HIGIENE Y SANIDAD AMBIENTAL

Hig. Sanid. Ambient. 2: 33-35 (2002)

Dirección

Prof. Miguel Espigares García

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja. 18071 Granada, España. Telf: 958 243 169. Fax: 958 249 958. E-mail: mespigar@ugr.es

Comité de redacción

Prof. Milagros Fernández-Crehuet Navajas. E-mail: fcrehuet@ugr.es

Prof. Pablo Lardelli Claret. E-mail: lardelli@ugr.es

Prof. Obdulia Moreno Abril. E-mail: omoreno@ugr.es

Prof. José Antonio Pérez López. E-mail: japerez@ugr.es

Redacción

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja. 18071 Granada, España. Telf: 958 243 169. Fax: 958 249 958. Email: mespigar@ugr.es

Depósito legal GR-222/2002 ISSN 1579-1734

Higiene y Sanidad Ambiental es una revista electrónica en español, de difusión gratuita, que publica trabajos de investigación originales, revisiones y procedimientos técnicos, con un contenido relativo al área científica de Higiene y Sanidad Ambiental: criterios de calidad ambiental; contaminación de agua, aire y suelo; análisis de riesgos y exposición ambiental, industrial y laboral; epidemiología ambiental; técnicas de saneamiento; higiene de los alimentos; higiene hospitalaria; antibióticos, desinfección y esterilización; tratamiento de aguas y residuos sólidos; etc. También podrán ser publicados artículos relativos a la docencia universitaria de estos contenidos.

Los artículos para la publicación en la revista *Higiene y Sanidad Ambiental*, deben ser enviados a la Dirección de la revista en soporte electrónico con formato de Microsoft Word (o compatible), con un estilo editorial internacionalmente aceptado en las publicaciones científicas (título, resumen, palabras clave, introducción, material y métodos, resultados, discusión, bibliografía, etc.).

Las suscripciones a la revista *Higiene y Sanidad Ambiental* son gratuitas y se pueden realizar mediante el envío de un correo electrónico dirigido a la Dirección o Comité de Redacción.

Higiene y Sanidad Ambiental, 2: 33-35 (2002)

33

Valoración de la actividad desinfectante de Perasafe^ò sobre cepas de referencia

M. Espigares García

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Farmacia. Campus Universitario de Cartuja. 18071. Granada. España. Tel. 958 243 169. Fax. 958 249 958. E-mail: mespigar@ugr.es

INTRODUCCIÓN

Los desinfectantes de alto nivel son esporicidas, que llegarían a esterilizar si actuaran durante un tiempo suficiente. Un agente que consigue la esterilización química al cabo de horas, es capaz de proveer una alta desinfección en unos minutos (MARTÍNEZ y cols, 1996). En periodos de exposición de menos de 30 minutos destruyen una amplia variedad de formas vegetativas (micobacterias, hongos, bacterias Gram positivas y negativas, y virus), y un gran porcentaje de esporas bacterianas (HERRUZO CABRERA y cols., 2001). A este grupo pertenecen el ácido peracético y el glutaraldehído, entre otros.

El glutaraldehído es uno de los desinfectantes que más se usan. Las soluciones que contienen glutaraldehído al 2 % se comportan como excelentes esporicidas en 8 a 10 horas. Solo serán activas cuando el pH esté entre 7.5 y 8.5, teniendo una vida media de 14-28 días, ya que se produce una polimerización de las moléculas del glutaraldehído (HERRUZO y cols, 2001). La actividad biocida del glutaraldehído se debe a la alcalinización del sulfhidrilo, carboxilo, hidroxilo y grupos amino de los microorganismos, los cuales alteran el RNA, el DNA y la síntesis proteica.

Aunque el glutaraldehído al 2% muestra un amplio espectro, sin embargo aparecen efectos indeseables. Existen algunas razones, fundamentalmente relativas a riesgos laborales, que han creado en la actualidad una necesidad de alternativas al glutaraldehído, para la desinfección de alto nivel. Esta es la causa principal por la que surge la necesidad de alternativas al glutaraldehído. Unas de estas alternativas puede ser el ácido peracético que tiene una excelente actividad esporicida y micobactericida, incluso a bajas temperaturas, y permanece activo en presencia de materia orgánica (RUTALA, 1996).

El ácido peracético a bajas concentraciones se caracteriza por una rápida acción frente a todos los microorganismos. La ventaja es que los productos que se forman en su descomposición no son nocivos. Presenta una gran inestabilidad cuando se diluye por lo que se han desarrollado productos desinfectantes en forma de polvos de preparación extemporánea formado por peróxido, ácidos orgánicos y estabilizadores (RUTALA, 1996). Entre estos productos se encuentra el preparado comercial Perasafe®, que al diluirlo produce la liberación de iones peracético equivalentes a 0.26 % de ácido peracético. A esta concentración presenta una actividad equivalente a la del glutaraldehído al 2 %, por lo que constituye una alternativa muy eficaz y no tóxica para la desinfección de alto nivel.

