



“Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas”

“Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia”

“EVALUACION DEL EFECTO ESTERILIZADOR DE LA
FORMALINA A DIFERENTES DOSIS SOBRE MATERIAL
QUIRURGICO, LIMA”

TESIS

Para optar el Título Profesional de:

MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

AUTORA

MAYRA MELISSA TORRES TORRES

BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Asesor:

Mg. Siever Miguel Morales Cauti

Lima-Perú

2020

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 12 de junio de 2020.

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: M.V. JESUS ALBERTO CHANAME PARRAGUEZ
Miembro: M.V. GIANMARCO PAOLO ROJAS MORENO
Miembro: M.V.Z. DANTE ALFREDO MEZA RUIZ

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

“EVALUACION DEL EFECTO ESTERILIZADOR DE LA FORMALINA A DIFERENTES DOSIS SOBRE MATERIAL QUIRURGICO, LIMA”

Presentada por el estudiante/bachiller:

MAYRA MELISSA TORRES TORRES

Para optar el Título Profesional de **Médico Veterinario y Zootecnista**

Asesorada por: **Mg. SIEVER MIGUEL MORALES CAUTI**

Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño de la tesista de la carrera de **Medicina Veterinaria y Zootecnia** en la sustentación, concluyen de manera unánime (x) por mayoría simple (-) calificar a:

Tesis: MAYRA MELISSA TORRES TORRES			Nota (en letras): Diecisiete
Aprobado ()	Aprobado - Muy buena (X)	Aprobado - Sobresaliente ()	Desaprobado ()

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.



M.V. JESUS ALBERTO CHANAME PARRAGUEZ
Presidente



Mg. SIEVER MIGUEL MORALES CAUTI
Asesor



M.V. GIANMARCO PAOLO ROJAS MORENO
Miembro 1



M.V.Z. DANTE ALFREDO MEZA RUIZ
Miembro 2

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico enteramente a mis padres por su gran paciencia y amor incondicional, gracias a sus esfuerzos y apoyo he podido lograr cada meta que me propuse, y esta es una más, no suelo agradecerles todo lo que han hecho por mí, en cada paso de mi vida, pero aprovecho este espacio para expresarles todo mi amor y respeto infinito hacia ustedes, mis padres; soy lo que soy ahora, por ustedes, y siempre me esforzaré por seguir mejorando y poder hacerlos sentir siempre orgullosos.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco el gran apoyo que me ha dado mi pareja, amor y comprensión, siempre estuviste presente cuando necesite ánimos para continuar o pausas para descansar, gracias por ser parte importante de mi vida.

También debo agradecer al M.V. José Luis Panta, que ha sido un gran amigo y apoyo importante en esta investigación. A mi director de tesis, Mg. Siever Morales Cauti, por la dirección y ayuda constante el todo el proceso de la elaboración de la tesis; y a mi Universidad Científica del Sur, por brindarme sus instalaciones y apoyo para la investigación.

Por último, agradezco nuevamente a mi familia, mi mamá, papá y hermano que ellos forman mi apoyo emocional en todo momento, me siento muy afortunada de tenerlos.

INDICE

DEDICATORIA	2
AGRADECIMIENTO	3
ÍNDICE DE CUADROS Y TABLAS	6
ÍNDICE DE FIGURAS	7
RESUMEN	8
ABSTRAC	9
I. INTRODUCCIÓN	10
II. REVISION BIBLIOGRAFICA	11
2.1 Métodos de esterilización	12
2.1.1 Físicos	14
2.1.2 Químicos	16
2.1.2.1 Propiedades de la formalina	18
2.1.2.1.1 Efectos de la formalina sobre la salud	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1 Localización	21
3.2 Población y muestra	21
3.3 Experimento	22

3.3.1 Obtención de muestras	22
3.3.2 Procesamiento de muestras	22
3.3.3 Esterilización e identificación	24
3.3.3.1 Proceso de esterilización	24
3.3.3.2 Indicadores de esterilización	24
3.3.3.2.1 Indicadores Físicos	24
3.3.3.2.2 Indicadores Químicos	25
3.3.3.2.3 Indicadores Biológicos	25
IV. RESULTADOS	26
V. DISCUSION	30
VI. CONCLUSIONES	33
VII. BIBLIOGRAFIA	34
VIII. ANEXOS	36

INDICE DE CUADROS Y TABLAS

Cuadro 1. Clasificación de los Métodos de Esterilización	13
Tabla 1. Frecuencia de presentación de microorganismos con la técnica de esterilización con formalina	27
Tabla 2. Frecuencia de presentación de microorganismos con la técnica de esterilización con autoclave	28
Tabla 3. Actividad antimicrobiana de <<esterilizantes>> usados comúnmente en frío	41

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Preparación de hisopos estériles	37
Figura 2. Agares Stuard, medio de transporte para muestras	37
Figura 3. Agares TSA (Trypticasa de Soya), Mc Conkey y Sabouraud	38
Figura 4. Frasco de formalina	38
Figura 5. Sembrado	39
Figura 6. Agar TSA con crecimiento microbiano	39
Figura 7. Agar Mc Conkey con crecimiento microbiano	39
Figura 8. Agar Sabouraud con crecimiento microbiano	40
Figura 9. Bacilos Gram negativo	40
Figura 10. Cocos Gram negativo	40
Figura 11. Cocos Gram positivo	40

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo probar tres (03) dosis diferentes de formalina como método de esterilización químico gaseoso. Se consideró 20 cirugías que fueron clasificadas en cuatro grupos iguales de evaluación, que recibieron dosis de esterilización distinta: Grupo A o formalina dosis 1 (4 gramos), Grupo B o formalina dosis 2 (6 gramos), grupo C o formalina dosis 3 (8 gramos) y grupo D o autoclave (grupo control); con 10 muestras tomadas del instrumental evaluado en cada cirugía. Se evaluaron la presencia o ausencia de bacterias y levaduras, luego del proceso de cirugía y después del proceso de esterilización. En total se analizaron 200 muestras para establecer que técnica de esterilización es la adecuada. Se encontró crecimiento de microorganismos en distintos agares a diferentes dosis de formalina a las 24 horas. En conclusión, la metodología de esterilización con formalina no es adecuada a las dosis de 4, 6 y 8 gramos en 3 horas a temperatura ambiente.

Palabras clave: formalina, esterilización químico gaseoso, instrumental quirúrgico.

ABSTRACT

The present work aimed to test three different doses of formalin as a method of gaseous chemical sterilization. Twenty surgeries were considered, which were classified into four equal evaluation groups, who received different sterilization doses: Group A or formalin dose 1 (4 grams), Group B or formalin dose 2 (6 grams), group C or formalin dose 3 (8 grams) and group D or autoclave (control group); with 10 samples taken from the instruments evaluated in each surgery. The presence or absence of bacteria and yeasts were evaluated, after the surgery process and after the sterilization process. In total, 200 samples were performed to establish which sterilization technique is adequate. Microorganism growth was found in different agars at different doses of formalin at 24 hours. In conclusion, the formalin sterilization methodology is not suitable for doses of 4, 6 and 8 grams in 3 hours at room temperature.

Keywords: formalin, gaseous chemical sterilization, surgical instruments.

I. INTRODUCCION

La esterilización es un método indispensable para el uso de todo tipo de instrumental quirúrgico, antes y después de una cirugía, ya que durante este procedimiento el material estará en contacto con sangre, tejidos, secreciones y otros fluidos, los cuales pueden haber entrado en contacto con agentes contaminantes. Un instrumento que no esté estéril puede constituir un serio peligro para la salud, debido al riesgo de contaminación y posible causa de infecciones o enfermedades.

