



# UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

*Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo*

## UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

### CARRERA DE BIOFARMACIA

**“SENSIBILIDAD DE *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*,  
*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona  
aeruginosa* ATCC AL AMONIO CUATERNARIO”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE QUÍMICA FARMACEUTA**

**AUTORA: CORONEL CHUMBI LORENA JACQUELINE**

**DIRECTORA: DRA. ARTEAGA SARMIENTO SANDRA DENISSE,  
MSc**

**CUENCA – ECUADOR**

**2021**

*Yo me gradúe en los  
50 años de La Cato!*



# UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

*Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo*

## UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

### CARRERA DE BIOFARMACIA

**“SENSIBILIDAD DE *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*,  
*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa* ATCC  
AL AMONIO CUATERNARIO”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE QUÍMICA FARMACEUTA**

**AUTORA: CORONEL CHUMBI LORENA JACQUELINE**

**DIRECTORA: DRA. ARTEAGA SARMIENTO SANDRA DENISSE,  
MSc.**

**CUENCA - ECUADOR**

**2021**

*Yo me gradúe en los  
50 años de La Cato!*

---



## RESUMEN

**Introducción:** Las infecciones nosocomiales son producidas debido a varios factores entre ellos la resistencia de los microorganismos frente a antibióticos y posiblemente a desinfectantes, uno de los cuales es el amonio cuaternario. Estas infecciones prolongan la estancia hospitalaria y el costo de la asistencia sanitaria. El amonio cuaternario se encuentra entre los antimicrobianos más utilizados en la desinfección de objetos inanimados como paredes, superficies, etc. Entre los principales organismos aislados en los centros hospitalarios se encuentran: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*. **Objetivo:** Evaluar la sensibilidad de *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa* ante el amonio cuaternario. **Materiales y Métodos:** La metodología aplicada fue de tipo longitudinal, analítico, descriptiva y comparativa. **Resultados:** Los resultados obtenidos determinaron que las cepas de *Candida albicans* ATCC 90028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 son resistentes frente a amonio cuaternario de primera generación al 0,05% de concentración, ya que no se formaron halos de inhibición con ninguna estas cepas. **Conclusión:** La actividad antimicrobiana del amonio cuaternario de primera generación al 0,05%, fue nula en todo el universo de estudio, debido a la ausencia de halos de inhibición en todos los periodos de tiempo y a su vez en todas las repeticiones.

**PALABRAS CLAVES:** *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa*, Amonio cuaternario.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** Nosocomial infections are produced due to several factors, among them the resistance of microorganisms against antibiotics and possibly to disinfectants, one of which is the quaternary ammonium. The hospital-acquired infections prolong the hospital stay and the cost of healthcare. Quaternary ammonium is among the most widely used antimicrobials in the disinfection of inanimate objects, such as walls, surfaces, etc. Among the main organisms isolated in the hospital setting are: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*.

**Aim:** To evaluate the sensitivity of *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* to quaternary ammonium.

**Materials and methods:** The applied methodology was longitudinal, analytical, descriptive and comparative study.

**Results:** The results demonstrated that the strains of *Candida albicans* ATCC 90028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 are resistant against first-generation quaternary ammonium concentration at 0,05%, since no inhibition halos were formed with any of these strains.

**Conclusion:** The antimicrobial activity of the first generation quaternary ammonium at 0,05% was null in the entire study universe, due to the absence of inhibition halos in all time periods and in turn in all repetitions.

**Keywords:** *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, Quaternary ammonium.

---

## ABREVIATURAS

ATCC: American Type Culture Collection

OMS: Organización Mundial de la Salud

IN: Infecciones nosocomiales

QACs: Compuestos de Amonio

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos

µm: Micrómetros

C: Celsius

mm: Milímetro

ADN: Acido Desoxirribonucleico

BE: Bombas de eflujo o excreción

ATP: Adenosín Trifosfato

ABC: Adenosín Trifosfato *Binding Cassette*

MF: Facilitadores mayores

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

---

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO I .....	2
PLANTEAMIENTO TEÓRICO .....	2
I.1. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	2
I.2. JUSTIFICACIÓN .....	3
I.2.1. PREGUNTA CIENTÍFICA.....	4
I.3. OBJETIVOS .....	5
<b>I.3.1. Objetivo General:</b> .....	5
<b>I.3.2. Objetivos Específicos:</b> .....	5
I.4. MARCO TEÓRICO.....	6
I.4.1. Antecedentes .....	6
I.4.2. Marco referencial.....	10
I.4.2.1. Infecciones nosocomiales .....	10
I.4.2.2. Agentes infecciosos .....	10
I.4.2.3. Características generales.....	11
I.4.2.4. Resistencia microbiana .....	14
I.4.2.5. Amonio Cuaternario o Compuestos de Amonio (QACs) .....	16
CAPÍTULO II .....	19
METODOLOGÍA.....	19
II.1. Diseño de investigación .....	20
II.2. Población y muestra.....	20
II.2.1. Universo – Población .....	20
II.2.2. Muestreo y muestra.....	20

---

II.3. Definición y clasificación de las variables.....	22
II.4. Procedimientos, técnicas e instrumentos para la obtención de datos. .....	22
II.4.1. Procedimientos estadísticos y análisis de datos .....	25
II.5. Aspectos éticos .....	25
CAPÍTULO III .....	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
CAPÍTULO IV .....	34
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	34
IV.1. CONCLUSIONES .....	35
IV.2. RECOMENDACIONES.....	36
BIBLIOGRAFÍA .....	37
ANEXOS .....	42

---

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Halos de inhibición de amonio cuaternario 0,05% frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028. ....	26
Tabla 2: Halos de inhibición de amonio cuaternario 0,05% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	28
Tabla 3: Halos de inhibición de amonio cuaternario 0,05% frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	29
Tabla 4: Halos de inhibición de amonio cuaternario 0,05% frente a <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603.....	31
Tabla 5: Halos de inhibición de amonio cuaternario 0,05% frente <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853.....	32

---

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. DESINFECTANTE UTILIZADO: AMONIO CUATERNARIO.....	43
ANEXO 2. PREPARACIÓN DE AGAR MacCONKEY EN LAS CAJAS MONOPETRI PARA REACTIVACIÓN DE CEPAS.....	43
ANEXO 3. REACTIVACIÓN DE LAS CEPAS .....	44
ANEXO 4. PREPARACIÓN DEL DESINFECTANTE AMONIO CUATERNARIO DE PRIMERA GENERACIÓN AL 0,05%. .....	45
ANEXO 5. IMPREGNACIÓN DE AMONIO CUATERNARIO A LOS DISCOS EN RELACIÓN A LOS PERIODOS DE TIEMPO PREVIAMENTE ESTABLECCIDOS. .....	46
ANEXO 6. DISCOS DE IMPREGNACIÓN DE ACUERDO A LOS PERIODOS DE TIEMPO.....	46
ANEXO 7. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA A LA ESCALA DE McFARLAND....	48
ANEXO 8. INÓCULOS DE LAS CEPAS ATCC.....	48
ANEXO 9. SIEMBRA DE CEPAS.....	49
ANEXO 10. COLOCACIÓN DE DISCOS EN CADA MEDIO DE CULTIVO CON AMONIO CUATERNARIO EN LOS TIEMPOS ESTABLECIDOS.....	50
ANEXO 11. INCUBACIÓN DE LAS PLACAS EN LA ESTUFA A 37°C.....	50
ANEXO 12. CONTROL POSITIVO Y NEGATIVO DE LAS CEPAS.....	51
ANEXO 13. MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN.....	53

---

## DEDICATORIA.

A Dios, por ser mi fuerza y fortaleza en mis días difíciles.

A mis padres, Félix y María, por su apoyo incondicional, cariño y comprensión para lograr culminar mi carrera profesional.

En especial a mi madre, por protegerme y cuidarme cada segundo de su vida, por enseñarme a luchar por mis sueños, porque en ella aprendí a valorar lo poco que tengo, a brindar mi ayuda sin pedir nada a cambio, porque a pesar de todo lo que ella vivió, nunca ha dejado sin un plato de comida a sus hijos, por ello y mil cosas más, este proyecto es por ella, porque deseo que se sienta orgullosa de mí, quiero que vea que sus días de cansancio valieron la pena. Ella es mi motivación más grande para lograr cada una de mis metas.

A mis hermanos (as) por brindarme sus consejos y cariño en cada instante de mi vida, por ser mis compañeros de batalla ante cualquier adversidad y por ser un pilar fundamental en mi vida.

---

## **AGRADECIMIENTOS:**

A los docentes de la UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA y a su vez a la Facultad de BIOQUÍMICA Y FARMACIA por haber impartido sus conocimientos en el área de la salud.

A mi Asesora Dra. Sandra Denisse Arteaga Sarmiento, por su ayuda y paciencia en el desarrollo del presente proyecto.

A mi familia por todo el esfuerzo que hicieron y hacen para poder cumplir mi sueño de ser profesional.

A mis compañeros y futuros colegas Olga Fernández, Ana Peláez, Isaac Naranjo y André Jaramillo, por su colaboración y entusiasmo.

Me gustaría reconocer también a una amiga en especial, Jackeline Escandón, por su incondicional entusiasmo y apoyo para seguir luchando. Por estar en los buenos y malos momentos, por demostrarme que la vida es mucho mejor con amigos.

Finalmente, me gustaría agradecer personalmente a Q.F Karla Estefanía Pacheco Cárdenas, Q.F Andrea Tenesaca y Q.F Diana Tenesaca por su ayuda, paciencia, dedicación y aliento en todo el desarrollo del proyecto.

---

## INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a las infecciones nosocomiales (IN), como infecciones contraídas por un paciente durante su estancia en un centro hospitalario, las mismas que agravan el cuadro clínico del mismo y en los peores casos conlleva al deceso del paciente y a su vez, estableció las áreas de mayor prevalencia de IN, siendo éstas las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), áreas quirúrgicas y ortopédicas para contraer enfermedades agudas de tipo nosocomial o intrahospitalaria (1).

Las investigaciones centran su atención sobre las IN, siendo una preocupación constante dentro del personal sanitario, debido al aumento de la tasa de mortalidad y al aumento del costo generado referente a la carga económica. Por ello cada institución debe implementar protocolos de control, prevención y una gestión adecuada para la reducción de las infecciones nosocomiales, incluyendo adecuados procesos de desinfección (2).

En los últimos años se ha podido evidenciar múltiples microorganismos oportunistas, en superficies o áreas sanitarias, debido a su resistencia ante diversas sustancias usadas para la desinfección del mismo (3).

Por ello, el principal campo de interés se centra en las bacterias y hongos más frecuentemente aislados dentro de un área de salud, de los cuales son: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* (4).

Existen diferentes desinfectantes implementados en cada área hospitalaria, que son usados acorde a su mecanismo de acción, por ello, el amonio cuaternario se encuentra entre los más usados en superficies inertes o inanimadas, debido a su alta acción antimicrobiana con un pH que varía entre 7 a 10 y a su vez la presencia de cadenas alquílicas con 12 a 14 carbonos, que brinda una mayor acción antimicrobiana (18) (36).

**CAPÍTULO I**  
**PLANTEAMIENTO TEÓRICO**

## I.1. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

**Situación problemática:** Una de las causas de infecciones nosocomiales (IN) se da por la baja sensibilidad de microorganismos a desinfectantes y antibióticos empleados en las instituciones hospitalarias. Al mismo tiempo, se ha determinado el tipo de bacterias y hongos más resistentes dentro de las instituciones de salud. En donde se ha observado que el efecto residual de los desinfectantes ha disminuido en los últimos años o se ha visto anulado por dichos microorganismos. Adicional, estos microorganismos se encuentran colonizando diferentes superficies, paredes, pisos u otras zonas inanimadas a nivel hospitalario provocando graves inconvenientes de salud pública (3) (5).

