

Laboratorio de Referencia Nacional para el Control de los Procesos de Esterilización, Desinfección y Antisepsia. Hospital Pediátrico Docente "William Soler"

## El procedimiento de limpieza como garantía del proceso de esterilización

[Roxana Hidalgo Rodríguez,<sup>1</sup> María Luisa Quintana Chávez,<sup>2</sup> Nieves Sánchez Puentes,<sup>3</sup> Sonia Chiroles Despaigne<sup>4</sup> y Odalys Villavicencio Betancourt<sup>5</sup>](#)

### Resumen

Se comprobó la necesidad de la aplicación del procedimiento de limpieza como paso esencial previo al proceso de esterilización. Se utilizaron como dispositivos muestras de catéteres cardiovasculares y de aspiración, clasificados como artículos críticos y semicríticos respectivamente, compuestos químicamente por cloruro de polivinilo y fluoroetileno propileno (teflón), los cuales fueron inoculados con una concentración específica de *Bacillus stearothermophilus* y sometidos posteriormente al procedimiento de limpieza. El análisis tanto cualitativo como cuantitativo se realizó mediante métodos espectrofotométricos y se obtuvieron menores niveles de reducción de biocarga microbiana en los dispositivos compuestos por teflón. Con relación a la acción de los agentes tensoactivos se obtuvo una mayor reducción ( $3 \log_{10}$  ufc/mL) con la aplicación de los detergentes enzimáticos. Se demostró la eficiencia del procedimiento de limpieza en la reducción de la biocarga microbiana sobre los dispositivos y el desprendimiento de contaminantes orgánicos e inorgánicos como garantía para disminuir a niveles de  $10^{-6}$  las unidades formadoras de colonias en los dispositivos esterilizados.

*DeCS:* EQUIPOS Y SUMINISTROS; ESTERILIZACION/instrumentación; ESTERILIZACION/métodos; CATETERISMO CARDIACO/instrumentación; DETERGENTES; AGENTES TENSOACTIVOS.

El procedimiento de limpieza es un paso esencial en el procesamiento de los equipos y dispositivos médicos antes y después de su uso en los servicios de salud.

La limpieza antecede a los procesos de desinfección y esterilización para garantizar una completa actividad biocida de los agentes contaminantes con la eliminación de la materia orgánica, detritos y suciedades presentes en los objetos antes y después de su uso.

Debido a la falta de estándares universales para definir la limpieza, es aceptado que como mínimo estos procesos deben reducir la biocarga natural sobre los dispositivos; remover los contaminantes orgánicos e inorgánicos y proporcionar que los artículos una vez esterilizados garanticen niveles de seguridad de  $10^{-6}$  unidades formadoras de colonias (ufc) o lo que es igual, una reducción de  $12 \log_{10}$  de la biocarga microbiana presente en el dispositivo, lo cual significa garantizar un millón de partes estériles en el objeto por una parte "no estéril".<sup>1,2</sup>

Los beneficios del procedimiento de limpieza en términos de reducción de biocarga microbiana han sido mejor definidos como resultado de estudios recientes acerca de la biocarga natural presente sobre los dispositivos médicos inmediatamente después de su uso en pacientes y después de la limpieza. Esto ha sido posible con el empleo de metodologías de monitoreo que permiten remover la materia orgánica e inorgánica de los dispositivos médicos.

La capacidad de un proceso de esterilización para garantizar niveles de seguridad de 10<sup>-6</sup> de la biocarga sobre un dispositivo depende de cómo se haya realizado la limpieza previa del artículo para eliminar los contaminantes orgánicos e inorgánicos.

El estudio del efecto o interferencia de los contaminantes orgánicos e inorgánicos en el proceso de esterilización fue iniciado entre los años 1950-60, pero los resultados de estos estudios no han sido ampliamente conocidos.<sup>3-6</sup>

Investigaciones recientes sobre este tema han sido reportadas con el uso del gas óxido de etileno y los procesos de esterilización que emplean bajas temperaturas, los cuales confirman los resultados de los primeros estudios.<sup>7</sup>

Como colaboración de estos nuevos ensayos a las primeras investigaciones realizadas, el presente trabajo se propuso evaluar la eficiencia del proceso de limpieza en la remoción de microorganismos, materia orgánica e inorgánica.