Existen diversas técnicas para esterilizar con agentes físicos como la autoclave por calor húmedo; o agentes químicos como los gases, la formalina; o líquidos, como povidona iodada (López & García, 2013). Estudios determinaron que la formalina (polímero del formaldehído) por medio de un método químico gaseoso puede esterilizar diversos materiales, ya que en contacto con el aire desprende vapores secos de formol (Marcelo, 2014), sin necesitar de un equipo especial, e incluso se puede transportar el material que está en proceso de esterilización; siendo este proceso fácil de aplicar y a un bajo costo. Sin embargo, no se cuenta con mucha información que nos indique la dosis adecuada para lograr una completa esterilidad (asepsia) de los materiales a esterilizar. Es por ello que se deben determinar la efectividad de la esterilización mediante la formalina con diferentes dosis sobre el material quirúrgico.

Se podrá difundir la técnica correcta respecto a los tiempos y dosis adecuados del proceso con la formalina a temperatura de ambiente y así se obtendrá una mejor práctica de esterilidad que se utilice en todo procedimiento médico veterinario del medio.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La cirugía es el procedimiento desarrollado para tratar las patologías que se solucionan mediante procedimientos quirúrgicos, tanto electivos como de urgencia (Hepp et. al, 2008). Es indispensable la esterilización de los materiales para la cirugía, de este modo se puede evitar infecciones post quirúrgicas (Slatter, 2006).

La esterilización consiste en la eliminación o destrucción de todos aquellos microorganismos viables presentes en un determinado elemento o superficie. No existen grados de esterilidad. Un objeto es estéril o no lo es (Vadillo, Píriz y Mateos, 2003).

Alrededor del 5% de los pequeños animales que son sometidos a cirugías generan infecciones post-quirúrgicas, a pesar de la extensa aplicación de medidas para controlar la contaminación bacteriana durante la cirugía y el uso excesivo de antibióticos. El impacto de estas infecciones puede ser desde una morbilidad menor que se resuelve con rapidez, hasta alteraciones significativas que de manera peligrosa ponen en riesgo la vida del animal. En los animales, las infecciones post-quirúrgicas son el tipo más común de infecciones adquiridas en el nosocomio (Slatter, 2006).

Por otro lado, la emergencia de microorganismos resistentes a antibióticos es un problema importante, tanto en medicina humana como veterinaria. El estricto seguimiento de una técnica aséptica, el minimizar la contaminación de la herida y prevenir la infección aún sigue siendo un punto crucial en el éxito de una cirugía (Slatter, 2006), para disminuir el uso de antibacterianos.

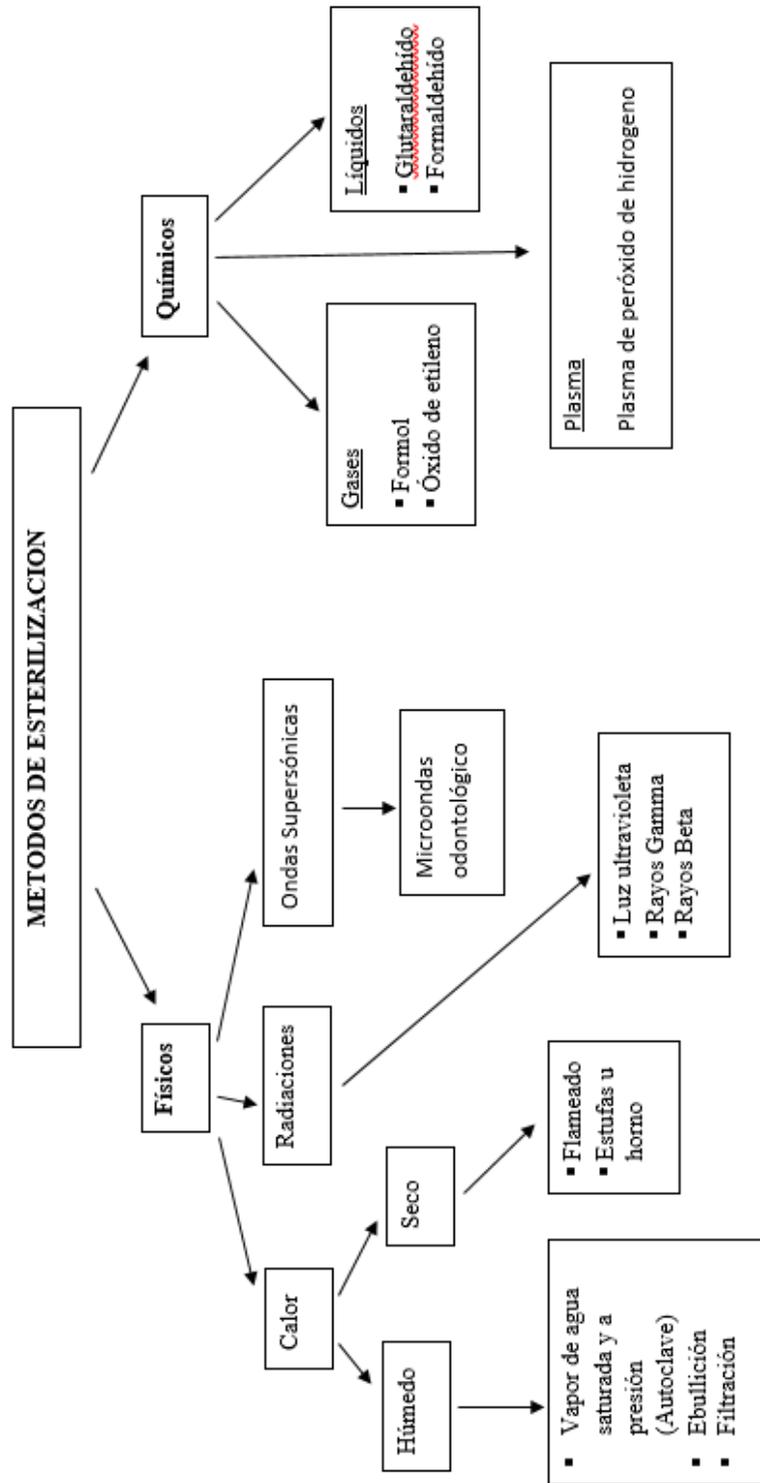
La asepsia se refiere a un conjunto de técnicas que garantizan la ausencia de gérmenes o microorganismos infecciosos, tanto en las superficies y profundidad, de los materiales expuestos o de los seres vivos (Silva, et al., 2006). La técnica aséptica se define como los métodos y prácticas que previenen la contaminación cruzada durante la cirugía. Implica la preparación adecuada de las instalaciones y el entorno, el campo

operatorio, el personal y material quirúrgico (Fossum, et al., 2009).

2.1 Métodos de Esterilización

La esterilización se consigue por la acción de una serie de agentes físicos o químicos (**cuadro 1**). Los métodos químicos son, en general, más usados para instrumental quirúrgico. La esterilización química en general se lleva a cabo con óxido de etileno o peróxido de hidrógeno, aunque el formaldehído y la β -propiolactona también se utilizan en ciertas ocasiones. Se puede usar también varios desinfectantes como esterilizantes en frío para elementos quirúrgicos no críticos (Slatter, 2006).

Cuadro 1. Clasificación de los Métodos de Esterilización.



