

## Actividad Antimicrobiana de Germicidas Halogenados Frente a Aislamientos Hospitalarios

María del C. MAGARIÑOS\*, Alejandra C. PENACCA, Mirta B. REYNALDO<sup>1</sup>,  
Sandra M. CASTELO, Anabela M. MARTÍNEZ, Eduardo A. DEMARTINI, y Lorena LANDRIEL

*Higiene y Salud Pública, División Farmacia, Departamento de Ciencias Biológicas,  
Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata,  
Calles 47 y 115, C1900AJW, La Plata, Argentina.*

---

**RESUMEN.** Los antisépticos y desinfectantes se emplean en hospitales para una gran variedad de aplicaciones, tanto tópicos como sobre superficies. Estos compuestos son esenciales en el control y la prevención de las infecciones nosocomiales. A pesar de esto, se conoce bastante menos acerca del modo de acción de estos biocidas que de los antibióticos habitualmente empleados en terapéutica. La actividad antimicrobiana puede ser influenciada por muchos factores tales como la formulación, la presencia de materia orgánica, efectos de sinergia, temperatura, dilución e incluso del método de ensayo. El uso tan difundido de productos desinfectantes y antisépticos ha llevado a algunas especulaciones sobre el desarrollo de resistencia microbiana, y particularmente, resistencia cruzada con antibióticos. Con el propósito de estudiar la resistencia microbiana a germicidas halogenados de uso corriente en centros asistenciales, se evaluó el comportamiento de aislamientos hospitalarios tanto gram negativos como gram positivos frente a soluciones de hipoclorito de sodio, iodopovidona y tintura de yodo en presencia y ausencia de sustancias interferentes tales como materia orgánica y cationes. Los resultados obtenidos indican que los microorganismos hospitalarios presentan mayor resistencia a los biocidas analizados con respecto al microorganismo de referencia *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Sin embargo, en condiciones limpias este grupo de biocidas posee una alta eficacia, aún muy por debajo de las concentraciones de uso recomendadas, para todos los medios de dilución estudiados. Con la presencia de materia orgánica la actividad germicida disminuyó en todos los casos en relación directamente proporcional a la concentración, debido a la naturaleza predominantemente oxidante de estos compuestos.

**SUMMARY.** "Antimicrobial Activity of Halogenated Compounds Against Hospital Microbial Isolates". Antiseptics and disinfectants are extensively used in hospitals and health care settings for a variety of topical and hard-surface applications. In particular, they are essential part of infection control practices and in the prevention of nosocomial infections. Despite this, few is known about the mode of action of these biocides with respect to antibiotics. In general, the antimicrobial activity can be influenced by many factors such as formulation effects, presence of organic matter, synergy, temperature, dilution and test method. The widespread use of antiseptics and disinfectant products has prompted some speculation on the development of microbial resistance, in particular cross-resistance to antibiotics. The aim of this study was to evaluate microbiological resistance to halogenated compounds by studying the behaviour of the grampositive and gramnegative clinical isolates against halogenated biocides usually applied, with and without organic substance and applying distilled water, potable water and water of 300 ppm hardness as dilution means. The results indicate that the hospital microorganisms show a higher resistance to the biocides than the strain *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, although the effective concentration in "clean conditions" was lesser than the recommended ones, for all the dilution means. In presence of organic matter the antimicrobial activity was reduced in accordance with the bactericidal concentration of each microorganism, due to the oxidant action of these disinfectants.

---

**PALABRAS CLAVE:** Antimicrobianos Externos, Biocidas, Desinfectantes Hospitalarios, Flora Intrahospitalaria.

**KEY WORDS:** Antimicrobial Agents, Biocides, Hospital Disinfectants, Intrahospitalable Bacteria.

\* Autor a quien dirigir la correspondencia. E-mail: magariño@biol.unlp.edu.ar

Profesional de Apoyo de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, Argentina

## INTRODUCCIÓN

Con los cambios presentados en la epidemiología y la aparición de nuevos gérmenes, las infecciones intrahospitalarias continúan siendo un riesgo importante de morbimortalidad, especialmente en aquellos pacientes con enfermedades transmisibles, donde es necesaria la muerte del patógeno para impedir la diseminación de la infección a individuos susceptibles<sup>1</sup>. El control de las infecciones adquiridas en hospitales resulta un serio problema por el elevado número de factores que influyen y por las limitaciones en los medios de prevención y la disponibilidad terapéutica.

Dentro del ambiente hospitalario, los objetos pueden brindar oportunidades de contacto y transmisión de microorganismos, por lo que la desinfección hospitalaria resulta un procedimiento muy útil para producir la ruptura de la cadena de transmisión. Sin embargo, gran parte de la comunidad sanitaria considera al ambiente hospitalario como un factor de menor importancia en la incidencia de infecciones hospitalarias<sup>2</sup>.

