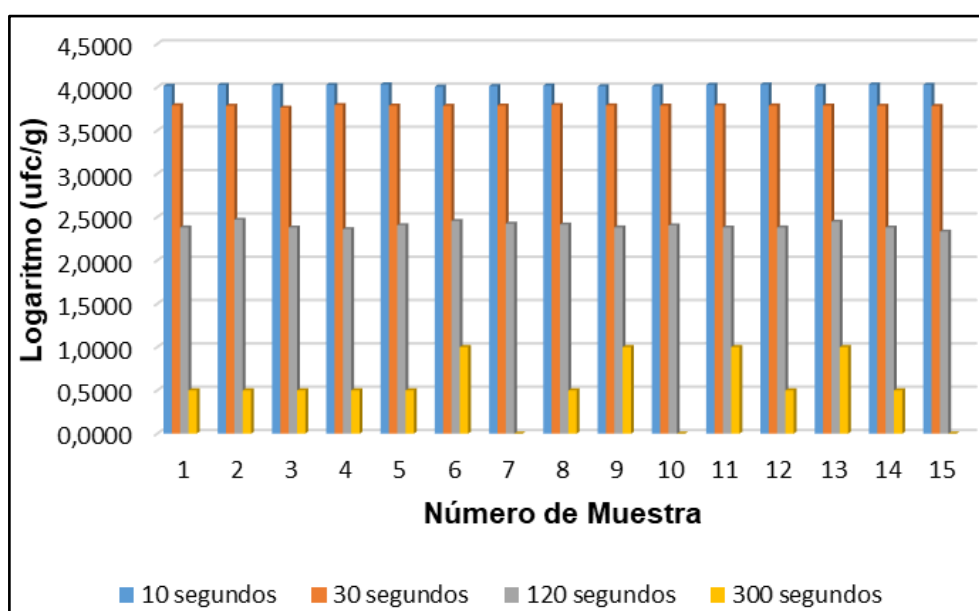
En la **Tabla N°3** indica los promedios de los resultados del análisis microbiológico por cada muestra recopilados del **Cuadro N°3** para una mejor interpretación estadística descriptiva e inferencial.

**Tabla N°4.** Estadística descriptiva de la efectividad antiséptica del alcohol en gel frente a la cepa patógena de *Staphylococcus aureus*.

Parámetros	Tiempos de Exposición			
	10 segundos	30 segundos	120 segundos	300 segundos
Media	4,0204	3,7867	2,3996	0,5333
Mediana	4,0209	3,7882	2,3802	0,5000
Moda	-	3,7882	2,3802	0,5000
Desviación estándar	0,00858932	0,00723681	0,03719578	0,35186578
Varianza	7,37764E-05	5,2371E-05	0,00138353	0,12380952
Mínimo	4,0054	3,763	2,3323	0
Máximo	4,0322	3,7945	2,4698	1

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

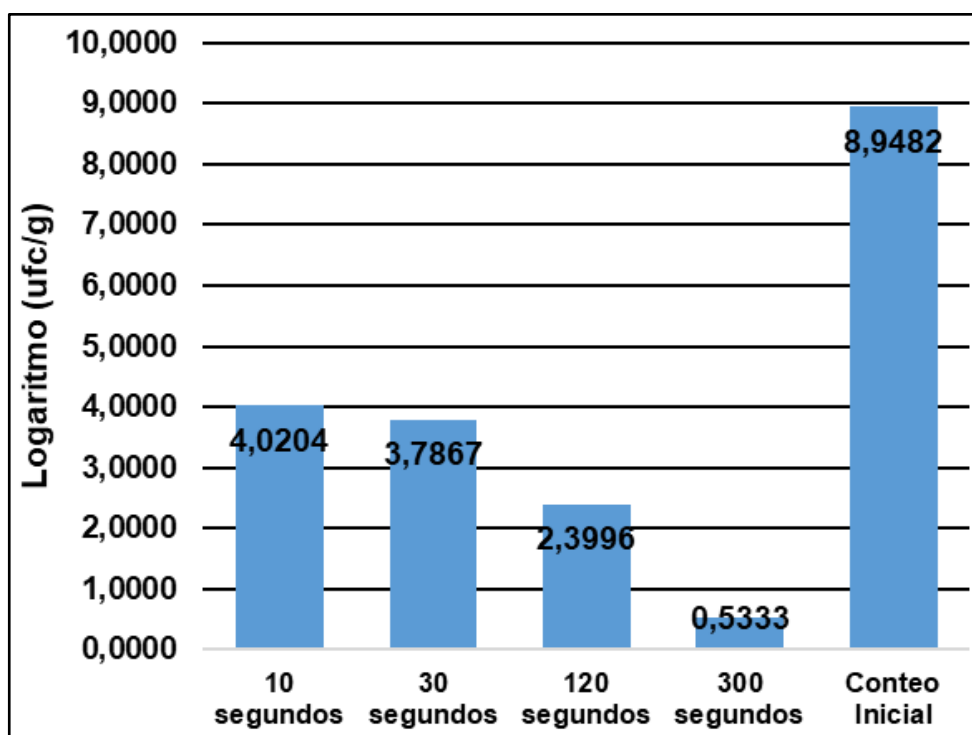
En la **Tabla N°4** se detalla parámetros básicos de una estadística descriptiva. La media de las 15 muestras analizadas a los 10, 30 y 120 segundos de exposición, indican una diferencia significativa respecto a la media de los resultados del análisis a los 300 segundos de exposición.



**Gráfico N°5.** Colonias sobrevivientes de *Staphylococcus aureus* de las 15 muestras a diferentes tiempos de exposición.

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

En el **Gráfico N°5** se muestra las unidades formadoras de colonias sobrevivientes (expresado en logaritmo) en cada una de las 15 muestras analizadas a diferentes tiempos de exposición. Se observa la semejanza que presenta la efectividad antiséptica del alcohol en gel en todas las muestras. Se observa una variación de colonias bacterianas sobrevivientes a los 300 segundos en todas las muestras.

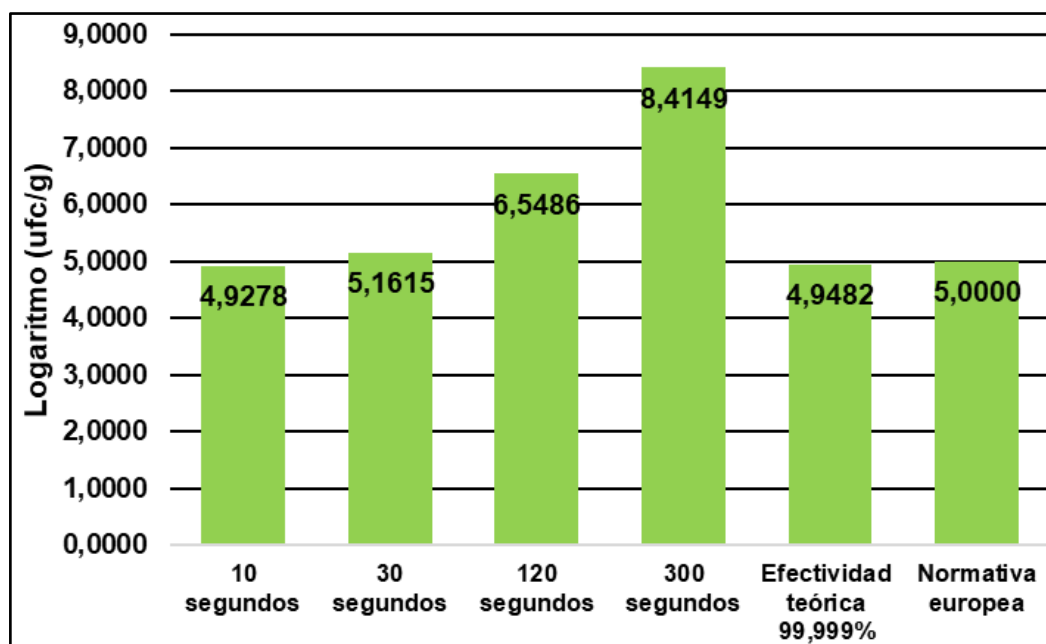


**Gráfico N°6.** Reducción de colonias sobrevivientes de *Staphylococcus aureus* a diferentes tiempos de exposición.

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

En el **Gráfico N°6** indica la reducción de unidades formadoras de colonias sobrevivientes (expresado en logaritmo) con respecto al conteo inicial de la suspensión madre de la cepa patógena de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. El crecimiento de colonias bacterianas fue menor a los 300 segundos en comparación a los otros tiempos de exposición estudiados. Es notable

la diferencia que presentan las ufc sobrevivientes entre los cuatro tiempos de exposición.