Lopez Z. & Garcia M. (2013)

2.1.1 Métodos Físicos

Los métodos físicos como el calor seco (estufa u horno), se emplean básicamente para la esterilización de vidrio y material de laboratorio, polvos y sustancias oleosas. El sistema más conocido es la estufa de Poupinel (Insalud, 1997). Consiste en el aprovechamiento del calor que produce una resistencia eléctrica dentro de un recipiente herméticamente cerrado, entre paños para colocar instrumental, termostato, y un regulador automático de temperatura. Como ventajas, este es un método seguro y para esterilizar metales y espejos, pues no oxida o corroe y los bordes cortantes, no pierden filo. Siendo las desventajas, el requerir un ciclo largo, tener una penetración pobre y de destruir los elementos termolábiles (López & García, 2013).

El Calor Húmedo (autoclave) es el medio más práctico y eficaz para la esterilización en el consultorio. La esterilización se alcanza gracias al vapor generado por el agua súper calentado, y mantenido a presión, que provee una caldera de metal de paredes resistentes y tapa de cierre hermético (López & García, 2013). La acción humectante del vapor aumenta la sensibilidad de los microorganismos al calor, produciéndose la desnaturalización de los componentes celulares (Insalud, 1997). Se compone de un cilindro de cobre, con una tapa en su parte anterior, la que cierra herméticamente. El ciclo de esterilización es corto, se caracteriza por una buena penetración, da la posibilidad de esterilizar gasas, algodón, campos, camisolines, gomas y otros materiales, así como de esterilizar instrumental rotatorio. Y las desventajas del método son que los instrumentos cortantes pierden filo y produce corrosión del instrumental (López & García, 2013).

Otros métodos físicos como radiaciones ionizantes o radiación en frío tienen como principio de esta técnica que se basa en generar rayos cargados de energía (iones) que lesionan la materia de los organismos vivos. La energía es convertida en calor causando la muerte de los microorganismos (Silva, et al., 2006).

Se utilizan varios tipos de radiaciones. Rayos Gamma, indicado para esterilizar materiales termo sensibles como tejidos humanos, materiales de goma, medicamentos, etc. Es un sistema costoso y precisa de protección especial para el personal. En el caso de los rayos beta, la energía que generan se obtiene por medio de isótopos radioactivos y de un acelerador de partículas; y para los rayos ultravioletas, es un proceso

relativamente caro e ineficaz debido a que no llega a todas las superficies de forma uniforme, es poco usado (Silva, et al., 2006).

También las Ondas supersónicas (microondas odontológico) sirven como método físico para esterilizar, las microondas comparten la propiedad de hacer vibrar ciertas moléculas de los cuerpos que atraviesan, calentándolos, estas moléculas actúan como barras magnéticas tratando de orientarse o polarizarse ellas mismas bajo la acción del campo. Debido a que el campo cambia de sentido con una frecuencia entre 10 y 6.000 MHz (millones de veces por segundo) la fricción interna entre las moléculas es lo que genera su calentamiento (Risco, et al., 2014).

La Filtración es utilizada para esterilizar disoluciones de materiales termolábiles a través de filtros que son capaces de retener los microorganismos. Los microorganismos quedan atrapados en parte por el pequeño tamaño de los poros del filtro y en parte por la adsorción a las paredes de los poros del filtro durante su paso a través de este (Stanier, et al., 1992).

Con el flameo se trata del calor que produce una llama de gas o alcohol; es un procedimiento de emergencia y consiste en colocar directamente en la llama el objeto que se desea esterilizar (López & García, 2013).

2.1.2 Métodos Químicos

La esterilización con los agentes químicos como el Óxido de etileno, resulta ser un poderoso agente esterilizante gaseoso de lenta acción, inflamable cuando aparece en concentraciones iguales o superiores al 3 %, y altamente tóxico cuando es ingerido o inhalado (mutágeno y carcinógeno) (López & García, 2013). Entre sus ventajas tenemos, la alta capacidad de penetración, no daña materiales sensibles al calor y la validez de esterilización es de largo tiempo. Sus desventajas son que necesita de un largo ciclo, es altamente tóxico (López & García, 2013), pudiendo provocar reacciones locales sobre la piel mucosas incluso efectos tóxicos sistémicos (Acosta-Gnass & De Andrade, 2008), es inflamable y es un método muy costoso (López & García, 2013).

El sistema de esterilización por plasma de peróxido de hidrógeno, tiene como proceso una solución acuosa de peróxido de hidrógeno al 58% que es vaporizada en el interior de una cámara hermética. Por medio de inducción de radiofrecuencia, se generan campos eléctricos que provocan aceleración de electrones y otras partículas, que colisionan unas contra otras, generándose el plasma (Codeinep, 2017). Estas colisiones inician reacciones que producen radicales libres: hidroxilos, hidroperoxidrilos, peróxido activado, luz ultravioleta y otras especies activas. Dichos radicales libres, y otras especies presentes en la nube de plasma, interactúan con la membrana celular, enzimas y ácidos nucleicos, provocando la anulación de funciones vitales del microorganismo y, por ello, su muerte (Codeinep, 2017). Es muy poco utilizado por no existir comercialmente en el mercado (Acosta-Gnass, De Andrade, 2008).

Hay soluciones químicas como las salinas que se utilizan para la esterilización, que consiste en la inmersión del instrumental en desinfectantes de alto nivel, los cuales tienen acción bactericida, virucida, fungicida y esporicida. La ventaja principal es que permiten la esterilización de materiales termo sensibles. Y sus desventajas son el largo tiempo de exposición a los agentes esterilizantes, corrosión de los instrumentos, toxicidad de las soluciones empleadas, costo elevado y dificultad operacional (López & García, 2013).

Los Aldehídos como el formaldehído son agentes esterilizantes, puede adquirirse como formalina, una solución al 37% de formaldehído gaseoso en agua o en comprimidos (Diane, 2003). Las Pastillas de formol son el método de esterilización químico gaseoso, que se trata de un polímero del formaldehído que se denomina formalina (de color blanco), que en contacto con el aire desprende vapores secos de formol; a mayor temperatura, mayor desprendimiento. Se colocan en el interior de un recipiente a utilizar (caja, tambor, sobre, etc.) junto al material a esterilizar y se le cierra herméticamente (Marcelo, 2014).

2.1.2.1 Propiedades de la formalina

El formaldehído (HCHO) es un gas incoloro y de olor irritante que se encuentra normalmente en el mercado en solución acuosa al 35-40% con el nombre de formalina (Strauch & Böhm, 2004). Es un agente químico con alto poder microbicida y como preservante de tejidos biológicos, gracias a la sublimación le permite pasar directamente del estado sólido al gaseoso sin pasar por el estado líquido (Foronda, Quemba, Conde, et al., 2005). El formaldehído puede adquirirse como formalina, esta actúa fijando o inactivando proteínas necesarias para las células (Diane, 2003). Destruye los microorganismos a través de la alquilación de grupos funcionales de proteínas y bases nitrogenadas de ácidos nucleicos (Codeinep, 2017). Es inflamable a concentraciones altas, posee olor acre, irritante y penetrante que lo identifica a concentraciones inferiores a 1 p.p.m. (Codeinep, 2017). Se emplea para esterilizar artículos que no pueden ser colocados en autoclave, como equipos y accesorios, utilizados tanto en anestesia, como en cirugía, también con lentes de aumento; cuenta con un amplio espectro de acción sobre bacterias, esporas bacterianas, hongos y virus (Diane, 2003).

El formaldehido gaseoso obtiene sus efectos óptimos a temperaturas de 22- 26°C y humedad relativa ambiental del 70-90%. Asimismo, el éxito de la esterilización depende de la concentración del gas (Hüttner, 1973 y Hüttner, Landgraf & Conrad, 1969) y durante un tiempo determinado.