En los centros de salud ingresan una gran cantidad de personas con diversas patologías, las mismas que pueden ser transmitidas directa o indirectamente a otros pacientes e incluso al personal sanitario. Si bien estas instituciones implementan procesos de limpieza o desinfección, los desinfectantes no siempre son los adecuados, están bien preparados o en concentraciones adecuadas para las diferentes áreas con la finalidad de evitar la propagación de IN. A su vez los principales desinfectantes empleados serían capaces de eliminar bacterias gram positivas, gram negativas y hongos; sin embargo, existen microorganismos que son capaces de sobrevivir ante estos principios activos. Por ello, se han realizado diversos estudios en diferentes centros de salud para intentar controlar y prevenir estas infecciones nosocomiales (6).

Por lo cual, las IN representan un gran problema de salud a nivel mundial, atentando directamente a centros de salud tanto públicos como privados, debido a su alta tasa de mortalidad, presentándose tanto en países desarrollados como en proceso de desarrollo. Adicional, se determinaron que dichas infecciones pueden prolongar la estancia hospitalaria y al mismo tiempo el aumento en los costos al paciente y para el hospital. A sí mismo, existen factores de riesgo detonantes de las infecciones nosocomiales, involucrados con el ambiente y la calidad de la atención presentada por el personal de salud (7).

**Problema de investigación:** Existen diferentes estudios en donde refiere la resistencia de múltiples microorganismos a antibióticos, lo cual sugiere que de la misma manera sucede con desinfectantes o antisépticos empleados a nivel hospitalario y más aún investigaciones de su efecto residual, los mismos que podrían producir complicaciones en el cuadro clínico del paciente por causar IN. Se debe recalcar que a nivel local existen pocos estudios con dicho planteamiento, es por ello que la importancia radica en realizar investigaciones que se relacionen con la sensibilidad bacteriana y fúngica a desinfectantes y antisépticos, permitiendo mejorar su uso y estableciendo una adecuada prevención de la resistencia bacteriana. Si bien se ha especificado que la supervivencia de microorganismos en las instituciones hospitalarias, ha formado un problema de salud, es preciso el desarrollo de investigaciones que establezcan el uso correcto de desinfectantes, tanto en concentraciones adecuadas, como en el tiempo que debe ser realizada la desinfección, así como sus procedimientos, con el objetivo de establecer la sensibilidad de ciertos microorganismos y a su vez reducir las tasas de morbilidad y mortalidad con relación a las infecciones nosocomiales.

A este problema se suman las pocas investigaciones acerca del efecto residual que poseen los desinfectantes en periodos de tiempo, con lo cual, no se tiene de manera certera información de desinfectantes que tengan amplio espectro y largo poder de acción.

## **I.2. JUSTIFICACIÓN**

El presente trabajo, permitió verificar la sensibilidad o resistencia de *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa* frente al amonio cuaternario utilizado para la desinfección de áreas a nivel hospitalario, lo cual, marca un precedente para verificar si la eficacia de dicho desinfectante en los periodos de tiempo planteados en esta investigación es la adecuada. Por otro lado, la investigación brinda un aporte a nivel hospitalario y podría servir como base bibliográfica para futuras investigaciones. Los beneficiarios directos de la investigación fueron los pacientes

hospitalizados y profesionales de salud, debido a que los resultados obtenidos permitieron establecer una clave importante ante la selección de productos que contengan amonio cuaternario, y podrían permitir una reducción en las tasas de mortalidad y morbilidad de IN por fallas en los protocolos de desinfección o el uso inadecuado de los mismos.

**I.2.1. PREGUNTA CIENTÍFICA:** ¿*Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*, son sensibles a la acción bactericida del amonio cuaternario en diferentes periodos de tiempo?

### **I.3. OBJETIVOS**

#### **I.3.1. Objetivo General:**

- Evaluar la sensibilidad de *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa* ante el amonio cuaternario.

#### **I.3.2. Objetivos Específicos:**

- Verificar la actividad antimicrobiana del amonio cuaternario frente a *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*, mediante la medición de halos de inhibición en los periodos de tiempo establecidos.
- Comparar la sensibilidad de *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*, frente al amonio cuaternario.

## I.4. MARCO TEÓRICO

### I.4.1. Antecedentes

Un estudio realizado en el año 2017 por Gupta, Malhotra, y colaboradores en la India, titulado “Identificación de las especies de *Candida* en las infecciones sanguíneas”, en donde se obtuvieron muestras de pacientes internados con sospecha de IN en distintas Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), se aisló *Candida no albicans* (60%) y *Candida albicans* (40%), determinando su presencia en los cultivos de sangre (8).

En México, en el 2017, en una investigación realizada por Gutiérrez y colaboradores, titulada “Estudio multicéntrico de resistencias bacterianas nosocomiales en México”, se aisló *Pseudomona aeruginosa* (24%), *Acinetobacter baumannii* (12,57%), *Staphylococcus aureus* (9,01%), *Staphylococcus haemolyticus* (8,59%), *Klebsiella pneumoniae* (7,96%), *Escherichia coli* (7,54%) y *Candida albicans* (2,09%). Adicional, establecieron el sitio de mayor aislamiento microbiano, siendo este el aspirador bronquial, el mismo que producía mayor prevalencia de IN en los centros hospitalarios en donde se realizó la investigación (9).

Una revisión bibliográfica publicada el 2020, en Costa Rica por Chacón y Rojas, titulado “Resistencia a desinfectantes y su relación con la resistencia a los antibióticos”, establece una posible resistencia de *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*, frente a derivados del amonio cuaternario en muestras de orina y aislamientos clínicos respectivamente (10).

En el año 2019, un estudio realizado por Santana y colaboradores, titulado “Perfil epidemiológico de pacientes hospitalizados con candiduria en la región centro-occidental de Brasil”, se evaluó a 93 pacientes, obteniendo como resultado la presencia de *Candida tropicalis* (37,6%); *Candida albicans* (36,6%); *Candida glabrata* (19,3%); complejo de psilosis (4,3%); *Candida lusitanae* (1,1%) y *Candida krusei* (1,1%). A su vez señalaron que las tasas de mortalidad fueron de

un 48% más altas entre los pacientes con candiduria y diagnosticados posteriormente con insuficiencia renal (11).

Un estudio realizado por Ramos y Alonso, en el 2011, en Venezuela, titulado “Evaluación de la resistencia a agentes desinfectantes de bacterias aisladas de ambientes naturales”, refiere la resistencia de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus sp*, a Compuestos de Amonio Cuaternario (QACs), cuyo principio activo es el bromuro de lauril-dimetil-bencil-amonio al 10% y 0,16% (12).

Otro estudio realizado por Guevara y Saucedo, en Perú con el título de “Bacterias patógenas responsables de infecciones intrahospitalarias en los servicios de medicina y neonatología - Hospital General de Jaén enero- junio 2019”, se observó aislamiento de *Escherichia coli* con 44% en neonatología y 20% en medicina general; *Stapylococcus aureus* con un 4% en cada servicio; *Klebsiella pneumoniae* con un 8%, *Salmonella typhi* 4% y *Proteus sp* 4% en medicina general; *Klebsiella aerogenes* con 4%; *Enterococcus* 4% y *Staphylococcus epidermis* 4% en el área de Neonatología (13).

De igual manera, en Perú en 2018, un estudio establecido por García y Romero, titulado “Efecto de dos desinfectantes de uso hospitalario sobre el crecimiento *In Vitro* de *Stapylococcus aureus* y *Escherichia coli*”, se observó el efecto bactericida de hipoclorito de sodio (Clorox 7,5%) y amonio cuaternario de quinta generación (Betagen R-82F 12%), ante *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (3).

El Ministerio de Salud Pública del Ecuador, a través del reporte de datos de resistencia a los antimicrobianos emitido por el Instituto de Investigación en Salud Pública del Ecuador de los años 2014-2018, estableció hallazgos de resistencia bacteriana en 44 hospitales de diferentes lugares del país, en donde reportaron la presencia de *Eschericha coli* con 58% en el 2014 aumentando a 61% en el 2017; *Klebsiella pneumoniae* con 20% en el 2014, aumentando ligeramente a 21% para el año 2017; *Staphylococcus aureus* con 12% en el 2014 y reduciéndose a 10% en el 2017 y *Pseudomona aeruginosa* con 10% en el 2014, disminuyendo al 8% en el 2017 (14).

En el 2015 en Quito, García publicó su investigación titulada “Infecciones asociadas al cuidado de la salud en la Unidad de Cuidados Intensivos de Adultos en el hospital terciario en el periodo de enero a junio de 2015”, en el cual, se determinó que el 85,3% de las infecciones intrahospitalarias son causadas por microorganismos de tipo bacilos gram negativos y un 14,7% debido a cocos gram positivos en dicho hospital. Entre las bacterias con mayor porcentaje de aislamiento se encontraron *Klebsiella pneumoniae* (32,35%), *Pseudomona aeruginosa* (20,6%), *Staphylococcus aureus* (14,7%), *Enterobacter cloacae* (8,82%), *Escherichia coli* (8,82%), *Enterobacter aurogenes* (5,9%), *Serratia marcenscens* (2,9%), *Burkholderia cepacia* (2,9%) y *Escherichia coli* BLEE (2,9%). Debido a los resultados obtenidos, se llegó a la conclusión que los 17 casos de neumonía correspondían a un 35,29% a infecciones polimicrobianas y un 64,71% a infecciones de origen monomicrobiano (15).

En Riobamba-Ecuador, en el 2018, un estudio realizado por Zamora, titulado “Microorganismos más frecuentes en hemocultivos del servicio de neonatología. Hospital General Docente Ambato. Mayo–Junio 2018”, se aislaron *Staphylococcus epidermis* (51,3%), *Escherichia coli* (17,9%), *Staphylococcus aureus* (15,4%), *Klebsiella pneumoniae* (12,8%) y *Enterobacter aerogenes* (2,6%) (16).

Herrera, en el 2015, en Cuenca-Ecuador, publicó un estudio titulado “Incidencia de coliformes *E. coli* y *Listeria spp.* en lechuga variedad criolla expendida en los mercados, ferias agroecológicas y supermercados de la ciudad frente a soluciones desinfectantes de uso casero”, en donde estableció que el amonio cuaternario en concentraciones normales (0,17%), presenta poco efecto desinfectante frente a *E.coli*, en cambio en el doble de concentración (0,33%), presenta buena efectividad (17) .

Un estudio realizado el 2016 por Salcedo, en Cuenca-Ecuador, titulado “Características de las infecciones nosocomiales en el servicio de cuidados intensivos pediátricos en el Hospital Vicente Coral Moscoso, Cuenca 2014-2015”, se realizó un análisis a pacientes diagnosticados de IN, de los cuales el 46% pertenecía a Cocos Gram positivos, 34,4% a Bacilos Gram negativos, 12,5% a

Cocos Gram negativos, 3,1% a Bacilos Gram positivos y 3,1% no se pudo determinar. Adicional, determinaron que el germen encontrado con mayor frecuencia fue *Staphylococcus aureus* con el 25%, esto refiere a 1 de cada 4 infecciones nosocomiales (2).

Un estudio realizado en Cuenca-Ecuador, el 2016, por Carchi y Serrano, titulado “Análisis de la efectividad del amonio cuaternario y ácido peracético frente a coliformes totales y *Escherichia coli* en superficies inertes del área de empaques al vacío de la planta de embutidos Piggis”, estableció que el desinfectante fue efectivo, disminuyendo el crecimiento microbiano, siendo la concentración del amonio cuaternario de quinta generación al 0,6% (18).