**Gráfico N°7.** Capacidad bactericida del alcohol en gel frente a la *Staphylococcus aureus*.

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

En el **Gráfico N°7** se indica la capacidad bactericida del alcohol en gel a los diferentes tiempos de exposición. La efectividad antiséptica del alcohol en gel supera el 99,999% de efectividad mínimo a los 30 segundos de exposición establecido en las fichas técnicas del antiséptico. Además, según la normativa europea (UNE-EN1040:2006), la efectividad del alcohol en gel a los 30, 120 y 300 segundos es confiable porque es mayor a los 5 logaritmos de ufc eliminadas. A los 300 segundos se muestra una diferencia significativa en la reducción de unidades formadoras de colonias en comparación a los otros tiempos de exposición.



**Cuadro N°4.** Correlación de Pearson de la efectividad antiséptica frente a la cepa patógena de *Staphylococcus aureus*. vs el tiempo de exposición.

Tiempo de exposición (s)	Efectividad (ufc/g)
10	4,0139
10	4,0242
10	4,0209
10	4,0245
10	4,0322
10	4,0054
10	4,0128
10	4,0192
10	4,0101
10	4,0124
10	4,0265
10	4,0314
10	4,0141
10	4,0316
10	4,0269
30	3,7906
30	3,7860
30	3,7630
30	3,7945
30	3,7878
30	3,7847
30	3,7882
30	3,7934
30	3,7895
30	3,7882
30	3,7896
30	3,7884
30	3,7882
30	3,7860
30	3,7824
120	2,3802
120	2,4698
120	2,3798
120	2,3613
120	2,4065
120	2,4548
120	2,4232
120	2,4147
120	2,3802
120	2,4044
120	2,3798
120	2,3802
120	2,4469
120	2,3798
120	2,3323
300	0,5000
300	0,5000
300	0,5000
300	0,5000
300	0,5000
300	1,0000
300	0,0000
300	0,5000
300	1,0000
300	0,0000
300	1,0000
300	0,5000
300	1,0000
300	0,5000
300	1,0000
300	0,5000
300	0,0000

Correlación de Pearson: -0,98813495

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

En el **Cuadro N°4** se muestra un método de estadística inferencial llamado Coeficiente Correlativo de Pearson, sirve para cuantificar la fuerza de la relación lineal entre dos variables cuantitativas. Dicho coeficiente oscila entre “-1” y “+1”. El valor obtenido fue -0,98813495 siendo próximo a “-1”, esto indica que el tiempo de exposición y la efectividad del alcohol en gel

presentan una correlación lineal excelente, además, el valor negativo indica que cuando una de las variables aumenta, la otra disminuye.

**Hipótesis de la prueba estadística Correlación de Pearson:**

H0: No existe correlación entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel y el tiempo de exposición frente a cepas patógenas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

H1: Existe correlación entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel y el tiempo de exposición frente a cepas patógenas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

**Nivel de significancia**

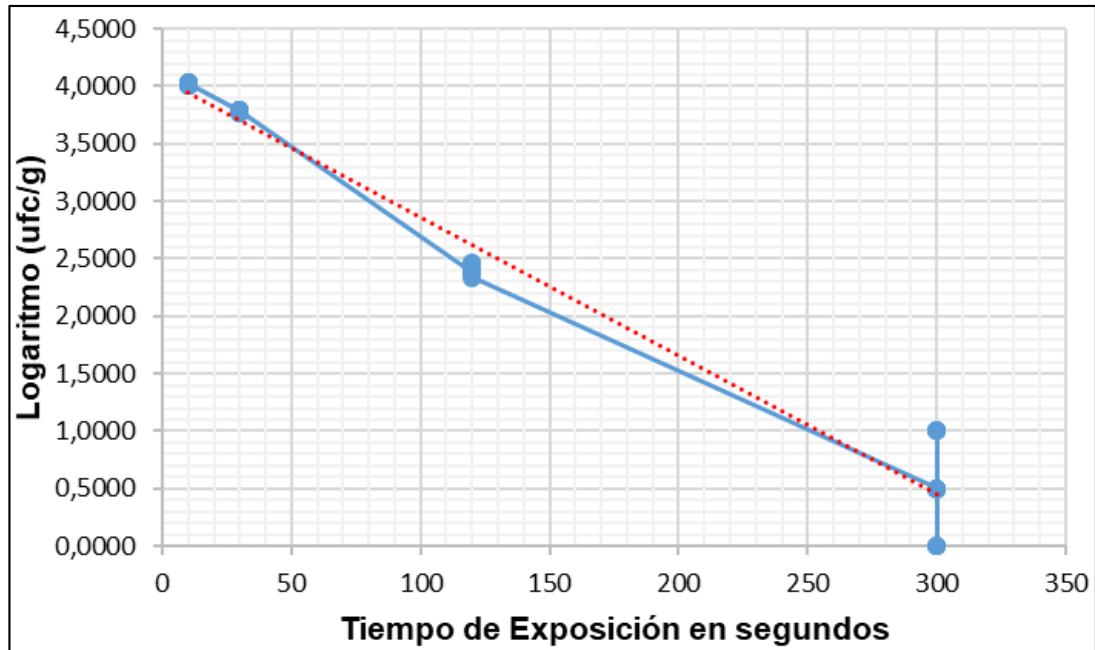
(alfa)  $\alpha = 5\% = 0.05$

**R de Pearson= -0,988**

**Valor de P= 0,000** (con una probabilidad de error del 0,000% existe correlación entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel y el tiempo de exposición frente a cepas patógenas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538).

**Interpretación de la R de Pearson:** Existe excelente correlación (-0,988) entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel y el tiempo de exposición frente a cepas patógenas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

**Decisión según la prueba estadística:** Existe correlación entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel y el tiempo de exposición frente a cepas patógenas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.



**Gráfico N°8.** Representación gráfica de la correlación de Pearson de la efectividad antiséptica frente a la cepa patógena de *Staphylococcus aureus*.

**Fuente:** Elaboración propia (2017).

En el **Gráfico N°8** se observa e interpreta según el valor del Coeficiente de Correlación de Pearson una relación lineal entre las dos variables cuantitativas de efectividad antiséptica y el tiempo de exposición. La línea azul de los resultados tabulados indica una tendencia a ser una recta lineal (línea de color rojo).

## 5.2 Discusión de los resultados

En la presente investigación *in vitro* se evaluó la efectividad antiséptica del alcohol en gel y su relación con el tiempo de exposición frente a cepas patógenas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. En su mayoría los estudios fueron realizados en pruebas *in vivo*, es decir, las muestras se recolectaron básicamente por el método clásico del hisopado en las manos, posteriormente, ser analizado mediante una técnica microbiológica para medir la efectividad del antiséptico a distintos tiempos de exposición dando resultados cuantificables.

En la investigación realizada por Alvarado D., García J. D. y Arias-Echandi M. L. “Evaluación de la efectividad del alcohol-gel en la desinfección de manos y su estabilidad a través del tiempo”, el análisis *in vivo* para el alcohol en gel no demuestra con precisión qué tipo de bacterias patógenas son sensibles o resistentes a la acción antibacterial a diferentes tiempos de exposición, además, dicho estudio no especifica la concentración de alcohol. Por otro lado, el estudio realizado por Soto Montoya M. Y. “Determinación del efecto antimicrobiano *in vitro* de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby (Asteraceae)”, evaluó el efecto antimicrobiano con un método cualitativo denominado difusión de pozo de agar, esta prueba consiste en la inhibición del crecimiento bacteriano, mediante la difusión de sustancias activas en un medio sólido para que luego de una incubación se evidencie por la formación de halos claros de inhibición. Dicho esto, el método de difusión de pozo en agar es un buen inicio para futuras investigaciones que contemplen el uso de ingredientes activos de origen natural para la fabricación innovadora de geles antibacteriales, posteriormente continuando con un análisis *in vitro* del tipo cuantitativo. Es por ello que un análisis *in vitro* es el adecuado porque sirve como estudio preliminar al inicio de una investigación y puede utilizarse diferentes microorganismos, tal vez

los más comunes, para ponerlos en contacto con el alcohol en gel y cuantificar las unidades formadoras de colonias a diferentes tiempos de exposición. Se utilizó la *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* porque son bacterias comunes a las que estamos expuestos durante todo el día pudiendo ocasionar enfermedades y diarreas al no tener una adecuada higiene en las manos.