La formalina se ha utilizado como agente esterilizante, bactericida y germicida en clínicas y hospitales, sin estudios que soporten su uso o que garanticen los resultados deseados. El formaldehído, en su forma natural es un gas de bajo peso molecular, fácilmente diluible en agua, este agente tiene gran tendencia a polimerizarse haciendo grupos de 3 y 4 moléculas obteniéndose el Trioximetanal o Paraformaldehído (formalina) (Foronda, et al., 2005). La formalina es un sólido de color blanco y para obtenerlo basta colocar la solución de formol a evaporarse al baño maría, a 80°C; se hacen luego las pastillas vaciando el contenido en bloques adecuados (Foronda, et al., 2005).

Cuando se utiliza formaldehído en polvo, se evaporarán por m³ de volumen 3g del polvo (Strauch & Böhm, 2004). Existen algunos estudios que intentan determinar los tiempos y temperaturas adecuadas de la formalina para poder evaluar su eficacia, como en Argentina fue utilizada en 5 horas a 20°C y en Chile se utilizó en 6 horas a unos 25°C (Tito, 2009). Lo cual indica que la técnica varía entre un lugar a otro.

Las ventajas del método son que esteriliza bien los materiales que no deben entrar en contacto con el calor o con algunos antisépticos por tener una cobertura fácilmente deteriorable (sondas y catéteres especiales). Y las desventajas del método serían que tiene el problema de que es muy irritante para las mucosas (Marcelo, 2014), también su empleo está muy limitado por poseer propiedades cancerígenas (Foronda, et al., 2005).

El formaldehído es un agente esterilizante usado en algunos de los países europeos. Ha sido aprobado para su uso en Europa por la norma DIN 588948, norma alemana que indica regulaciones muy estrictas. El grupo de normalización Europea CEN ha estado trabajando en los estándares para los esterilizadores con formaldehído, que incluyen los límites permitidos de formaldehído residual en los artículos esterilizados y el proceso de control del producto para su entrega (Sociedad de enfermeras en Pabellón quirúrgico y esterilización, 2002).

2.1.2.1.1 Efectos de la formalina sobre la salud

Cuando los vapores de formaldehído se encuentran presentes en el aire en niveles mayores a 0.1 partes por millón (ppm), se podrían presentar efectos adversos tales como irritación ocular, tos, irritación de la vía aérea, náuseas, dermatitis (Foronda, Quemba, Conde, et al., 2005); sin embargo, las experiencias de muchos investigadores parecen demostrar el desarrollo de tolerancia a concentraciones del orden de 1-2 ppm, y que en general no se producen quejas de trabajadores expuestos a niveles por debajo de 2-3 ppm. (Álvarez & Sánchez, 2012). El T.L.V (Treshold Limit Value) del formaldehído según la A.C.G.I.H (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) es de 0.3 ppm; esto indica la concentración máxima admitida a nivel ambiental bajo la cual una persona puede estar expuesta toda su vida laboral sin sufrir daños en la salud. Aunque esto también depende de la susceptibilidad de cada individuo. La inhalación de dosis altas de formaldehído produce irritación severa de la vía aérea que puede inclusive llegar a causar la muerte. La N.I.O.S.H (National Institute for Occupational Safety and Health) ha establecido un valor I.D.L.H (Immediatly Dangerous to Life or Health Concentration) de 20 ppm; esto manifiesta la concentración ambiental de formaldehído con la cual una persona está en riesgo inminente de daño a su salud o muerte (Foronda, Quemba, Conde, et al., 2005).

La ingestión de formalina puede producir la muerte inclusive en cantidades que van desde los 30 mililitros. Puede presentarse daños a nivel hepático, renal, esplénico, pancreático y a nivel del sistema nervioso central como respuesta aguda ante la ingestión de esta sustancia. Actualmente se reconoce a la formalina como una sustancia con potencial cancerígeno ya que está clasificada como parte del Grupo 1 (sustancia carcinogénica) de la I.A.R.C (International Agency for Research on Cáncer) (Stanier, Ingraham, Wheelis, Painter, 1992). Diferentes estudios han evidenciado asociación entre exposición a formaldehído y aumento en la incidencia de cáncer principalmente a nivel nasofaríngeo, sinusal y leucemia. También se ha hallado asociación entre la exposición al químico y aumento en la posibilidad de presentar cáncer a otros niveles tales como cerebro, pulmón, páncreas y cavidad oral, sin que haya podido comprobarse realmente un rol causal definitivo en estos casos (Álvarez & Sánchez, 2012).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización

El presente estudio se realizó en la clínica veterinaria “Dr. Paws” de Lima.

El procesamiento de muestras se realizó en colaboración con el laboratorio de Microbiología y Microscopía Celular de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas - Universidad Científica del Sur (FCVB – UCSUR).

3.2 Población y muestra

$$n_0 = \frac{\left(Z_{\alpha} \sqrt{2p(1-p)} + Z_{\beta} \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)} \right)^2}{(p_1 - p_2)^2}; \quad p = \frac{|p_1 - p_2|}{2}$$

Donde:

Z_{α} : Nivel de confianza al 95% (1.96)

Z_{β} : Potencia de la prueba al 80% (0.842)

p_1 : Proporción de ocurrencia del evento en el grupo tratamiento.

p_2 : Proporción de ocurrencia del evento en el grupo control.

Asumiendo la hipótesis que los tratamientos con formalina a la menor dosis tienen un efecto bactericida menor o igual al 1% y que el efecto bactericida del control (Autoclave) es del 100%; se tiene un tamaño mínimo de muestra por grupo de 20 cirugías a evaluar, es decir un total de 200 evaluaciones.

3.3 Experimento

3.3.1 Obtención de muestras

Se realizó 20 cirugías en total, las cuales se dividieron en 4 grupos con 5 cirugías cada uno, se manejó estos grupos con la finalidad de someter a 3 de ellos a dosis diferentes de formalina y el grupo adicional se comportó como grupo control, grupo I: formalina (dosis 1: 4gr), grupo II: formalina (dosis 2: 6gr), grupo III: formalina (dosis 3: 8gr) y grupo IV: autoclave. Se seleccionó 5 instrumentales quirúrgicos de cada una de las cirugías realizadas para la toma de muestra (2 tijeras; mayo y metzenbaum; 2 pinzas, halsted y adson; y 1 porta agujas).

Se trabajó en dos tiempos de muestreos en cada cirugía, post cirugía y luego del tratamiento de esterilidad del instrumental. Ambos tiempos de muestreos fueron tomados con hisopos estériles (fig. 1) de cada instrumental quirúrgico. Cada instrumental fue muestreado en su superficie de contacto dos veces por cirugía (después de la cirugía, luego se sometió a la esterilización con formalina o con autoclave dependiendo el grupo que pertenece, y culminada esta, se genera la otra toma de muestra), todas las muestras tomadas con hisopos fueron colocados en agares Stuard (fig. 2) para su movilización, mantenimiento y posterior siembra.

3.3.2 Procesamiento de muestras

Los microorganismos son ubicuos y las poblaciones naturales son mixtas. No obstante, si deseamos conocer las características de un microorganismo determinado, es necesario poder cultivarlo y mantenerlo en el laboratorio alejado de otros procedentes de su mismo hábitat, o de contaminantes ambientales. Por tanto, para cultivar un microorganismo con vistas al estudio de sus características genéticas, bioquímicas, fisiológicas u otras, es necesario dos requisitos: conseguir un medio en el que pueda crecer y obtener un cultivo puro (Vadillo, Píriz, Mateos, 2003).

