

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

**"EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL CLORURO DE
BENZALCONIO FRENTE A *Escherichia coli*
PRODUCTORA Y NO PRODUCTORA DE β -LACTAMASAS
DE ESPECTRO EXTENDIDO"**

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el Título de

QUÍMICO BIÓLOGO CLÍNICO

Presenta:

Orozco Sánchez María Fernanda

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

FORMATO DE APROBACIÓN

Los miembros del jurado calificador del examen profesional del pasante María Fernanda Orozco Sánchez, hemos revisado detenidamente su trabajo escrito titulado "EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL CLORURO DE BENZALCONIO FRENTE A *Escherichia coli* PRODUCTORA Y NO PRODUCTORA DE β -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO" y encontramos que cumple con los requisitos para la presentación de su examen profesional. Por tal motivo recomendamos se acepte dicho trabajo como requisito parcial para la obtención de título de Químico Biólogo Clínico.

Atentamente:

M. en C. Moisés Navarro Navarro
Presidente

M. en C. Griselda Macrina Moreno Ibarra
Secretaria

M. en C. Lucía Guadalupe Castellón Campaña
Vocal

Q. B. Esther Margarita Gutiérrez Verduzco
Suplente

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a Dios, a Mis padres el Prof. Rafael Orozco Topete y la Sra. María de la Paz Sánchez de Orozco, a mis hermanas y hermanos Marisol, Socorro, Rafael, Julio César y con énfasis a Karen mi consentida, mi cómplice, porque esto es el resultado de esfuerzos y sacrificios para lograr nuestro cometido, gracias su aliento, comprensión y sobre todo su amor este sueño se ha realizado.

Al término de una de las etapas más importantes de mi vida les brindo mi más grande agradecimiento a toda mi familia, haciendo mención especial a mis ángeles mis abuelos, a todos los maestros que me alentaron, a mis amigos (Fernanda, Deynali, Agustín,) y compañeros que hicieron este recorrido muy grato, pero sobre todo a Ana Guadalupe Flores Avila mi amiga, mi hermana y mi colaboradora, de igual manera con mucho cariño a toda la Familia Rodríguez Félix y por último pero no menos importante a Victor Valencia Mora que durante la realización de este proyecto siempre estuvo apoyando.

Esto no es el fin sino el comienzo de muchos éxitos, así que para finalizar le doy gracias a mis sinodales M. en C. Lucia Guadalupe Castellón Campaña, M. en C. Griselda Macrina Moreno Ibarra, Dra. Esther Margarita Gutiérrez Verduzco y especialmente al M. en C. Moisés Navarro Navarro que de no haberme aceptado como aprendiz otra historia hubiera sido.

“En el campo de la observación, la oportunidad sólo favorece a la mente preparada.”
Louis Pasteur.

CONTENIDO

	Página
FORMA DE APROBACIÓN.....	2
AGRDECIMIENTOS.....	3
LISTA DE TABLAS.....	6
LISTA DE FIGURAS.....	7
OBJETIVOS.....	8
Objetivo General.....	8
Objetivos Particulares.....	8
RESUMEN.....	9
INTRODUCCIÓN.....	10
ANTECEDENTES.....	13
Infecciones Nosocomiales.....	14
Control y Prevención de Infecciones.....	18
Limpieza, Desinfección y Esterilización de Dispositivos Médicos.....	19
Clasificación de Spaulding.....	19
Materiales críticos.....	19
Materiales semicríticos.....	20
Materiales no críticos.....	20
Nivel de Desinfección.....	20
Nivel alto de desinfección.....	20
Nivel intermedio de desinfección.....	20
Nivel bajo de desinfección.....	21
Importancia de los Desinfectantes y su Utilización.....	21

Compuestos Cuaternarios de Amonio (CCA).....	24
Mecanismo de Acción Biocida de los CCA.....	26
Cloruro de Benzalconio.....	26
Generalidades de <i>Escherichia coli</i>	27
Co-resistencia Bacteriana a Antibióticos y Biocidas.....	30
MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
Aislamientos Bacterianos y Cepas Control.....	32
Cloruro de Benzalconio.....	33
Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del CBK.....	33
Determinación de Actividad Bactericida del CBK.....	34
Definición de Concentración Mínima Bactericida.....	35
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	36
Determinación de la MIC ₉₀	36
Actividad Bactericida.....	42
CONCLUSIONES.....	46
RECOMENDACIONES.....	48
BIBLIOGRAFÍA.....	49
ANEXO.....	55

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Características de desinfectantes y antisépticos.....	22
2	Grupo funcional de antisépticos, desinfectantes y su uso.....	23
3	Aislamientos clínicos numerados y agrupados en productores y no productores de BLEE	32
4	Número de aislamientos y MIC ₉₀ de los aislamientos de <i>E. coli</i> productoras y no productoras de BLEE.....	36
5	Efecto bactericida del CBK a distintos tiempos de exposición frente a aislamientos clínicos no productores de BLEE.....	43
6	Efecto bactericida del CBK a distintos tiempos de exposición frente a aislamientos clínicos productores de BLEE.....	44
7	Efecto bactericida del CBK a distintos tiempos de exposición frente a cepas de colección de <i>E. coli</i>	45

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Frecuencia y tipo de infecciones hospitalarias en México.....	15
2	Frecuencia de aislamiento de los principales causantes de infección hospitalaria en España.....	16
3	Frecuencia y probabilidad de muerte por infección nosocomial.....	17
4	Estructura química del Cloruro de Benzalconio.....	27
5	Esquema de inoculación de la microplaca.....	34
6	Desarrollo de los aislamientos de <i>E. coli</i> no productores de BLEE en distintas concentraciones y ausencia de CBK.....	37
7	Desarrollo de los aislamientos de <i>E. coli</i> productores de BLEE en distintas concentraciones y ausencia de CBK.....	38
8	Comparación de MIC ₉₀ entre aislamientos clínicos no productores y productores de BLEE.....	39
9	Desarrollo del aislamiento de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en distintas concentraciones y ausencia de CBK.....	40
10	Desarrollo del aislamiento de <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218 en distintas concentraciones y ausencia de CBK.....	41

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la actividad antimicrobiana del cloruro de benzalconio frente a aislamientos hospitalarios de *Escherichia coli* productoras y no productoras de BLEE.

Objetivos Particulares

- Determinar la MIC₉₀ de los aislamientos de *Escherichia coli* productora y no productora de BLEE frente al CBK.
- Evaluar la actividad bactericida del CBK frente a los aislamientos de *Escherichia coli* productora y no productora de BLEE.

RESUMEN

Escherichia coli es causante de infecciones nosocomiales asociadas al uso de dispositivos médicos. Entre las infecciones más comunes se encuentran las del tracto urinario, neumonía y bacteremia. *E. coli* regularmente es resistente a los antibióticos β -lactámicos debido a la producción de β -lactamasas, las de mayor importancia clínica son las β -lactamasas de espectro extendido (β LEE). Para el control e interrupción de la cadena de infección se utilizan diversos desinfectantes entre los que destaca el cloruro de benzalconio (CBK). El CBK es utilizado en el ámbito hospitalario para mantener la higiene; debido a su bajo costo, fácil adquisición y aplicación. En el presente trabajo se evaluó la concentración mínima inhibitoria (MIC por sus siglas en Ingles) con el método de microdilución en placa y la actividad bactericida (AB) a los 0.5 y 5.0 minutos de exposición frente a aislamientos clínicos de *E. coli* productoras y no productoras de β LEE. La MIC₉₀ de los aislamientos productores de β LEE presentaron un intervalo de 4.0- 32.0 μ g/mL y los no productores un intervalo de 4.0- 16.0 μ g/mL y se observó una tendencia mayor en la MIC de los aislamientos productores de β LEE que en lo no productores CBK, sólo presentó AB a concentraciones >8.0 μ g/mL. Se observó una tendencia para una mayor MIC₉₀ entre los aislamientos de *E. coli* productoras de β LEE en comparación a los no productoras. Se recomienda exponer las superficies o materiales a la desinfección por el CBK a concentraciones \geq 32.0 μ g/mL por al menos 5.0 minutos.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones nosocomiales (IN), son un problema relevante de salud pública de gran trascendencia económica y social ya que constituyen un desafío para las instituciones de salud y el personal médico responsable de su atención. Las IN se relacionan con altas tasas de morbilidad y mortalidad, lo que da como resultado un incremento en los días de hospitalización y los costos de atención (Cabrera, 2007).

Las IN se asocian regularmente con la resistencia a los antibióticos de los patógenos responsables. El uso de antibióticos en humanos y animales, el incremento de la expectativa de vida, el aumento de sobrevida en pacientes con enfermedades crónicas por el desarrollo de trasplantes y las unidades de cuidados intensivos (UCI), son algunos de los factores que se relacionan directamente con la resistencia a los antimicrobianos (Araya, 2007). La aparición de la resistencia bacteriana es un problema grave, ya que el uso indiscriminado de antibióticos y la presión selectiva que ejercen los antisépticos y desinfectantes han inducido la selección de microorganismos con mecanismos de supervivencia (genético-molecular, bioquímica, estructural) con los que logran inhibir el efecto de tales sustancias, estos mecanismos de resistencia pueden ser una propiedad natural de un organismo (intrínseca), adquirida por una mutación o por plásmidos (autorreplicación, ADN extracromosómico) o bien por transposones, con lo que se activa la producción de enzimas hidrolizantes o las bombas de expulsión entre otros (Cabrera y col,2007).

La transmisión de dichas infecciones está asociada principalmente al inadecuado lavado de manos del personal hospitalario en la atención entre cada paciente, también se encuentran la dispersión de aerosoles, el uso de sondas, catéteres, intubación/ventilador, métodos de diagnóstico como endoscopias o biopsias, al igual que los procedimientos quirúrgicos (Fariñas y col, 2010) o bien al momento de introducir al paciente sustancias contaminadas a sitios normalmente estériles.

El uso de dispositivos médicos permite a los microorganismos ganar un acceso directo a los tejidos, órganos y sistemas, aumentando el riesgo de que se presente una IN. Las IN se pueden presentar en todas los servicios hospitalarios pero principalmente en las UCI con más

del 20% de los pacientes infectados y una mortalidad mayor del 30.0% cuyo manejo genera altos costos de atención (Molina y col, 2011).

Para controlar la transmisión de patógenos nosocomiales es muy importante la higiene adecuada de superficies, instrumentos y diversos materiales, utilizando procedimientos de limpieza, esterilización, antisepsia y desinfección (Rutala y col, 2004). La desinfección incluye procedimientos físicos o químicos para descontaminar objetos reutilizables, equipos, superficies o sitios anatómicos, con el fin de cortar la cadena de transmisión. La desinfección es cualquier proceso físico o químico que destruye microorganismos patógenos y no patógenos, pero no sus esporas. Dentro de los procesos físicos se encuentran la desinfección térmica y la desinfección química en la que se utilizan diversos compuestos alcohólicos, derivados de aldehídos, bisfenoles, peróxidos, halógenos y compuestos cuaternarios de amonio; dentro de estos últimos se encuentra el cloruro de benzalconio (Acosta y col, 2008).

Recientemente se ha informado que los microorganismos multirresistentes a los antibióticos también han aumentado su tolerancia a los agentes desinfectantes (Meyer y col. 2010) como el CBK (cloruro de benzalconio) que es un compuesto cuaternario de amonio (CCA) altamente utilizado en el ámbito hospitalario e industrial. Su uso indiscriminado provoca una presión selectiva de algunos microorganismos resistentes a los antibióticos, ya que algunos mecanismos de resistencia a los antimicrobianos también participan en la sobrevivencia de los microorganismos al CBK (Buffet y col, 2012).

El CBK es activo frente a distintos agentes bacterianos causantes de IN entre los que se destacan *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* y *Escherichia coli*. Este último es un importante patógeno oportunista causante de diversas IN entre las que destacan infección en vías urinarias, neumonía, meningitis, celulitis, infecciones del sitio quirúrgico, bacteriemia e infecciones asociadas a catéteres vasculares (Galván y col, 2011).

La múltiple resistencia a los antibióticos en *E. coli* está relacionada a la producción de β -lactamasas de espectro extendido (β LEE), por impermeabilidad, alteración de las PBP's (Penicillin Binding Proteins) y bombas de eflujo principalmente en contra de los antibacterianos β -lactámicos (Casellas, 2012), por lo que es posible la resistencia cruzada a los desinfectantes.

Es por ello que debe tomar importancia a la buena práctica de los procesos de desinfección con métodos efectivos y estandarizados para su aplicación en superficies.

ANTECEDENTES

La primera referencia de impacto, en relación con las infecciones nosocomiales, la realizó Ignaz Semmelweis en 1847, quien, basado sólo en la observación, relacionó tasas mayores de mortalidad debidas a la fiebre puerperal, a un menor apego al lavado de manos. Gracias a la implementación de la higiene de manos con una solución de cal clorada, disminuyó la tasa de mortalidad. El concepto de antisepsis o antiseptia es introducido hasta 1867 por el cirujano británico Joseph Lister, profesor de cirugía de Glasgow. Actualmente es considerado el padre de la antiseptia, debido a su publicación en el seminario médico Lancet, en el que describe un método para el tratamiento de fracturas con comentarios sobre las condiciones de la supuración, donde opina que los microorganismos del aire llegan a contaminar las heridas. Lister recomendaba operar bajo el vaporizador de fenol, como un agente desinfectante efectivo. El 9 de agosto del mismo año, imparte una plática en el Colegio de Médicos de Dublín, titulada: “Sobre el principio antiséptico de la práctica de la cirugía” (Arreguín y col, 2012).

La palabra antiséptico designa a un germicida que se aplica sobre la piel y otros tejidos vivos, a diferencia de los desinfectantes, que son sustancias que se utilizan sobre objetos inanimados debido a que pueden dañar la piel y otros tejidos. El empleo de antisépticos es un proceso muy frecuente en todas las organizaciones al cuidado de la salud y su empleo correcto, junto con la limpieza adecuada, son los elementos clave para evitar las infecciones en los nosocomios (De la Cruz, 2013).