Para determinar *in vitro* la efectividad antiséptica del alcohol en gel frente a microorganismos de prueba se utilizó la metodología recomendada por la AOAC tal como el estudio realizado por Gallardo Troncoso MD. "Acción antimicrobiana de un desinfectante de uso industrial y doméstico sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*". La aplicación de esta metodología es para desinfectantes líquido en la que se toman alícuotas de la suspensión bacteriana para ponerlas en contacto con el desinfectante para luego tomar de esta suspensión nueva una alícuota a los tiempos determinados inactivándolas en la solución neutralizante. Posteriormente, incubándose en placas petri a 35°C durante 24 horas en agar Tryptona Soya Agar (TSA) dando resultados en UFC/mL, según las especificaciones de ICMSF. Pero, el alcohol en gel presenta una elevada viscosidad, por tal motivo se realizó algunas variantes para adaptar el análisis a la metodología establecida para este estudio. Al final, los resultados fueron expresados en UFC/g. Dicho esto, es probable que los laboratorios realizan estudios *in vivo* e *in vitro* a los geles antibacteriales basado en métodos cualitativos precisamente por la falta de adaptabilidad en la implementación de métodos que apliquen en sustancias tanto líquidas como semisólidas. Esta prueba de efectividad que se utilizó fue implementada en el Laboratorio Productos Jumam para la prueba de desinfectantes, porque ser un método fiable que puede aplicarse a productos desinfectantes y antisépticos ya sea líquidos o semisólidos.

Para el uso de las suspensiones de cepas patógenas, se efectuó diluciones sucesivas hasta el séptimo tubo de ensayo. Según las técnicas normalizadas (AENOR, 1997; AFNOR, 1995; Normativa Europea UNE-EN 1040:2006), el método de dilución-neutralización se parte de una suspensión bacteriana que debe contener entre  $1 \times 10^8$  y  $3 \times 10^8$  bacterias/mL según la normativa NF T72-170 (noviembre 1988). Sin embargo, se utilizó el tubo con la dilución  $10^{-7}$  porque se obtuvo colonias cuantificables por el método de conteo en Placa Petri, según las especificaciones de ICMSF. Con ello, se obtuvo el recuento inicial de las cepas por gramo de la suspensión madre, tal como indica el estudio realizado por Marín Díaz J.C., Navarro Peña N.F. y Santos Arévalo N “Evaluación del método dilución neutralización aplicado a un desinfectante según la norma técnica colombiana 5473 de 2007”.

Según la adaptabilidad a la metodología, la prueba de efectividad se realizó en cuatro tubos de ensayo para los respectivos tiempos de exposición (10, 30, 120 y 300 segundos). De esta manera, se pudo realizar un mejor control del tiempo de exposición para cada tubo durante el contacto entre la cepa patógena y el alcohol en gel. Previamente, se preparó cuatro tubos que contenían el neutralizante que inhibe la acción del alcohol en gel agregándolo inmediatamente transcurrido el tiempo de exposición en cada tubo. Al final de la prueba, los cuatro tubos que contenían a la suspensión bacteriana, el alcohol en gel y el neutralizante formaron una dilución de  $10^{-1}$ . Estos tubos se llevaron a incubar a  $35^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas.

Para neutralizar la acción química del alcohol en gel se utilizó el Caldo Lethen por ser un neutralizante químico. Éste ensayo de dilución neutralización puede ser del tipo cualitativos o cuantitativo tal como indica el estudio realizado por Flamenco Santos J. W. y Guevara Avalos GI. “Formulación de tres productos desinfectantes y evaluación de su actividad antimicrobiana”. El ensayo del tipo cuantitativo permitió determinar la reducción del inóculo inicial de la suspensión madre

conseguida por el antiséptico en los diferentes tiempos de exposición. Los resultados mediante la prueba de efectividad demostraron que el neutralizante inhibe efectivamente la acción del alcohol, así mismo, no es tóxico para los microorganismos del ensayo y tampoco se combinó con el alcohol en gel para formar un compuesto tóxico.

Los resultados se expresaron en logaritmos por ser cuantificables ya que por ejemplo para la cantidad inicial de la suspensión madre de *Escherichia coli* ATCC 8739 de bacterias por gramo fue de  $240.5 \times 10^7$  expresándose por lo tanto en 9.3811 log para una mejor interpretación estadística.

Las gráficas mediante la interpretación de los datos estadísticos mostraron una excelente correlación lineal entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel y el tiempo de exposición frente a las cepas patógenas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Así mismo, en el estudio realizado por Rodríguez Merchán KE y Rueda Buitrago JG “Evaluación de la efectividad en guantes del producto Clean Hands® bajo condiciones de uso en laboratorio clínico del Hospital de Suba E.S.E” demuestran la linealidad de sus resultados. Sin embargo, esta correlación puede variar cuando se altera o modifica los factores que influyen en el antiséptico o desinfectante tal como indica el estudio realizado por Flamenco Santos JW y Guevara Avalos GI “Formulación de tres productos desinfectantes y evaluación de su actividad antimicrobiana”.

Al comparar la efectividad antiséptica del alcohol en gel de cada producto, se observó que en la mayoría de los casos se alcanzó una reducción superior a los 5 logaritmos de unidades formadoras de colonias eliminadas. El tiempo de exposición óptimo para asegurar una eliminación del 99.999% (según ficha técnica) de las bacterias patógenas utilizadas en el estudio y superar los 5 logaritmos de unidades formadoras de colonias eliminadas (según normativa UNE-EN1040:2006).

## CONCLUSIONES

1. Existe una relación directamente proporcional entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel y el tiempo de exposición frente a las cepas patógenas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.
2. La evaluación de la efectividad antiséptica del alcohol en gel *AVAL* frente a bacterias patógenas durante un tiempo de exposición de 10, 30, 120 y 300 segundos, demostró una reducción superior a los 5 Log<sub>10</sub> unidades formadoras de colonias sobrevivientes de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.
3. La evaluación de la efectividad antiséptica del alcohol en gel *PREMIUM 1* frente a bacterias patógenas durante un tiempo de exposición de 10, 30, 120 y 300 segundos, demostró una reducción superior a los 5 Log<sub>10</sub> unidades formadoras de colonias sobrevivientes de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.
4. La evaluación de la efectividad antiséptica del alcohol en gel *Burbuja* frente a bacterias patógenas durante un tiempo de exposición de 10, 30, 120 y 300 segundos, demostró una reducción superior a los 5 Log<sub>10</sub> unidades formadoras de colonias sobrevivientes de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.



## RECOMENDACIONES

1. Preparar y determinar la suspensión de ensayo de los microorganismos con los que se trabajará, mediante las diluciones sucesivas.
2. Iniciar pruebas preliminares para la verificación del método antes de evaluar los antisépticos y/o desinfectantes con el método dilución-neutralización.
3. Para futuras evaluaciones de efectividad antiséptica de productos de higienización para manos, se aconseja utilizar la técnica de dilución neutralización, para así lograr obtener una estimación más exacta de la población microbiana sobreviviente.
4. Leer la etiqueta de los productos antisépticos antes de utilizarlos, porque brinda información sobre la aplicación, almacenamiento y qué hacer en caso de accidente.
5. Implementar y adaptar las pruebas de efectividad en los laboratorios.
6. Evaluar la relación de la efectividad de los antisépticos a diferentes concentraciones, temperaturas u otros frente a diferentes cepas patógenas.
7. Después de efectuar los estudios *in vitro*, continuar con la siguiente etapa en la evaluación de la efectividad antibacteriana, los estudios *in vivo*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. RT Noticias, Esta es la razón por la que en EE.UU. prohíben los geles antisépticos, Diario RT. 2016 septiembre 5, Sección- Actualidad.
2. Diario El Comercio, FDA cuestiona a fabricantes de geles antisépticos, Diario El Comercio. 2016 junio 29, Sección- Ciencias.
3. La importancia de lavarse las manos: 800 menores mueren al día por mala higiene. Lainformación.com: 2016 octubre 15; Sección Salud-Enfermedades.
4. Todas las enfermedades que previene el lavado de manos. Infobae: 2009 septiembre 2; Sección Saludable.
5. Organización Mundial de la Salud [Internet]. Geneva, Suiza: WHO Press [citado el 27 de jun. De 2017]. Disponible en: [http://cmas.siu.buap.mx/portal\\_pprd/work/sites/hup/resources/Local Content/247/2/guia\\_lavado\\_de\\_manos.pdf](http://cmas.siu.buap.mx/portal_pprd/work/sites/hup/resources/Local Content/247/2/guia_lavado_de_manos.pdf)
6. Alvarado D, García JD, Arias ML. Evaluación de la efectividad del alcohol-gel en la desinfección de manos y su estabilidad a través del tiempo. [Publicación periódica en línea]. 2010 marzo [Citado: 2017 junio 27]; 21 (1): 3pp Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2010/bio101e.pdf>
7. Londoño AL, Murillas ML. Eficacia de la higiene de manos con un preparado de base alcohólica vs lavado de manos con agua y jabón. [Publicación periódica en línea]. 2011 diciembre [Citado: 2017 junio 27]; 36 (4): 6pp Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1631/163122508004.pdf>
8. Rodríguez KE, Rueda JG. Evaluación de la efectividad en guantes del producto Clean Hands® bajo condiciones de uso en laboratorio clínico del Hospital de Suba E.S.E [Tesis para optar el grado de Microbiólogo Industrial]. Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias; 2009.
9. Castro LC, Moran ME. Propuesta de una formulación de alcohol gel y su respectivo procedimiento de registro [Tesis para optar el grado