Y por último un estudio publicado en Cuenca-Ecuador, en 2018, realizado por Terreros y colaboradores, titulado “Infecciones nosocomiales en el servicio de pediatría en el Hospital José Carrasco, IESS-Cuenca 2015-2016”, evidenció la presencia de *Pseudomona aeruginosa* (16,67%), *Staphylococcus aureus* (16,67%), *Staphylococcus epidermidis* (16,67%), *Klebsiella pneumoniae* (13,33%), *Escherichia coli* (10%), *Staphylococcus epidermidis* meticilino resistente (3,33%), *Acinetobacter baumannii* (3,33%), *Candida albicans* (3,33%) y otros microorganismos responsables de infecciones nosocomiales (4).

## **I.4.2. Marco referencial**

### **I.4.2.1. Infecciones nosocomiales**

Fernández y colaboradores, en su artículo publicado en la Revista Chilena de Derecho, ratifica la definición realizada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 2002, acerca de infecciones nosocomiales, como “una infección 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 de período de incubación en el momento del internado. Comprende las infecciones contraídas en el hospital, pero manifiestas después del alta hospitalaria y también las infecciones ocupacionales del personal del establecimiento” (19).

Las infecciones nosocomiales (IN), presentan un gran problema de salud pública que conlleva a una alta demanda en costos debido a la resistencia de múltiples microorganismos, los cuales empeoran el cuadro clínico del paciente, requiriendo tratamientos cada vez más costosos, por ello es necesario la implementación de comités para la prevención y control de dichas enfermedades (20).

### **I.4.2.2. Agentes infecciosos**

Actualmente, uno de los debates más significativos en el campo de la salud es el aumento en las tasas de infecciones nosocomiales, lo que hace referencia al incremento de agentes infecciosos y su resistencia, es decir diferentes microorganismos capaces de sobrevivir en un medio ambiente hospitalario aún cuando los procesos de desinfección se realizan en dichas áreas.

Es por ello que, al ingresar un paciente a un centro hospitalario, los microorganismos que se encuentran en el mismo pueden ingresar al huésped produciendo complicaciones en su estado de salud, dejando leves o graves secuelas e incluso algunos pueden conllevar al deceso del paciente. Es necesario recalcar que, a pesar que un centro hospitalario tenga como fin, la recuperación y

tratamiento de pacientes, éste a su vez constituye un reservorio de microorganismos, detonantes de IN (21) (22).

Estos agentes infecciosos pueden provenir de la propia flora del paciente, personal sanitario o de patógenos presentes en otros pacientes, de superficies inanimadas y en el ambiente hospitalario a las cuales han sobrevivido. La evidencia reciente sobre dichos agentes, establece que su transmisión puede ser por contacto directo o indirecto, inhalación, vía oral (ingesta de alimentos y agua) y vía intravenosa (22).

Por otra parte, los factores relacionados con IN, han sido investigados desde diversas perspectivas, estableciendo varios factores que puedan agravar una infección intrahospitalaria, entre las cuales se encuentra la edad del paciente (ancianos o área pediátrica), pacientes que hayan salido de algún proceso quirúrgico o quimioterapias, es decir que tengan comprometido su sistema inmunológico. A su vez la OMS dió a conocer que la máxima prevalencia de IN se da en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), en áreas quirúrgicas y ortopédicas para tratar enfermedades agudas, entre las cuales, la más común se encuentra en el área respiratoria provocando neumonías y también en vías urinarias (1).

Un artículo publicado por la revista Ateneo, en Cuenca, por Terreros et. al, en el 2018, demostró que los agentes microbianos que han generado infecciones nosocomiales en el área de pediatría del Hospital José Carrasco Arteaga son: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa* (4).

### **I.4.2.3. Características generales**

#### **I.4.2.3.1. *Candida albicans***

Es una levadura redonda u ovalada de entre 3,5-7 x 4-8  $\mu\text{m}$  de tamaño. Su desarrollo se da entre 25-37°C de temperatura y dentro de un periodo de 24-36 horas. Sus colonias son de aspecto blancas cremosas en un medio agar Sabouraud, el mismo que se desarrolla en un periodo de aproximadamente 3 días

y un pH alcalino de 5-6. Este patógeno es uno de los más aislados en infecciones fúngicas, debido al consumo de nutrientes procedentes del huésped, conllevando a su supervivencia y a su vez es considerado un hongo polimorfo por su colonización en tejidos. Tiene la capacidad morfológica de cambiar de levadura a hifa y pseudohifa, este cambio se debe a su densidad celular ( $<10^6$  células/mm) (23).

#### **I.4.2.3.2. *Staphylococcus aureus***

Pertenece a la familia *Micrococcaceae*, es una bacteria Gram positiva que mide entre 0,5 a 1  $\mu$ m de diámetro (24).

Su crecimiento óptimo ocurre entre 18 a 24 horas de incubación, en donde sus colonias tendrán entre 0,5 a 1,5mm de diámetro. Estas colonias se caracterizan por su consistencia cremosa, brillantes y su pigmentación de amarillo a dorado, debido a la fabricación de carotenoides durante su desarrollo, a su vez elaboran hemólisis en un medio de agar sangre. Se encuentra distribuida en el medio ambiente, en las mucosas de animales y personas. Puede sobrevivir por un periodo de tiempo en ambientes secos e incluso al calor, congelación e irradiación (24) (25).

Desde su descubrimiento por Ogston en 1880, *Staphylococcus aureus* es considerado un patógeno con gran potencial para causar múltiples infecciones en el ser humano y en animales. Es la especie tipo del grupo, considerada la más virulenta, responsable de un amplio espectro de enfermedades, que van desde infecciones de la piel y tejidos blandos hasta infecciones graves que amenazan con la vida (25) (26).

*S. aureus* es una bacteria anaerobia facultativa, pero pueden cambiarse fácilmente a aerobia, debido a su capacidad de desarrollarse en atmósferas con o sin oxígeno. Por otra parte existe la posibilidad de inactivar un millón de *S. aureus* por milímetros, si estas son sometidas a una temperatura de 66° C en 12 minutos y a su vez, en una temperatura de 60° en 78-83 minutos (26).

El impacto de las cepas de *S. aureus* sobre la salud es la resistencia que puede presentar a múltiples antibióticos. A través de los años se ha incrementado la tasa de morbilidad y mortalidad a pesar del gran número de antibióticos disponibles que existen. *S. aureus* forma parte de la flora normal del humano, entre 25 y 50% de la población sana está colonizada por esta bacteria, constituyendo un riesgo por su diseminación. Éste puede ser adquirido a través del contacto con otras personas o por exposición al ambiente (25).

En los últimos años han aumentado de forma notable las infecciones por este microorganismo, en especial por cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina. El Centro de Enfermedades Infecciosas estima que en Estados Unidos en el año 2005 se desarrollaron 94,360 infecciones invasivas por *S. aureus* resistentes a la meticilina (25). Adicional, en los últimos años se ha observado este incremento progresivo de infecciones con una sensibilidad a antibióticos diferente que afecta a la población sana sin haber tenido contacto previo con los hospitales o clínicas de salud (26).

Los estudios de epidemiología molecular son de gran importancia ya que han permitido entender las relaciones evolutivas entre las cepas, así como conocer el origen de las clonas durante los brotes epidémicos (25) (26).

#### **I.4.2.3.3. Escherichia coli**

Se trata de bacilos Gram negativos, que miden 1,1-1,5 $\mu$ m por 2,0-6,0 $\mu$ m de largo, el mismo que se encuentra distribuido en diversos ambientes inanimados como superficies, suelos, vegetales, agua y flora intestinal (27).

Puede sobrevivir a temperaturas desde alrededor de 35° a 43° C. Por otro lado, su pH es de 7,2. *E. coli* es considerada como un microorganismo patógeno, debido a la producción de toxinas, invasión en el huésped (atacando directamente a sus células), interferir en el metabolismo celular y a su vez destruyendo tejidos celulares (28).

Anualmente es responsable de un 20% a 30% de bacteriemias y un 20% de IN, originadas en el tracto urinario y cavidad abdominal, dejando una tasa de mortalidad entre 4% y 18% (27).

#### **I.4.2.3.4. *Klebsiella pneumoniae***

Es una bacteria gram negativa facultativa y aerobia, caracterizada por ser un bacilo inmóvil, debido a la ausencia de flagelos, mide entre 0,50  $\mu\text{m}$  y 2,0  $\mu\text{m}$ . Habitan en la naturaleza (agua, verduras, suelo), gracias a su capacidad de adherirse al nitrógeno atmosférico, sus colonias crecen entre 30° - 37°C, fermentan carbohidratos y son capaces de producir ácidos fuertes, los mismos que serán usados en su desarrollo metabólico (29).

#### **I.4.2.3.5. *Pseudomona aeruginosa***

Es una bacteria aerobia gram negativa, presenta una forma de bastón, su diámetro es de 0,6 x 2  $\mu\text{m}$ , se encuentra en la naturaleza y en medios húmedos dentro de hospitales. Se multiplica en diversos medios de cultivos, sus colonias son redondas y lisas de color verdoso fluorescente y olor dulce, similar a uvas. La temperatura apta para su desarrollo es alrededor de 37° a 42°C. *P. aeruginosa* no fermenta carbohidratos, sin embargo, múltiples cepas oxidan glucosa conllevando a la generación de un olor dulce. Esta bacteria es considerada patógena, ya que se adhieren a la mucosa o piel, colonizando y produciendo una invasión local, para finalmente producir enfermedades sistémicas (30).

#### **I.4.2.4. Resistencia microbiana**

La resistencia microbiana se da cuando los microorganismos (bacterias, virus, hongos o parásitos), sufren mutaciones, volviéndolos vulnerables ante la presencia de un desinfectante o antibiótico. En el 2015, la asamblea de la OMS, argumentó la necesidad de implementar un protocolo o plan de acción contra los microorganismos, debido al aumento de su capacidad de sobrevivir en distintas zonas inanimadas, cuyo fin es combatir contra la resistencia antimicrobiana,

ayudando a la reducción, prevención e incluso eliminación de múltiples microorganismos patógenos (31).

En la actualidad, estos patógenos se han vuelto altamente letales y con una resistencia cada vez más distinta. Es por ello que el personal debe conocer y manejar cada patógeno respecto a su sensibilidad existente, ayudando a predecir futuras mutaciones (20).

Es por ello que la empresa farmacéutica, cada día desarrolla e investiga nuevas biocidas, debido a que los microorganismos elaboran nuevas formas de eludir la acción microbiana. Sin embargo, su resistencia, disminuye la efectividad del tratamiento, conllevando adquirir fármacos costosos, prolongación de su estancia en el centro hospitalario y el aumento de la mortalidad (31) (32).

#### **I.4.2.4.1. Resistencia bacteriana**

Durante varias décadas, se ha evidenciado la resistencia bacteriana a biocidas, en donde las bacterias reforman la estructura lipídica de sus células, ayudándoles a sobrevivir a dichas sustancias (3).

Esta resistencia bacteriana, puede ser intrínseca (natural) y adquirida. La resistencia intrínseca refiere a una propiedad del microorganismo, como una adquisición de material genético, el cual ocurre a través de conjugación en donde se realizará un intercambio de material genético entre dos agentes (donante y receptor) y transformación en el cual incorpora ADN libre extracelular procedente de lisis de otro patógeno. Estos procesos ayudan a incorporar genes de resistencia múltiple al genoma o plásmido. Mientras tanto la resistencia adquirida, refiere a un cambio en la estructura genética del microorganismo, en donde se desarrolla: bombas de eflujo o excreción (BE), modificación de la proteína de unión a la penicilina y modificación ribosomal, alteraciones y disminuciones de la permeabilidad de la membrana celular, biofilms y sobreexpresión del sitio blanco (31).

Se debe tener presente la formación genética de una bacteria, la misma que está constituida por plásmidos y transposones, quienes ayudarán al transporte de los

genes de resistencia. Por ello es importante indicar que los plásmidos son moléculas circulares de ADN, mientras que los transposones son secuencias de ADN que pueden moverse a distintas parte del genoma celular, por otra parte existen plásmidos y transposones que contienen elementos génicos, conocidos como integrones, los cuales permiten atraer genes exógenos, usados para sobrevivir frente a diferentes antibióticos o biocidas (33).