Los microorganismos son destruidos por los antisépticos y desinfectantes de manera dependiente de la concentración y tiempo de exposición. Desde 1875, Bucholtz determinó la MIC del fenol frente a distintas especies bacterianas, también Robert Koch que hizo mediciones del poder inhibitorio del cloruro de mercurio frente a las esporas de *Bacillus anthracis*, después Geppert en 1889 utilizó un neutralizante y obtuvo resultados reproducibles. Sin embargo, Kronig y Paul en 1897 publicaron un estudio que constituye la base de los actuales ensayos al observar: 1) que no todas las bacterias mueren al mismo tiempo, y que esto depende de la concentración del producto; 2) que los desinfectantes pueden ser comparados sólo cuando se ensayan bajo condiciones controladas; 3) que el número de bacterias debería de ser constante, 4) que los resultados de los ensayos eran más exactos cuando se determinaba el número de supervivencia en placas de cultivo. Sin embargo hasta nuestros días, no hay un esquema

universal para ensayar la actividad biocida (Hernández, 2006). Pero estos ensayos modificados a lo largo de la historia son de suma importancia ya que arrojan resultados de cómo deben ser utilizados los desinfectantes y antisépticos.

Existen varios tipos de biocidas entre los que se encuentran los alcoholes, aldehídos, anilidas, biguanidas, bisfenoles, diamidinas, derivados de metales pesados, halogenados, peróxidos, fenoles y cresoles, CCA (McDonnell y col, 1999), pero existen bacterias que han ido aumentando su tolerancia a dichos desinfectantes, como por ejemplo: *Pseudomonas aeruginosa* se ha implicado como contaminantes de cloruro de benzalconio, clorhexidina u otros CCA que puede crecer en altas concentraciones ($\geq 1,000 \mu\text{g/mL}$), la tolerancia a clorhexidina de *Proteus mirabilis*, en condiciones que implicaban la exposición repetida a bisbiguanida, fue reportado por Gillespie, posteriormente Stickler encontró que mientras que los países de ingreso mediano que utilizan como desinfectante clorhexidina las MIC's frente a cepas control de *Proteus mirabilis* fueron 20-50 $\mu\text{g/mL}$, las MIC's contra aislados clínicos de este organismo varió desde 10.0 hasta 800.0 $\mu\text{g/mL}$ (Russell, 2002).

Los desinfectantes deben utilizarse de forma adecuada en la práctica clínica y otras industrias. Diversos estudios han demostrado que al exponer al cloruro de benzalconio por debajo del 25.0% de la MIC, un aislamiento de *E. coli* induce una selección de una subpoblación tolerante a éste y que dichas características son heredadas (Moen y col, 2012). También se ha demostrado que las biopelículas de *E. coli* tiene una susceptibilidad reducida a ciprofloxacina y es resistente al CBK y otros desinfectantes (Pagedar, 2012).

Infecciones nosocomiales

La infección nosocomial (IN) es aquella contraída en el hospital por un paciente internado por una razón distinta de esa infección. Una infección que se presenta en un paciente internado en un hospital o en otro establecimiento de atención de salud en quien la infección no se había manifestado ni estaba en período de incubación en el momento de ser internado. Comprende las infecciones contraídas en el hospital, pero manifiestas después del alta hospitalaria y también las infecciones ocupacionales del personal del establecimiento (WHO, 2002). Las IN tienen un origen multifactorial, entre los que intervienen: los agentes

infecciosos, los procedimientos médicos, los dispositivos médicos, el huésped y el medio ambiente. En cuanto a los agentes infecciosos hay que tener en cuenta su naturaleza (bacterias, virus, hongos o parásitos), sus atributos para causar enfermedad (virulencia, toxigenicidad), la estabilidad de su estructura antigénica, así como su capacidad de resistencia múltiple a los agentes antimicrobianos. El segundo elemento de la cadena es el huésped, en el que desempeñan una función importante sus mecanismos de resistencia. El tercer y último elemento de la cadena sería el medio ambiente tanto animado como inanimado, que está constituido por el propio entorno hospitalario, los equipos e instrumental para el diagnóstico y tratamiento, los materiales de curación y las soluciones desinfectantes, y sobre todo del personal hospitalario (Nodarse, 2002).

Actualmente existe preocupación en todos los países por las IN, por su notable repercusión en morbilidad, mortalidad y costos (López, 2012), por lo que se consideran un problema de salud pública. En México se ha estimado que la frecuencia de infecciones en unidades hospitalarias varía desde 2.1 hasta 15.8%, siendo las UCI las que enfrentan una situación más preocupante ya que cerca del 23.2% de los pacientes desarrollan alguna infección, siendo las más común la neumonía, seguida de la infección urinaria, en herida quirúrgica y la del torrente sanguíneo como se muestra en la Figura 1 (Secretaria de Salud, 2011). Del mismo modo en la figura 2 se muestra la frecuencia de aislamiento de los principales patógenos causantes de infección hospitalaria.

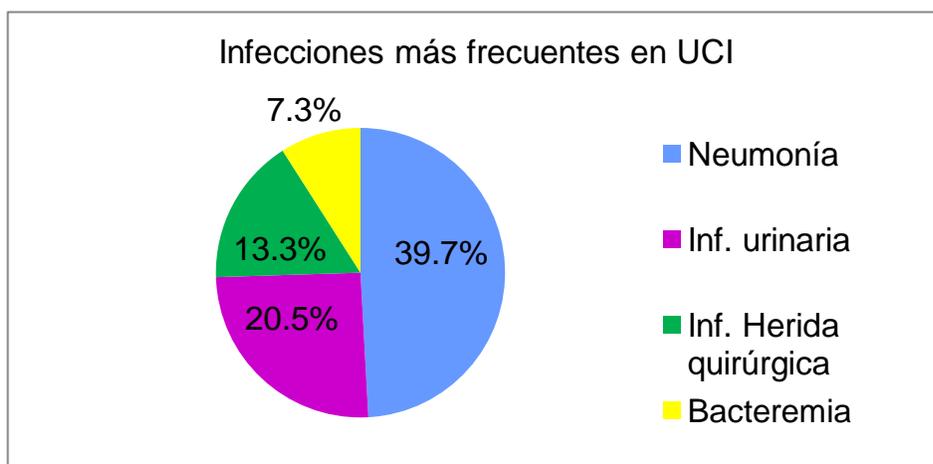


Figura 1. Frecuencia y tipo de infecciones hospitalarias en México (Secretaria de Salud, 2011)

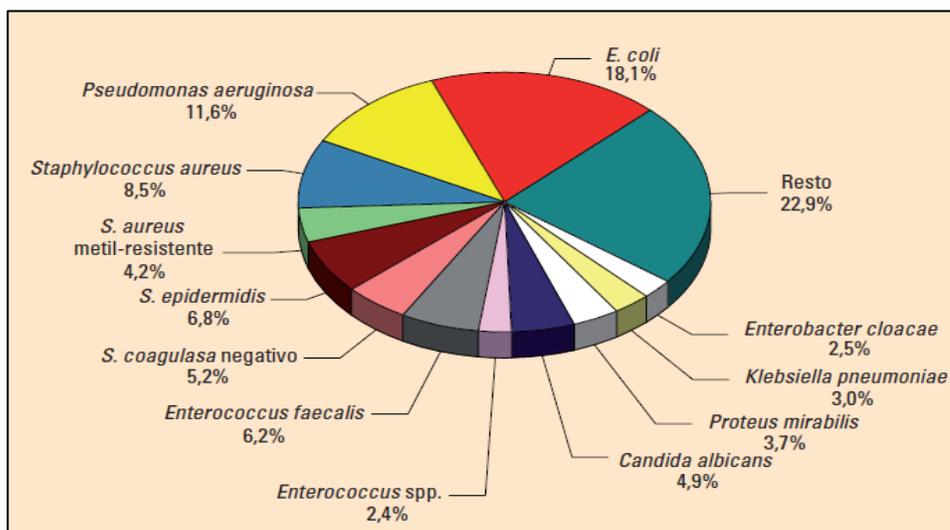


Figura 2 Frecuencia de aislamiento de los principales causantes de infección hospitalaria en España (Fariñas y col, 2010)

Para establecer el impacto económico que ocasionan estas infecciones varios estudios en México han estimado que el costo promedio de un caso de IN es de aproximadamente \$4,200.00 de dólares. En 2009, a través de la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica en México se registraron 37,258 casos de IN, lo que implicaría que hubo un gasto de 160 millones de dólares en ese año, esto representa 2% del presupuesto total asignado de la Secretaría de Salud (Arreguín y col, 2012), pero dentro de estos gastos no se incluyen la pérdida de productividad, licencia por enfermedad, subsidios, secuelas o muerte, al igual que tampoco contiene el gasto de centros de salud especializados debido a que se utiliza para el diagnóstico tecnología más avanzada lo que incrementa su costo.

Alrededor del 5.0% de los pacientes contraen alguna IN. Generalmente, los afectados están recibiendo terapias inmunosupresoras o con antibióticos de amplio espectro, los sometidos a procesos quirúrgicos complejos (trasplantes de órganos, prótesis) o procedimientos de diagnóstico agresivo (Parra, 2010). De la misma forma, otros grupos más susceptibles de adquirir IN son personas en edades extremas como neonatos ya que estos pueden contar con problemas como inmadurez, malformaciones congénitas o cirugías (Gonzales y col, 2011) y los ancianos por sus cambios fisiológicos del envejecimiento, desnutrición y con deterioro del sistema inmunitario (Canut, 2007).

La muerte de un ser humano se constituye en una tragedia que afecta de manera traumática la dinámica de las familias afectadas. Este evento representa además años de vida potencialmente perdidos con consecuentes costos sociales que dependen de la edad y la actividad de la persona en el momento del fallecimiento (Secretaria Distrital de Dirección de Salud Pública, 2010). En México la probabilidad de morir por una IN es del 6.0% de acuerdo a los resultados arrojados en un estudio realizado en la Unidad Médico de Alta Especialidad (UMAE) del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en la Ciudad de México (López y col, 2012), como se muestra en la Figura 3.

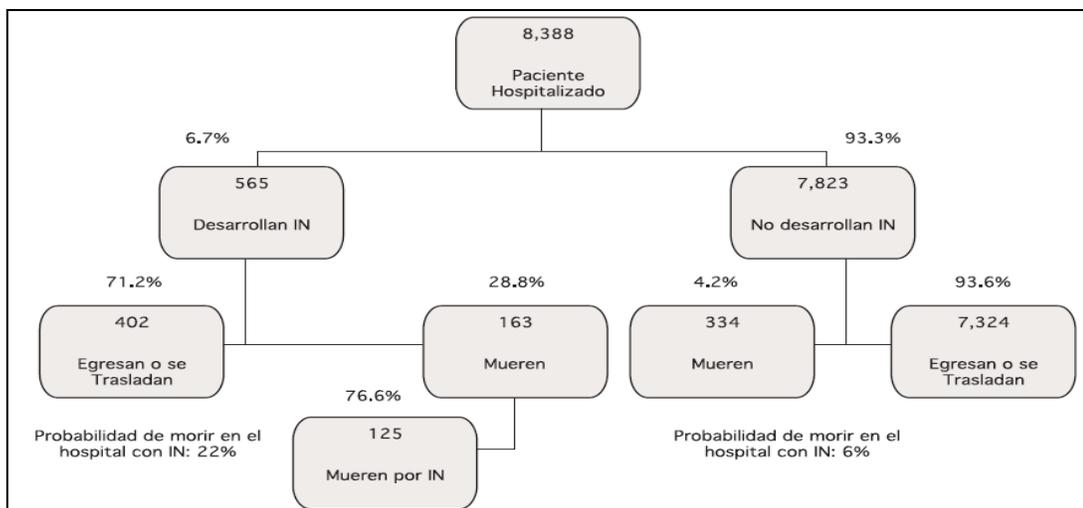


Figura 3 Frecuencia y probabilidad de muerte por infección nosocomial (Lopez y col, 2012)

Los esfuerzos para prevenir las IN deben comenzar con un mejor conocimiento de los factores principales que las favorecen y de cómo intervenir para prevenir o reducir el riesgo de que ocurra la infección, ya que muchas de las actividades de prevención no son costosas y, en muchas ocasiones, menos costosas de lo que supone el cuidado de un paciente con infección (De las Cuevas, 2009).

Control y Prevención de Infecciones

Para prevenir una IN es necesario saber qué son y cómo es su cadena de transmisión, con el fin de romper o bloquear la vía de contagio de manera consciente. Esencialmente se compone de higiene, limpieza, desinfección, esterilización (Pérez y col 2010), precauciones estándar que implican: el correcto lavado de manos, uso de guantes, bata, cubre bocas eficientes, lentes de protección, el manejo adecuado de instrumentos punzocortantes por último la ropa sucia o contaminada. También es de suma importancia que se conozcan los mecanismo de transmisión de los gérmenes que causan las IN son el contacto con vehículos contaminados como manos del personal o instrumentos médicos, quirúrgicos y/o diagnósticos, incluso superficies contaminadas al igual las gotas de saliva expulsadas por enfermos o portadores asintomáticos (Anaya y col, 2009).

El lavado correcto de las manos es de mayor importancia ya que si no se realiza de manera adecuada es uno de las vías de transmisión de microorganismos de mayor impacto dentro del área, ya que después del contacto con los pacientes y/o un ambiente contaminado, los microorganismos pueden sobrevivir desde 2 a 60 minutos. Por lo anterior, las manos trabajadores sanitarios se vuelven progresivamente colonizados con flora comensal, así como con patógenos potenciales durante la atención al paciente. En la ausencia de acción higiénica de las manos, mayor será el grado de contaminación, porque lo que varios estudios realizados han demostrado que los integrantes del equipo médico pueden llegar a ser portadores de bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas (WHO, 2009).