- de Licenciatura en Química y Farmacia]. San Salvador: Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia; 2011.
10. Hilgert E. Formulación y Manufactura de productos para la higiene personal y cosmética [Tesis para optar el grado de Licenciatura en Química]. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú, Facultad de Ciencias e Ingeniería; 2012.
  11. DIGEMID, Se encontró envases, insumos, maquinarias y productos listos para ser comercializados. DIGEMID interviene laboratorio clandestino donde se fabricaba jabones líquidos y cosméticos bamba. 2015 Setiembre 10, Sección Noticias – Notas de Prensa.
  12. Food Drug and Administration. La FDA solicita información para abordar la insuficiencia de información sobre los desinfectantes para manos para consumidores. [Publicación periódica en línea]. 2016 junio [Citado: 2017 junio 27]; 2 pp Disponible en: <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/ComunicadosdePrensa/ucm509302.htm>
  13. Soto Montoya M. Y. Determinación del efecto antimicrobiano in vitro de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby (Asteraceae) [Tesis para optar el grado de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2015.
  14. Ramos Meléndez A. Evaluación in vitro de la efectividad de diferentes agentes antimicrobianos en la desinfección de conos de gutapercha [Tesis para optar el grado de Cirujano Dentista]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2014.
  15. Flamenco Santos JW, Guevara Avalos GI. Formulación de tres productos desinfectantes y evaluación de su actividad antimicrobiana [Tesis para optar el grado de Química y Farmacia]. San Salvador: Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia; 2011.

16. Alvarado D, García JD, Arias ML. Evaluación de la efectividad del alcohol-gel en la desinfección de manos y su estabilidad a través del tiempo. [Publicación periódica en línea]. 2010 marzo [Citado: 2017 junio 27]; 21 (1): 3pp Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2010/bio101e.pdf>
17. Rodríguez Merchan KE, Rueda Buitrago JG. Evaluación de la efectividad en guantes del producto Clean Hands® bajo condiciones de uso en laboratorio clínico del Hospital de Suba E.S.E [Tesis para optar el grado de Microbiólogo Industrial]. Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias; 2009.
18. Marín Díaz JC, Navarro Peña NF, Santos Arévalo N. Evaluación del método dilución neutralización aplicado a un desinfectante según la norma técnica colombiana 5473 de 2007 [Tesis para optar el grado de Microbiólogo Industrial]. Bogotá D. C.: Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias; 2008.
19. Gallardo Troncoso MD. Acción antimicrobiana de un desinfectante de uso industrial y doméstico sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* [Tesis para optar el grado de Ingeniero en Alimentos]. Santiago: Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química, Laboratorio de Microbiología Aplicada; 2006.
20. International Federation of Infection Control [Internet]. Irlanda del Norte, Reino Unido: Administración de IFIC [citado el 27 de jun. De 2017]. Disponible en: [http://theific.org/wp-content/uploads/2014/08/Spanish\\_ch10\\_PRESS.pdf](http://theific.org/wp-content/uploads/2014/08/Spanish_ch10_PRESS.pdf)
21. Hernández Rodríguez A. Aportaciones al estudio de la actividad antimicrobiana de los antisépticos y desinfectantes [Tesis para optar el grado de Doctora en Biología]. Badalona: Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Ciencias, Departamento de Genética y Microbiología; 2006.

22. Sánchez L, Sáenz E. Antisépticos y Desinfectantes. [Publicación periódica en línea]. 2005 junio [Citado: 2017 junio 27]; 15 (2): 22pp Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v15\\_n2/pdf/a02.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v15_n2/pdf/a02.pdf)
23. Ríos AG. Evaluación del nivel de contaminación de superficies y la eficacia de productos desinfectantes a corto y largo plazo. Nuevos Métodos [Tesis para optar el grado de Doctor]. Bellaterra: Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Veterinaria, Departamento de Ciencia Animal; 2013.
24. Mamani I. Evaluación del efecto bactericida de los desinfectantes en cepas bacterianas ATCC y cepas aisladas del área de fabricación de productos estériles, realizando pruebas de dilución "in use" en laboratorios Bago de Bolivia S.A [Tesis para optar el grado de Licenciatura en Bioquímica]. La Paz: Universidad Mayor de San Andres, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas; 2008.
25. Troya JA. Evaluación de la efectividad de los desinfectantes Divosan Forte y MH en la desinfección de equipos y áreas de trabajo en una empresa procesadora de helados [Tesis para optar el grado de Microbiólogo Industrial]. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias; 2007.
26. Ángeles U., Molinar F., Anaya V., López M. 2005. Efectividad de la aplicación de alcohol gel en la higiene de las manos de enfermeras y médicos. Revista de Enfermería Instituto Mexicano Seguro Social. Vol 13:15-21.
27. Álvarez Alcántara, Espigares Rodríguez y Gálvez Vargas. Valoración de desinfectantes. Método de dilución-neutralización. [Internet] Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Medicina, Madrid España. 2001 [acceso 10 marzo de 2010]. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd27/higsand14.pdf>

28. Cerra H., Fernández M. C., Horak C., Lagomarsino M., Torno G., Zarankin E. Manual de Microbiología Aplicada a las Industrias Farmacéuticas, Cosmética y de Productos Médicos [libro electrónico]. Argentina: Subcomisión de Buenas Prácticas de la División de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos; 2013 [Citado: 2017 junio 30]. Disponible en: [http://www.aam.org.ar/vermas-otras\\_publicaciones.php?n=115](http://www.aam.org.ar/vermas-otras_publicaciones.php?n=115)
29. Jawetz, Melnick, Adelberg. Microbiología Médica [libro electrónico]. México D.F; 2013 [Citado: 2017 junio 30]. Disponible en: [http://redlagrey.com/files/Microbiologia\\_Medica\\_Jawetz\\_25\\_www.rinconmedico.smffy.com.pdf](http://redlagrey.com/files/Microbiologia_Medica_Jawetz_25_www.rinconmedico.smffy.com.pdf)
30. Decisión 516 de la Comisión de la Comunidad Andina dada en marzo 15 de 2002

## ANEXOS

### ANEXO 1:

#### INFORME DE ENSAYO

N° 001 – 2017



**Solicitante/DNI:** *YOSHITOMI CRISTOBAL GINO ANTONIO / 45983598*

**Dirección del laboratorio:** *Jr. Pastaza 740 Breña – Lima 5*

**Solicitud de Ensayo N°:** *001-2017/M*

**Nombre del Producto:** *ALCOHOL EN GEL*

**Características de la muestra:** *Marca comercial del Gel A: AVAL*  
*(proporcionado por el solicitante) Marca comercial del Gel B: PREMIUM 1*  
*Marca comercial del Gel C: Burbuja*

**Cantidad de muestras por cada marca:** *5 muestras*

**Cantidad total de muestras recepcionadas:** *15 muestras*

**Presentación:** *Envases de 380mL (AVAL), 370mL (Burbuja) y 330mL (PREMIUM 1)*

**Fecha de recepción:** *04 de agosto del 2017*

**Fecha de ejecución de ensayos:** *Del 04 de agosto al 28 de agosto del 2017*

#### ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS

Cepa patógena	Lote	N° pasaje	Marca
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	483-545	3	Microbiologics

Conteo inicial de la solución madre	Expresión logarítmica (log)
240.5 x 10 <sup>7</sup> ufc/g	9.381115081

Contenido por cada tubo				Siembra en 4 placas	
Alcohol en gel	Solución madre	Caldo Lethen	Dilución para cada tubo	2 placas	2 placas
0.9 g	1 g	8.1 g	10 <sup>-1</sup>	1 g	0.1 g

Conteo de colonias en placa multiplicado por el factor de dilución. UFC/g		Tiempo de Exposición (segundos)			
		10	30	120	300
<b>Gel A</b>	Gel A1	9340	5850	1320	20
		9290	5790	1460	10
	Gel A2	9490	5730	1470	20
		9570	5670	1520	10
	Gel A3	9360	5610	1470	10