Prácticamente todos los microorganismos, pero en particular las bacterias y los hongos, pueden ser cultivadas sobre substratos nutritivos para el estudio de sus propiedades o para la utilización de ciertas propiedades en condiciones controladas.

Ya que los diversos microorganismos exigen requisitos diversos para un medio de cultivo, se necesitan en el laboratorio microbiológico una serie completa de medios de cultivo especiales (García & Cordoba, 1988).

Si queremos elaborar un medio de cultivo para el crecimiento de un microorganismo, es requiere que esté provisto de una mezcla equilibrada de los nutrientes necesarios a concentraciones que permitan un buen crecimiento (Vadillo, Píriz, Mateos, 2003). Además, al crear un medio, hay que tener en cuenta si se pretende que crezca en él una población mixta, si, por el contrario, se va a utilizar para el crecimiento y selección de un determinado tipo de microorganismos, o si se quiere identificar una especie en específica. En cada caso, la composición del medio debe tener unas características determinadas (Vadillo, Píriz, Mateos, 2003).

En total se realizaron 200 muestreos para establecer que técnica de esterilización es la adecuada. Todas las muestras transportas en agar Stuard fueron sembradas en los Agares (Mc Conkey, TSA (Tripticasa de Soya) y Sabouraud) (fig. 3) Se evaluó el crecimiento bacteriano a las 24 horas (fig. 5) y el crecimiento fúngico hasta los 21 días. Todos los agares fueron puestos a cultivar en estufa a 37°C, luego de esto se tomó una muestra de las colonias formadas, de las que hubo crecimiento. Se evaluó la capacidad de fermentación de azucares como glucosa, sacarosa, lactosa con o sin producción H₂S (gas), la formación de Indol, la movilidad de las bacterias, capacidad de descarboxilación de aminoácidos como lisina, producción de ureasa, capacidad de utilizar fosfato de amonio y citrato de sodio como única fuente de nitrógeno y carbono respectivamente, presencia de la enzima catalasa, presencia de la enzima citocromo c ; también se realizó Tinción Gram para determinar la morfología de los microorganismos.

3.3.3 Esterilización e identificación

3.3.3.1 Proceso de esterilización:

Se colocó el instrumental quirúrgico a esterilizar en el interior del recipiente a utilizar (táper hermético de 600ml) y se lo cerró herméticamente. Es conveniente colocar las pastillas de formalina entre dos capas de gasa o en un recipiente fenestrado menor (dentro del otro), en este estudio se utilizó las dos capas de gasa, para evitar que el polvillo que se forma al ir consumiéndose la pastilla se adhiera a los elementos estériles. En este caso se utilizó 3 diferentes dosis 4g, 6g y 8g para un envase de 600ml. Es necesario que todo el material a esterilizar sea lavado con agua y jabón, y secado. No debe quedar sustancia orgánica adherida ya que en ese lugar la esterilidad no existirá.

Para la muestra control se utilizó el mismo instrumental quirúrgico que se usó durante cirugías y se los coloca para ser esterilizados dentro del equipo de autoclave durante media hora a temperatura de 121°C.

3.3.3.2 Indicadores de esterilización

Para que un producto sea clasificado como estéril, se debe poder garantizar que todas las etapas del proceso fueron realizadas de forma correcta y que el proceso de esterilización es validado. Para el monitoreo y control del proceso de esterilización se utilizan indicadores: los indicadores de esterilización son equipos o reactivos que tienen como objetivo certificar o validar que el proceso se efectuó de forma adecuada. Los indicadores se clasifican en: físicos, químicos y biológico.

3.3.3.2.1 Indicadores Físicos

Entre los indicadores físicos encontramos los Termómetros, Barómetros de presión, Sensores de carga, Válvulas y sistemas de registro.

3.3.3.3.2 Indicadores químicos

Los indicadores químicos, que están habilitados para la esterilización con vapor, con gas y con plasma, suelen ser tiras de papel o cintas impregnadas con un material que cambia de color cuando alcanza una adecuada temperatura. La sustancia química responde a ciertas condiciones, como calor, presión o humedad extremas, aunque no refleja la duración de la exposición. Son dispositivos que no indican esterilidad, sólo que se han cumplido ciertas condiciones para la esterilidad. Los indicadores se colocan en el centro de cada paquete y en la parte externa del elemento que se va a esterilizar (Fossum, 2008).

3.3.3.3.3 Indicadores biológicos

Están diseñados para confirmar la presencia o ausencia de microorganismos viables después del proceso de esterilización, determina la esterilización. Se coloca el indicador en la carga que se va a esterilizar. Cuando termina el ciclo de esterilización, se recoge el indicador y se cultiva o se coloca el reactivo; si crecen microorganismos o hay reacción química positiva, es que la esterilización no es correcta (Fossum, 2008). Existen diferentes indicadores biológicos según el sistema de esterilización, como las tiras con esporas, indicadores enzimáticos e indicadores biológicos autocontenidos; estos últimos son usados con mayor frecuencia, se incuban y su lectura es en 24 a 48 horas.

En el presente estudio se utilizó los indicadores biológicos de cultivos y lectura a las 24 horas, además de utilización de reactivos para visualizar si hay reacción química positiva.

IV. RESULTADOS

Se encontró crecimiento de microorganismos en distintos agares a diferentes dosis de formalina a las 24 horas (fig. 6, 7 y 8).

Se recolectó una muestra de cada colonia encontrada y se realizó tinción Gram para la identificación (fig. 9, 10 y 11).

Tabla 1. Frecuencia de presentación de microorganismos con la técnica de esterilización con formalina

Total (n)= 75

Variable	Pre - Tratamiento con Formalina			Tratamiento Formalina		
	Número	Frecuencia	+/- IC 95%	Número	Frecuencia	+/- IC 95%
Esterilidad	Estéril	54.60%	11.27%	54	72.00%	10.16%
	No estéril	45.30%	11.27%	21	28.00%	10.16%
Tipo de Microorganismo	Bacteria grampositiva	21.00%	9.22%	4	5.00%	4.93%
	Bacteria gramnegativa	12.00%	7.35%	13	17.00%	8.50%
	Hongo	17.30%	8.56%	6	8.00%	6.14%
Dosis	4 gramos	-	-	19	76.00%	16.74%
	6 gramos	-	-	17	68.00%	18.29%
	8 gramos	-	-	18	72.00%	17.60%

Tabla 1. Se muestran las frecuencias de esterilidad con la formalina y la frecuencia de aparición de los microorganismos con cada dosis de formalina, 4 gramos, 6 gramos y 8 gramos.

Tabla 2. Frecuencia de presentación de microorganismos con la técnica de esterilización con autoclave

Total (n) = 25

Variable	Pre autoclavado			Post autoclavado			
	Número	Frecuencia	+/- IC 95%	Número	Frecuencia	+/- IC 95%	
Esterilidad	Estéril	9	36.00%	18.82%	25	100.00%	0.00%
	No estéril	16	64.00%	18.82%	0	0.00%	0.00%
Tipo Microorganismo	Bacteria grampositiva	6	24.00%	16.74%	0	0.00%	0.00%
	Bacteria gramnegativa	5	20.00%	15.68%	0	0.00%	0.00%
	Hongo	5	20.00%	15.68%	0	0.00%	0.00%

Tabla 2. Se muestran las frecuencias de esterilidad con la autoclave y la frecuencia de aparición de los microorganismos.