## Métodos

La calidad del proceso de limpieza necesita ser monitoreada siguiendo metodologías que permitan proveer información sobre los radios relativos de depósitos de detritos celulares sobre los dispositivos. Existen diversos métodos que ofrecen altos niveles de confiabilidad en cuanto a este parámetro, uno de ellos es el que emplea microorganismos como marcadores de materia orgánica presente en los dispositivos testados.<sup>8</sup> La ventaja de este método consiste en el uso de un microorganismo de concentración conocida, "no patogénico", el cual es sembrado en un medio de cultivo que a su vez es usado para simular materia orgánica en el interior de los dispositivos muestra al ser inoculados y que permiten obtener resultados cualitativos y cuantitativos mediante el empleo de técnicas espectrofotométricas.

Entre los materiales utilizados para este estudio, se encuentran:

- Catéteres de aspiración cuya composición química es de cloruro de polivinilo (PVC), largo de 42 cm y grosor de 2 mm (CH5).
- Catéteres cardiovasculares de teflón cuya composición química es fluoroetileno propileno (FEP), largo 100 cm y grosor de 2 mm (5F).
- Cepa microbiana de referencia: *Bacillus stearothermophilus* ATCC 79210.

· Medio de cultivo:

- Peptona
- NaCl
- Fosfato dipotásico
- Dextrosa

- MgSO<sub>4</sub>
- Agar # 3
- Agua destilada

· Condiciones requeridas para el crecimiento del microorganismo:

- pH 6,9-7,1
- Temperatura 55 °C

### Diseño de la investigación

Los dispositivos muestra fueron inoculados con el microorganismo a una concentración inicial de  $2,5 \times 10^6$  ufc/mL en su sustrato de crecimiento (materia orgánica), e incubados durante 12 horas a temperaturas entre 20-25 °C. Pasado este tiempo parte de los dispositivos fueron sembrados directamente en los medios de cultivo adecuados e incubados a 55 °C durante 48 horas como control de viabilidad microbiana. El resto de los dispositivos muestra fueron sometidos al proceso de limpieza, que constó de los siguientes pasos:

- agua + detergente (fregado)
- agua corriente (enjuague)
- agua destilada (enjuague)
- aire a presión 0,5 bar (secado)

### Resultados

Los resultados están conformados por la variación de concentración del microorganismo empleado (*Bacillus stearothermophilus*) según la composición química de los dispositivos muestra y con relación a los distintos tipos de agentes tensoactivos utilizados, donde cada valor representa el promedio de lectura de tres muestras por cada tipo de dispositivo.

Los valores correspondientes al mayor índice de reducción se obtuvieron para los dispositivos compuestos por fluoroetileno propileno (teflón) y con relación a los agentes tensoactivos utilizados en el ensayo se obtuvo una mayor reducción de colonias con el empleo de detergentes enzimáticos (tabla).

Tabla. Comportamiento de la concentración del *Bacillus stearothermophilus* en los dispositivos muestra frente a los distintos tipos de detergentes\*

Dispositivos	Detergentes			
	Enzimático	Aniónico	Catiónico	Industrial

Cloruro de polivinilo (P.V.C.)	6,0×10 <sup>3</sup>	1,1×10 <sup>5</sup>	2,1×10 <sup>5</sup>	7,2×10 <sup>5</sup>
	6,2×10 <sup>3</sup>	1,5×10 <sup>5</sup>	1,9×10 <sup>5</sup>	8,4×10 <sup>5</sup>
	5,9×10 <sup>3</sup>	1,4×10 <sup>5</sup>	1,8×10 <sup>5</sup>	9,7×10 <sup>5</sup>
Fluoroetileno propileno (F.E.P.)	2,8×10 <sup>3</sup>	1,7×10 <sup>4</sup>	2,4×10 <sup>4</sup>	6,8×10 <sup>5</sup>
	1,5×10 <sup>3</sup>	1,5×10 <sup>4</sup>	3,0×10 <sup>4</sup>	5,2×10 <sup>5</sup>
	1,0×10 <sup>3</sup>	1,3×10 <sup>4</sup>	2,6×10 <sup>4</sup>	4,9×10 <sup>5</sup>