	Gel A4	9290	5700	1430	20
		9340	5800	1560	10
		9230	5750	1490	10
	Gel A5	9140	5900	1380	0
		9090	5810	1510	10
Gel B	Gel B1	8990	5690	1520	20
		9120	5870	1460	10
	Gel B2	9100	5590	1610	20
		9210	5710	1520	10
	Gel B3	9320	5890	1470	20
		9270	5970	1580	30
	Gel B4	9190	5640	1560	10
		9330	5700	1490	10
	Gel B5	8970	5840	1470	0
		9120	5630	1500	10
Gel C	Gel C1	9470	5670	1530	0
		9610	5850	1460	10
	Gel C2	9380	5980	1610	0
		9450	5750	1520	20
	Gel C3	9310	5830	1580	10
		9420	5850	1430	30
	Gel C4	9160	5800	1600	20
		9190	5630	1490	20
	Gel C5	9140	5890	1470	10
		9270	5970	1390	10

Cepa patógena	Lote	N° pasaje	Marca
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	485-336	3	Microbiologics

Conteo inicial de la solución madre	Expresión logarítmica (log)
88.75 x 10 <sup>7</sup> ufc/g	8.948168362

Contenido por cada tubo				Siembra en 4 placas	
Alcohol en gel	Solución madre	Caldo Letheen	Dilución para cada tubo	2 placas	2 placas
1.3 g	1 g	7.7 g	10 <sup>-1</sup>	1 g	0.1 g

Gel A	Gel A1	Tiempo de Exposición (segundos)			
		10	30	120	300
		10492	6090	240	10
		10160	6260	240	0



	Gel A2	10960	6120	300	10
		10200	6100	290	0
	Gel A3	10130	5320	250	10
		10870	6310	230	0
	Gel A4	10310	6200	240	0
		10860	6260	220	10
Gel A5	10710	6120	260	10	
	10830	6150	250	0	
Gel B	Gel B1	10150	5880	290	10
		10100	6310	280	10
	Gel B2	10290	6022	260	0
		10310	6260	270	0
	Gel B3	10240	6120	270	10
		10670	6310	250	0
	Gel B4	10290	6010	240	10
		10180	6310	240	10
	Gel B5	10460	6022	280	0
		10120	6260	230	0
Gel C	Gel C1	10670	6120	250	10
		10590	6200	230	10
	Gel C2	10720	5980	240	10
		10780	6310	240	0
	Gel C3	10640	6022	290	10
		10030	6260	270	10
	Gel C4	10820	6120	250	10
		10690	6100	230	0
	Gel C5	10570	5990	220	0
		10710	6130	210	0

**Métodos de ensayo utilizados:**

1. Recuento inicial de las cepas según las especificaciones de ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) (1978) "Microorganisms in Foods, their significance and methods of enumeration". 2nd edition. University of Toronto Press. Toronto/Buffalo/London.
2. En la determinación de la actividad antimicrobiana se utilizó la metodología por la AOAC "Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists". 12th Ed. Washington. USA. (1984).

- El resultado del presente Informe de Ensayo se relaciona únicamente a las muestras analizadas. No es un certificado de conformidad, ni certificado del sistema de calidad de quien produce la muestra.
- El muestreo, las condiciones de muestreo y transporte de la muestra hasta su ingreso a Laboratorio Productos Jumam es responsabilidad del solicitante.
- Se prohíbe la reproducción parcial o total del presente Informe sin la autorización de Laboratorio Productos Jumam.
- El presente Informe tiene una vigencia de 01 año después de la fecha de emisión.
- El método de neutralización química cumplió según los resultados mostrados en las tablas su función de inhibir el antiséptico.

Breña, 29 de agosto del 2017

PRODUCTOS JUMAM E.I.R.L.  
 Q.F. Diana Peña Cortez  
 C.G.F.P. N° 18238  
 Jefe de Aseguramiento de la Calidad

PRODUCTOS JUMAM E.I.R.L.  
 Q.F. Miguel Vera Muñoz  
 C.G.F.P. N° 12180  
 Jefe de Control de Calidad

Página 3 | 3

**ANEXO 2:** Ficha de recolección de datos.

Efectividad del alcohol en gel vs tiempo de exposición		Tiempo de Exposición (segundos)			
		10	30	120	300
<b>Gel ...</b>	<b>Muestra 1</b>				
	<b>Muestra 1</b>				
	<b>Promedio de la muestra 1</b>				
	<b>Muestra 2</b>				
	<b>Muestra 2</b>				
	<b>Promedio de la muestra 2</b>				
	<b>Muestra 3</b>				
	<b>Muestra 3</b>				
	<b>Promedio de la muestra 3</b>				
	<b>Muestra 4</b>				
	<b>Muestra 4</b>				
	<b>Promedio de la muestra 4</b>				
	<b>Muestra 5</b>				
	<b>Muestra 5</b>				
	<b>Promedio de la muestra 5</b>				

**ANEXO 3: Medios de cultivo utilizados para la prueba de efectividad.**



**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 4:** Preparación de la suspensión bacteriana e incubación.



**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 5: Preparación del material para la prueba de efectividad antiséptica.**



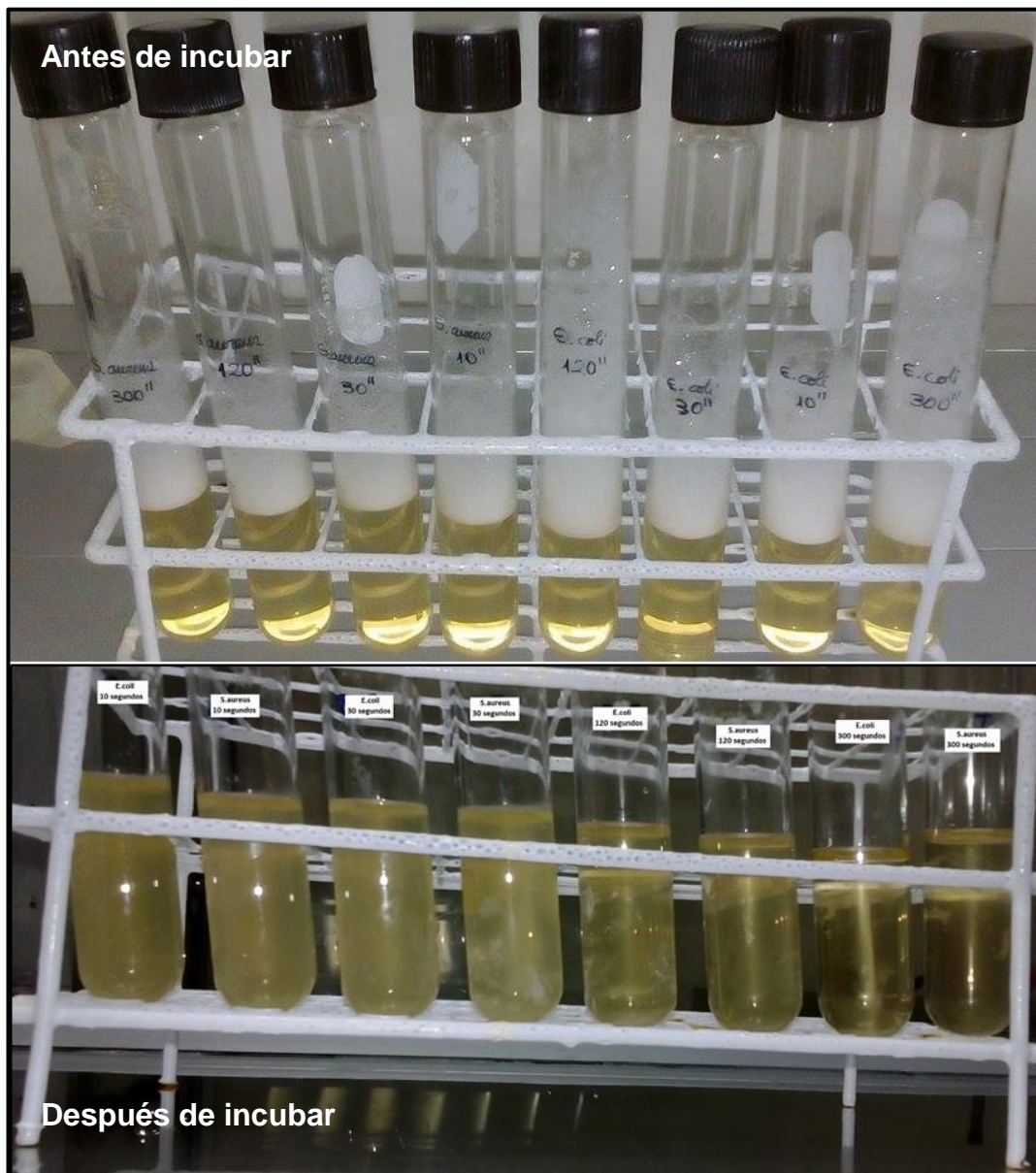
**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 6:** Tiempos de exposición empleados para la prueba de efectividad antiséptica.