Por otro lado, los biofilms son considerados una resistencia procariota, los cuales protegen y mantienen la unión bacteriana frente a cualquier alteración ambiental y bactericida (34).

#### **I.4.2.4.2. Resistencia fúngica**

Su principal mecanismo de resistencia, es la formación de biopelículas, las mismas que permitirán la invasión y posteriormente la infección. A su vez los hongos pueden tener el método de resistencia por mutación molecular, dentro de la enzima diana del antifúngico, con respecto a la síntesis del ergosterol y por último un mecanismo en donde desarrollan barreras de permeabilidad o también conocidos como sistemas de bombeo de antifúngicos. Éste se desarrolla fuera de la célula, presenciando la alternación en las bombas de expulsión: Adenosín Trifosfato (ATP) *binding cassette* (ABC) y facilitadores mayores (MF) (35).

#### **I.4.2.5. Amonio Cuaternario o Compuestos de Amonio (QACs)**

Se define como una sustancia antimicrobiana, debido a su acción desinfectante. Pertenece a compuestos tensoactivos catiónicos y su principal estructura es el ion amonio ( $\text{NH}_4$ ). Esta sustancia actúa en altas concentraciones como bactericida y en bajas concentraciones como bacteriostático (34).

Entre los productos más comercializados derivados del amonio cuaternario, está el cloruro de benzalconio o cloruro de N-alquil-dimetil-bencilamonio, la misma que puede presentar cambios debido a su cadena alquílica, relacionado al número de átomos de carbono. Adicional, los derivados de amonio que presenten cadenas alquílicas con 12 a 14 carbonos, permitirán una mayor acción antimicrobiana (18).

Otro factor que brindará una alta acción microbiana, es su implementación en un medio alcalino entre 7 a 10. Los QACs no son corrosivos, no manchan y no son tóxicos en dosificaciones correctas, previamente establecidas o recomendadas (36).

Son solubles en agua y alcohol, pero incompatibles a aguas duras debido a la presencia de calcio y magnesio. Sin embargo, la presencia de materia orgánica, provoca disminución de su efectividad (5) (37).

Son esenciales para la eliminación de bacterias Gram positivas, microorganismos fúngicos y virus tipo lipofílicos, sin embargo su acción es reducida ante bacterias Gram negativas y virus tipo hidrófilos, las mismas que pueden presentar resistencia ante el desinfectante (34).

#### **I.4.2.5.1. Mecanismo de acción**

Estas moléculas al ingresar al microorganismo, penetran la membrana, gracias a su cadena carbonada (hidrófoba), en donde interacciona con los fosfatos de los fosfolípidos, generando alteraciones en su permeabilidad, alteración celular, salida del material vital citoplasmático y liberación de metabolitos, los cuales actúan en su metabolismo energético. También, las sustancias de amonio, inactivan enzimas y a su vez desnaturalizan las proteínas usadas para el desarrollo microbiano (5) (18).

#### **I.4.2.5.2. Clasificación**

- Primera generación: también denominado como cloruro de N-alquil-dimetil-bencilamonio. Su principal característica radica en sus cadenas alquílicas de 12 y 14 carbonos, los mismos que le brindan poder antibacterial. El más conocido de esta generación es el cloruro de benzalconio (5).
- Segunda generación: se la conoce como n-alquil-dimetil-etil-bencilamonio, los cuales presentan un aumento en su actividad antimicrobiana y una reducción microbiana, acorde al uso repetitivo (5).

- Tercera generación: es la combinación de las dos primeras generaciones, lo cual provoca un incremento de su actividad biocida, y con ello mejora la seguridad en la desinfección (5).
- Cuarta generación: nombrado “cadena gemela”, debido a sus cadenas di-alquílicas lineales. Su actividad germicida es superior y presenta una alta tolerancia a las cargas de proteína y agua dura, presentando baja toxicidad (5).
- Quinta generación: es la combinación de la cuarta y segunda generación. Su potencialidad es mayor en condiciones hostiles y su uso es seguro (5).

## **CAPÍTULO II**

### **METODOLOGÍA**

## **II.1. Diseño de investigación**

La investigación se desarrolló con una metodología de tipo longitudinal, analítica, descriptiva y comparativa.

Se consideró de tipo longitudinal debido a los periodos de tiempo establecidos para realizar la investigación, es decir se determinó la sensibilidad de *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*, frente al efecto residual del amonio cuaternario en distintos periodos de tiempo pre establecidos: 20min, 1h, 3h, 6h, 12h, 24h y 48h posteriores a la aplicación del desinfectante.

La temática investigada también fue de tipo analítica, debido a que los resultados del estudio fueron analizados e interpretados acorde a la medición de los halos de inhibición y permitieron establecer una comparación entre las variables, en este caso, los microorganismos en los periodos de tiempo establecidos previamente.

A su vez, fue descriptiva ya que se pretendió cuantificar y describir los diferentes tipos de microorganismos y comparativa debido a que los resultados obtenidos fueron comparados entre sí.

## **II.2. Población y muestra**

Compuesto por: cepa de *Candida albicans* ATCC 90028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.

### **II.2.1. Universo – Población**

El Universo del estudio en la presente investigación correspondió a la cepa de *Candida albicans* ATCC 90028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.

### **II.2.2. Muestreo y muestra**

Tipo intencional no probabilístico, el mismo que comprendió:

- **Material biológico:** cepas *Candida albicans* ATCC 90028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.
- **Material de prueba:** desinfectante de uso más común en centros hospitalarios.

Para establecer el muestreo y verificar la sensibilidad al desinfectante por parte de cada uno de los microorganismos anteriormente mencionados, se elaboró cinco repeticiones para cada tiempo señalado en el ensayo, con el fin de determinar un promedio de medición de halos de inhibición a los 20min, 1h, 3h, 6h, 12h, 24h y 48h, más dos controles de calidad del medio, tanto positivo como negativo:

- Control positivo: inoculado con la bacteria.
- Control negativo: sin bacteria.

La muestra comprendió un total de 185 placas para la elaboración del ensayo de difusión en disco (Kirby- Bauer) incluidos 10 controles de calidad, los cuales se detallan de la siguiente manera:

- Un desinfectante sometido al estudio.
- A cada uno de los cinco microorganismos se realizó cinco placas por cada uno de los siete periodos de tiempo: 20 minutos, 1 hora, 3 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas y 48 horas.
- Cinco cepas ATCC de microorganismos sometidas a la investigación.
- 10 controles (5 positivos y 5 negativos).

**Criterios de selección:** para la formalización de la población se tuvo en cuenta los siguientes criterios de selección:

- **Criterios de inclusión:** se incluyeron las cepas *Candida albicans* ATCC 90028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, las cuales se encuentran en el laboratorio de microbiología de la Universidad Católica de la ciudad de Cuenca.

### II.3. Definición y clasificación de las variables

#### Microorganismos

1. *Candida albicans*: hongo diploide asexual y saprófito, productora de IN.
2. *Staphylococcus aureus*: bacteria anaerobia facultativa gram positiva, productora de infecciones nosocomiales.
3. *Escherichia coli*: bacilo gram negativo anaerobia facultativa, productora de infecciones nosocomiales
4. *Klebsiella pneumoniae*: bacteria móvil gram negativa, productora de infecciones nosocomiales.
5. *Pseudomona aeruginosa*: bacteria aerobia gram negativa, patógeno oportunista presente en humanos y plantas.

#### Tiempo

Periodo determinado en el que se realiza una acción.

#### Desinfectante

Sustancia usada para desinfectar una área o lugar establecido, facilitando la eliminación de gérmenes.

#### Halo de inhibición

Es la zona alrededor de un disco con antibiótico o desinfectante colocado en una caja mono Petri de agar inoculado por un germen.

### II.4. Procedimientos, técnicas e instrumentos para la obtención de datos.

#### **Técnica aplicada: Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Difusión de Disco (Kirby – Bauer)**

- Elaboración del Agar Mueller Hinton
  1. Se autoclavó y se dejó enfriar hasta que alcanzó 45-50°C.
  2. Se esterilizó y se midió el pH del agar, su valor debe estar entre 7,2 y 7,4 a temperatura ambiente.

3. Se dosificó el medio en placas Petri, para obtener un grosor de 4mm del agar en cada placa.
- Proceso de preparación del desinfectante en los periodos de tiempo
    1. Se utilizó discos de papel filtro, los cuales fueron previamente esterilizados en un tubo de ensayo con tapa rosca.
    2. Se colocó los discos por separado en una caja Petri de vidrio estéril.
    3. Se agregó 10µl de amonio cuaternario en la caja Petri contenedora de los discos ya preparado en concentración para áreas semicríticas.
    4. Posteriormente se impregnó el desinfectante en los discos, se tapó la caja Petri y se dejó reposar de acuerdo a los periodos de tiempo ya establecidos.
  - Elaboración del estándar (0,5 Mc Farland), prueba de turbidez para el inóculo
    1. Se agregó 1,5 ml de una solución de  $\text{BaCl}_2$  0,048 M ( $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  al 1,175% P/V) a 99,5 ml de una solución de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,18 M (0,36 N) (1% V/V) en constante movimiento manteniendo la suspensión.
    2. Se verificó la densidad correcta del estándar con el espectrofotómetro, cuya absorbancia a 625 nm es 0,08 a 0,10 para el estándar 0,5 de Mc. Farland.
    3. Se distribuyó de 4-6 ml en tubos con tapa de rosca similares a los usados para preparar el inóculo.
    4. Antes de ser usado se agitó vigorosamente dicho estándar de preferencia, en un agitador mecánico.
  - Preparación del inóculo *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*.

*Método de desarrollo previo:*

- Se seleccionó cuatro a cinco colonias bien aisladas de cada microorganismo respectivamente, observando que sean del mismo tipo

morfológico, de un cultivo, usando un asa de siembra para trasladarlo a un tubo que contiene de 4 a 5 ml caldo Mueller Hinton.

- Se incubó el caldo a una temperatura desde 35°C, hasta que alcance o exceda la turbidez del estándar 0,5 de la escala de Mc. Farland (por lo general de 2 a 6 horas).
- Finalmente se adjuntó la turbidez del inóculo con solución salina o caldo apropiado hasta el tubo 0,5 de la escala de Mc. Farland, por comparación visual con el estándar.

#### *Inoculación de las Placas:*

- Se inoculó 100µl sobre la placa que contiene agar Mueller Hinton y se aplicó la técnica de sembrado por extensión con el asa de Drigalski en todas las direcciones.
- Se colocó papeles filtro previamente esterilizados e impregnados con el desinfectante en sus periodos de tiempo ya establecidos.
- Se impregnó los discos con el desinfectante amonio cuaternario de primera generación, obtenido a la concentración de uso para la descontaminación en áreas hospitalarias semicríticas.
- Se colocó los discos impregnados sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza estéril o la punta de una aguja presionando suavemente sobre cada disco para asegurar un contacto completo con la superficie del agar.

#### *Incubación*

- Se incubó las placas en posición invertida a 35°C dentro de los 24-48 horas posteriores a la aplicación de los discos.

#### *Lectura de las placas e interpretación de los resultados*

- Se midió los diámetros de las zonas de inhibición completa (incluyendo el diámetro del disco), usando una regla, manteniendo iluminada la parte posterior de la placa Petri con una luz reflejada localizada a unos cuantos centímetros sobre un fondo negro.

#### **II.4.1. Procedimientos estadísticos y análisis de datos**

Los datos obtenidos, fueron ingresados al programa Excel para la tabulación y análisis de los mismos. Dichos datos facilitaron la respuesta al problema planteado de la investigación y al mismo tiempo ayudaron a la interpretación de los resultados comprendiendo el poder del amonio cuaternario en distintos periodos de tiempo. Los resultados obtenidos, tuvieron un carácter descriptivo y se representaron mediante tablas.