El objetivo de este estudio ha sido la valoración de la actividad antimicrobiana de Perasafe[®], frente a las cepas de referencia indicadas en las normas AFNOR (1995).

MATERIAL Y MÉTODOS

Material

Se ha utilizado Perasafe (Antec International Ltd.; Tedec-Meiji Farma, S.A.), del que se disolvían 16.2 g/L en agua destilada estéril a 35 °C, agitándose durante 10-20 minutos hasta su completa disolución. A partir de esta solución de uso, se preparaban con agua destilada estéril, las diluciones necesarias para la determinación de la concentración mínima bactericida (CMB).

Las cepas utilizadas han sido las siguientes: Staphylococcus aureus CIP 53.154 Enterococcus faecium CIP 58.55 Escherichia coli CIP 54.127 Pseudomonas aeruginosa CIP A22 Mycobacterium smegmatis CIP 73.26 Valoración de la actividad desinfectante de Perasafe® sobre cepas de referencia *Hig. Sanid. Ambient.* **2:** 33-35 (2002)

Metodología

La valoración de la actividad bactericida se ha realizado mediante el método de dilución-neutralización, de acuerdo con la norma AFNOR NF T 72-150 (AFNOR, 1995).

El neutralizante utilizado para inhibir la acción antiséptica ha sido el siguiente: Tween 80, 3 mL; L-histidina, 0.1 g; tiosulfato sódico, 0.5 g; lecitina, 0.3 g; tampón fosfato 2.5 mM, pH 7 (KH₂PO₄, 140.5 mg/L; Na₂HPO₄, 219.7 mg/L), 100 mL. Se preparaba con todos los componentes, excepto la lecitina, que se añadía tras la esterilización del resto de los componentes en el autoclave a 120 °C durante 15 minutos. El neutralizante ha sido validado para cada una de las cepas ensayadas, frente a Perasafe® a concentración 1/5 de la de uso de acuerdo con la norma AFNOR anteriormente señalada.

Los ensayos se han realizado con suspensiones bacterianas de 1.3×10^8 bacterias/mL. La temperatura de ensayo ha sido 20 °C y el tiempo de contacto 5 minutos.

RESULTADOS

A continuación se exponen los resultados correspondientes a las distintas concentraciones y cepas bacterianas ensayadas.

Ensayos de validación del neutralizante

Staphylococcus aureus CIP 53.154

Recuento de la suspensión: 174 ufc/mL $N = 1.7 \times 10^8$ bacterias/mL Ensayo de neutralización: 82 ufc/mL $n' = 0.8 \times 10^8$ bacterias/mL

Enterococcus faecium CIP 58.55

Recuento de la suspensión: 329 ufc/mL $N = 3.3 \times 10^8$ bacterias/mL Ensayo de neutralización: 351 ufc/mL $n' = 3.5 \times 10^8$ bacterias/mL

Escherichia coli CIP 54.127

Recuento de la suspensión: 162 ufc/mL $N = 1.6 \times 10^8 \text{ bacterias/mL}$ Ensayo de neutralización: 114 ufc/mL $n' = 1.1 \times 10^8 \text{ bacterias/mL}$

Pseudomonas aeruginosa CIP A22

Recuento de la suspensión: 151 ufc/mL $N = 1.5 \times 10^8 \text{ bacterias/mL}$ Ensayo de neutralización:
Recuento: 110 ufc/mL $n' = 1.1 \times 10^8 \text{ bacterias/mL}$

Mycobacterium smegmatis CIP 73.26

Recuento de la suspensión: 268 ufc/mL $N = 2.7 \times 10^8$ bacterias/mL Ensayo de neutralización: 158 ufc/mL $n' = 1.6 \times 10^8$ bacterias/mL

En los ensayos de validación del neutralizante se han obtenido valores superiores al 50 % del recuento control en todas las cepas ensayadas. Por lo tanto, de acuerdo con las normas AFNOR, el neutralizante es adecuado para inactivar el producto a las concentraciones utilizadas.

Ensavos de valoración del desinfectante

Staphylococcus aureus CIP 53.154

Recuento de la suspensión: 179 ufc/mL $N = 1.8 \times 10^8$ bacterias/mL

Ensavos a distintas concentraciones de Perasafe®:

_			
	Concentración	RECUENTO DE	REDUCCIÓN
	$(\mu g/mL)$	SUPERVIVIENTES	LOGARÍTMICA
	(DILUCIÓN)	(ufc/mL)	
	2600 (Uso)	0	>6.25
	520 (1/5)	0	>6.25
	260 (1/10)	10	5.25
	130 (1/20)	0	>6.25
	65 (1/40)	0	>6.25
	43.3 (1/60)	1	6.25

Concentración mínima bactericida (CMB): <43.3 µg/mL (dilución 1/60).