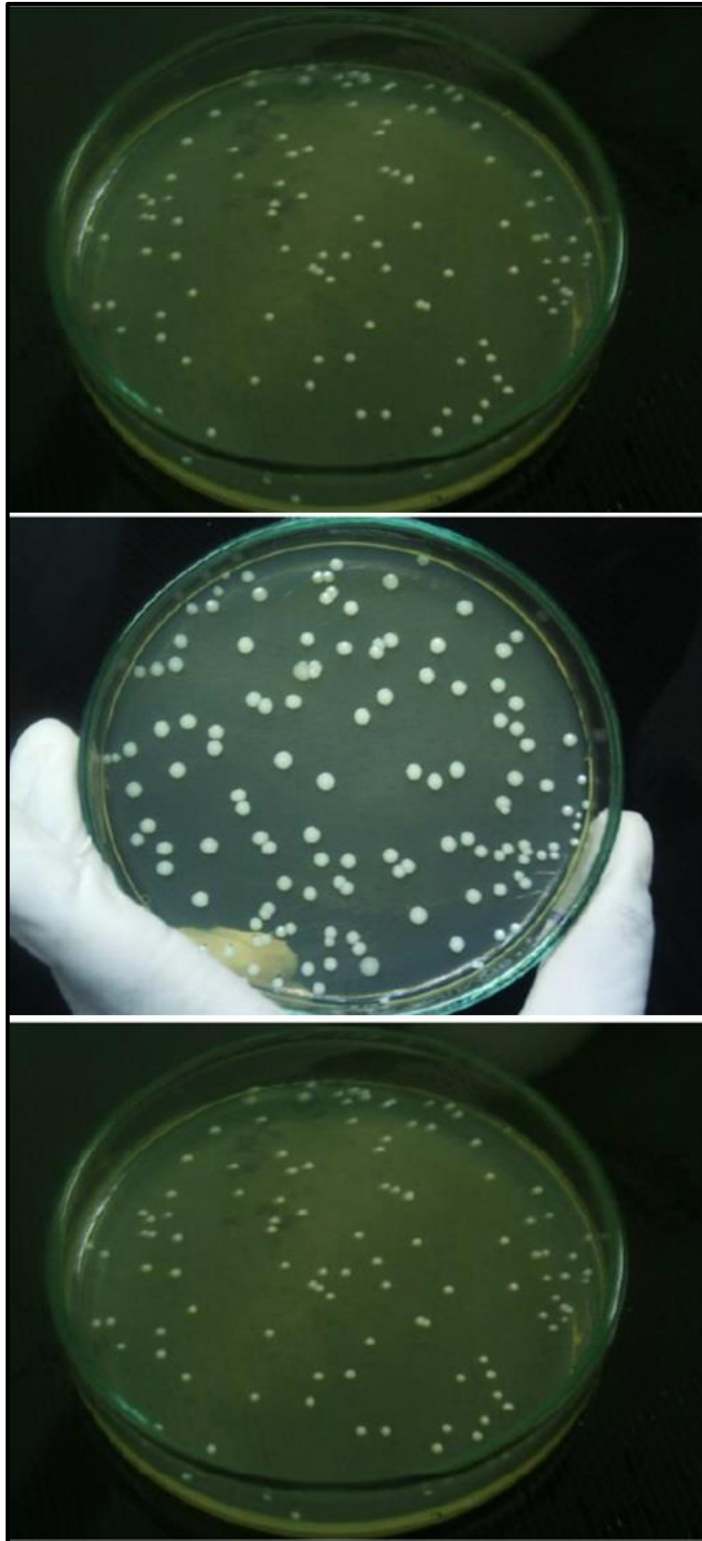
**Fuente:** Elaboración propia.

**ANEXO 7: Turbidez después de la incubación por presencia de bacterias sobrevivientes.**



**Fuente:** Elaboración propia.



**ANEXO 8:** Unidades Formadoras de Colonias sobrevivientes en agar  
Trypticase Soya.



**Fuente:** Elaboración propia.



## ANEXO 9: Ficha Técnica de la estufa.

LABORATORIOS JUMAM E.I.R.L.				
		FICHA TÉCNICA		
DENOMINACIÓN TÉCNICA		CÓDIGO DE EQUIPO	ÁREA DE UBICACIÓN	CONTROL DE CALIDAD
ESTUFA ESTERILIZADORA		CCA-024	SUB-ÁREA	FISICOQUIMICO
			BLOCK PISO	5TO
DATOS DE FABRICACIÓN				
FABRICANTE			MARCA	MEMMERT
PROCEDENCIA			MODELO	UNE 400
Nº DE SERIE	C408.2302	FECHA DE FABRICACIÓN	2007	FECHA DE PUJSTA EN MARCHA
				05- 10- 2010
FUNCIONES Y USO				
ATEMPERADO DE MUESTRAS				
ESPECIFICACIONES TÉCNICAS				
VOLTAJE : 250 V FRECUENCIA : 60 HZ PESO : 35 KG VOLUMEN INTERNO : 53 LTS  <u>CONDICIONES AMBIENTALES:</u> RANGO DE TEMPERATURA DE TRABAJO: 0°C ± 350°C TIEMPO DE PROGRAMACION: MIN  <u>MEDIDAS DE CÁMARA INTERIOR:</u> ALTURA : 400 mm ANCHO : 400 mm FONDO : 330 mm CARGA MÁXIMA TOTAL: 90 Kg				
COMPONENTES DEL EQUIPO			REPUESTOS DE ALTA ROTACIÓN	
1. CABLE DE ALIMENTACIÓN ELÉCTRICA. 2. TERMOSTATO. 3. TEMPORIZADOR. 4. RESISTENCIA ELÉCTRICA. 5. SWITCH DE ENCENDIDO APAGADO (POWER OFF/ON)			1. TERMOSTATO. 2. TEMPORIZADOR. 3. RESISTENCIA ELÉCTRICA.	
MEDIDAS DE SEGURIDAD				
COMPUESTO DE ACERO INOXIDABLE RESISTENTE, TENER CUIDADO CON COMPUESTOS DE CLORO.				
CALIBRACIÓN: <input checked="" type="checkbox"/>		MANTENIMIENTO: <input checked="" type="checkbox"/>		SEGÚN INFORME Y CERTIFICADO

F-001/MAN REV 02

## ANEXO 10: Ficha Técnica del baño María.

LABORATORIOS JUMAM E.I.R.L.				
<b>FICHA TÉCNICA</b>				
				
<b>DENOMINACIÓN TÉCNICA</b>		<b>CÓDIGO DE EQUIPO</b>	<b>ÁREA DE UBICACIÓN</b>	<b>CONTROL DE CALIDAD</b>
<b>BAÑO MARÍA</b>		<b>CCA-005</b>	SUB-ÁREA	MICROBIOLOGIA
			BLOCK PISO	5TO
DATOS DE FABRICACIÓN				
<b>FABRICANTE</b>	MEMMERT MBBH + Co. KG	<b>MARCA</b>	MEMMERT	
<b>PROCEDENCIA</b>	ALEMANIA	<b>MODELO</b>	WB 14	
<b>Nº DE SERIE</b>	1404.0231	<b>FECHA DE FABRICACIÓN</b>	<b>FECHA DE PUESTA EN MARCHA</b>	JUNIO 2005
FUNCIONES Y USO				
CONFIERE TEMPERATURA UNIFORME A UNA SUSTANCIA LÍQUIDA O SÓLIDA O PARA CALENTARLA LENTAMENTE, SUMERGIENDO EL RECIPIENTE QUE LA CONTIENE EN OTRO MAYOR CON AGUA U OTRO LÍQUIDO QUE SE LLEVA A O ESTÁ EN EBULLICIÓN.				
ESPECIFICACIONES TÉCNICAS				
VOLTAJE 230 V ± 10% FRECUENCIA 60 HZ CORRIENTE 7.8 AMP. POTENCIA 1800 WATTS VOLUMEN 14 L. PESO 16 K. CONDICIONES AMBIENTALES: TEMPERATURA AMBIENTAL 5°C A 40°C HUMEDAD RELATIVA (MAX.) 80% RANGO DE TEMPERATURA DE TRABAJO: 5°C POR ENCIMA DE LA TEMPERATURA AMBIENTAL				
COMPONENTES DEL EQUIPO			REPUESTOS DE ALTA ROTACIÓN	
1. CARCAZA EXTERIOR DE ACERO INOXIDABLE 2. CÁMARA DE TRABAJO DE ACERO INOXIDABLE 3. RESISTENCIA 4. VÁLVULA DE DESCARGA 5. INTERRUPTOR PRINCIPAL 6. TERMOSTATO 7. INDICADOR DE TEMPERATURA			1. RESISTENCIA 2. TERMOSTATO 3. INDICADOR DE TEMPERATURA 4. VÁLVULA DE DESCARGA.	
MEDIDAS DE SEGURIDAD				
COMPUESTO DE ACERO INOXIDABLE RESISTENTE, TENER CUIDADO CON COMPUESTOS DE CLORO.				
CALIBRACIÓN: <input checked="" type="checkbox"/> MANTENIMIENTO: <input checked="" type="checkbox"/>			SEGÚN INFORME Y CERTIFICADO	