Existen guías o lineamientos dirigidos a los trabajadores de la salud con el fin de aplicarlos para controlar las IN y para establecer estrategias relacionadas con el uso y aplicación de dispositivos médicos o bien para la protección del personal. En ellas se hacen recomendaciones basadas en información científica y adaptada al medio, como la introducción de listas de chequeo, el lavado de manos y los sistemas de vigilancia y supervisión (Álvarez y col. 2010).

Limpieza, Desinfección y Esterilización de Dispositivos Médicos

La limpieza, desinfección y esterilización de dispositivos médicos reutilizables juegan un papel de suma importancia en los nosocomios ya que desde que ingresa, el paciente se encuentra en constante contacto con ellos. La desventaja es que pueden transmitir microorganismos patógenos y si las actividades mencionadas anteriormente no se llevan a cabo de la manera adecuada la cadena epidemiológica de la infección no es eliminada.

La limpieza es la eliminación de material orgánico e inorgánico de la superficie y objetos, se puede llevar a cabo de forma manual o mecánicamente con ayuda de detergentes o productos enzimáticos. Este paso es esencial, ya que la materia no removida interfiere con la eficacia de la desinfección y/o esterilización (DCD, 2008). La desinfección es la destrucción de microorganismos patógenos pero no sus esporas por medio de un proceso físico (filtración, microondas) o químico (alcohol, peróxido de hidrógeno, halógenos, compuestos cuaternarios de amonio, fenoles, glutaraldehído o formaldehído) (Ryan y col, 2011). La eficacia de los métodos de desinfección se ven afectados por ciertos factores entre los que se encuentran: la cantidad y ubicación de los microorganismos, resistencia al agente químico, la concentración utilizada, factores químicos y físicos, duración de la exposición y la presencia de materiales extracelulares o biopelículas (Acosta y col, 2008).

Clasificación de Spaulding

El Dr. E. H Spaulding en el año de 1972 elaboró un sistema de clasificación del material a desinfectar o esterilizar, dependiendo del riesgo infeccioso que representa para el paciente. El sistema se divide en tres categorías (Spaulding, 1972).

Materiales críticos: Son aquellos que al ser utilizados o insertados representan un alto riesgo de infección para el paciente si estuvieran contaminados con cualquier microorganismo o sus esporas. Dentro de estos se consideran todos los objetos que entran en tejido o cavidades estériles o en el torrente sanguíneo por ejemplo: instrumental quirúrgico, catéteres intravenosos

ya sean periféricos o centrales, prótesis, implantes, agujas. Estos siempre deben de ser esterilizados antes de su uso (CDC, 2009).

Materiales semicríticos: Son aquellos que entran en contacto con la piel no intacta y las mucosas. Estos materiales deben estar exentos de todo microorganismo patógeno, a excepción de esporas bacterianas. Dentro de esta clasificación se consideran los equipos de terapia respiratoria, instalaciones o equipos de hidroterapia, endoscopia gastrointestinal, tubos endotraqueales y de aspiración, broncoscopios, laringoscopios, material odontológico. Estos materiales deben ser esterilizados o someterse a una desinfección de alto nivel (CDC, 2009).

Materiales no críticos: Son aquellos que están en contacto con la piel intacta, como por ejemplo mascarilla de oxígeno, baumanómetro, electrodos para diagnóstico neurológico o cardiacos, estetoscopios, termómetros, paredes y pisos. Estos materiales deben ser sometidos a una desinfección de bajo nivel o nivel intermedio como proceso terminal (CDC, 2009)

Niveles de Desinfección

Nivel alto de desinfección: Este procedimiento elimina hongos, virus y bacterias, pero no necesariamente a todas las esporas bacterianas. Tales desinfectantes son capaces de esterilización cuando el tiempo de contacto es relativamente largo (por ejemplo, 6 a 10 horas). Como desinfectantes de alto nivel, que se utilizan durante periodos de tiempo relativamente cortos (por ejemplo, 10 a 30 minutos). Estos germicidas químicos son esporicidas potentes y, en los Estados Unidos, se clasifican por la FDA (Food and Drug Administration por sus siglas en Ingles) como esterilizantes / desinfectantes. Están formulados para su uso en dispositivos médicos, pero no en superficies ambientales tales como mesas, paredes o pisos; por ejemplo: peróxido de hidrógeno 6%, ácido cloroso, glutaraldehído alcalino 2%, dióxido de cloro, combinaciones de peróxido de hidrógeno y ácido paracetico, entre otros (CDC, 2009).

Nivel intermedio de desinfección: Este procedimiento elimina microorganismos vegetativos, incluyendo *M. tuberculosis*, todos los hongos, inactiva la mayoría de los virus. En este procedimiento pueden utilizarse germicidas. Ellos son comúnmente utilizados en los laboratorios para la desinfección de mesas y bancos de laboratorio y como parte de detergentes

germicidas utilizados para fines de limpieza (CDC, 2009). Por ejemplo ácido paracético, alcohol etílico 70%, alcohol isopropílico 70-90% yodo-povidona, fenoles.

Nivel bajo de desinfección: Este procedimiento elimina las bacterias vegetativas excepto *M. tuberculosis*, algunos hongos y algunos virus. La EPA (Environmental Protection Agency por sus siglas en Ingles) aprueba germicidas químicos utilizados en este procedimiento en los EE.UU. como "desinfectantes hospitalarios" o "desinfectantes" (CDC, 2009). Por ejemplo compuestos cuaternarios de amonio, hipoclorito de sodio (1000 ppm) utilizados para desinfección de termómetros, baumanómetro, estetoscopios, o cualquier material que este en contacto con la piel intacta del paciente.

La esterilización está destinada a eliminar cualquier vida microbiana incluyendo las esporas tanto fúngicas como bacterianas que estén presentes en objetos o sustancias, por lo que es considerada como el nivel más alto de seguridad. Se lleva a cabo por medio de métodos físicos o químicos (vapor bajo presión, calor seco, gas óxido de etileno, peróxido de hidrógeno) (CDC, 2008). Los métodos de esterilización dependerán de la composición de los materiales, y se puede ver afectada por ciertos factores como el número y tipo de microorganismos presentes en el material, presencia de materia orgánica, tiempo, temperatura, humedad relativa y estandarización de la carga. Se deben de someter a esterilización todos los objetos que estén en contacto con el torrente sanguíneo o territorio orgánico estéril (Acosta y col, 2008). Para que la esterilización se realice de la mejor manera, existen tres tipos de control que se pueden utilizar, son: control físico, químico y biológico (Vazquez, 2001).

Importancia de los Desinfectantes y su Utilización

En el ámbito hospitalario, la desinfección se realiza con agentes químicos líquidos de forma manual; las fallas en este tipo de desinfección dan lugar a complicaciones infecciosas o inflamatorias graves. El papel de las superficies ambientales contaminadas en la transmisión de microorganismos también es resaltado por el hecho de que la limpieza y desinfección del ambiente puede reducir la incidencia de colonización o infección (Menis y col. 2011). Tiene la finalidad de preparar el ambiente para sus actividades, manteniendo el orden y conservando

equipamientos e instalaciones, evitando principalmente la diseminación de microorganismos responsables de las infecciones relacionadas a la asistencia de salud (Torres, 2010). Un factor importante a tener en cuenta para establecer una política de uso de desinfectantes y antisépticos en hospitales es la estandarización de métodos de control de calidad de estos productos de acuerdo con la naturaleza, el estado físico de las sustancias y el uso al que están destinadas. La capacidad bactericida es un parámetro importante para definir una política adecuada con el objetivo de disminuir el consumo y los gastos para lograr una mayor eficiencia (Rodríguez, 2006). En la Tabla 1 se describen las características de antisépticos y desinfectantes que deben poseer para actuar con eficacia.

Tabla 1. Características de desinfectantes y antisépticos

Antisépticos	Desinfectantes
• Amplio espectro de actividad	• Germicida de amplio espectro
• Bajo costo	• Bajo costo
• Inocuo para tejidos vivos	• No corrosivo, no alterar objetos
• No tóxico	• Baja toxicidad
• Rapidez y eficacia en materia orgánica	• Amplia acción
• Efecto acumulativo y residual	• Disponibilidad
• Baja capacidad de generar resistencia	• No generar resistencia
• No irritante ni sensibilizante	• Soluble en agua
• No teñir los tejidos	• Estabilidad conveniente
• No poseer olor desagradable	• Sin olor desagradable
• Compatible químicamente con otras sustancias	

(Sánchez y col, 2005)

Un gran número de desinfectantes y antisépticos son utilizados en los hospitales (Ruiz y col, 2012). Solo se pueden utilizar productos desinfectantes estandarizados, en la concentración y tiempo recomendado por el fabricante, al igual que los productos que estén en recipientes rotulados y dentro de un plazo de validez. Se debe usar rutinariamente jabón o detergente para los procesos de limpieza de superficies, siendo los desinfectantes restringidos a situaciones específicas como por ejemplo presencia de materia orgánica y microorganismos multirresistentes. No se debe mezclar productos desinfectantes, excepto cuando esté indicado por el fabricante, pues esas mezclas pueden ser peligrosas cuando son inhaladas, de igual manera que causan daño al medio ambiente y sus principios activos pueden ser neutralizados e

inactivados y sólo se deben preparar soluciones solamente para uso inmediato, evitando el almacenamiento por largos períodos (Torres, 2010).

Para desinfectar dispositivos médicos se utilizan alcoholes, compuestos de cloro, formaldehído, glutaraldehído, ortoftalaldehído, peróxido de hidrógeno, ácido peracético, yodóforos, compuestos fenólicos y compuestos de amonio cuaternario (Oz y col, 2012). También pueden ser utilizados en los hogares, sanitarios y albercas (McDonell y col, 1999). A continuación en la Tabla 2 se muestra la lista de antisépticos y desinfectantes de uso en hospitales y para qué son utilizados.

Tabla 2. Grupo funcional de antisépticos, desinfectantes y su uso.

Clasificación de los Antisépticos y Desinfectantes Según Grupo Químico		
Grupo químico	Clase	Usos
Alcoholes	Etanol	Antisepsis
		Desinfección
		Preservación
Aldehídos	Glutaraldehído	Desinfección
	Formaldehído	Esterilización
		Preservación
Anilidas	Triclocarbán	Antisepsis
Biguanidas	Clorhexidina	Antisepsis
	Alexidina	Antisepsis
	Biguanidas poliméricas	Preservación
Bisfenoles	Triclosán	Antisepsis
	Hexaclorofeno	Desodorante
		Preservación
Diamidinas	Propamida	Antisepsis
	Dibromopropamida	Preservante
Fenoles	Fenol	Desinfección
Cresoles	Cresol	Preservación

Halofenoles	Cloroxilenol	Antisepsis
	(PCMX)	Preservación
Agentes liberadores	Compuestos de cloro	Desinfección
	Compuestos de yodo	Antisepsis
		Blanqueador
Metales pesados	Compuestos de plata	Preservación
	Compuestos de mercurio	Antisepsis
	Compuestos de cobre	Desinfección
	Compuestos de zinc	
Peroxígenos	Peróxido de hidrogeno	Desinfección
	Acido paracético	Esterilización
	Permanganato de potasio	
	Ozono	
Compuestos cuaternarios de amonio	Cloruro de benzalconio	Desinfectante
	Cetrimida	Antisepsis
		Preservante
		Blanqueador
Colorantes	Acridinas	Antisepsis
	Trifenilmetanos	

(Sánchez y col, 2005)

Compuestos Cuaternarios de Amonio (CCA)

Los CCA son un conjunto de compuestos con actividad antimicrobianos, con un átomo de nitrógeno cuyas cuatro valencias están ocupadas por grupos tipo alquilo de complejidad variable. Son solubles en agua y en alcohol y poseen propiedades tensioactivas. Además poseen un fuerte poder detergente y potencian la actividad de los aldehídos. Son compuestos de esta familia el amoniaco, el bromuro de laurildimetilbenzalmonio, el bromuro de cetrimonio, el

cloruro de benzalconio, el cloruro de dodecildimetilamonio o el cloruro de etilbenzilo (Del Río y col, 2010). Los compuestos cuaternarios son buenos agentes de limpieza, sin embargo, materiales tales como algodón y almohadillas de gasa pueden hacer que sean menos microbicida debido a que estos materiales absorben los ingredientes activos. Al igual que con varios otros desinfectantes (CDC, 2003).

Los agentes catiónicos reaccionan con los componentes de fosfolípidos en la membrana citoplasmática, distorsionando la membrana y posterior lisis de protoplastos bajo estrés osmótico (Husain, 2008). El espectro de actividad de estos productos es bastante elevado frente a bacterias Gram positivas pero no así frente a las Gram negativas. Actúan bien contra hongos y virus con envoltura, pero su efecto es escaso frente a virus sin envoltura y casi nula frente a micobacterias y esporas (CDC, 2003). Los CCA son esporostáticos que inhiben la excrecencia de las esporas (el desarrollo de una célula vegetativa a partir de una spora germinada) pero no en los procesos de germinación reales. Del mismo modo, los CCA no son micobactericidas pero tienen una acción mico bacteriostática, aunque sus efectos reales en micobacterias han sido poco estudiados (Husain, 2008). Es interesante señalar que hay microorganismos, como *Pseudomonas* spp., que en presencia de algunos CCA logran reproducirse (Langsrud y col, 2004). Su actividad está muy influenciada por las propiedades del medio, como por ejemplo el pH, la temperatura o la presencia de restos proteicos, llegando a inactivarse por la presencia de sustancias orgánicas.