En la tabla 1, se muestra la frecuencia de microorganismos antes y después de la esterilización con formalina. En las muestras previas a la esterilización con formalina se encontró , estériles 54.60% (41/75) y no estériles 45.30% (34/75). Y en las muestras luego del tratamiento de esterilización con formalina se encontro 72% (54/75) de muestras esteriles y 28% (21/75) de muestras no esteriles.

Se detectó 3 grupos de microorganismo; bacterias grampositivas, bacterias gramnegativas y hongos en el 21% (16/75), 12% (9/75) y 17.3% (13/75) de las muestras antes de esterilizar respectivamente, y en las muestras después de esterilizar se encontró en un 5% (4/75), 17% (13/75) y 8% (6/75), respectivamente.

Dentro de las bacterias grampositivas se aislaron las bacterias *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus* y *Bacillus sp.*, respecto a las bacterias gramnegativas se aislaron *Escherichia adecarboxylata*, *Branhamella catarrhalis*, *Shigella flexneri*, *Enterobacter cloacae*, *Edwardsiella sp.*, y *Serratia marcescens*, y con el grupo de hongos se aisló *Aspergillus sp.* y levaduras.

En las muestras expuestas a la esterilización con formalina a dosis de 4 gramos se detectó esterilidad de las muestras en un 76% (19/25), a dosis de 6 gramos en un 68% (17/25) y a dosis de 8 gramos en un 72% (18/25). El *Staphylococcus* es el microorganismo más frecuente presente, tanto en las muestras pre esterilización (11) como el las muestras tomadas post esterilización (4).

En la tabla 2, se muestra la frecuencia de presentación de los microorganismos antes y después de la esterilización con autoclave. En las muestras previas a la esterilización en autoclave se encontró estériles en un 56% (14/25) y no estériles 44% (11/25). Y en las muestras luego de la esterilización en autoclave no se encontró crecimiento, estériles en un 100% (0/25).

Se detectó 3 grupos de microorganismo; bacterias grampositivas, bacterias gramnegativas y hongos en el 24% (6/25), 20% (5/25) y 20% (5/25) de las muestras antes de esterilizar respectivamente. Y en las muestras luego de la esterilización con autoclave no presentó crecimiento de microorganismos.

V. DISCUSIÓN

La esterilización con formalina a las dosis y tiempos propuestos no lograron esterilizar el material quirúrgico seleccionado para el estudio, esto pone en riesgo al paciente, debido a la permanencia de agentes contaminantes, los cuales podrían generar infecciones secundarias después de una cirugía; siendo estas infecciones secundarias las complicaciones quirúrgicas más comunes (Slatter, 2006; Fossum, et al., 2009). Existen reportes que alrededor del 5% de los pequeños animales que son sometidos a cirugías, generan infecciones post-quirúrgicas, a pesar de la extensa aplicación de medidas para disminuir el riesgo de contaminación microbiana durante la cirugía y el uso de antibióticos (Slatter, 2006).

El estricto seguimiento de una técnica quirúrgica aséptica, el minimizar la contaminación de la herida y prevenir la infección post quirúrgica, sigue siendo un punto crucial en el éxito de una cirugía (Slatter, 2006; Fossum, et al. 2009). Las infecciones post-quirúrgicas en las heridas de los animales, suelen ser formas muy comunes de infecciones nosocomiales. Por ello, siempre será indispensable la esterilización de todo material a utilizarse en los procesos quirúrgicos, teniendo como alternativas convencionales el calor seco (horno) y el calor húmedo (autoclave) como medio más práctico y eficaz (López & García, 2013); otros estudios determinaron que la formalina (polímero del formaldehído) es un método químico gaseoso de bajo costo y fácil uso puede esterilizar diversos materiales, ya que en contacto con el aire desprende vapores secos de formol (Marcelo, 2014), sin embargo a pesar de ser una técnica que pueda optimizar tiempos y garantizar la esterilidad de los materiales (Singla, et al., 2017); esto no ha sido corroborado por el presente estudio, que reporta la ineficacia en el objetivo de la esterilización, bajo las condiciones del estudio, a pesar que el diseño del estudio contemplo evaluar la dosis recomendada y tiempo por (Tito, 2009), y se agregó 2 dosis menores. Esta diferencia de capacidad de esterilización de ambos estudios podría deberse a las diferencias estructurales de los microorganismos enfrentados, ya que en el estudio mencionado (Tito, 2009) se enfrentó como indicador biológico para monitoreo del proceso de esterilización a un cultivo de *Escherichia coli* que podría haber sido más lábil frente al gas de formalina que la gran variedad de microorganismos que aislamos

en este presente estudio, o también a diferencias del protocolo utilizados que no fueron reportados.

El proceso de esterilización por medio de la técnica de formalina no produjo los resultados de eliminación de los microorganismos que se esperaba, entonces no se logró la esterilización (Tabla 1).

Este estudio muestra que las dosis planteadas de 4 gramos, 6 gramos y 8 gramos de formalina, en 3 horas a temperatura ambiente (20 – 22°C), no son las adecuadas para lograr una esterilización óptima y confiable.

En oposición a otros estudios y reportes, donde muestran que la formalina a ocho gramos por tres horas, es un medio eficaz para esterilizar material quirúrgico en un recipiente con cierre hermético a temperatura ambiente (Tito, 2009), como también se encontró un estudio que determina una efectividad de esterilización de 100% con formalina, este proceso se llevó a cabo por 12 horas (Foronda *et al.*, 2005). Esto podría significar que posiblemente el tiempo de esterilización sometido del material quirúrgico de nuestro estudio pudo ser insuficiente para poder lograr el efecto deseado de esterilizar los materiales en estudio.

Por otro lado, pudo darse una contaminación ambiental debido a la falta de equipamiento que asegure las condiciones de esterilidad para los materiales evaluados, ya que no se contó con una cabina de flujo laminar que nos proporcione el ambiente apropiado para la manipulación aséptica (Remington, 2003). De acuerdo al estudio de análisis bacteriológico de superficies inertes, las mesas y los microscopios de los laboratorios de enseñanza se encuentran contaminados por hongos y bacterias (Gonzales, 2014). Mostrando que, en condiciones de campo, esta alternativa no tendría los resultados esperados.

Los resultados obtenidos con la técnica de autoclavado no permitió la viabilidad de los microorganismos en los implementos quirúrgicos evaluados (0%); este hallazgo reafirma eficacia de dicha técnica en el control de microorganismos a nivel de medios materiales e insumos que requieren ser esterilizados; sin embargo, esta técnica podría permitir la no esterilización absoluta de materiales, equipos e insumos, debido a malas prácticas de manejo, deficiente calidad del equipo o errores en el protocolo que este requiere; por ejemplo, debido a la mala penetración del vapor, por el hacinamiento de los paquetes dentro del autoclave, exceso

de humedad o aire residual presente en la cámara de la autoclave, debido a una condensación adicional de residuos del mismo proceso (Bryce E., et al., 1997).

VI. CONCLUSIONES

La metodología de esterilización con formalina no es un método de esterilización confiable ni adecuado a las dosis de 4, 6 u 8 gramos por 3 horas a temperatura ambiente.