#### **II.5. Aspectos éticos**

El desarrollo del estudio se realizó siguiendo estrictas normas de seguridad durante la preparación de los medios de cultivo, manipulando las cepas de los microorganismos de manera adecuada y eliminando los residuos biopeligrosos, así como durante la verificación de la sensibilidad del microorganismo. Adicional, se utilizaron los equipos de protección adecuados como mandil, mascarilla, cofia y gafas de seguridad para evitar la contaminación de las muestras y de la investigadora.

Por otra parte, las muestras analizadas fueron descartadas utilizando el protocolo para la recolección de desechos peligrosos, determinado como normas establecidas en el Manual de Bioseguridad del Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Estas muestras descartadas fueron esterilizadas y almacenadas en recipientes con fundas rojas para su recolección y posteriormente un tratamiento final establecido por la empresa responsable de la misma.

Durante el desarrollo de la investigación, no se manipularon muestras biológicas obtenidas de fluidos biológicos, por lo cual no fue necesario la aprobación por parte del Comité de Ética.

**CAPÍTULO III**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se indican los resultados obtenidos con relación a la sensibilidad de *Candida albicans* ATCC 90028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, frente al amonio cuaternario de primera generación al 0,05%. Como se indicó previamente en la metodología, se realizó cinco repeticiones por cada uno de los periodos de tiempo previamente establecidos para esta investigación, los mismos que fueron comparados con controles tanto positivos como negativos de cada bacteria, hongo.

Es importante especificar que en la presente investigación no se consideró la posible interacción del desinfectante con el medio de cultivo, la densidad y la volatilidad del mismo, que podrían haber contrarrestado la acción del poder residual del desinfectante.

**TABLA 1:** Halos de inhibición generados por *Candida albicans* ATCC 90028 frente a amonio cuaternario 0,05%.

<i>Candida albicans</i>		Repeticiones				
		1	2	3	4	5
		Halos de inhibición (mm)				
Períodos de Tiempo	20 minutos	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	1 hora	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	6 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	12 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	24 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	48 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Fuente 1: Base de datos Excel

Autor: Coronel Lorena

En la Tabla 1, se muestran los resultados obtenidos de los halos de inhibición de *Candida albicans* con amonio cuaternario. Como se puede apreciar, el desinfectante no permitió el desarrollo de halos de inhibición con este hongo en ninguna de las repeticiones, ni en los diferentes periodos de tiempo planificados, determinando que *Candida albicans* presenta resistencia, frente al amonio cuaternario de primera generación en una concentración de 0,05%.

Con base en lo anterior, Ratula, en Estados Unidos, en el año 2019, trabajó con cepas de *Candida auris* y *Candida albicans* y verificó su resistencia frente a 21 germicidas utilizados en instalaciones sanitarias. Realizó pruebas mediante el método de contador cuantitativo con diversos desinfectantes y realizó tres réplicas en su muestreo. En su investigación se observó que el QAC con base de agua presenta eficacia limitada, por lo cual no recomendó su uso en superficies, ambientes y equipos a nivel hospitalario, los cuales se encontraron en un intervalo de entre 1,5 y 4,1- $\log_{10}$  de reducción de viabilidad (38). En esta investigación se observa semejanza en los resultados obtenidos por Ratula, en cuanto a los halos de inhibición, sin embargo; se debe aclarar que la metodología aplicada fue transversal, debido al uso de la prueba cuantitativa de portadores, relacionada con discos para determinar la acción antimicrobiana.

**Tabla 2:** Halos de inhibición generados por *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 frente al amonio cuaternario 0,05%.

<i>Staphylococcus aureus</i>		Repeticiones				
		1	2	3	4	5
		Halos de inhibición (mm)				
Períodos de Tiempo	20 minutos	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	1 hora	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	6 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	12 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	24 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	48 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Fuente 2: Base de datos Excel  
Autor: Coronel Lorena

En la Tabla 2 se puede observar que no se formaron halos de inhibición con relación a ningún periodo de tiempo ni repetición durante el muestreo, lo cual permite verificar la poca eficacia que posee del amonio cuaternario frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Por otro lado, García en el 2017, en Ambato-Ecuador, obtuvo resultados diferentes al establecer que el amonio cuaternario al 20%, presentaba una mayor eficacia frente a *S.aureus* al presentar un halo de inhibición de 80,33mm. En este estudio se aplicó el método de difusión en agar Mueller-Hinton, por medio de la técnica Kirby Bauer, a su vez su metodología fue descriptiva (39). Se debe recalcar que la concentración con la que García trabajó en su investigación fue al 20% a diferencia de esta investigación que fue al 0,05%. Sin embargo, la concentración implementada en el estudio de García no es utilizada a nivel hospitalario.

Por otra parte, García y Romero en Perú, en su investigación realizada en el 2018, observaron la presencia de halos de inhibición de *S. aureus* frente al amonio

cuaternario de quinta generación (Betagen R-82F12%), en todas sus concentraciones (0,05%; 0,1%; 0,2%) y en sus cinco repeticiones. Los promedios de los halos de inhibición variaron de acuerdo a sus concentraciones: 11,2mm al 0,05%; 13,4mm al 0,1% y 16,00mm al 0,2%. Sin embargo, a pesar de la existencia de halos de inhibición, García estableció que ningún halo alcanzó mayor o igual diámetro a los 21,00mm, siendo éste el equivalente al punto de corte para establecer sensibilidad o resistencia, por lo tanto *S. aureus* presenta resistencia al amonio cuaternario. Así mismo, se debe considerar que los métodos empleados fueron dilución y difusión en agar, también aplicó la técnica de Kirby-Bauer y a su vez su metodología fue de tipo transversal, no longitudinal como en esta investigación (3).

**Tabla 3:** Halos de inhibición generados por *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al amonio cuaternario 0,05%.

<i>Escherichia coli</i>		Repeticiones				
		1	2	3	4	5
		Halos de inhibición (mm)				
Períodos de Tiempo	20 minutos	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	1 hora	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	6 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	12 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	24 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	48 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Fuente 3: Base de datos Excel

Autor: Coronel Lorena

En la Tabla 3, se puede identificar la efectividad del amonio al 0,05% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, en donde se puede observar que no se formaron halos de inhibición en ningún periodo de tiempo ni repetición.

Chacón y Rojas en el 2020, en Costa Rica, en su estudio bibliográfico, obtuvieron resultados similares al evidenciar genes resistentes presentes en *Escherichia coli* frente a derivados del amonio. Dicha resistencia se debe al cambio de respuesta frente al antimicrobiano, conllevando a la modificación de su composición lipídica, los cuales forman genes de resistencia y por ello la supervivencia bacteriana (10).

Ramos en el 2011, en Venezuela, mantuvo resultados similares al presenciar resistencia de *E. coli* en sus tres repeticiones frente a QACs cuyo agente activo fue bromuro de lauril-dimetil-bencil-amonio al 10% y 0,16%, realizado mediante la prueba de Suspensión Cuantitativa. De acuerdo a su estudio, las cepas que presentaron un valor de  $>5\text{-log}_{10}$  de reducción de viabilidad, se las consideró sensibles frente a QACs (12). Se debe considerar que el estudio presentó una metodología de tipo transversal.

Por otra parte, García en el 2018, en Perú, demostró la eficacia del amonio cuaternario de quinta generación (Betagen R-82F12%), frente a *E. coli*, al presenciar halos de inhibición en las distintas concentraciones de 0,05%; 0,1% y 0,2% de desinfectante, con cinco repeticiones respectivamente, acorde a su metodología. Obteniendo un promedio de 7,60mm al 5%; 11,60mm al 0,1% y 13,60mm al 0,2%. Sin embargo ningún halo alcanzó un diámetro mayor o igual a 21,00mm para determinar sensibilidad, por lo cual se concluyó que existe resistencia de *E. coli* frente al amonio cuaternario (3). Adicional, se debe considerar que los métodos empleados en este estudio fueron dilución, difusión en agar, la técnica de Kirby-Bauer y a su vez su metodología fue de tipo transversal.

**Tabla 4:** Halos de inhibición generados por *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 frente al amonio cuaternario 0,05%.

<i>Klebsiella pneumoniae</i>		Repeticiones				
		1	2	3	4	5
		Halos de inhibición (mm)				
Períodos de Tiempo	20 minutos	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	1 hora	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	6 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	12 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	24 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	48 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Fuente 4: Base de datos Excel

Autor: Coronel Lorena

En la Tabla 4 se puede observar que no existe la presencia de halos de inhibición frente al desinfectante, por lo cual se establece que existe resistencia bacteriana de *K. pneumoniae* ATCC 700603 al amonio cuaternario en la concentración del 0,05% y a su vez determina que dicha concentración fue insuficiente para la eliminación de la misma. Así mismo en el 2011, Ramos y Alonso en Venezuela, mantuvieron resultados similares al presenciar resistencia de *K. pneumoniae* en sus seis repeticiones, frente a dos desinfectantes pertenecientes a QACs cuyo agente activo fue bromuro de lauril-dimetil-bencil-amonio al 10% y 0,16% respectivamente, por otra parte, su metodología fue transversal, realizado mediante la prueba de suspensión cuantitativa. Dicha resistencia fue considerada debido a que sus valores fueron  $>5\log_{10}$  de reducción de viabilidad. Adicional, pudieron establecer que dicha resistencia se encuentra estrechamente relacionada con las moléculas plasmídicas movilizables conjugativas o transposones (12).

Montagna y colaboradores, en el 2019, en Italia, obtuvieron un halo de inhibición de 7,00mm de *K. pneumoniae* en sus tres repeticiones con isopropanol al 17,2% +

amonio cuaternario al 0,28%, sin embargo, establecieron que la bacteria es sensible al presentar un halo de inhibición mayor a 8mm, concluyendo que existe resistencia por parte de la bacteria. Dicho estudio fue realizado mediante el método de difusión en agar, la técnica Kirby Bauer y su metodología fue transversal (40).

Mientras tanto, en el 2016, Carchi y Serrano en Cuenca-Ecuador, determinaron una buena eficacia del amonio cuaternario al 0,6%, frente a coliformes totales, en el mismo que se encuentra presente *K. pneumoniae*, dando como resultado 0,00 Unidades Formadoras de Colonias/centímetro cuadrado (UFC/cm<sup>2</sup>). Para su determinación plantearon la diferencia entre superficies inertes antes y después del tratamiento, usando el método Petrifilm en donde se recontó las colonias respectivamente. Su metodología fue transversal a diferencia de la aplicada en la presente investigación que fue de tipo longitudinal (18).

**Tabla 5:** Halos de inhibición de amonio cuaternario 0,05% frente a *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.

<i>Pseudomona aeruginosa</i>		Repeticiones				
		1	2	3	4	5
		Halos de inhibición (mm)				
Períodos de Tiempo	20 minutos	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	1 hora	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	6 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	12 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	24 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	48 horas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Fuente 5: Base de datos Excel

Autor: Coronel Lorena

En la Tabla 5, se puede evidenciar la falta de halos de inhibición en todos los periodos de tiempo y repeticiones, por lo cual el amonio cuaternario no es eficiente frente *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Los resultados se mantuvieron semejantes en el 2011 con Ramos, en Venezuela, al presenciar resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* en sus seis repeticiones frente a QACs cuyo agente activo fue bromuro de lauril-dimetil-bencil-amonio con concentraciones de 10% y 0,16%, dicho resultado se considero debido a que sus valores se encuentran  $>5\log_{10}$  de reducción de viabilidad, de acuerdo a 5 minutos de exposición del desinfectante. Este estudio fue realizado por la metodología transversal mediante la prueba de suspensión cuantitativa (12).