Son generalmente incoloros o amarillentos, no irritantes y desodorantes. Por su estructura química a bajas temperaturas tienden gelificar pero recuperan su estado líquido al calentarlos y no generan vapores. Presentan algunas ventajas sobre otros desinfectantes, ya que no son corrosivos y son estables a altas temperaturas. El intervalo óptimo de pH para su acción antimicrobiana, se encuentra entre 6 y 10. Son neutralizados con detergentes aniónicos (Campos y Manzano, 2007).

Estos compuestos en soluciones concentradas del 10.0% y mayores, son tóxicos, causan la muerte si se administran internamente y grave irritación cutánea u ocular si se aplican externamente. Con las precauciones y normas de manejo habituales la probabilidad de que se produzcan estos efectos es remota, porque se emplean soluciones muy diluidas. A una concentración del 0,1 % son irritantes para la piel por su capacidad de solubilizar las membranas lipídicas, algunos, producen dermatitis profesional y sensibilización cutánea

(bromuro de laurildimetilbenzalmonio, bromuro de cetrimonio, cloruro de benzalconio, cloruro de dodecilmetilamonio) y también asma, como el cloruro de benzalconio (Del Rio P y col, 2010).

Mecanismo de Acción Biocida de los CCA

Los CCA se enlazan positivamente a las cargas eléctricas negativas en la membrana de la célula bacteriana, causando daño bajo los siguientes mecanismos: adsorción y penetración a través de la membrana de la célula, unión a componentes de la membrana tanto lípidos como proteínas, desorganización de las membranas celulares y a concentraciones más elevadas provoca fugas con la consiguiente pérdida de material de bajo peso molecular, degradación intracelular de proteínas y ácidos nucleicos, lisis de componentes de la pared celular mediante la liberación de enzimas autolíticas y la pérdida completa de la organización estructural de la célula (Tischer y col, 2012).

Cloruro de Benzalconio

El cloruro de benzalconio es una sal derivada de los compuestos cuaternarios de amonio fue el primer compuesto de este tipo introducido en el mercado, con buena actividad bactericida (Sánchez y col, 2005), cuya fórmula condensada es n-alquilmetilbencil cloruro de amonio, este tiene dos regiones un grupo hidrofóbico (hidrocarburo) y un grupo hidrofílico, lo que le da naturaleza catiónica. El CBK predominantemente tienen longitudes de cadena en el intervalo de 12 a 14 alquilos ya que estos son los que presentan mejor actividad antibacteriana, su efecto antimicrobiano está implicado en una asociación entre el nitrógeno cuaternario cargado positivamente del CBK y los grupos de cabeza cargados negativamente de fosfolípidos ácidos en las membranas bacterianas. Una vez que esto ocurre, la cola hidrofoba del CBK se integra en el núcleo de la membrana hidrofoba bacteriana, pero también se le atribuye la inactivación de enzimas productoras de energía, desnaturalización de proteínas y ruptura de membrana (Buffet y col, 2012). Es muy utilizado en los hospitales de México, debido a su bajo costo, fácil aplicación y disponibilidad (Lopez y col, 2012). En la Figura 4 se muestra la estructura química de este compuesto.

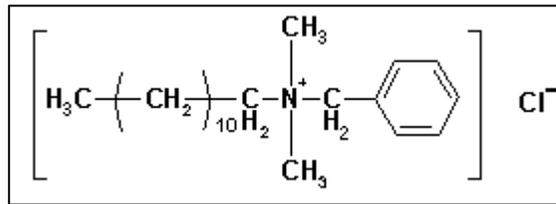


Figura 4. Estructura química del Cloruro de Benzalconio (Husain, 2008)

La resistencia o adaptación al CBK puede ocurrir cuando un organismo posee diversos mecanismos de resistencia a los antimicrobianos, incluyendo reducción de la permeabilidad o absorción, mayor flujo de salida, la inactivación enzimática, alteración de la diana de uno o más fármacos, o la pérdida de las enzimas implicadas en la activación de drogas. Estos mecanismos de resistencia pueden deberse a mutaciones de los genes que confieren la inactivación de porinas o la sobreexpresión de β -lactamasas o bombas de expulsión. Además, los genes de resistencia pueden ser localizados en elementos genéticos móviles que son transferibles entre bacterias (Buffet y col, 2012).

Generalidades de *Escherichia coli*

Escherichia coli perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae* que está constituida por un grupo grande y heterogéneo de bacterias Gram negativas. Reciben su nombre por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo, encontrándose de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación, así como formando parte de la flora intestinal normal de muchos animales además del hombre. *E. coli*, el microorganismo más prevalente de esta familia, es una de las bacterias prototípicas sometidas a estudio (Puerta y col, 2010). Esta bacteria es un bacilo corto Gram negativo, no formadora de esporas, catalasa positiva, oxidasa negativa y anaerobio facultativo. La mayoría de dichas cepas fermentan la lactosa, típicamente es rojo de metilo positivo, Voges- Proskauer negativo, produciendo indol, al igual que movilidad positiva (Sánchez y col, 2011).

Por lo general, las cepas de *E. coli* patógenas utilizan múltiples mecanismos de patogénesis de manera similar a las otras bacterias que infectan mucosas, con las etapas de adhesión y colonización de la mucosa, evasión de los mecanismos de defensa, multiplicación y daño tisular (Kaper y col, 2004). El tipo de interacción resultante entre microorganismo y hospedador, permite clasificar las cepas de *E. coli* como comensales avirulentos, como patógenos oportunistas o altamente especializados, que a su vez son frecuentemente clasificados en patotipos de acuerdo con el tipo de enfermedad que causan y por su conjunto de factores de virulencia (Sousa, 2006).

E. coli es la especie bacteriana recuperada con mayor frecuencia de los laboratorios clínicos y ha sido incriminada en enfermedades infecciosas que afectan casi a cualquier tejido y sistema orgánico humano. Es uno de los microorganismos más frecuentes involucrado en sepsis por Gram negativos y en el shock inducido por endotoxinas (Koneman y col, 2008). Al colonizar tejidos extraintestinales induce procesos inflamatorios piogénicos similares a otras bacterias y en ocasiones, de mayor intensidad por los factores propios de estas bacterias. Se ha mencionado que es la bacteria que produce más infecciones en heridas en los hospitales. Puede infectar vías respiratorias y las meninges, como consecuencia de una invasión sanguínea. También se pueden instalar en el hígado y otros órganos, cuando hay una perforación intestinal, puede causar peritonitis, las infecciones urinarias son producidas por *E. coli* en más del 70% de los casos y según algunas estadísticas puede ser el agente etiológico de la enteritis y enterocolitis conocida comúnmente como diarreas del viajero (Romero, 2007). *E. coli* se serotipifica sobre la base de sus antígenos de superficie O (somático), H (flagelar) y K (capsular) (Koneman y col, 2008).

En el ambiente hospitalario, *E. coli* es capaz de contaminar y colonizar diversos materiales y dispositivos por ejemplo la sonda urinaria, instrumento quirúrgico, tubo de ventilación mecánica, catéter vascular, lentes de contacto, conectores, dispositivos intrauterinos, válvulas cardíacas, marcapasos, catéteres de diálisis (Castrillón y col, 2010); al igual que superficies que actúan como medio de transporte por ejemplo estetoscopios, ropa de cama, mesas para alimentación, corriente de aire central, depósitos de agua (Rubio, 2012).

Entre las cepas de *E. coli* patógenas extraintestinales (ExPEC), están incluidas las cepas de *E. coli* asociadas a meningitis (MAEC) y las uropatógenas (UPEC). Esas cepas

comparten muchos factores de virulencia, además algunos clones pueden causar ambos tipos de infección. Dentro de las UPEC, algunas cepas exhiben la adherencia difusa a células en cultivo y comparten los mismos tipos de adhesinas con *E. coli* con adherencia difusa (DAEC) que es un patotipo heterogéneo, epidemiológicamente vinculado a síndromes diarreicos y ha sido aislado de individuos con infección urinaria y diarrea simultáneamente. También hay cepas de *E. coli* productoras de toxina Shiga (STEC) causante de infecciones urinarias. Ese patotipo es caracterizado por la producción de las toxinas Shiga que usualmente son codificadas por bacteriófagos y dentro de ese grupo hay cepas que también son capaces de adherirse a las células epiteliales, borrar el microvello intestinal y provocar la condensación de la actina del citoesqueleto lo que ocasiona la aparición de un pedestal en forma de copa sobre el que descansa la bacteria (Faleiro, 2010).

A su capacidad para causar enfermedad se le une la resistencia antimicrobiana por la producción de β LEE que se ha convertido en un problema clínico en las últimas décadas. Desde el primer informe de un organismo productor de BLEE en la década de 1980, estos se han propagado en todo el mundo (Rubio, 2012).

Muchos de los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* sintetizan β -lactamasas cromosómicas naturales, probablemente derivadas de las propias PBP's con las que tienen analogía secuencial y estructural. Las β LEE se definen como enzimas capaces de hidrolizar las penicilinas, todas las cefalosporinas (excepto las cefamicinas) y las monobactámicos, pero no las carbapenémicos. Se caracterizan por ser inhibidas por el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam. En 1983 se descubrió en Alemania la primera enzima capaz de hidrolizar las cefalosporinas de más amplio espectro (SHV-2), inaugurando el capítulo de las β LEE. En Francia, un año después, se describió una TEM-3 con fenotipo semejante. En 1989 se detectó un aislado clínico de *E. coli* con una enzima diferente a TEM y SHV, que se denominó CTX-M-1 por su actividad hidrolítica preferente por la cefotaxima. Entre 1986 y 1992 aparecieron, casi simultáneamente, las primeras CTX-M en Japón, Alemania, Argentina, Italia y Francia, se pueden seguir mencionando muchas de las β LEE existentes (Seral y col, 2010).

Los microorganismos productores de β LEE frecuentemente son multirresistentes a distintos antimicrobianos, con excepción de los carbapenémicos y cefamicinas. La producción de β LEE se relaciona con fallas terapéuticas y es un serio problema para el control de infecciones en los hospitales (Navarro y col, 2011). *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* son los

productores de β LEE más comunes a nivel mundial. Llama la atención que *E. coli* productora de β LEE, inicialmente descrita como un patógeno nosocomial, se aísla también como causante de infecciones comunitarias (Adrianzén y col, 2013).

Co-resistencia Bacteriana a Antibióticos y Biocidas

Las bacterias están constantemente desafiadas cuando son expuestas a los biocidas desde un nivel subinhibitorio hasta un nivel inhibitorio en entornos domésticos, sanitarios e industriales. Existe una preocupación creciente de que el uso de biocidas tales como el CBK y otros compuestos de amonio cuaternario en estos entornos puede estar contribuyendo al desarrollo de microorganismos con disminución de la sensibilidad a los antibióticos y desinfectantes (Mc Cay, 2010).

La supervivencia a los desinfectantes se presenta cuando i) Una cepa es resistente si no es susceptible a una concentración de desinfectante que se utiliza en la práctica, (ii) Una cepa es resistente si no se inactiva (o, a veces inhibido) por una concentración de desinfectante que inactiva (o inhibe) la mayoría de las cepas de ese organismo, (iii) Las células bacterianas se dice que son resistentes si no son eliminadas por una concentración de desinfectante que destruye la mayoría de las células en un cultivo (Russell, 2002).

La resistencia a los desinfectantes también representan un grave problema en los hospitales debido a que las bacterias están adquiriendo mecanismos con los cuales inhiben su efecto, dichas vías se han asociado a los ya conocidos mecanismos de resistencia bacteriana a los antibióticos por los cuales las bacterias contrarrestan su efecto como lo son: inactivación por destrucción o modificación de la estructura química, alteración del sitio blanco, alteración en las barreras de permeabilidad o bombas de expulsión. Se han realizado estudios en los cuales se ha demostrado que comparten mecanismos de resistencia cruzada y co-resistencia entre ellos (Poole, 2002).

El uso indiscriminado de antibióticos ha dado como resultado la selección de bacterias multirresistentes. Un ejemplo son las enterobacterias productoras de β LEE que causan IN, entre las que se encuentran *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*. Esta

resistencia se ha ubicado en diferentes genes localizados en un transposón, a diferencia del gene *qac EΔ1* que se sobre expresa junto con otros para dar como resultado proteínas que logran expulsar a los biocidas como el CBK al exterior de la célula dando lugar a lo que se conoce como “bombas de expulsión”, dicho gen se describe como parte de un integrón, el cual generalmente contiene varios genes que dan multiresistencia a los antibióticos, tanto los integrones como los transposones se transfieren de forma horizontal entre los distintos grupos bacterianos (Cabrera y col, 2007).

En Francia, Buffet y col., (2011) se evaluó la posible asociación entre la MIC de CCA de varios aislamientos clínicos de *E. coli* y los marcadores resistentes a antibióticos. La MIC de CBK se encontró en un intervalo de 4.0 - 64.0 µg/mL donde las altas concentraciones se asociaron con la resistencia a antibióticos como cotrimoxazol y amoxicilina con lo que se proporcionó una evidencia epidemiológica entre la susceptibilidad antimicrobiana y la susceptibilidad de agentes biocidas. Investigaciones dentro del área industrial alimentaria se encontró que aislamientos de *E. coli* resistentes a amoxicilina y eritromicina presentaron resistencia al CBK (Lavilla 2013). En consecuencia, cualquier método eficaz para contrarrestar el costo de la resistencia bacteriana se debe incorporar no sólo a los proveedores de servicios de salud, sino también a los pacientes, y no sólo a las instituciones sanitarias, sino también a los gobiernos que legislan y regulan las prácticas médicas (Kelley, 2008).