VII. BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Acosta-Gnass S, De Andrade V. (2008). Manual de esterilización para centros de esterilización. Organización Panamericana de la Salud. Washington, D. C. 1(1): 91, 94.
- Álvarez L, Sánchez J.(2012). Anatomía Patológica. Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica LXIX (602) 235-339.
- Bryce E., et al. (1997). Cuando el indicador biológico es positivo: investigar fallas en autoclaves. Cambridge University Press en nombre de The Society for Healthcare Epidemiology. Vol. 18, No. 9 , pp. 654-656
- Codeinep (2017). Control de Infecciones y Epidemiología. Curso a Distancia: Procesos de esterilización. Métodos de esterilización a bajas temperaturas. Buenos Aires, argentina. Disponible en : <https://codeinep.org/wp-content/uploads/2017/04/PE-C2.pdf>
- Diane T. (2003). Cuidado Quirúrgico de pequeños animales. Acribia. España. 1(1): 59.
- Foronda E, et al. (2005). La formalina como agente bactericida de microorganismos aerobios orales. CES Odontología. 18 (1): 9.
- Fossum T, et al. (2009). Cirugía en Pequeños Animales. Elsevier. España. Parte I: Principios Quirúrgicos. (1) 13.
- García R, Cordoba R. (1988). Manual Ilustrado para Laboratorio de Bacteriología y Micología Veterinaria. Ica. México. 88, 92,93, 95, 96.
- Geronimo J. & Mora L. (1995). Universidad Nacional Autónoma de México. Manual de Bioseguridad y control de la infección para la práctica odontológica. Zaragoza, México. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=s5BJ0EWlq0oC&pg=PA32&dq=esterilizacion+ebullicion&hl=>

[es&sa=X&ved=0ahUKEwjs3ZDXwr3YAhWBOiYKHZjCAI8Q6AEIJTAA#v=onepage&q=esterilizacion%20ebullicion&f=false](#)

Gonzales S. (2014). Análisis bacteriológico de superficies inertes. Artículo Original. Universidad Veracruzana. México. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología. (3):314-320

Hepp J., Csendes A., Ibáñez F., Llanos O., San Martín S. (2008) Programa de la especialidad Cirugía General. Definiciones y propuestas de la Sociedad de Cirujanos de Chile. Rev. Chilena de Cirugía. Santiago. fe b; 60(1):79-85.

Hüttner B. (1973). Versuche zur Bruteibegasung mit Formalin. Tierärztliche Umschau. 28, 20-26.

Hüttner B., Landgraf, H. und Conrad, C. (1969). Versuche zur Bruteibegasung mit Formalin. Tierärztliche Umschau. 24: 421 – 424.

INSALUD. (1997) Manual de Gestión de los procesos de esterilización y desinfección del material sanitario. Intituto Nacional de la salud. Madrid. 1(1): 23 – 24.

Lopez Z. & Garcia M. (2013). Esterilización y Bioseguridad: capítulo VII Métodos de esterilización en Universidad Virtual de Salud de la facultad de Ciencias Médicas Manuel Fajardo de la Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Métodos de Esterilización. Cuba. Disponible en: <http://uvsfajardo.sld.cu/tema-7-metodos-de-esterilizacion>

Marcelo C. (2014). Asepsia, antisepsia, esterilización. Universidad Nacional del centro de la provincia de Buenos Aires. Argentina. Disponible en: <http://www.vet.unicen.edu.ar/ActividadesCurriculares/CirurgiaGeneral/images/Documentos/2014/Teoria/6%20INFECC%20QUIR%20ASEPSIA%20ANTISEPSIA%20ESTERILIZACION%202014.pdf>

Remington A. (2003). Farmacia. Medica Panamericana. Argentina. (1): 947

Risco G, et al. (2014). El Horno microondas en la esterilización de material de fibra de algodón. Lima, Perú: Bioservice SRL.

Silva L, et al. (2006). Limpieza del instrumental e higiene del medio hospitalario. Capítulo 2. MAD. España.

1(1) 33, 53.

Slatter D. (2006) Tratado de cirugía en pequeños animales. Inter-médica. Argentina. 4(1): 179 - 187.

Sociedad de Enfermeras en Pabellones Quirúrgicos y Esterilización, Zona Sur. (2002). Esterilización con

Formaldehído. Chile. Disponible en:

<http://www.enfermeraspabellonyesterilizacion.cl/trabajos/formaldehido.pdf>

Stanier R, Ingraham J, Wheelis M, Painter P. (1992). Microbiología. Reverté. España. 1(1): 23.

Strauch D., Böhm R. (2004). Limpieza y Desinfección de Alojamientos e Industrias animales. Acribia.

España. 1(1): 148-149.

Tito S.(2009). Evaluación del efecto esterilizador de la formalina sobre material quirúrgico en cinco periodos de tiempo. Memoria para optar al Título de Médico Veterinario, Escuela de Veterinaria, Universidad Católica de Santa María, Arequipa, Perú.

Tortosa M, Lombardia E. (2009). Validación de Procesos de Esterilización. Biolene. 3- 4. Disponible en:

http://www.biolene.com/pdf/boletin-biolene/boletin_biolene_29.pdf

Vadillo S, Píriz S, Mateos E. (2003). Manual de Microbiología Veterinaria. McGraw - Hill Interamericana.

Madrid, España. 1(1) 67, 68, 126.

VIII. ANEXOS

Anexo 1



Figura 1. Preparación de hisopos estériles. Se empaquetó con dos envoltorios de papel kraft y se lo llevó a la máquina de autoclave a esterilizar.

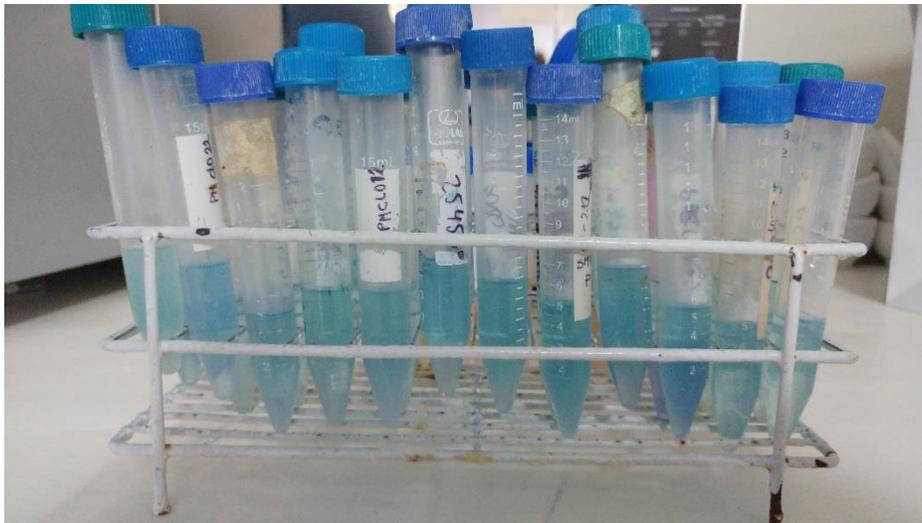


Figura 2. Agares Stuard, medio de transporte para muestras microbiológicas.