Enterococcus faecium CIP 58.55

Recuento de la suspensión: 340 ufc/mL $N = 3.4 \times 10^8$ bacterias/mL

Ensayos a distintas concentraciones de Perasafe®:

Concentración	RECUENTO DE	Reducción
$(\mu g/mL)$	SUPERVIVIENTES	LOGARÍTMICA
(DILUCIÓN)	(ufc/mL)	
2600 (Uso)	0	>6.53
520 (1/5)	0	>6.53
260 (1/10)	6	5.75
130 (1/20)	0	>6.53
65 (1/40)	0	>6.53
43.3 (1/60)	>300	<4.05

Concentración mínima bactericida (CMB): 65 µg/mL (dilución 1/40).

Escherichia coli CIP 54.127

Recuento de la suspensión: 186 ufc/mL

 $N = 1.9 \times 10^8$ bacterias/mL

Ensayos a distintas concentraciones de Perasafe®:

Concentración	RECUENTO DE	Reducción
$(\mu g/mL)$	SUPERVIVIENTES	LOGARÍTMICA
(DILUCIÓN)	(ufc/mL)	
2600 (Uso)	0	>6.28
520 (1/5)	0	>6.28
260 (1/10)	0	>6.28
130 (1/20)	0	>6.28
65 (1/40)	0	>6.28
43.3 (1/60)	0	>6.28

Concentración mínima bactericida (CMB): >43.3 µg/mL (dilución 1/60).

Valoración de la actividad desinfectante de Perasafe® sobre cepas de referencia *Hig. Sanid. Ambient.* **2:** 33-35 (2002)

Pseudomonas aeruginosa CIP A22

Recuento de la suspensión: 310 ufc/mL

 $N = 3.1 \times 10^8$ bacterias/mL

Ensayos a distintas concentraciones de Perasafe®:

Concentración	RECUENTO DE	REDUCCIÓN
$(\mu g/mL)$	SUPERVIVIENTES	LOGARÍTMICA
(DILUCIÓN)	(ufc/mL)	
2600 (Uso)	0	>6.49
520 (1/5)	0	>6.49
260 (1/10)	0	>6.49
130 (1/20)	2	6.19
65 (1/40)	63	4.69
43.3 (1/60)	>300	<4.01

Concentración mínima bactericida (CMB): 130 µg/mL (dilución 1/20).

Mycobacterium smegmatis CIP 73.26

Recuento de la suspensión: 268 ufc/mL

 $N = 2.7 \times 10^8$ bacterias/mL

Ensayos a distintas concentraciones de Perasafe®:

Concentración	RECUENTO DE	REDUCCIÓN
$(\mu g/mL)$	SUPERVIVIENTES	LOGARÍTMICA
	(ufc/mL)	
2600 (Uso)	0	>6.43
520 (1/5)	0	>6.43
260 (1/10)	22	5.09
130 (1/20)	7	5.58
65 (1/40)	352	3.88
43.3 (1/60)	>300	<3.95

Concentración mínima bactericida (CMB): 130 μg/mL (dilución 1/20).

DISCUSIÓN

Como puede observarse en los resultados, Perasafe[®] presenta efecto bactericida frente a bacterias grampositivas, gramnegativas y micobacterias atípicas (M. smegmatis), a la concentración de uso recomendada por el fabricante (concentración de iones peracetato equivalentes a 0.26 % de ácido peracético).

La actividad de este desinfectante es elevada ya que continúa mostrando actividad bactericida tras su dilución. Así, en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* la actividad bactericida se conserva en la dilución 1/60, para *Enterococcus faecium* es bactericida hasta la dilución 1/40, y para *Pseudomonas aeruginosa* la mayor dilución bactericida es 1/20. *Mycobacterium smegmatis* es sensible a la concentración de uso, conservándose el efecto micobactericida hasta la dilución 1/20.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos frente a las cepas de referencia recomendadas en la norma AFNOR NF T 72-150, Perasafe® presenta efecto bactericida a la concentración de uso recomendada en un tiempo de contacto de 5 minutos, actividad que se conserva incluso a dilución 1/20 en todas las cepas ensayadas.

BIBLIOGRAFÍA

AFNOR (1995): Antiseptiques et désinfectants. AFNOR. París.

HERRUZO CABRERA, R., GARCÍA CABALLERO, J. y DOMÍNGUEZ ROJAS, V. (2001): Esterilización y desinfección. *In* GÁLVEZ VARGAS, R. y cols.: Piédrola Gil, Medicina Preventiva y Salud Pública. Pp. 413-423. 10ª ed. Masson. Barcelona.

MARTÍNEZ, J., DÁVILA, F. M., SANZ, I., TORRES, J. L., MÚJICA, N. y DE JUANES, J. R. (1996): La desinfección con glutaraldehído. Revisión y estudio transversal por encuesta. *Medicina Preventiva*, **2:** 29-32.

RUTALA, W. (1996): Draft APIC guidelines for selections and use desinfectans. *Am. J. Infect. Control*, **24:** 313-342.