Por lo anterior en el presente trabajo nos proponemos evaluar la actividad inhibitoria y bactericida del CBK frente a aislamientos clínicos y de catálogo de *E. coli* productores y no productores de βLEE.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamientos Bacterianos y Cepas Control

Los aislamientos de *E. coli* que se utilizaron fueron donados por el laboratorio del Centro Médico Dr. Ignacio Chávez de la Ciudad de Hermosillo, Sonora. La identificación y pruebas de susceptibilidad de los aislamientos fueron realizadas por medio del sistema Vitek2. Se analizaron 20 aislamientos de *E. coli* productoras de β LEE y 20 no productoras. Además se trabajó con dos cepas control de *E. coli* ATCC 25922 y ATCC 35218 proporcionadas por el cepario del Departamento de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad de Sonora. Dichos aislamientos se mantuvieron conservados en caldo BHI con glicerol al 15% a -20 °C. En la siguiente tabla se enlistan cada uno de los aislamientos clínicos que se utilizaron en el estudio, agrupados en productores y no productores de β LEE.

Tabla 3. Aislamientos clínicos numerados y agrupados en productores y no productores de BLEE

Aislamientos de <i>E. coli</i>			
No productores de BLEE		Productores de BLEE	
1	11	21	31
2	12	22	32
3	13	23	33
4	14	24	34
5	15	25	35
6	16	26	36
7	17	27	37
8	18	28	38
9	19	29	39
10	20	30	40
Cepas control <i>E.coli</i> ATCC		25922	35218

Cloruro de Benzalconio

Se utilizó el desinfectante hospitalario/comercial (DermoCleen, Degasa S. A. de C. V.) (1.0g/100mL).

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del CBK

Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria del cloruro de benzalconio por el método de microdilución en caldo. Utilizando una placa de 96 pozos de fondo plano. Cada pozo contenía 200.0 μ L de caldo Mueller-Hinton con diferentes concentraciones de CBK: 512.0, 256.0, 128.0, 64.0, 32.0, 16.0, 8.0, 4.0, 2.0, 1.0, 0.50 y 0.0 μ g/mL. El inóculo bacteriano se preparó a partir de un desarrollo colonial en fase logarítmica en agar Mueller-Hinton, igualando la D.O. (630 nm) de los aislamientos en solución salina con el estándar 0.5 de Mcfarland (10^8 UFC/mL). Cada pozo se inoculó con 15 μ L del inóculo estandarizado y se realizaron lecturas de la D.O. (630 nm) (lector de microplacas iMark™ Microplate Absorbance Reader) de los pocillos a tiempo cero y 24 hr, incubando la placa a 37°C (Kawamura y col, 2008). En la Figura 5 se muestra como fue preparada la microplaca. Con las lecturas de la D.O se realizaron gráficas utilizando el programa Excell y para obtener la MIC₉₀ se utilizó la siguiente fórmula (Baizman y col, 2000):

$$\left[\frac{(\text{DO bacterias sin tratamiento} - \text{DO concentración de prueba})}{\text{DO bacterias sin tratamiento}} \right] \times 100 \geq 90$$

(Baizman y col, 2000)

	Concentración de CBK µg/mL (Tratamiento)											
	512.0	256.0	128.0	64.0	32.0	16.0	8.0	4.0	2.0	1.0	0.5	0.0
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

	CBK + CMH + Aislamiento bacteriano 1
	CBK + CMH + Aislamiento bacteriano 2
	CBK + CMH + Aislamiento bacteriano 3
	CBK + CMH sin bacteria
	CBK + CMH + Aislamiento bacteriano 21
	CBK + CMH + Aislamiento bacteriano 22
	CBK + CMH + Aislamiento bacteriano 23
	CBK + CMH sin bacteria

Figura 5. Esquema de inoculación de la microplaca.

Determinación de Actividad Bactericida del CBK

Se seleccionaron aislamientos tanto productores como no productores de β LEE con diferente MIC para evaluar la actividad bactericida del CBK. La evaluación de la actividad bactericida se realizó mediante el método de la cuenta viable en placa (Kampf y col, 1999). El inóculo bacteriano se preparó a partir de un desarrollo colonial en fase logarítmica en agar Mueller-Hinton, igualando la D.O. (630 nm) de los aislamientos en solución salina con el estándar 0.5 de Mcfarland (10^8 UFC/mL), y se pasaron 600.0 µL a un tubo con que contenía 8.0 mL solución reguladora de fosfatos (PBS) (pH=7) estéril en presencia de diferentes concentraciones de CBK. Posteriormente, se tomó 1.0 mL a los tiempos 0s, 30s y 5 min, y se añadió a un tubo que contenía 9.0 mL de caldo BHI con 0.07% de lecitina de soya y 0.5% de tween 80 para inactivar

el desinfectante. Posteriormente se realizaron diluciones seriadas en solución salina estéril, y de cada dilución se sembraron 20.0 μ L distribuyéndolos en la superficie de placas con agar MH (por triplicado) y se incubaron a 37°C por 24hr, se terminó con la cuenta de colonias de cada una de las placas y se obtuvo el número de colonias por mL multiplicando por el factor dilución.

Definición de Concentración Mínima Bactericida

Es aquella menor concentración capaz de producir la muerte *in vitro* de una población bacteriana previamente estandarizada, reduciendo 3 logaritmos del inóculo original, tras 18-24 horas de incubación (Paredes y col, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de la MIC₉₀

Los resultados obtenidos indican que la MIC₉₀ se presentó entre un intervalo de 4.0µg/mL – 16.0µg/mL en los aislamientos no productores de BLEE, mientras que para los aislamientos productores de BLEE la MIC₉₀ fluctuó entre 4.0µg/mL – 32.0µg/mL (ver tabla 4). En las figura 6 y 7 se muestra el desarrollo de los aislamientos productores y no productores de BLEE en ausencia y presencia de distintas concentraciones de CBK.

Tabla 4. Número de aislamientos y MIC₉₀ de los aislamientos de *E. coli* productoras no productoras de BLEE

Aislamientos Clínicos			
No productores de BLEE		Productores de BLEE	
<i>E. coli</i> No.-	MIC ₉₀ µg/mL	<i>E. coli</i> No.-	MIC ₉₀ µg/mL
1	8.0	21	16.0
2	8.0	22	8.0
3	8.0	23	8.0
4	16.0	24	16.0
5	16.0	25	16.0
6	16.0	26	16.0
7	8.0	27	8.0
8	8.0	28	8.0
9	8.0	29	8.0
10	16.0	30	16.0
11	4.0	31	16.0
12	16.0	32	16.0
13	16.0	33	16.0
14	16.0	34	16.0
15	16.0	35	16.0
16	16.0	36	16.0
17	16.0	37	16.0
18	16.0	38	32.0
19	8.0	39	16.0
20	16.0	40	4.0

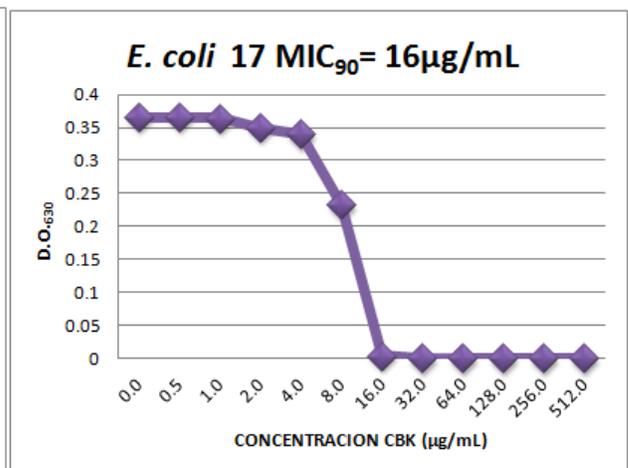
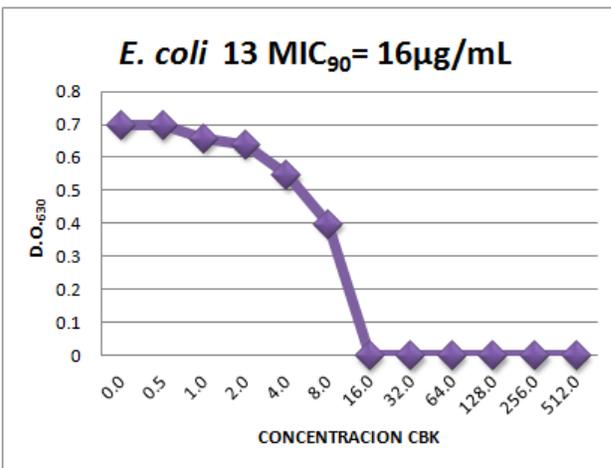
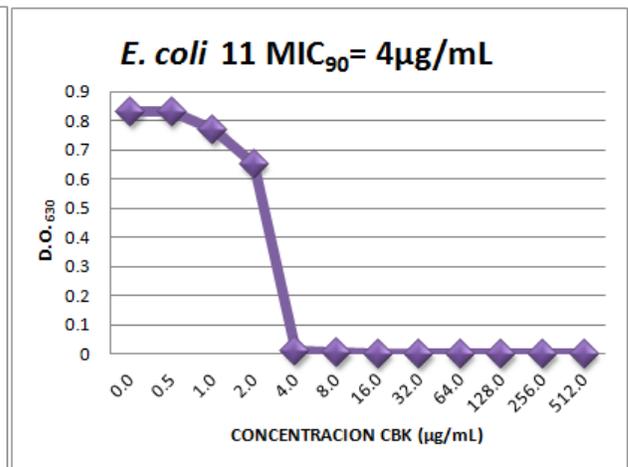
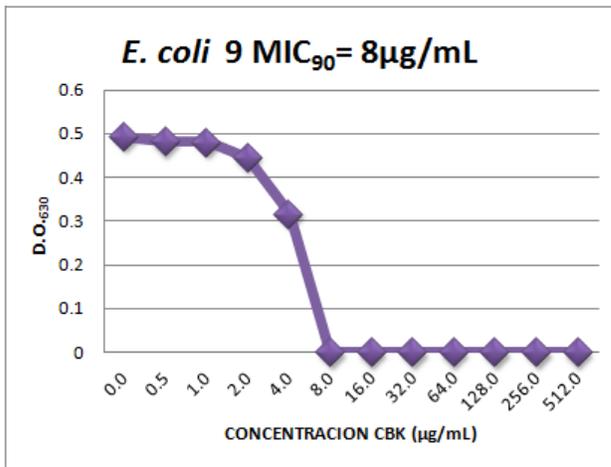
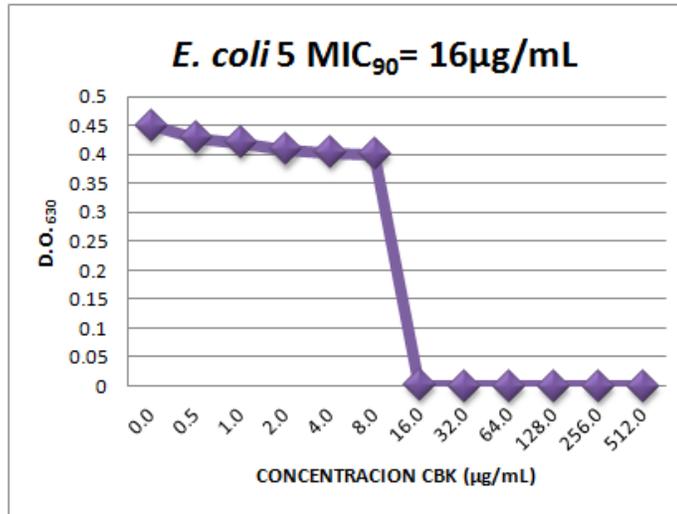


Figura 6. Desarrollo de los aislamientos de *E. coli* no productores de BLEE en distintas concentraciones y ausencia de CBK.