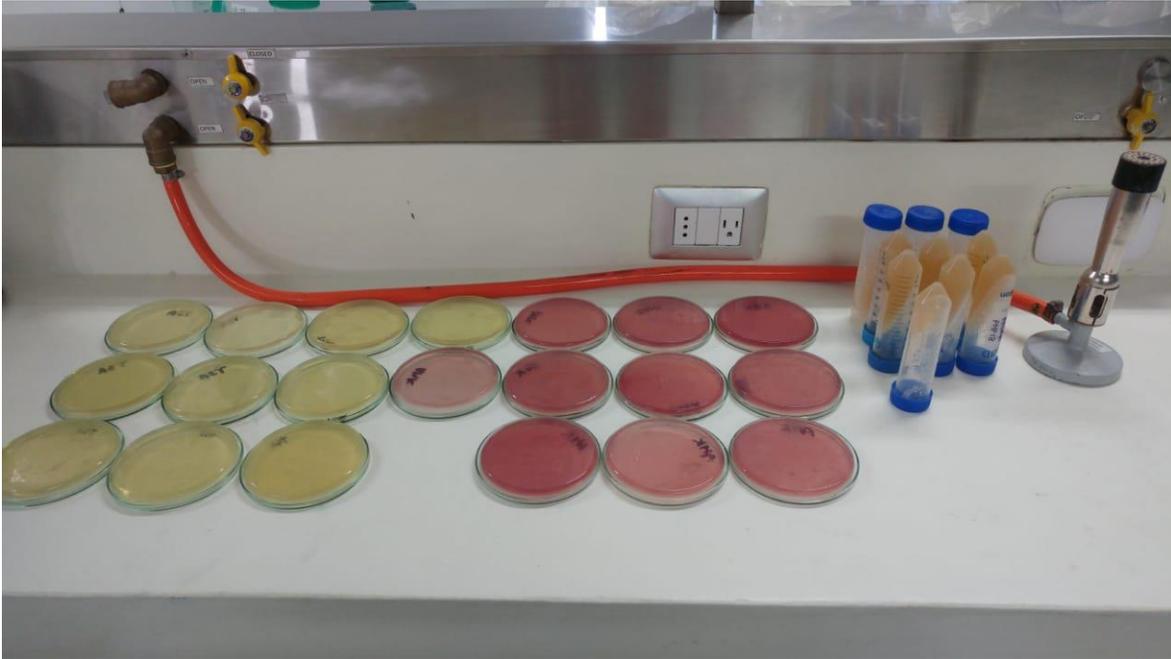


Figura 3. Agares TSA (Tripticasa de Soya), Mc Conkey y Sabouraud. Preparadas las soluciones de los tres agares, posteriormente autoclavados, y luego son depositados en sus respectivos envases, al final puestos en estufa por 24 horas para comprobar su esterilidad. Aquí se deben sembrar una vez comprobado su esterilidad las muestras que se tomaron con los hisopos.



Figura 4. Frascos con 50 pastillas de formalina de 1 gramo cada pastilla.

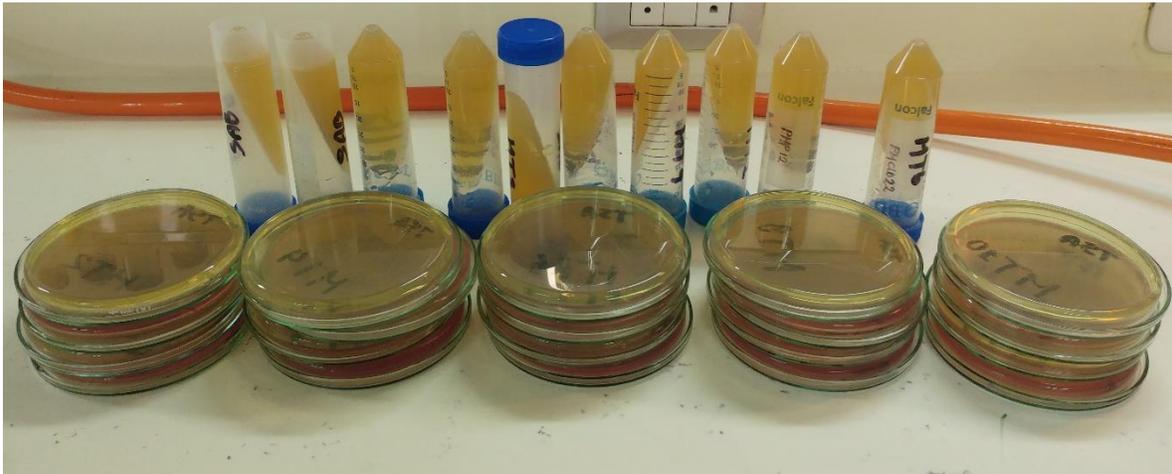


Figura 5. Sembrado. Agares (Mc Conkey, TSA y Sabouraud) luego de la siembra de los hisopos con las muestras.



Figura 6. Agar TSA con crecimiento microbiano a las 24 horas de incubación a dosis de 4 gramos de formalina.



Figura 7. Agar Mc Conkey con crecimiento microbiano a las 24 horas de incubación a dosis de 6 gramos de formalina.



Figura 8. Agar Sabouraud con crecimiento microbiano a las 24 horas de incubación a dosis de 8 gramos de formalina.

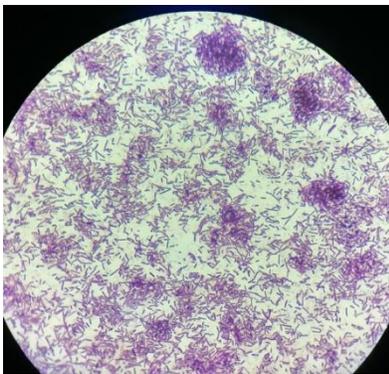


Figura 9. Tinción Gram. Bacilos Gram negativo.

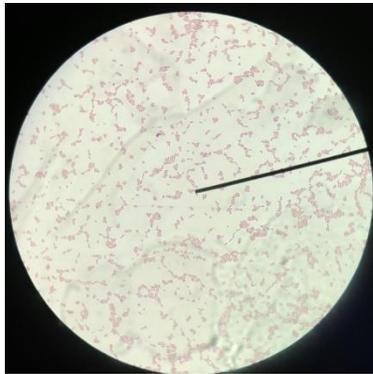


Figura 10. Tinción Gram. Cocos Gram negativo.

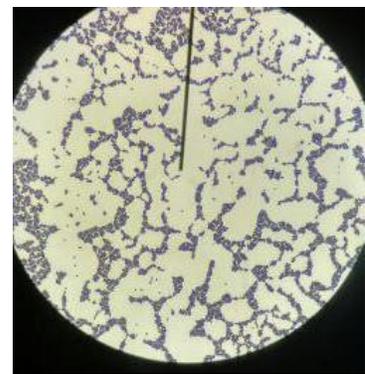


Figura 11. Tinción Gram. Cocos Gram positivo.

Anexo 2

Tabla 3. Actividad antimicrobiana de <<esterilizantes>> usados comúnmente en frío

Agente	Acción destructiva contra				
	Bacilos				
	Bacterias	tuberculosis	Esporas	Hongos	Virus
Alcohol etílico (70% a 90%)	+	+	0	+	+/-
Alcohol isopropílico (70% a 90%)	++	+	0	+	+/-
Alcohol yodado (2%)	++	+	+/-	+	+
Formalina (37%)	+	+	+	+	+
Glutaraldehído (tamponado, 2%) (Cidex)	++	+	++	+	+
Yodo (2% a 5% acuoso)	++	+	+/-	+	+
Yodóforos (1%) (complejo povidona-yodo)	+	+	+/-	+/-	+
Mercuriales (Merthiolato)	+/-	0	0	+	+/-
Derivados fenólicos (0.5% a 3%)	+	+	0	+	+/-
Compuestos de amonio cuaternario (cloruro de benzalconio, 1: 750 a 1: 1.000)	++	0	0	+	0

Según AL.; Principles of microbiology, ed. 9. St. Louis, 1981, Mosby, p. 239. Según DiPalma JR., editor: Drill's pharmacology in medicine, Nueva York, 1971, McGraw-Hill.

++ Muy bueno, + bueno, +/- regular (precisa mayor concentración o más tiempo); 0, sin actividad.