Por otra parte en el 2020, Chacón y Rojas, en Costa Rica, realizaron un estudio bibliográfico, con una metodología observacional descriptiva, los mismos obtuvieron resultados similares al evidenciar la resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* frente a derivados de amonio (10).

En el 2019 Montagna y colaboradores, en Italia, obtuvieron resultados similares al observar un halo de inhibición de 0mm en sus tres repeticiones con isopropanol al 17,2% + amonio cuaternario al 0,28%. En donde aplicaron el método de difusión en agar, la técnica Kirby Bauer y a su vez, su metodología fue transversal (40).

Por otra parte se debe establecer que la elaboración de la parte práctica o experimental del estudio, el desinfectante se usó acorde especificaciones detalladas por el fabricante, siendo este 5 ml de amonio cuaternario en 1 litro de agua, las mismas que se encontraron rotuladas en el envase.

**CAPÍTULO IV**  
**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## IV.1. CONCLUSIONES

1. Se evaluó la sensibilidad de *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa* ante el amonio cuaternario, generando resistencia bacteriana y fúngica al no formar ningún halo de inhibición en ninguna réplica, ni periodo de tiempo.
2. La actividad antimicrobiana del amonio cuaternario de primera generación al 0,05% frente a *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*, fue nula en todo el universo de estudio, debido a la ausencia de halos de inhibición en todos los periodos de tiempo y a su vez en todas las repeticiones.
3. Se pudo realizar una comparación de sensibilidad de *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa* ante el amonio cuaternario, debido a la ausencia de halos de inhibición en cada uno de los microorganismos previamente nombrados, conllevando a determinar resistencia microbiana y fúngica.

## IV.2. RECOMENDACIONES

1. Se debe realizar más investigaciones con relación a la eficacia del amonio cuaternario, debido al uso continuo a nivel hospitalario e incluso a nivel común.
2. Promover más estudios con relación a la concentración y el tiempo exacto de aplicación del desinfectante para una correcta eliminación bacteriana o fúngica, de tal manera que ayude a la reducción de infecciones nosocomiales futuras.
3. En investigaciones futuras se debería verificar los factores mencionados con anterioridad (interacción del desinfectante con el medio de cultivo, volatilidad, densidad, etc.) para confirmar si éstos alteran o no el efecto residual del amonio cuaternario.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Maguiña Vargas C. Infecciones nosocomiales. Acta Médica Peru. julio de 2016;33(3):175-7.
2. Salcedo González RKS. CARACTERÍSTICAS DE LAS INFECCIONES NOSOCOMIALES EN EL SERVICIO DE CUIDADOS INTENSIVOS PEDIÁTRICOS DEL HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO, CUENCA 2014-2015. :57.
3. Garcia R. EFECTO DE DOS DESINFECTANTES DE USO HOSPITALARIO SOBRE EL CRECIMIENTO IN VITRO DE Staphylococcus aureus Y Escherichia coli [Internet]. Disponible en: <http://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/UPLA/409/GARCIA%20J.%20ROMERO%20R..pdf?sequence=1&isAllowed=y>
4. Terreros Argudo EMT, Peñaloza Piña MIP, Cordova Neir FC. INFECCIONES NOSOCOMIALES EN EL SERVICIO DE PEDIATRIA HOSPITAL JOSÉ CARRASCO, IESS - CUENCA 2015 - 2016. ATENEO. 2018;20(1):45-55.
5. Diomedi A, Chacón E, Delpiano L, Hervé B, Jemenao MI, Medel M, et al. Antisépticos y desinfectantes: apuntando al uso racional. Recomendaciones del Comité Consultivo de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud, Sociedad Chilena de Infectología. Rev Chil Infectol. abril de 2017;34(2):156-74.
6. Galván-Meléndez, Castañeda-Martínez, Morales-Castro. Infecciones asociadas con la atención de la salud y su resistencia antimicrobiana. 2017;13.
7. Caron-Estrada R, Mattos-Navarro P, Carvajal-Tapia E, Soloaga R. Factors in Hospital Care Responsible for Nosocomial Infections in Sanitary Institutions of the Cities of La Paz and Alto. Scielo.org.co. 23(2).2017. [citado 5 de junio de 2020]. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0122-06672017000200006](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-06672017000200006)
8. Gupta V, Malhotra A, Chhina D, Singh A. Identificación de las especies de Candida en las infecciones sanguíneas. Salud(i)Ciencia. marzo de 2018;22(8):719-26.
9. Muñoz JG, Corona AMR, Bustamante MEM. Estudio multicéntrico de resistencias bacterianas nosocomiales en México. :8.
10. Chacón-Jiménez L, Rojas-Jiménez K, Chacón-Jiménez L, Rojas-Jiménez K. Resistencia a desinfectantes y su relación con la resistencia a los antibióticos. Acta Médica Costarric. marzo de 2020;62(1):7-12.

11. Santana MMP de, Hoffmann-Santos HD, Dias LB, Tadano T, Karhawi ASK, Dutra V, et al. Epidemiological profile of patients hospitalized with candiduria in the Central-Western region of Brazil. *Rev Iberoam Micol.* diciembre de 2019;36(4):175-80.
12. Ramos Y, Alonso G. Evaluación de la resistencia a agentes desinfectantes de bacterias aisladas de ambientes naturales. *Rev Soc Venez Microbiol.* diciembre de 2011;31(2):130-7.
13. Guevara Pérez LM, Saucedo Burga LM. Bacterias patógenas responsables de infecciones intrahospitalarias en los servicios de medicina y neonatología-hospital general de Jaén ENERO-JUNIO 2019. Jaén-Perú. Universidad Nacional de Jaén.. [citado 11 de abril de 2020]. Disponible en: [http://repositorio.unj.edu.pe/bitstream/handle/UNJ/184/Guevara\\_PLM\\_Saucedo\\_BLM.pdf?sequence=3&isAllowed=y](http://repositorio.unj.edu.pe/bitstream/handle/UNJ/184/Guevara_PLM_Saucedo_BLM.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
14. Ministerio de Salud Publica. Resistencia microbiana [Internet]. Ecuador. 2014-2018 [citado 25 de junio de 2020]. Disponible en: [https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/08/gaceta\\_ram2018.pdf](https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/08/gaceta_ram2018.pdf)
15. García Leinez JP. Infecciones asociadas al cuidado de la salud en la Unidad de Cuidados Intensivos de Adultos en un hospital terciario en el periodo de enero de 2015 a junio de 2015. (Tesis). Quito-Ecuador. Universidad San Francisco de Quito.2016. Disponible en: <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/5143/1/124528.pdf>
16. Zamora LLZ. "microorganismos más frecuentes en hemocultivos del servicio de neonatología. hospital general docente Ambato. MAYO 2017-JUNIO 2018".
17. Herrera MEH. Incidencia de coliformes/E.coli y *Listeria*. spp. en lechuga, variedad criolla expendida en los mercados, ferias agroecológicas y supermercados de la ciudad de Cuenca frente a soluciones desinfectantes de uso casero".
18. Carchi-Serrano. "análisis de la efectividad del amonio cuaternario y ácido peracético frente a coliformes totales y *Escherichia coli* en superficies inertes del área de empaques al vacío de la planta de embutidos piggis".
19. Mónica L, Fernández M. las infecciones nosocomiales como un nuevo evento de responsabilidad objetiva en el sistema colombiano: reflexión sobre su fundamento a partir de la experiencia francesa. *Rev Chil Derecho.* diciembre de 2016;43(3):849-75.
20. Rosales Magallanes GF. Enfrentando una nueva generación de patógenos nosocomiales en pediatría. *Bol Méd Hosp Infant México.* 1 de septiembre de 2017;74(5):382-3.

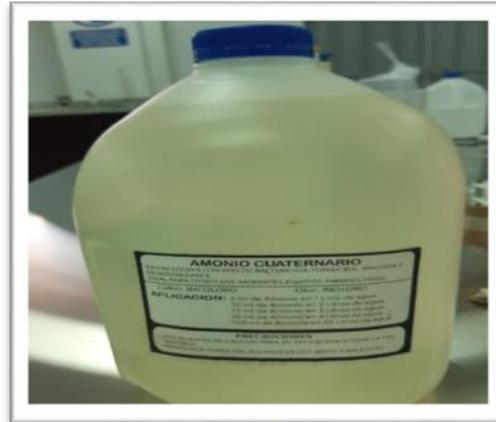
21. Castañeda, Ordoñez. La supervivencia de los gérmenes intrahospitalarios en superficies inanimadas. 2014. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revenfinfped/eip-2014/eip141a.pdf>
22. López-Cerero L. Papel del ambiente hospitalario y los equipamientos en la transmisión de las infecciones nosocomiales. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. 1 de agosto de 2014;32(7):459-64.
23. Guerrero Miranda JEG. Identificación, susceptibilidad y distribución de especies de *Cándida* obtenidas de muestras clínicas del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI), de enero 2007 a abril 2016.
24. Bibek Ray. *Fundamentos de Microbiología de los Alimentos* [Internet]. 4.<sup>a</sup> ed. McGraw-Hill Interamericana; 2010 [citado 25 de junio de 2020]. Disponible en: <http://www.ebooks7-24.com.vpn.ucacue.edu.ec/Stage.aspx>
25. Cervantes-García E, García-González R, Salazar-Schettino PM. Características generales del *Staphylococcus aureus*. :13. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica Medicina Laboratorio*. 2014.61(1); 28-40.
26. Lersy LG, Alfonso, Suárez M H, Lersy LG, Alfonso, Suárez M H. Caracterización microbiológica y molecular de *Staphylococcus aureus* en productos cárnicos comercializados en Cartagena Colombia. *Rev Costarric Salud Pública*. diciembre de 2016;25(2):81-9.
27. Segura J. *Epidemiología Clínica y Molecular de Bacteriemias por Escherichia coli en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca*. Murcia-España. Universidad de Murcia. 2017.
28. Benvenuto Vargas VP. "Determinación de *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP) en agua de mar del Circuito de Playas de la Costa Verde" [Tesis]. LimaPerú. Universidad Ricardo Palma. 2017. [citado 25 de junio de 2020]. Disponible en: [http://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/urp/1016/Benvenuto\\_vp.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/urp/1016/Benvenuto_vp.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
29. Castañeda Matute VC. Evaluación in vitro de la capacidad antimicrobiana de los aceites esenciales de moringa (*Moringa oleífera* Lam.) y altamisa (*Ambrosia arborescens* Mill.) frente a la bacteria *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70693. [Tesis]. Cuenca-Ecuador. Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. 2019.
30. Carroll K. *Microbiología médica* [Internet]. 27.<sup>a</sup> ed. McGraw-Hill Interamericana; 2016 [citado 25 de junio de 2020]. Disponible en: <http://www.ebooks7-24.com.vpn.ucacue.edu.ec/Stage.aspx>

31. Serra Valdés MA. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Rev Habanera Cienc Médicas*. junio de 2017;16(3):402-19.
32. Fariña N. Resistencia bacteriana: un problema de salud pública mundial de difícil solución. *Mem Inst Investig En Cienc Salud*. abril de 2016;14(1):04-5.
33. Rodríguez Iannuzzelli AS. Estudio de la Capacidad de Resistencia a los Desinfectantes en Aislados de Origen Hospitalario de *Stenotrophomonas maltophilia*.
34. Ríos Castillo AG. Evaluación del nivel de contaminación de superficies y la eficacia de productos desinfectantes a corto y largo plazo. Nuevos métodos. [Tesis]. Barcelona-España. Universidad Autónoma de Barcelona. 2013. [citado 25 de junio de 2020]. Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/129381/agrc1de1.pdf?sequence=1>
35. López-Ávila K, Dzul-Rosado KR, Lugo-Caballero C, Arias-León JJ, Zavala-Castro JE. Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. Una revisión. *Rev Bioméd [Internet]*. 5 de septiembre de 2016 [citado 25 de junio de 2020];27(3). Disponible en: <http://revistabiomedica.mx/index.php/revbiomed/article/view/541>
36. Sindeev A- Borda Izquierdo A. Nuevos enfoques en la Desinfección Hospitalaria. revista de Investigaciones de la Universidad NorbertWiner, 2013. 2. [citado 25 de junio de 2020]. Disponible en: [https://intranet.uwiener.edu.pe/univwiener/portales/centroinvestigacion/documentacion/revista\\_2/04\\_Sindeev\\_Borda.pdf](https://intranet.uwiener.edu.pe/univwiener/portales/centroinvestigacion/documentacion/revista_2/04_Sindeev_Borda.pdf)
37. Lindo Véliz ML, Rosas Cayetano JM. Eficacia de los Desinfectantes de Superficies de Equipos y Mobiliarios en la reducción de la Contaminación y Prevención de Infecciones. *Univ Priv Norber Wien - Wien [Internet]*. 2017 [citado 25 de junio de 2020]; Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/456>
38. Rotula W, Knamori H. Susceptibility of *Candida auris* and *Candida albicans* to 21 germicides used in healthcare facilities - PubMed, 2019. [citado 6 de noviembre de 2020]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30767810/>
39. García AM. Contaminación microbiana en el hospital docente veterinario de la universidad técnica de Ambato. 2017. [citado 6 de noviembre de 2020]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27023/1/Tesis%20115%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20545.pdf>

40. Montagna MT, Triggiano F, Barbuti G, Bartolomeo N, De Giglio O, Diella G, et al. Study on the In Vitro Activity of Five Disinfectants against Nosocomial Bacteria. *Int J Environ Res Public Health*. 29 de 2019;16(11).