F-001/MAN REV 02

**ANEXO 11: Ficha Técnica de la balanza analítica.**

DENOMINACIÓN TÉCNICA		CÓDIGO DE EQUIPO	ÁREA DE UBICACIÓN	CONTROL DE CALIDAD
<b>BALANZA ANALÍTICA SCOUT PRO Y PESA DE 200 G</b>		<b>CCA-042</b>	SUB-ÁREA	MICROBIOLOGIA
			BLOCK PISO	5TO
DATOS DE FABRICACIÓN				
FABRICANTE	OHAUS CORPORATION	MARCA	OHAUS	
PROCEDENCIA	USA	MODELO	SP602	
Nº DE SERIE	B549806346	FECHA DE FABRICACIÓN	FECHA DE PUESTA EN MARCHA	ABRIL 2016
FUNCIONES Y USO				
INSTRUMENTO QUE SE UTILIZA PARA EL PESAJE.				
ESPECIFICACIONES TÉCNICAS				
CAPACIDAD MÁXIMA: 600 gr. DIVISION MÍNIMA : 10 gr. TIPO : ELECTRÓNICA Dimensiones de la carcasa: 19,1 x 5,4 x 21 cm Tamaño de la cacerola (día) 4-3 / 4 "(12.1 cm) Legibilidad: (g) 0,1 Linealidad: (g) ± 0,1 Repetitividad: (g) ± 0,1 Unidades de pesaje g, kg, oz, lb, lb: oz, t, dwt Alimentación: (VAC) 230 Batería 4 pilas AA (no incluidas) Indicador de Estabilidad: Sí				
COMPONENTES DEL EQUIPO				
1. PLATILLO Ó PLATAFORMA SUPERIOR 2. CORAZA INFERIOR 3. BATERÍA DE 9V 4. DISPLAY			1. BATERÍA DE 9V	
MEDIDAS DE SEGURIDAD				
PARA MEJORES RESULTADOS MANTENER LIMPIO EL EQUIPO. VERIFICAR SIEMPRE EL NIVEL DE LA BURBUJA.				
CALIBRACIÓN: <input checked="" type="checkbox"/>		MANTENIMIENTO: <input type="checkbox"/>		SEGÚN CERTIFICADO


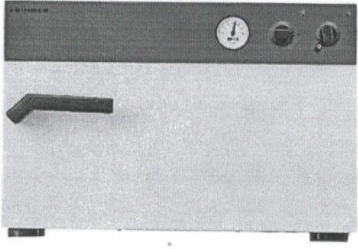
F-001/MAN REV 02

## ANEXO 12: Ficha Técnica del temporizador.


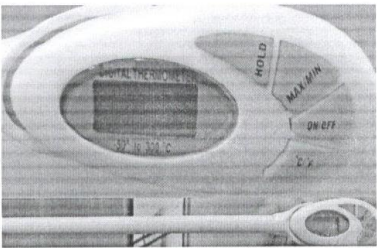
 <span style="float: right;">LABORATORIOS JUMAM E.I.R.L.</span> <b>FICHA TÉCNICA</b>					
DENOMINACIÓN TÉCNICA		CÓDIGO DE EQUIPO		ÁREA DE UBICACIÓN	CONTROL DE CALIDAD
<b>TEMPORIZADOR DIGITAL</b>		<b>CCA-026</b>		SUB-ÁREA	MICROBIOLOGIA
				BLOCK PISO	5TO
DATOS DE FABRICACIÓN					
FABRICANTE	---		MARCA	BOECO GERMANY	
PROCEDENCIA	CHINA		MODELO	PS-360	
Nº DE SERIE	---	FECHA DE FABRICACIÓN	---	FECHA DE PUESTA EN MARCHA	21-06-2017
FUNCIONES Y USO					
PERMITE MEDIR EL TIEMPO.					
ESPECIFICACIONES TÉCNICAS					
TIPO: DIGITAL. RANGO DE TIEMPO: 99 HRS, 59 MIN, 59 SEG. DIVISION MINIMA: 0.1 S. TAMAÑO: 9.2 X 7 X 2 CM. PESO: 75 G.					
COMPONENTES DEL EQUIPO			REPUESTOS DE ALTA ROTACIÓN		
1. BATERIA LR44. 2. PANTALLA DIGITAL.			1.- BATERIA LR44.		
MEDIDAS DE SEGURIDAD					
<ul style="list-style-type: none"> <li>PROTEGER DE LA HUMEDAD.</li> <li>MANTENER SECO Y LIMPIO.</li> </ul>					
CALIBRACIÓN: <input checked="" type="checkbox"/>		MANTENIMIENTO: <input type="checkbox"/>		SEGÚN CERTIFICADO	

F-001/MAN REV 02


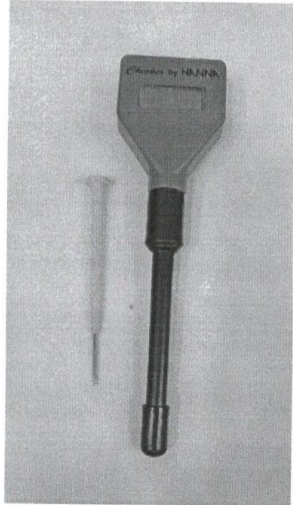
**ANEXO 13: Ficha Técnica de la incubadora.**

		LABORATORIOS JUMAM E.I.R.L.		
		<b>FICHA TÉCNICA</b>		
<b>DENOMINACIÓN TÉCNICA</b>		<b>CÓDIGO DE EQUIPO</b>	<b>ÁREA DE UBICACIÓN</b>	<b>CONTROL DE CALIDAD</b>
<b>INCUBADORA DE CULTIVOS</b>		<b>CCA-015</b>	<b>SUB-ÁREA</b>	MICROBIOLOGÍA
			<b>BLOCK PISO</b>	5TO
<b>DATOS DE FABRICACIÓN</b>				
<b>FABRICANTE</b>	BINDER GmbH	<b>MARCA</b>	BINDER	
<b>PROCEDENCIA</b>	ALEMANIA	<b>MODELO</b>	B - 28L	
<b>Nº DE SERIE</b>	06-95907	<b>FECHA DE FABRICACIÓN</b>	<b>FECHA DE PUESTA EN MARCHA</b>	
<b>FUNCIONES Y USO</b>				
Crea un ambiente con la humedad y temperatura (adecuados) para el crecimiento o reproducción de seres vivos.				
<b>ESPECIFICACIONES TÉCNICAS</b>				
VOLTAJE: 230 V FRECUENCIA : 60 Hz POTENCIA : 250 Watts PESO : 25 Kgs.				
<b>COMPONENTES DEL EQUIPO</b>		<b>REPUESTOS DE ALTA ROTACIÓN</b>		
1. INCUBADORA DE CULTIVOS 2. TERMÓMETRO DE CONTROL. 3. LÁMPARA PILOTO DE CONTROL DE ENCENDIDO (COLOR VERDE) 4. SWITCH DE ENCENDIDO (INTERRUPTOR PRINCIPAL). 5. CABLE DE ALIMENTACIÓN ELÉCTRICA. 6. TERMOSTATO 7. LÁMPARA PILOTO DE CONTROL DE CALEFACCIÓN (COLOR AMARILLO)		1. TERMÓMETRO DE CONTROL 2. LÁMPARAS PILOTO 3. TERMOSTATO		
<b>MEDIDAS DE SEGURIDAD</b>				
COMPUESTO DE ACERO INOXIDABLE RESISTENTE, TENER CUIDADO CON COMPUESTOS DE CLORO.				
<b>CALIBRACIÓN:</b> <input checked="" type="checkbox"/>	<b>MANTENIMIENTO:</b> <input checked="" type="checkbox"/>	SEGÚN INFORME Y CERTIFICADO		
F-001/MAN REV 02				