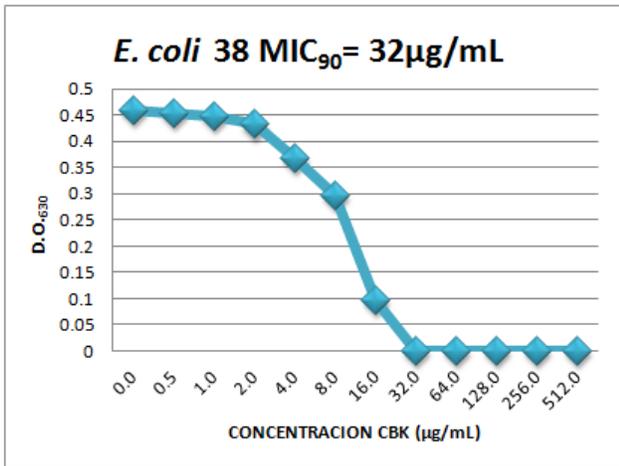
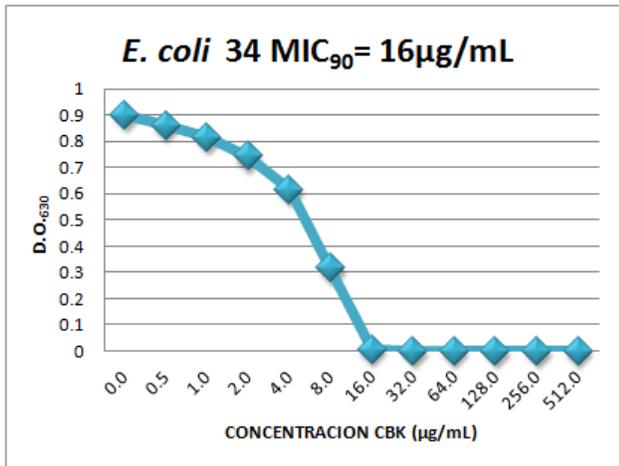
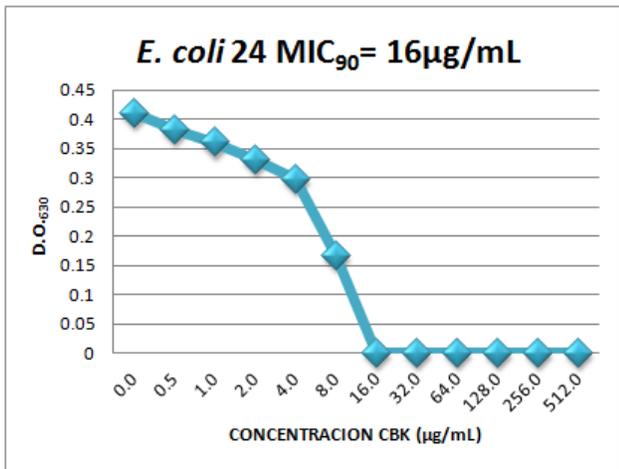
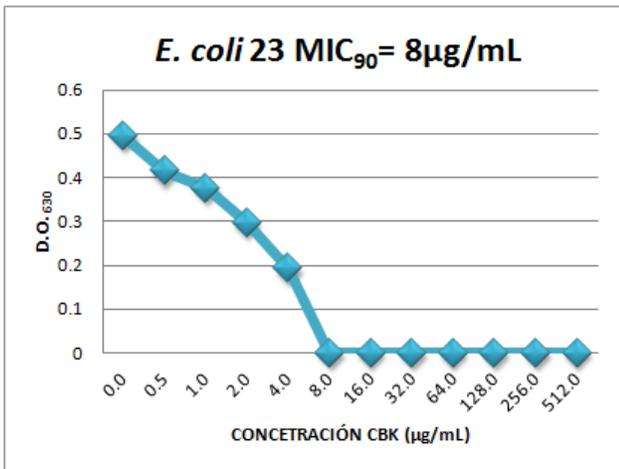
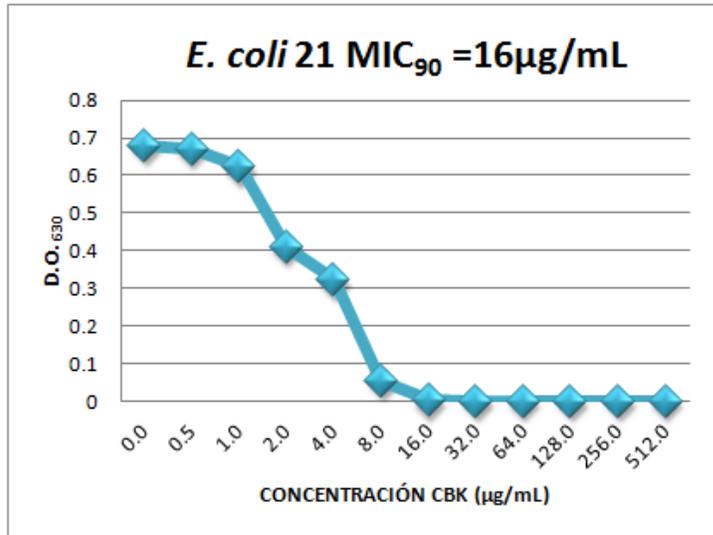


Figura 7. Desarrollo de los aislamientos de *E. coli* productores de BLEE en distintas concentraciones y ausencia de CBK.

Los desinfectantes líquidos se emplean en todo el mundo debido a su costo-beneficio. En el entorno hospitalario el agente seleccionado debe ser de fácil manejo, no tóxico y eficaz. El mal uso de los desinfectantes promueve su resistencia en microorganismos patógenos y no patógenos, por lo que se deben promover guías y programas de limpieza, desinfección y esterilización (Gava Mazola y col., 2009).

Buffet y col. (2011) evaluaron la MIC del CBK y su asociación a resistencia a antibióticos, en dicho estudio se trabajó con cepas de colección *E. coli* ATCC 10536 y aislamientos clínicos tanto resistentes como sensibles a los antibióticos del Hospital Universitario de Rennes (Francia). Sus resultados expresan que la cepa de colección coincidió con la MIC obtenida en este trabajo siendo de 8.0µg/mL y los aislamientos clínicos presentaron un intervalo 4.0 – 64.0 µg/mL relativamente semejante a lo obtenido en nuestro trabajo.

De la misma manera Gava Mazzola y col., (2009) evaluaron el efecto inhibitorio de compuestos cuaternarios de amonio frente a cepas ATCC de *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Serratia marcescens* obteniendo MIC's que fluctuaron entre 59.0-78.0 µg/mL, más altas que las obtenidas en el presente trabajo.

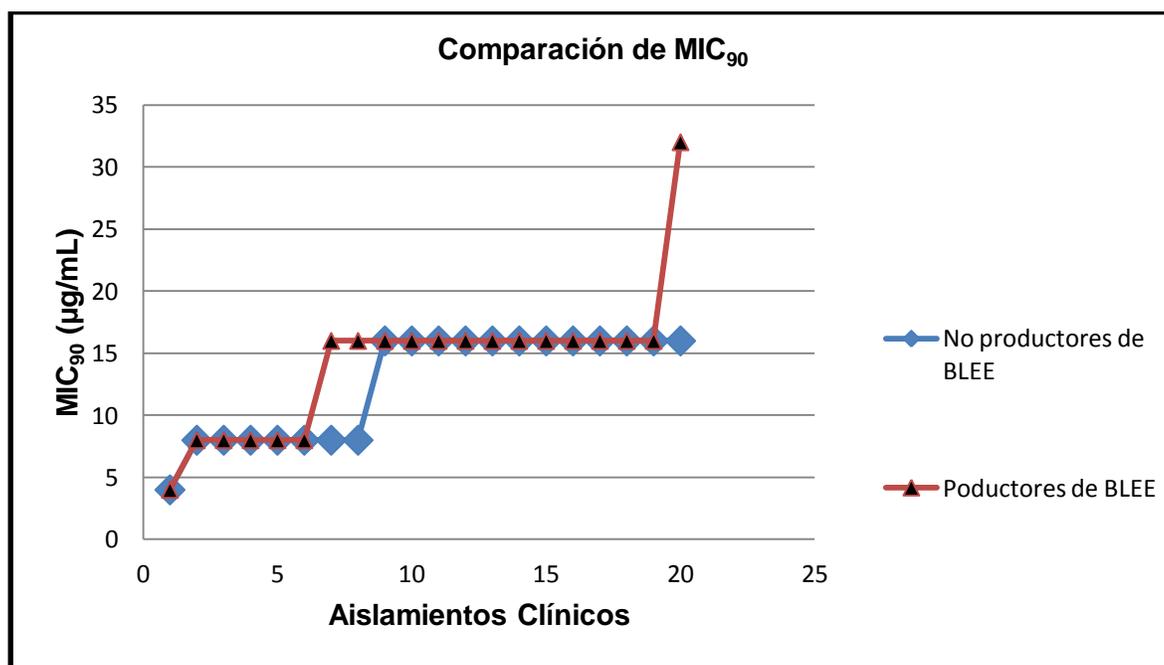


Figura 8. Comparación de MIC₉₀ entre aislamientos clínicos no productores y productores de BLEE.

En la figura 8 se demuestra la tendencia de los aislamientos de *E. coli* productoras de β LEE a soportar mayores concentraciones del CBK, sin embargo también se observa que el 92.5% del total de los aislamientos obtuvieron una MIC₉₀ entre 8.0 y 16.0 μ g/mL, siendo 30.0 y 62.5% respectivamente.

E. coli ATCC 25922 es una cepa control que es utilizada para el control de la calidad de medios de cultivo para identificación de la familia *Enterobacteriaceae*, también es utilizada para el control de calidad en los métodos de susceptibilidad a los antimicrobianos y no produce β LEE. En la figura 8 se muestra el desarrollo de *E. coli* ATCC 25922 en distintas concentraciones y ausencia de CBK, donde el valor obtenido de la MIC₉₀ fue de 8.0 μ g/mL.

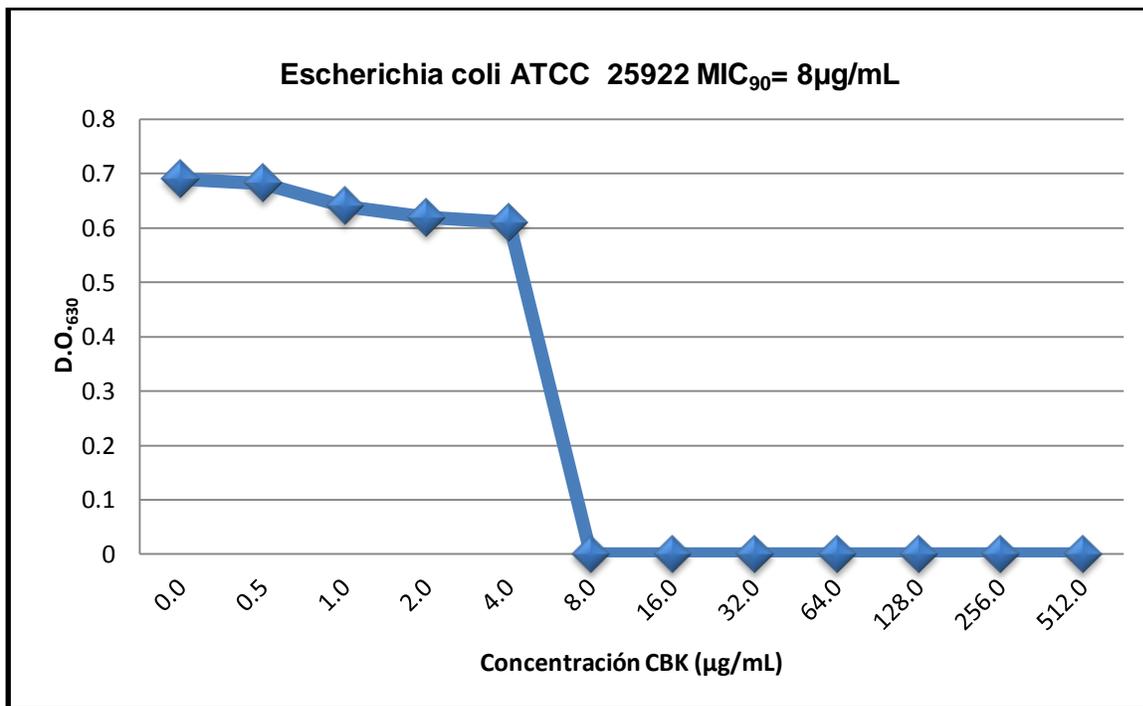


Figura 9. Desarrollo del aislamiento de *Escherichia coli* ATCC 25922 en distintas concentraciones y ausencia de CBK.

E. coli ATCC 35218 es una cepa de colección que se utiliza como Control de calidad en métodos de susceptibilidad en antimicrobianos con inhibidores de β -lactamasas. En la figura 9 se muestra el desarrollo que se obtuvo de dicha cepa cuando fue puesta en contacto con diferentes concentraciones y en ausencia de CBK, obteniendo una MIC₉₀ de 8.0 $\mu\text{g/mL}$.

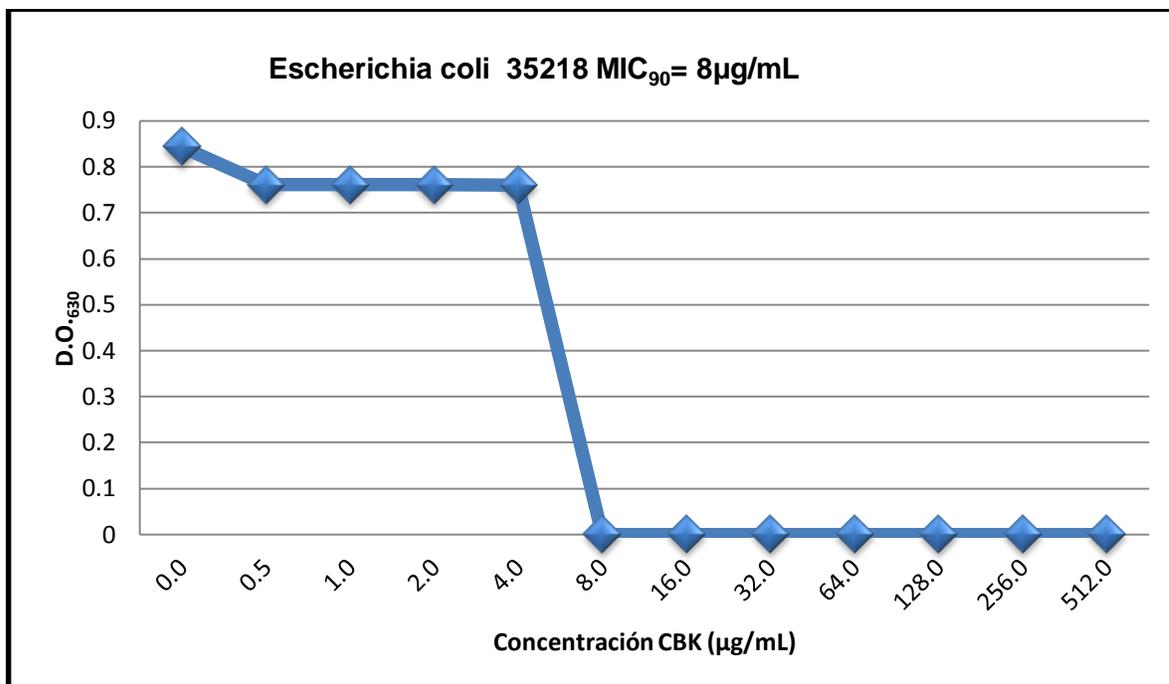


Figura 10. Desarrollo del aislamiento de *Escherichia coli* ATCC 35218 en distintas concentraciones y ausencia de CBK.

Buffet y col. (2012) evaluaron algunos CCA donde incluyeron al CBK frente a *E. coli* 10536 obteniendo una MIC de 5.0 $\mu\text{g/mL}$. Esta MIC no concuerda con la que se obtuvo frente a *E. coli* 25922, pero es muy semejante a la obtenida frente a varios aislamientos clínicos tanto productores como no productores de BLEE.