## **ANEXOS**

## ANEXO 1. DESINFECTANTE UTILIZADO: AMONIO CUATERNARIO



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel.

## ANEXO 2. PREPARACIÓN DE AGAR MacCONKEY EN LAS CAJAS MONOPETRI PARA REACTIVACIÓN DE CEPAS.

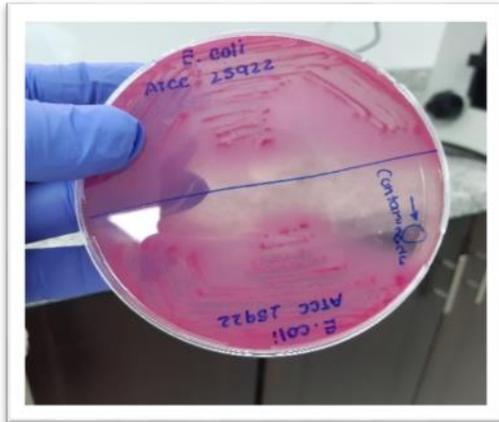


Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel.

---

ANEXO 3. REACTIVACIÓN DE LAS CEPAS; *Candida albicans* ATCC 90028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel



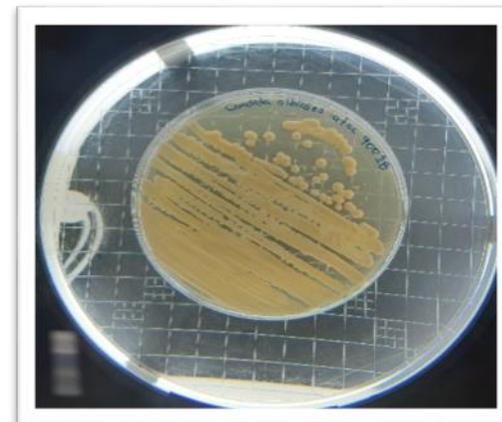
Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel



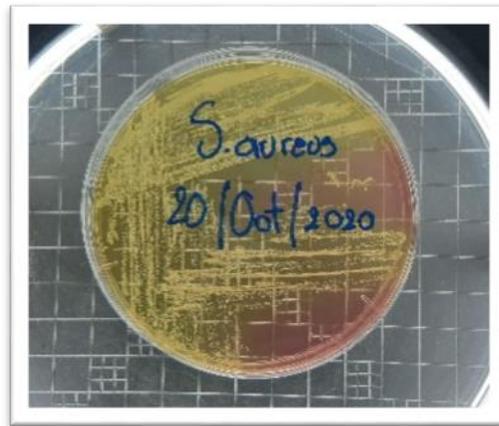
Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

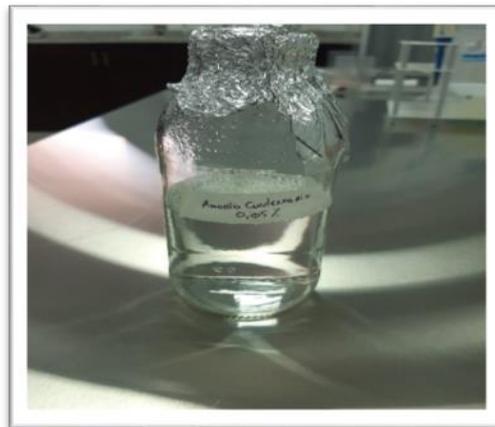
Autor: Lorena Coronel



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel.

#### ANEXO 4. PREPARACIÓN DEL DESINFECTANTE AMONIO CUATERNARIO DE PRIMERA GENERACIÓN AL 0,05%.

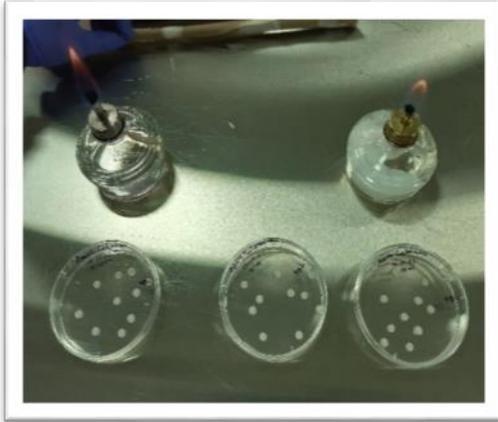


Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel.

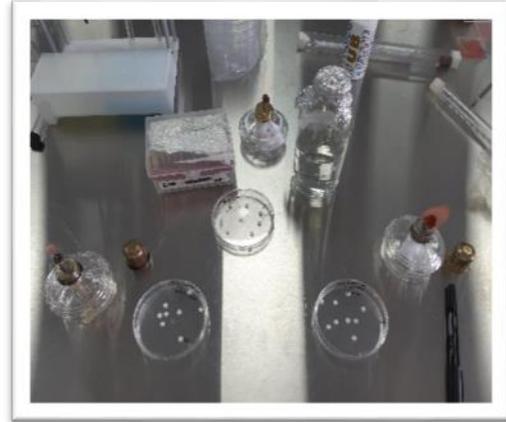
---

ANEXO 5. IMPREGNACIÓN DE AMONIO CUATERNARIO A LOS DISCOS EN RELACIÓN A LOS PERIODOS DE TIEMPO PREVIAMENTE ESTABLECIDOS.



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

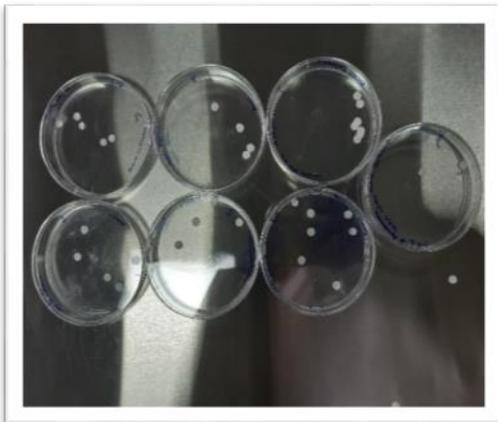
Autor: Lorena Coronel



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

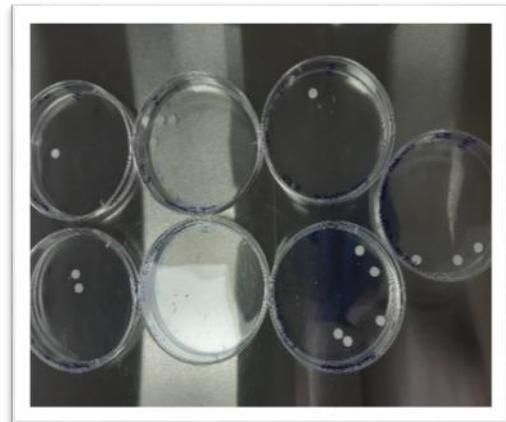
Autor: Lorena Coronel

ANEXO 6. DISCOS DE IMPREGNACIÓN DE ACUERDO A LOS PERIODOS DE TIEMPO.



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

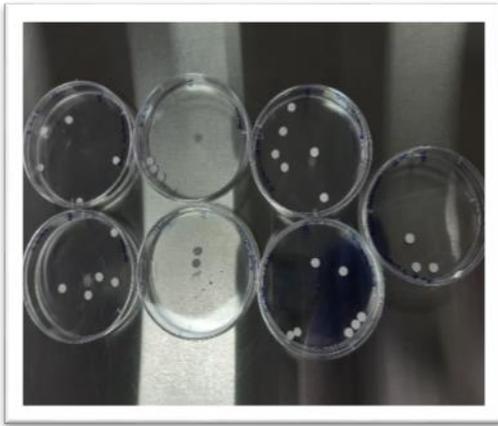
Autor: Lorena Coronel



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

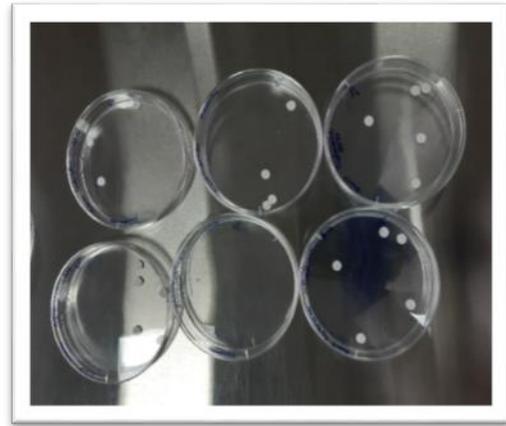
Autor: Lorena Coronel

---



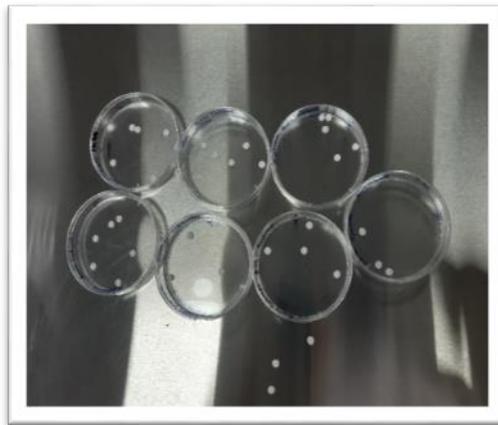
Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel

---

## ANEXO 7. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA A LA ESCALA DE MCFARLAND.



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.  
Autor: Lorena Coronel



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.  
Autor: Lorena Coronel

## ANEXO 8. INÓCULOS DE LAS CEPAS ATCC.



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel

---



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.  
Autor: Lorena Coronel

ANEXO 9. SIEMBRA DE CEPAS; *Candida albicans* ATCC 90028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.



Fuente: Universidad Católica de  
Cuenca.  
Autor: Lorena Coronel



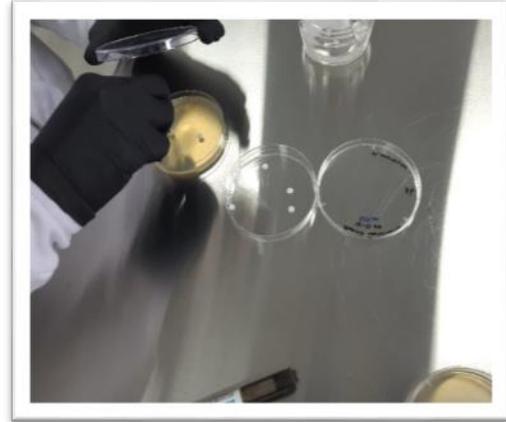
Fuente: Universidad Católica de  
Cuenca.  
Autor: Lorena Coronel

---

ANEXO 10. COLOCACIÓN DE DISCOS EN CADA MEDIO DE CULTIVO CON AMONIO CUATERNARIO EN LOS TIEMPOS ESTABLECIDOS.