\* Cada valor representa el promedio de lectura de tres muestras

## Discusión

La variación observada de la concentración del *Bacillus stearothermophilus* en los dispositivos muestra inoculados y posteriormente tratados, con una mayor reducción de los niveles de materia orgánica y de unidades formadoras de colonias fue en artículos compuestos por fluoroetileno propileno (teflón), que aunque es un material plástico formado por agentes opacificantes, estos guardan inercia química con relación a los fluidos orgánicos y a las soluciones limpiadoras, es decir, que sus componentes no migran con facilidad al aplicárseles soluciones con variaciones bruscas de pH como son los agentes tensoactivos. Por tal razón estos dispositivos conservan su textura lisa y resisten de 3 a 4 procesamientos de limpieza y esterilización sin que haya riesgo de pérdida de su funcionalidad.

Para los dispositivos compuestos por cloruro de polivinilo (PVC) se obtuvo una menor reducción de los niveles de materia orgánica y ufc/mL porque aunque estos dispositivos son transparentes, lo que facilita la visualización del trabajo, presentan bajos niveles de inercia química, lo que provoca migración de los agentes plastificantes al contacto con la sangre, sus componentes y fluidos gástricos así como también reacciona con las soluciones limpiadoras y las variaciones de pH que trae consigo el procedimiento de limpieza.

El contacto con la materia orgánica promueve reacciones de adhesión de los constituyentes celulares a las paredes de los dispositivos y por consiguiente, ello facilita el crecimiento microbiano; además, al ser aplicados los agentes limpiadores estos pueden causar aumento en la porosidad del material, lo cual incrementa la adhesión de detritos celulares en usos sucesivos, pérdida de la transparencia y por ende, se incrementa el riesgo de la pérdida de la funcionalidad del dispositivo.<sup>9</sup>

Los resultados obtenidos con relación a la composición de los distintos detergentes empleados se correspondieron con lo planteado en la literatura sobre el uso de los agentes tensoactivos y su modo de acción sobre la materia orgánica e inorgánica y los microorganismos para lograr el mayor índice de reducción de microorganismos.

Cuando se emplean detergentes enzimáticos se alcanza una disminución de 3 log<sub>10</sub> de las ufc/mL, debido a su composición (mezcla de proteasas y amilasas). La actividad de este producto se caracteriza por hidrolizar los enlaces peptídicos de las proteínas que logra fragmentar y despegar los tejidos de las paredes de los dispositivos y aumenta el fluido de las mucosidades al eliminar los restos orgánicos de hidratos de carbono. Un estudio realizado por Miller CH en 1993<sup>10</sup> con el empleo de soluciones detergentes enzimáticas (recién preparadas) logró disminuir los niveles de microorganismos empleados desde un rango de 10 000 ufc a 0 durante su uso por 10 minutos.

En segundo orden de actividad pudo observarse la reducción de 1 a 2 log<sub>10</sub> de ufc/mL con el empleo de detergentes catiónicos y aniónicos en los cuales se obtuvieron valores similares. Se destacó la obtención de valores aún menores con el uso de detergentes aniónicos debido a su acción específica sobre el microorganismo empleado en el estudio (*Bacillus stearothermophilus*) clasificado como una bacteria grampositiva. Esta solución detergente formada por jabones y ácidos grasos se une a los grupos básicos de los microorganismos grampositivos y en dependencia de la fuerza de unión entre los grupos reactivos y los compuestos dan como resultado reacciones irreversibles con efecto bactericida.

Para el caso de los detergentes catiónicos, los cuales contienen un grupo aniónico cuaternario hidrosoluble que se disocia para formar un catión, promueve que el contacto de la bacteria con este agente catiónico origine la pérdida de su carga negativa y la adquisición de carga positiva debido a la adsorción de iones positivos y la pérdida de fósforo, nitrógeno y otras sustancias importantes para su desarrollo y síntesis celular con la penetración de sustancias capaces de desnaturalizar sus proteínas activas.<sup>11,12</sup>

Mediante el estudio realizado se demostró la eficiencia del procedimiento de limpieza en la reducción de la biocarga microbiana sobre los dispositivos testados, el desprendimiento y arrastre de contaminantes orgánicos e inorgánicos de las paredes en los lúmenes internos, lo cual evita las interferencias que pueden causar los detritos celulares en la penetración del agente esterilizante y facilita su modo de acción, lo que asegura la obtención de niveles de 10<sup>-6</sup> unidades formadoras de colonias en los dispositivos esterilizados posteriormente a dicho proceso.