Fazlara y Ekhtelat (2012) evaluaron la actividad del CBK frente a *E. coli* ATCC 25922 y encontraron MIC de 40.0 $\mu\text{g/mL}$, mayor a la encontrada en el presente trabajo.

Frente a bacterias Gram positivas, Gutiérrez y col., (2008) evaluaron tres desinfectantes entre los cuales se incluyó el CBK. La MIC del CBK frente a *Staphylococcus aureus* fue de 1.9 µg/mL. Lo que ratifica la mayor sensibilidad de los microorganismos Gram positivos en comparación con los Gram negativos.

Smith y Hunter (2008), utilizaron el método del subcultivo en agar a partir del desarrollo colonial en caldo con diferentes concentraciones de CBK, determinando una MBC (Minimum Bactericidal Activity por sus siglas en inglés) entre 50.0 y 500.0 µg/mL en 8 aislamientos clínicos de *P. aeruginosa*. Estos resultados confirman que tienen menor actividad frente a bacterias con múltiple resistencia intrínseca a antimicrobianos.

Actividad Bactericida

En la tabla 5 se observó los efectos sobre la viabilidad de cuatro de los aislamientos no productores de BLEE expuestos a concentraciones inhibitorias de CBK durante 0.5 y 5.0 min. Ninguno de los aislamientos expuestos a concentraciones menores a 16.0 µg/mL tuvo una reducción en 5 log₁₀ (es decir, un conteo de 0.0 microorganismos/mL) en ninguno de los tiempos ensayados, siendo sólo uno (5) el que expuesto a 16.0 µg/mL se redujera 5 log₁₀ a los 5 min de estar en contacto. Dos de los aislamientos probados (5 y 13) tuvieron una tasa de reducción en 5 log₁₀ a los 5 min de exposición a concentraciones mayores o iguales a 32 µg/mL.

En la tabla 6 se muestran los efectos sobre la viabilidad de cuatro de los aislamientos productores de BLEE expuestos a concentraciones inhibitorias de CBK durante 0.5 y 5.0 min. Los aislamientos expuestos a concentraciones mayores o iguales a 16.0 µg/mL tuvieron una reducción en 5 log₁₀ (es decir, un conteo de 0.0 microorganismos/mL) a los 5 min de exposición, exceptuando el aislamiento 40 a 8.0 µg/mL de CBK. Dos de los aislamientos expuestos a 16.0 y 32.0 µg/mL presentaron una reducción de 5 log₁₀ en su viabilidad a los 30 seg de exposición.

En la tabla 7 se muestran los resultados obtenidos frente a la exposición de CBK a tiempo 0 y 30 segundos e igualmente a 5 minutos contra *E. coli* ATCC 25922 y ATCC 35218, donde la MBC fue de 16 µg/mL a un tiempo de 5 minutos con la reducción de 5 log₁₀.

En los resultados de las tablas 6 y 7 se observó que en un 62.5% del total los aislamientos clínicos al momento de evaluar la actividad bactericida con la concentración de la MIC₉₀, el efecto obtenido fue de una actividad bacteriostática, siendo una MBC efectiva con una concentración al doble de la MIC₉₀.

Los compuestos cuaternarios de amonio son habitualmente utilizados como desinfectantes en medicina humana, en veterinaria y en la industria alimentaria, lo que unido a su baja toxicidad y su excelente eficacia principalmente frente a gérmenes Gram-positivos hace que tengan elevada demanda (Rueda y col., 2003). Ellos tienen actividad inhibitoria y bactericida dependiente de la concentración, no son esporicidas aunque inhiben su germinación (Gava Mazzola y col., 2009).

En los Estados Unidos los antisépticos son utilizados en los centros al cuidado de la salud para reducir la flora transitoria de las manos de los trabajadores de los hospitales, para reducir la transmisión de microorganismos de persona a persona, para preparar la piel de los pacientes antes de realizar procedimientos invasivos y las manos de los cirujanos antes de las cirugías. Los productos comúnmente utilizados son alcoholes, clorhexidina, cloroxilenol, yodo y yodóforos, compuestos cuaternarios de amonio y el triclosán (Weber y col., 2007).

En los últimos años, los compuestos cuaternarios de amonio han sido utilizados de forma indiscriminada para controlar el desarrollo bacteriano en los ambientes clínicos y en diversas industrias (Buffet-Bataillon y col., 2011). Por lo que se debe analizar la actividad bactericida o bien la MBC.

Tabla 5. Efecto bactericida del CBK a distintos tiempos de exposición frente a aislamientos clínicos no productores de BLEE.

Aislamientos Clínicos No Productores de BLEE									
<i>E. coli</i>	1	5	11	13					
[CBK] µg/mL	8.0	16.0	16.0	32.0	4.0	8.0	16.0	32.0	
t: 0 s	5.67E+06	6.18E+06	5.37E+06	5.52E+06	7.33E+06	5.25E+06	7.05E+06	6.41E+06	
t: 30 s	3.27E+06	2.84E+05	2.55E+05	1.68E+05	3.86E+06	1.48E+06	3.04E+06	1.64E+06	
t: 5 min	2.77E+05	1.67E+03	0.00E+00	0.00E+00	2.49E+06	9.44E+03	1.79E+06	0.00E+00	

Tabla 6. Efecto bactericida del CBK a distintos tiempos de exposición frente a aislamientos clínicos productores de BLEE.

Aislamientos Clínicos Productores de BLEE									
<i>E. coli</i>	25		29		32		40		
[CBK] µg/mL	16.0	32.0	8.0	16.0	32.0	64.0	4.0	8.0	
t: 0 seg	5.24E+06	5.18E+06	5.73E+06	5.81E+06	6.65E+06	5.20E+06	5.58E+06	5.40E+06	
t: 30 seg	1.75E+06	0.00E+00	3.45E+06	2.23E+06	2.56E+05	0.00E+00	3.03E+06	3.04E+06	
t: 5 min	0.00E+00	0.00E+00	1.47E+06	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	2.50E+06	0.00E+00	

Bridier y col., (2011) evaluaron la actividad bactericida de tres desinfectantes frente a 27 cepas bacterianas. Ellos encontraron que el CBK a concentraciones de 10.0, 15.0 y 24.0 µg/mL logró disminuir la viabilidad de *E. coli* PHL628, a los 5 min de exposición, en 2 log₁₀, 3 log₁₀ y 5 log₁₀ respectivamente.

En el presente trabajo, el cloruro de benzalconio (8 µg/mL) redujo la población de *E. coli* desde un inóculo de 10⁸ UFC/mL hasta 0.0 UFC/mL a los 5 minutos de exposición. Otros investigadores han evaluado el efecto bactericida de los desinfectantes sobre la viabilidad de *E. coli*. Cabeça y col., (2012) encontraron que los compuestos cuaternarios de amonio (5000.0 µg/mL) después de 10 minutos de exposición, llevaron una suspensión de *E. coli* ATCC 25922 desde 5.6 UFC/mL hasta 0.0 UFC/mL.

Deshai y col., (2012) determinaron las Concentraciones Mínimas Letales (MLC) evaluando varios desinfectantes contra *S. aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 19453, *E. coli* ATCC 25922 obteniendo una MLC de 19.0 µg/mL para los de CCA de 4ta generación y 6.0 µg/mL para los de 3ra generación y de igual manera se obtuvo una MCL de 10.0 µg/mL y 3.0 µg/mL para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 respectivamente para cada generación de CCA, pero ninguno inhibió la germinación de esporas de *Clostridium difficile* CD1, a tiempo de 5 minutos de estar en contacto con los CCA.

Tabla 7. Efecto bactericida del CBK a distintos tiempos de exposición frente a cepas de colección de *E. coli*.

<i>E. coli</i> ATCC	Cepas Control			
	25922		35218	
[CBK] µg/mL	8.0	16.0	8.0	16.0
t: 0 seg	6.32E+06	6.18E+06	5.60E+06	6.63E+06
t: 30 seg	2.25E+06	1.01E+06	2.51E+06	1.42E+06
t: 5 min	2.26E+05	0.00E+00	1.78E+05	0.00E+00

Chaidez y col., (2007) evaluaron la actividad bactericida del CBK frente a *E. coli* ATCC 15597 encontrando una reducción del 99.999% en el número de células viables a concentración de 100.0 µg/mL tanto a los 0.5 y 2.0 minutos de exposición. Estos resultados no coinciden con los encontrados en el presente trabajo, debido a que ellos utilizaron una concentración más alta.

Cabrera y col., (2007) aseguran que caracterizar los sitios blanco de acción de los biocidas y desinfectantes es necesario para entender los mecanismos de acción y de esta manera esclarecer cómo es que se relacionan con la selección de resistencia a los antibióticos es de importancia clínica que se utilizan en la actualidad.

CONCLUSIONES

La relación directa entre la carga bacteriana nosocomial y el riesgo de adquirir alguna infección bacteriana debido a la contaminación provocada por medio del personal médico, superficies y utensilios médicos. Sin embargo, la presencia de bacterias patógenas no significa que se contraerá una infección, pero la eliminación de éstas tiene el objetivo de interrumpir la cadena de transmisión.

Los valores para la MIC fueron mayor en los aislamientos productores de β LEE comparándolos con los no productores, a diferencia de la MBC obtenida, que no arrojó resultados mayores en los aislamientos productores de β LEE, a pesar de esto, la efectividad del desinfectante hospitalario evaluado, se ve afectado por la concentración-tiempo-exposición. Estos resultados muestran que hay una tendencia a que los aislamientos clínicos productores de β LEE requieren mayor concentración del desinfectante que los no productores. Por lo que para destruir a *E. coli* se recomienda una concentración que parta de 32.0 μ g/mL con un tiempo de exposición de 5 minutos, pudiendo utilizar una concentración hasta de 64.0 μ g/mL para aplicarse por algunos segundos, esto último para lugares o espacios donde el tiempo es limitado. Estas concentraciones son muy bajas en comparación con las que indican los proveedores de desinfectantes, ya que ellos indican utilizarlo sin diluir con una concentración de 10,000 μ g/mL.

Con los resultados obtenidos en el presente trabajo se concluye que la resistencia de bacterias a biocidas y antibióticos es un fenómeno que tiene múltiples factores, pero relacionado primordialmente al deficiente uso de antimicrobianos, en el cual, las medidas de prevención y control contra este problema, no sólo implican implementar mejores medidas de higiene, sino

también elegir el desinfectante más adecuado y su modo correcto de uso para que elimine al microorganismo blanco y desinfecte el utensilio lo mejor posible.

RECOMENDACIONES

Partiendo de los resultados generados en el presente trabajo, se propone realizar algunas de las siguientes actividades.

- Utilizar bacterias de distintos géneros y especies para realizar una comparación entre los datos obtenidos.
- Ensayar la actividad del CBK frente a otras especies causantes de infecciones intrahospitalarias.
- Evaluar la actividad de otros desinfectantes de uso común en nosocomios.
- Utilizar un mayor número de aislamientos clínicos para establecer si existe o no una diferencia significativa entre los aislamientos productores y no productores de β LEE.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acosta SI, Stempliuk V. 2008. Manual de esterilización para centros de salud. Organización Panamericana de la Salud. USAID del pueblo de los estados unidos de América.
http://www.paho.org/PAHOUSAID/dmdocuments/AMRManual_Esterilizacion_CentroSalud_2008.pdf
2. Adrianzén D, Arbizu A, Ortiz J, Samalvides F. 2013. Mortalidad por bacteremia causada por *Escherichia coli* y *Klebsiella spp.* Productoras de β -lactamasas de espectro extendido: cohorte retrospectiva en un hospital de Lima, Perú. Rev Perú MedExp Salud Pública 30(1):18-25.
3. Álvarez CA, Cortes JA, Gómez CH, Fernández JA, Sossa MP, Beltrán F, Mendieta G, Montufar F, Ortiz G, Padilla A. 2010. Guías de práctica clínica para la prevención de infecciones intrahospitalarias asociadas al uso de dispositivos médicos. Infectio 14(4): 292-308.
4. Anaya VE, Gómez DJ, Martínez J, Galán A, Galicia GV, Veloz I. 2009. Nivel de conocimiento de los trabajadores de la salud sobre infecciones nosocomiales y su prevención. Enf Inf Microbiol 29(1):20-28.
5. Araya C, Boza R, Arguedas L, Badilla G, García F. 2007. Infecciones nosocomiales por bacterias productores de β lactamasa de espectro ampliado: prevalencia, factores de riesgo y análisis molecular. Acta Médica Constarricense 49(2):90-96.
6. Arreguín R, González R, De la Torre A. 2012. Infecciones adquiridas en los hospitales ¿Cuánto cuestan y como se calcula? Revista digital universitaria 13(9):1-10.
7. Arreguín V, Macías JH. 2012. Asepsia, uno de los grandes logros del pensamiento. Revista digital universitaria 13(8):1-11.
8. Baizman ER, Goldman RC, Longley CB, Branstrom AA. 2000. FEMS Microbiol. Lett. 183:209-214.
9. Bridier A, Briandet R, Thomas V, Dubois-Brissonnet F. 2011. Comparative biocidal activity of paraetic acid, benzalkonium chloride and ortho-phthalaldehyde on 77 bacterial strains. J HospInf 78:208-213.
10. Buffet S, Branger B, Cormier M, Bonnaure M, Jolivet A. 2011. Effect of higher minimum inhibitory concentrations of quaternary ammonium compounds in clinical *E. coli* isolates

- on antibiotic susceptibilities and clinical outcomes. *Journal of Hospital Infection* 79:141-146.
11. Buffet S, Tattevin P, Bonnaure M, Jolivet A. 2012. Emergence of resistance to antibacterial agents: the role of quaternary ammonium compounds-a critical review. *International Journal of Antimicrobial Agents* 39:381– 389.
 12. Cabeça TK, Pizzolitto AC, Pizzolitto EL. 2012. Activity of disinfectants against foodborne pathogens in suspension and adhered to stainless steel surfaces. *Braz J Microbiol* 1:1112-9.
 13. Cabrera CE, Gómez RF, Zuñiga AE et al. 2007. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colomb Med* 38:149-158.
 14. Canut A. 2007. Infecciones en residencias de ancianos: microorganismos más frecuentes, uso de antimicrobianos y resistencia bacterianas. *Rev Esp Geriatr Gerontol* 42(1):27-38.
 15. Casellas JM. 2012. Resistencia a los antimicrobianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Rev Soc Bol Ped* 51(2):109-24.
 16. Castrillón LE, Palma A, Padilla MC. 2010. Importancia de las biopelículas en la práctica médica. *Dermatología Rev Mex* 54(1):14-24.
 17. [CDC] Center of Disease Control. 2003. A guide to selection and use of disinfectants.
 18. [CDC] Center of Disease Control. 2008. Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities. Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). http://www.cdc.gov/hicpac/Disinfection_Sterilization/toc.html
 19. [CDC] Center of Disease Control. 2009. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th edition.
 20. Chaidez C, López J, Castro-del Campo N. 2007. Quaternary ammonium compounds: an alternative disinfection method for fresh produce wash water. *J Water Health* 5:329-333.
 21. De la Cruz R, Villa M, Calderón JE, Sánchez GM. 2013. Comparación de la actividad germicida y acción residual de la clorhexidina, desinfectantes a base de cítricos y etanol. *Enf Inf Microbiol* 33(1):6-12.
 22. De las Cuevas I. 2009. Infecciones nosocomiales. *Bol Pediatr* 49(1):162-166
 23. Del Río P. 2010. Agentes químicos en el ambiente sanitario. Escuela Nacional de Medicina del Trabajo del Instituto de Salud de Carlos III. 1ed Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado. Madrid.