### ANEXO 14: Ficha Técnica del termómetro.

 LABORATORIOS JUMAM E.I.R.L. <b>FICHA TÉCNICA</b>					
DENOMINACIÓN TÉCNICA		CÓDIGO DE EQUIPO	ÁREA DE UBICACIÓN	CONTROL DE CALIDAD	
TERMOMETRO DIGITAL		CCA-047	SUB-ÁREA	MICROBIOLOGÍA	
			BLOCK PISO	5TO	
DATOS DE FABRICACIÓN					
FABRICANTE	---		MARCA	BOECO GERMANY	
PROCEDENCIA	CHINA		MODELO	---	
Nº DE SERIE	---	FECHA DE FABRICACIÓN	---	FECHA DE PUESTA EN MARCHA	21-06-2017
FUNCIONES Y USO					
PERMITE MEDIR LA TEMPERATURA					
ESPECIFICACIONES TÉCNICAS					
TIPO: DIGITAL. RANGO DE TEMPERATURA: -50°C – 300°C. PANTALLA: LCD. DIMENSION: 25X35X230 mm. PRECISIÓN: +- 1°C (-20+200°C) +- 2°C (RESTO RANGO). RESISTENTE AL AGUA. SONDA DE ACERO INOXIDABLE.					
COMPONENTES DEL EQUIPO			REPUESTOS DE ALTA ROTACIÓN		
1. BATERIA LR1130. 2. PANTALLA DIGITAL LCD 3. COMPONENTE DE BOTONES PRINCIPALES. 4. SONDA DE ACERO INOXIDABLE.			1. BATERIA LR1130.		
MEDIDAS DE SEGURIDAD					
<ul style="list-style-type: none"> <li>MANTENER LIMPIO Y SECO DESPUÉS DE SU USO</li> <li>PROTEGER DE LA HUMEDAD CONSTANTE</li> </ul>					
CALIBRACIÓN: <input checked="" type="checkbox"/>		MANTENIMIENTO: <input type="checkbox"/>		SEGÚN INFORME Y CERTIFICADO	
F-001/MAN REV 02					

**ANEXO 15: Ficha Técnica del phmetro.**

 LABORATORIOS JUMAM E.I.R.L. <b>FICHA TÉCNICA</b>				
<b>DENOMINACIÓN TÉCNICA</b>		<b>CÓDIGO DE EQUIPO</b>	<b>ÁREA DE UBICACIÓN</b>	<b>CONTROL DE CALIDAD</b>
<b>pHMETRO</b>		<b>CCA-043</b>	SUB-ÁREA	MICROBIOLOGIA
			BLOCK PISO	5TO
DATOS DE FABRICACIÓN				
<b>FABRICANTE</b>		<b>MARCA</b>	HANNA	
<b>PROCEDECIA</b>		<b>MODELO</b>	HI 98103	
<b>Nº DE SERIE</b>		<b>FECHA DE FABRICACIÓN</b>	<b>FECHA DE PUESTA EN MARCHA</b>	01/02/2016
FUNCIONES Y USO				
SENSOR UTILIZADO EN EL MÉTODO ELECTROQUÍMICO PARA MEDIR EL PH DE UNA DISOLUCIÓN.				
ESPECIFICACIONES TÉCNICAS				
RANGO pH : 0.00 a 14.00 TIPO : INDICACION DIGITAL RANGO : 0 A 14 PH RESOLUCIÓN: 0.01 PH PRECISIÓN (@20°C/68°F) ±0.2 PH DESVIACIÓN EMC TÍPICA ±0.1 PH CALIBRACIÓN MANUAL 2 PUNTOS (POTENCIÓMETROS) ELECTRODO: HI 1270 (INCLUIDO) TIPO DE PILAS: 2 X 1.5V / DURACIÓN: 3000 APROXIMADAMENTE HORAS DE USO: CONTINUO CONDICIONES DE TRABAJO: 0 A 50°C (32 A 122°F); HR 95% DIMENSIONES: 66 X 50 X 25 MM PESO: 70 G				
<b>COMPONENTES DEL EQUIPO</b>				
MEDIDAS DE SEGURIDAD				
- LOS ELECTRODOS TIENEN QUE SER ENJUAGADOS CON AGUA DESTILADA ENTRE MUESTRAS. - NO DEBEN SER SECADOS CON UN PAÑO PORQUE PODRÍAN CARGARSE ELECTROSTÁTICAMENTE. - PARA QUITAR EL EXCESO DE AGUA, DEBEN SER COLOCADOS SOBRE UN PAPEL SIN PELUSA. - NO SE DEBE GUARDAR EL ELECTRODO EN AGUA DESTILADA, PORQUE ESO CAUSARÍA QUE LOS IONES RESBALARAN POR EL BULBO DE VIDRIO Y EL ELECTRODO SE VOLVERÍA INÚTIL; SE CALIBRA MEDIANTE SOLUCIONES ESTANDARIZADAS.				
<b>CALIBRACIÓN:</b> <input checked="" type="checkbox"/>		<b>MANTENIMIENTO:</b> <input type="checkbox"/>		SEGÚN CERTIFICADO

F-001/MAN REV 02

## ANEXO 16: MATRIZ DE CONSISTENCIA

**Título del Proyecto de Tesis:** EFECTIVIDAD ANTISÉPTICA DEL ALCOHOL EN GEL Y SU RELACIÓN CON EL TIEMPO DE EXPOSICIÓN.

**Bachiller:** YOSHITOMI CRISTOBAL, Gino Antonio.

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	NIVEL Y METODO DE INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
<p>¿Cuál es la relación entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel con el tiempo de exposición frente a cepas patógenas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p><b>Problemas Específicos</b></p> <p><b>P.E.1:</b> ¿Cuál es la efectividad antiséptica del alcohol en gel AVAL durante diferentes tiempos de exposición, en cepas patógenas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p><b>P.E.2:</b> ¿Cuál es la efectividad antiséptica del alcohol en gel PREMIUM 1 durante diferentes tiempos de exposición, en cepas patógenas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p><b>P.E.3:</b> ¿Cuál es la efectividad antiséptica del alcohol en gel Burbuja durante diferentes tiempos de exposición, en cepas patógenas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>?</p>	<p>Determinar la relación entre la efectividad antiséptica del alcohol en gel con el tiempo de exposición frente a cepas patógenas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>Objetivos Específicos</b></p> <p><b>O.E.1:</b> Evaluar la efectividad antiséptica del alcohol en gel AVAL durante diferentes tiempos de exposición, en cepas patógenas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>O.E.2:</b> Evaluar la efectividad antiséptica del alcohol en gel PREMIUM 1 durante diferentes tiempos de exposición, en cepas patógenas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>O.E.3:</b> Evaluar la efectividad antiséptica del alcohol en gel Burbuja durante diferentes tiempos de exposición, en cepas patógenas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>El tiempo de exposición modifica la efectividad antiséptica del alcohol en gel comercializado en las boticas.</p> <p><b>Hipótesis Específicas</b></p> <p><b>H.E.1:</b> El tiempo de exposición modifica la efectividad antiséptica del alcohol en gel AVAL, en cepas patógenas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>H.E.2:</b> El tiempo de exposición modifica la efectividad antiséptica del alcohol en gel PREMIUM 1, en cepas patógenas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>H.E.3:</b> El tiempo de exposición modifica la efectividad antiséptica del alcohol en gel Burbuja, en cepas patógenas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p><b>Tipo de Investigación:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Cuantitativa</li> <li>✓ Analítico</li> <li>✓ Transversal</li> <li>✓ Científico</li> </ul> <p><b>Nivel de Investigación:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Correlacional</li> </ul>	<p><b>Método de Investigación:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Inductivo</li> </ul> <p><b>Diseño de investigación:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ No experimental</li> </ul>	<p><b>Variable Independiente (Y)</b></p> <p><b>Y:</b> Alcohol en gel.</p> <p><b>Indicadores:</b></p> <p><b>Y1:</b> Marcas</p> <p><b>Variable Dependiente (X)</b></p> <p><b>X:</b> Efectividad antiséptica.</p> <p><b>Indicadores:</b></p> <p><b>X1:</b> Logaritmo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g o mL) a diferentes tiempos de exposición.</p>	<p><b>Población :</b></p> <p>Alcohol en gel al 62% comercializado en las boticas ubicadas en la avenida Gran Chimú en la urbanización de Zárate del distrito de San Juan de Lurigancho, durante el período de Junio a Octubre del 2017.</p> <p><b>Muestra:</b></p> <p>15 muestras de alcohol en gel de 3 marcas diferentes (AVAL, PREMIUM 1, Burbuja) comercializadas en boticas ubicadas en la avenida Gran Chimú en la urbanización de Zárate del distrito de San Juan de Lurigancho, durante el período de junio a octubre del 2017.</p>