## Summary

It was proved the need of applying the cleaning procedure as an essential step previous to sterilization. Cardiovascular catheters and of aspiration classified into critical and semicritical items, respectively, and chemically composed of polyvinyl chloride and propylene fluoroethylene (teflon) were used as devices and inoculated with a specific concentration of *Bacillus stearothermophilus* and subjected later to the cleaning procedure. The qualitative and quantitative analysis was made by spectrophotometric methods and lower levels of reduction of microbial bioburden were observed in devices composed of teflon. As to the action of the tensoactive agents it was obtained a higher reduction (3 log<sub>10</sub> ufc/mL) on applying enzymatic detergents. It was demonstrated the efficiency of the cleaning procedure in the reduction of the microbial bioburden in the devices and the release of organic and inorganic pollutants as a guarantee to lower the colony-forming units to levels of 10<sup>-6</sup> in the sterilized devices.

*Subject headings:* EQUIPMENT AND SUPPLIES; STERILIZATION/instrumentation; STERILIZATION/methods; HEART CATHETERIZATION/instrumentation; DETERGENTS; SURFACE-ACTIVE AGENTS.

### Referencias bibliográficas

1. Association for the Advancement of Medical Instrumentation (AAMI). Technical Information Report. Designing, Testing, and Labeling Reusable Medical Devices for Reprocessing in Health Care Facilities: A Guide for Device Manufactures. AAMI-TIR No. 12. Arlington, Va:AAMI, 1994.
2. American Society for Testing and Materials (ASTM). Standard Practice for Cleaning and Disinfection of Flexible Fiberoptic and Video Endoscopes Used in the Examination of the Hollow Viscera. ASTM F 1518-94. Philadelphia, Pa:ASTM;1994.
3. Abbott CF, Cockton J, Jones W. Science papers and discussions, resistance of crystalline substances to gas sterilization. J Pharm Pharmacol 1956;6:709-21.
4. Royce A, Bowler C. Ethylene oxide sterilization-some experiences and some practical limitations. J Pharm Pharmacol 1961;87t-94t.
5. Sykes G. The phenomenon of bacterial survival. J Appl Bact 1963;26:287-94.
6. Doyle JE, Ernst RR. Resistance of Bacillus subtilis var. niger spores occluded in water-insoluble crystals to three sterilization agents. Appl Microbiol 1967;15:726-30.
7. Alfa MJ, DeGagne P, Olson N, Puchalski T. Comparison of ion plasma, vaporized hydrogen peroxide, and 100 % ethylene oxide sterilizers to the 12/88 ethylene oxide gas sterilizer. Infect Control Hosp Epidemiol 1996;17:92-100.
8. AAMI/FDA Designing, Testing & Labeling Reusable Medical Devices for Reprocessing in Health Care Facilities. November 13-15, 1996. Los Angeles, CA.
9. Vanek VW, Kupensky TD, Thomsom JD. Hypersensitivity-like Reactions Related to Insertion of Aquavene-based Midline and PICC Catheters. J Intraven Nurs 1997;20(1):23-7.
10. Miller CH, Riggen SD, Sheldrake MA, Neeb JM. Presence of microorganisms in used ultrasonic cleaning solutions. Am J Dent 1993;6(1):27-31.
11. Lamanna CY, Vallete MK. "Basic Bacteriology, Its Biological and Chemical Background". 2. Ed USA: Waverly Press; 1959.
12. Russell AD, Furr JR, Maillard JY. Microbial susceptibility and resistance to biocides. ASM New 1997;63(9):481-7.

Recibido: 30 de abril de 2002. Aprobado: 22 de octubre de 2002.

Lic. Roxana Hidalgo Rodríguez. Calle 10 No. 61 entre C y D. Lawton. CP 10700. Ciudad de La Habana. Cuba.

[1 Licenciada en Microbiología.](#)

[2 Licenciada en Enfermería.](#)

[3 Licenciada en Farmacia.](#)

[4 Técnico en Farmacia.](#)

[5 Técnico en Microbiología.](#)