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.  
Autor: Lorena Coronel



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.  
Autor: Lorena Coronel

ANEXO 11. INCUBACIÓN DE LAS PLACAS EN LA ESTUFA A 37°C



Fuente: Universidad Católica de Cuenca.  
Autor: Lorena Coronel



Fuente: Universidad Católica de Cuenca  
Autor: Lorena Coronel

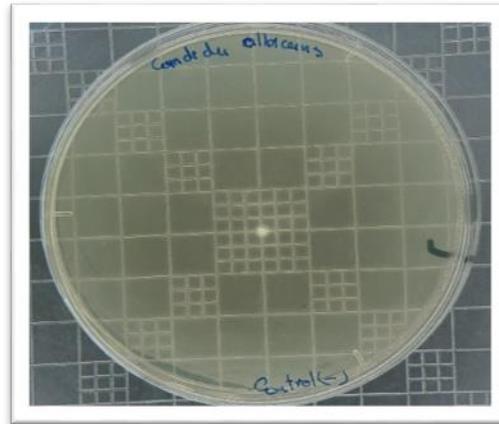
---

ANEXO 12. CONTROL POSITIVO Y NEGATIVO DE LAS CEPAS; *Candida albicans* ATCC 90028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.

- *Candida albicans* ATCC 90028



Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca.  
Autor: Lorena Coronel

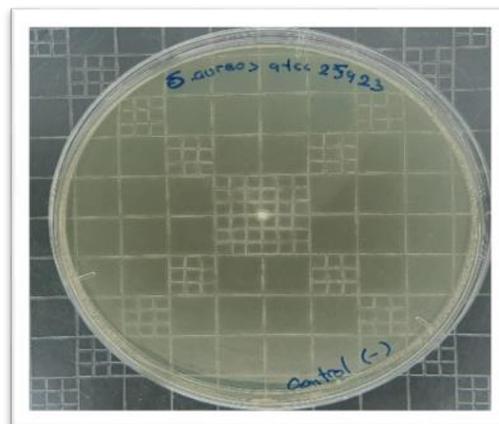


Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca  
Autor: Lorena Coronel

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca.  
Autor: Lorena Coronel

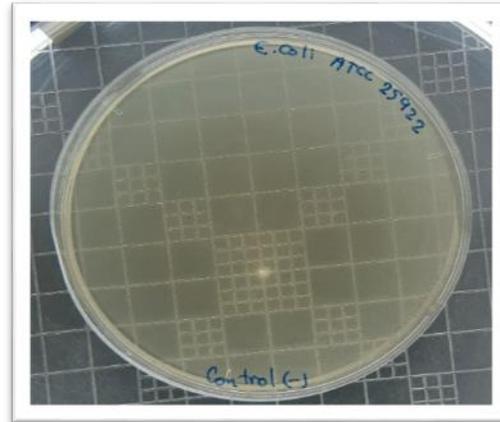


Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca  
Autor: Lorena Coronel

- *Escherichia coli* ATCC 25922



Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca.  
Autor: Lorena Coronel

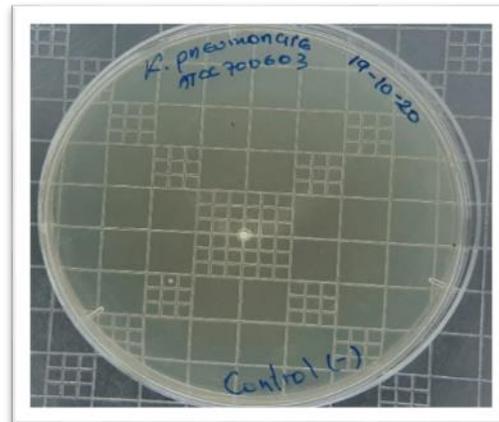


Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca  
Autor: Lorena Coronel

- *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603

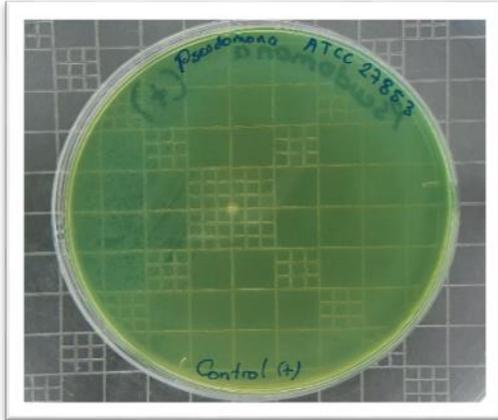


Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca.  
Autor: Lorena Coronel



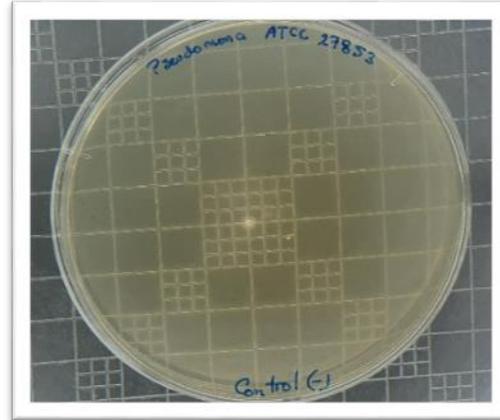
Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca  
Autor: Lorena Coronel

- *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.



Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel



Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca

Autor: Lorena Coronel

ANEXO 13. MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DE *Candida albicans* ATCC 90028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 FRENTE AL AMONIO CUATERNARIO DE PRIMERA GENERACIÓN AL 0,05% CON RELACION A LOS PERIODOS DE TIEMPO.

- MEDICIÓN A LOS 20 MINUTOS



Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel

- MEDICIÓN A 1 HORA



Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel

- MEDICIÓN A LAS 3 HORAS

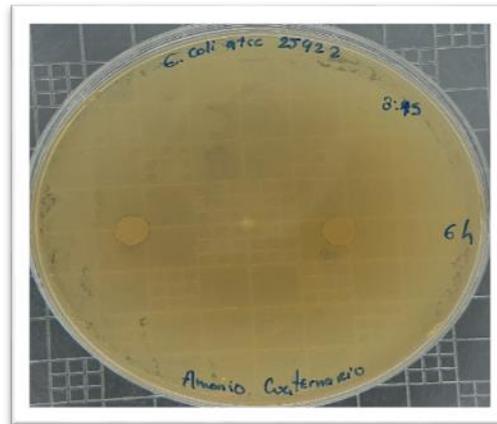


Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel

---

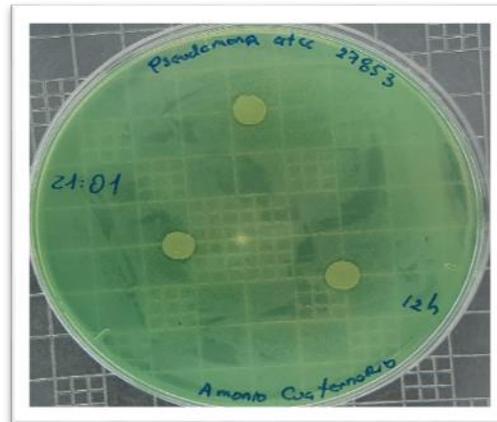
- MEDICIÓN A LAS 6 HORAS



Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel

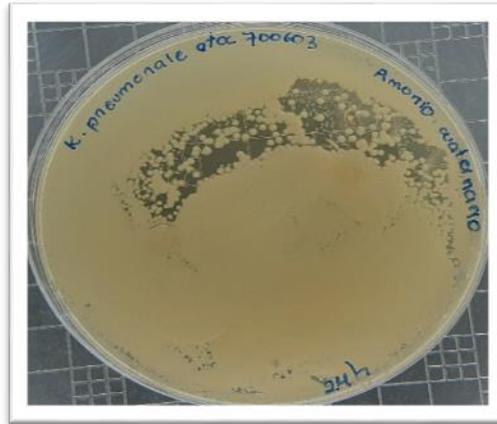
- MEDICIÓN A LAS 12 HORAS



Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel

- MEDICIÓN A LAS 24 HORAS



Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel

- MEDICIÓN A LAS 48 HORAS



Fuente: Universidad Católica  
de Cuenca.

Autor: Lorena Coronel

---

## ANEXOS REQUERIDOS

### UNIDAD ACADEMICA DE SALUD Y BIENESTAR CARRERA DE BIOFARMACIA / BIOQUIMICA Y FARMACIA

Cuenca 17 de Junio del 2020

Señor Doctor.

Diego Paul Andrade Campoverde.

**Director de la Carrera de Biofarmacia / Bioquímica y Farmacia**

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA**

Presente. –

Yo, **CORONEL CHUMBI LORENA JACQUELINE**, con cédula de ciudadanía **0105884878**, solicito ante Ud respetuosamente permiso para realizar la investigación de mi trabajo de tesis en las instalaciones de la facultad de Biofarmacia / Bioquímica y Farmacia de la Universidad Católica de Cuenca.

Es importante señalar que esta actividad no conlleva ningún gasto para la institución y que se tomarán los resguardos necesarios para no interferir con el normal funcionamiento de las actividades propias de la facultad.

Con sentimientos de respeto y consideración.

Atentamente,

**DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO**  
**“AÑO JUBILAR, QUINCUAGÉSIMO ANIVERSARIO FUNDACIONAL”**

---

Dr. Diego Andrade, MSc.

**Director de la Carrera de  
Biofarmacia**

---

Q.F. Karla Pacheco MSc.

**Docente responsable de Unidad  
de Titulación de la Carrera de  
Biofarmacia**

---

Lorena Coronel Chumbi

**Estudiante de la Carrera  
de Biofarmacia**

---

## PERMISO DEL AUTOR DE TESIS PARA SUBIR AL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Nosotros, **Lorena Jacqueline Coronel Chumbi** portador de la cédula de ciudadanía N° **0105884878**, en calidad de autores y titulares de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación “**SENSIBILIDAD DE Candida albicans, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae y Pseudomona aeruginosa ATCC AL AMONIO CUATERNARIO**”, de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, Así mismo; autorizo a la Universidad para que realice la publicación de éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, enero del 2021

F: .....

C.I. **0105884878**

---

Cuenca, 11 de diciembre de 2020.

**Abogada**

**Stephanie Alexandra Amaya Pardo.**

**SECRETARIA AUXILIAR DE LA CARRERA DE BIOFARMACIA**

Su despacho.

De mi consideración.

Luego de expresarle un cordial y atento saludo, por medio del presente informo que, llevado a cabo el proceso de titulación, los estudiantes entregaron sus trabajos a la Unidad de Titulación e Investigación - Carrera de Biofarmacia, mismas que se encargaron de verificar el contenido de originalidad mediante la herramienta antiplagio Turnitin, entregando los resultados acordes a las exigencias de la Universidad.

Así, **CORONEL CHUMBI LORENA JACQUELINE**, con su trabajo titulado, **SENSIBILIDAD DE *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa* ATCC AL AMONIO CUATERNARIO**, obteniendo en el informe de originalidad un 10% lo cual le permite continuar con los trámites correspondientes a su titulación.

Por la favorable acogida que se digne dar al presente anticipo mis agradecimientos.

Atentamente,

Q.F. Karla Pacheco C. MSc.  
**RESPONSABLE DE LA UNIDAD DE TITULACIÓN  
CARRERA DE BIOFARMACIA**

---