24. Faleiro PL. 2010. Formación de biopelículas por *Escherichia coli* y su correlación con factores de virulencia: prevención y actividades de anti microbianos frente a organismos planctónicos y asociado a biopelículas. Doctorado. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de farmacia.
25. Fariñas C, Teira R, Rodríguez P. 2010. Infección asociada a cuidados sanitarios (infección nosocomial) Cantabria. España Medicine 10(49):3293-300.
26. Fazlara A, Ekhtelat M. 2012. The disinfectant effects of Benzalkonium chloride on some important foodborne pathogens. American-Eurasian J Agric& Environ Sci 12:23-29.
27. Galvan AL, Martínez LA, López CC, Villasuso MA, Mrtínez AY, Fragoso LE. 2011. Permanencia de la sonda de Foley asociada a infección urinaria y farmacorresistencia. EnInfnMicrobiol 31(4):121-126.
28. Gava Mazzola P, Faustino Jozala A, de Lencastre Novaes LC, Moriel P, Vessoni Penna TC. 2009. Minimal inhibitory concentration (MIC) determination of disinfectant and/or sterilizing agents. Brazilian Journal Pharmaceutical Sciences 45:241-248.
29. González N, Castañeda JL, Saltigeral P, Rodríguez MA, López C, Rosas A, García E, Hernández H. 2011. Infecciones nosocomiales en la unidad de cuidados intensivos neonatales del Instituto Nacional de Pediatría. Acta Pediatr Mex 32(1):28-32.
30. Gutiérrez SJ, Dussán DC, Leal SC, Sánchez A. 2008 Evaluación microbiológica de la desinfección en unidades odontológicas. Rev Colomb Cienc Quím Farm 37(2):133-149.
31. Hernández A. 2006. Aportaciones al estudio de la actividad antimicrobiana de los antisépticos y desinfectates. Doctorado. Universidad Autónoma de Barcelona. Facultad de ciencias.
32. Husain A. 2008. Chemotherapy: antiseptics and disinfectants. Medical Chemistry 1(1):1-25.
33. Kampf G, Höfer M, Wendt C. 1999. Efficacy of hand disinfectants against vancomycin-resistant enterococci in vitro. Journal of Hospital Infection 42:143-150.
34. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. Nature 2(1):123-140.
35. Kawamura-Sato K, Wachino J, Kondo T, Ito H, Arakawa Y, 2008. Reduction of disinfectant bactericidal activities in clinically isolated *Acinetobacter* species in the presence of organic material. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 61: 568–576.
36. Kelley PW. 2008. La contención de la resistencia a los antibióticos: pilar de la calidad de la atención. RevPanamInfectol 10(4): 10-12.

37. Kenneth JR, Ray AG, Ahmad N, Plorde JJ. 2011. Sherris Microbiología Médica. 5ta ed. McGraw-Hill Interamericana Editores S.A de C.V.
38. Koneman EW, Allen S. 2008. Diagnostico microbiológico: texto y atlas en color. 6ta ed. Médica Panamericana S.A. Argentina. 37-48P
39. Langsrud S, Sundheim G, Holck AL. 2004. Cross-resistance to antibiotics of *Escherichia coli* adapted to benzalkonium chloride or exposed to stress-inducers. Journal of applied microbiology 96(1):201-208.
40. Levilla L, Benomar N, Gálvez A, Abriouel H. 2013. Prevalence of bacteria resistant to antibiotics and/or biocides on meat processing plant surfaces throughout meat chain production. International Journal of food Microbiology 161(1):97-106.
41. López Jr, Méndez AF, Bobadilla RI, Zacate J. 2012. Infecciones nosocomiales, mortalidad atribuible y sobre estancia hospitalaria. Rev Enferm Inst Mex Seguro Soc 20(2):85- 90.
42. Mc Cay PH, Ocampo AA, Fleming G. 2010. Effect of subinhibitory concentrations of benzalkonium chloride on the competitiveness of *Pseudomonas aeruginosa* grown in continuous culture. Microbiology 156(1):30-38.
43. McDonnell G, Denver A. 1999. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. Clinical Microbiology Reviews, 12(1):147-179.
44. Menis A, De Andrade D, Rigotti MA, Ferrareze MV. 2011. Condiciones de limpieza de superficies próximas al paciente en una unidad de terapia intensiva. Rev Latino-Am. Enfermagen 19(3):1-8.
45. Meyer B, Cookson B. 2010. Does microbial resistance or adaptation to biocides create a hazard in infection prevention and control? The Hospital Infection Society. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved. Journal of Hospital Infection 76:200-205.
46. Moen B, Rudi K, Bore E, Langsrud. 2012. Subminimal inhibitory concentrations of the disinfectant benzalkonium chloride select for a tolerant subpopulation of *Escherichia coli* with inheritable characteristics. Int J Mol Sci 13(1): 4101-4123.
47. Molina FJ, Díaz CA, Barrera L, De la Rosa G, Dennis R, Dueñas C, Granados M, Londoño D, Ortiz G, Rodríguez F, Jaimes F. 2011. Perfil microbiológico de las Infecciones en unidades de cuidados intensivos de Colombia. Med Intensiva. 35(2):75-83.
48. Navarro M, Robles RE, Garibay A, Ruiz E. 2011. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumonia* comunitarias y hospitalarias productoras de β -lactamasas en hospitales de Hermosillo, Sonora. Salud Publica Mex 53(1):341-344.

49. Nodarse R. 2002. Visión actualizada de las infecciones intrahospitalarias. Rev Cubana Med Milit 31(3):201-208.
50. [OMS] Organización Mundial de Salud. 2002. Prevención de las infecciones nosocomiales. Guía práctica 2da edición.
51. Oz Y, Dag I, Kiraz N. 2012. Efficacy of disinfectants on *Candida* biofilms at different concentration and contact times. British Microbiology Research Journal 2(2):40-52.
52. Pagedar A, Singht J, Batish V. 2012. Adaptation to benzalkonium chloride and ciprofloxacin affects biofilm formation potential, efflux pump and hemolysin activity of *Escherichia coli* of dairy origin. Journal of Dairy Research 79:383-389.
53. Paderes F, Roca JJ. 2004. Acción de los antibióticos perspectiva de la medicación antimicrobiana. Ambito Farmaceutico Farmacología 23(3):116- 124.
54. Parra J, Martínez J, Leo V. 2010. Medición de la factores de riesgo en la generación de infecciones nosocomiales del CECam 2005-2008. Rev Med UV 1(1):1-23.
55. Pastrana J, Garza JU, Barrios H, Morfin R, et al. 2012. Frecuencia del gen *qacEΔ1* y resistencia a biocidas en aislamientos clínicos de enterobacterias productoras de β-lactamasas de espectro extendido. Revista de Investigación Clínica 535-540.
56. Perez LH, Zurita IM, Pérez N, Patiño N, Calvimonte OR. 2010. Infecciones intrahospitalarias: agentes, manejo actual y prevención. Rev Cient Cienc Med 13(2):94-98.
57. Poole K. 2002. Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance. Journal of applied microbiology symposium supplement 92(1):55-64.
58. Puerta A, Mateos F. 2010. Enterobacterias. Medicine 10(51):3426-31.
59. Rodríguez AU. 2006. Evaluación de la actividad bactericida *in vitro*. Rev Mex Patol Clin 53(2):123-125.
60. Romero R. 2007. Microbiología y parasitología humana. 3ra ed. Editorial Médica Panamericana. México, DF. 753-754P
61. Rubio I, Martin E, Garcia D, López M, Larrgañaga E. 2012. Extended- spectrum beta-lactamase-producing bacteria in a tertiary care hospital in Madrid: epidemiology, risk factors and antimicrobial susceptibility patterns. Emerg Health Threats J 5(1):1-6.
62. Rueda J, Amigot JA, Lázaro A, Ducha J. 2003. Evaluación de desinfectantes de amonio cuaternario sobre cepas bacterianas de origen animal. Rev Sci Tech Off Int Epiz 22:1097-1104.
63. Russell AD. 2002 Bacterial resistance to disinfectants. British Journal of Infection Control 3:22-24.

64. Russell AD. 2002. Introduction of biocides into clinical practice and the impact on antibiotic-resistant bacteria. *Jurnal of applied microbiology symposium supplement* 92(1):121-135.
65. Rutala WA, Weber DJ. 2004. Disinfection and sterilization in health care facilities: what clinicians need to know. *Helthcare epidemiology* 39(1):702-9.
66. Sánchez JA, Serrano S, Marfil R, Jodral M. 2011. Patógenos emergentes en la línea de sacrificio porcino: fundamentos de seguridad alimentaria. 1ra ed. Díaz de Santos S.A Madrid.
67. Sánchez L, Sáenz E. 2005. Antisépticos y desinfectantes. *Dermatología Peruana* 15(2):82-103.
68. Secretaría de Salud. 2011. Medición de la Prevalencia de Infecciones Nosocomiales en Hospitales Generales de las Principales Instituciones Públicas de Salud, Informe Documental Extenso, México, DF.
http://www.dged.salud.gob.mx/contenidos/dess/descargas/NOSOCOM_EXT.pdf
69. Secretaría Distrital de Salud Direcciónn de Salud Pública. 2010. Metodología para el análisis de mortalidad asociada a infección intrahospitalaria. Colombia. www.saludcapital.gov.co
70. Seral C, Pardos M, Castillo FJ. 2010. Betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias distintas de *Escherichia coli* y *Klebsiella*. *Enfrm Infec Microbiol Clin* 28(1):12-18.
71. Sousa CP. 2006. The versatile strategies of *Escherichia coli* pathotypes: a mini review. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis* 12(1):363-373.
72. Spaulding E. 1972. Chemical disinfection and antisepsis in the hospital. *J Hosp Res* 58(9):5-31.
73. Tischer M, Pradel G, Ohlesen K, Holzgrave U. 2012. Quaternary ammonium salts and their antimicrobial potential: targets or nonspecific interactions? *ChemMedChem* 7(1):22-31.
74. Torres S. 2010. Limpieza y desinfección de superficies hospitalarias: recursos humanos. *Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria* 4(1):17-27.
75. Vasquez VE. 2001. Investigación, estudio y recomendaciones de las medidas alternativas en el proceso de esterilización de material hospitalario. Licenciatura. Universidad Don Bosco. Facultad de Ingeniería.
76. [WHO] World Health Organization. 2009. Guidelines on hand hygiene in health care: a summary. www.who.int/patientsafety/en/

ANEXO

Centro Médico Dr. Ignacio Chávez
Informe clínico

Nº de Cliente: Editado 12-feb-2012 13:01 MST

Nombre del paciente: GOMEZ DE SOLIS SUSANA Nº paciente: 4505908
 Localización: EXTERNO Médico: X1945 DRA. GALAZ SALAZAR
 Nº de examen: 090212526 Nº de aislamiento: 1

Organismo seleccionado: Escherichia coli

Origen: UROCULTIVO Recogida: 09-feb-2012

Comentarios:	

Información de sensibilidad	Tiempo de análisis: 8,50 horas			Estado: Final	
Antibiótico	CMI	Interpretación	Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE	POS	+	Meropenem	<= 0,25	S
Ampicilina	>= 32	R	Amicacina	<= 2	S
Ampicilina/Sulbactam	>= 32	R	Gentamicina	>= 16	R
Cefazolina	>= 64	R	Tobramicina	>= 16	R
Ceftriaxona	>= 64	R	Ciprofloxacino	>= 4	R
Cefepima	2	*R	Moxifloxacino	>= 8	R
Aztreonam	16	*R	Tigeciclina	<= 0,5	S
Ertapenem	<= 0,5	S	Nitrofurantoina	<= 16	S
Imipenem	<= 1	S	Trimetoprima/Sulfametoxazol	>= 320	R

+ = Antibiótico deducido * = AES modificado ** = Usuario modificado

Conclusiones de AES	
Nivel de confianza:	Coherente
Fenotipo:	BETA-LACTÁMICOS BLEE (SIMILAR A CTX-M), BETA-LACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO

Modelo del informe de laboratorio de cada uno de los aislamientos clínicos proporcionados