En general, la desinfección hospitalaria tiene como propósito eliminar la suciedad e impedir la diseminación de los microorganismos que colonizan las superficies. Estos microorganismos incluyen a *S. aureus*, *C. difficile*, *Pseudomonas spp*, *Proteus spp*, *Serratia marcescens* y *Candida spp*<sup>3</sup>. A pesar de la diversidad de patógenos involucrados en infecciones hospitalarias, un gran número de estudios se centran en *S. aureus* y *P. aeruginosa*, ya que ambos juegan un rol importante en la incidencia de infecciones hospitalarias durante todo el año.

La eficacia de los desinfectantes hospitalarios puede ser evaluada sobre la base de la información disponible de acuerdo a sus características químicas, físicas y biológicas. Cambios muy sutiles en el medio ambiente pueden influir en la actividad antimicrobiana de un agente químico, así como también, la interacción de los germicidas con otros componentes de la formulación, calidad y cantidad de diluyente, presencia de materiales extraños como sales, materia orgánica y fibras sintéticas que hacen inertes sustancias que son altamente activas en su ausencia, ya sea por adsorción del desinfectante a coloides proteicos, por formación de compuestos químicamente menos efectivos o por la unión del germicida a distintos grupos de la proteína extraña<sup>4,5</sup>.

En general, todos los efectos observables producidos por los agentes químicos sobre las bacterias son el resultado de cambios en sus

componentes macromoleculares. Algunos dañan las membranas celulares, otros inactivan irreversiblemente proteínas o bien inducen lesiones en ácidos nucleicos. Así, la disponibilidad determina el acceso de un germicida a su sitio de acción y, ciertamente si esto no sucede no puede exhibir actividad biológica. El comportamiento variable de los organismos frente a los germicidas se corresponde con su información genética, que origina diferencias metabólicas entre las distintas especies y aún dentro de la misma especie<sup>6</sup>.

En la profilaxis de las infecciones se debe encarar la desinfección química del ambiente y del material médico quirúrgico mediante procedimientos validados y normatizados, junto con la definición de las acciones y estrategias que garanticen su actividad antimicrobiana<sup>7</sup>. Los compuestos clorados e iodados son los microbicidas halogenados más significativos empleados en clínica y han sido tradicionalmente usados como antisépticos, y para propósitos de desinfección<sup>8</sup>.

Dado que los compuestos halogenados son intensivamente empleados en nuestro ambiente hospitalario, en el presente trabajo se evaluó la acción antimicrobiana de dichos biocidas frente a aislamientos clínicos pertenecientes a microorganismos causales de infecciones hospitalarias tanto gram negativos como gram positivos. La resistencia de estos microorganismos, en comparación con cepas de colección, fue estudiada, desafiando a los germicidas en diferentes condiciones de trabajo, empleando diluyentes tales como agua destilada, agua potable de abastecimiento, agua de 300 ppm de dureza, tanto en ausencia como en presencia de materia orgánica interferente como albúmina de huevo y suero humano. Estas son situaciones muy frecuentes en los ambientes hospitalarios de la Provincia de Buenos Aires<sup>9</sup>, creando así un ambiente adverso para el proceso de desinfección, y contribuyendo a la racionalización del uso de estos compuestos químicos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Los desinfectantes ensayados fueron solución de iodopovidona al 10% (Pervinox), tintura de yodo débil (FA VI), e hipoclorito de sodio comercial (55g/l, Ayudín), a los cuales se les determinó la concentración de principio activo de acuerdo a la metodología indicada en USP XXIII<sup>10</sup>.

Como microorganismos de ensayo se utilizaron las cepas de colección: *Staphylococcus au-*

reus ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Además, se estudiaron 32 aislamientos hospitalarios provenientes de diferentes muestras clínicas y de diversas especies que comprenden géneros tanto gram negativos como positivos, que se detallan en la Tabla 1.

Microorganismos	Nº de aislamientos ensayados
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1
<i>Serratia</i> spp	2
<i>Klebsiella</i> spp	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1
<i>Morganella morganii</i>	1
<i>Proteus penneri</i>	1
<i>Proteus mirabilis</i>	3
<i>Acinetobacter</i> spp	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	3

**Tabla 1.** Microorganismos de colección y aislamientos hospitalarios ensayados.

El poder bactericida de los biocidas halogenados se determinó mediante la metodología desarrollada por Kelsey-Sykes, específica para el análisis de desinfectantes y antisépticos empleados en ambientes hospitalarios <sup>11</sup>. La misma se realizó con microorganismos obtenidos de un cultivo "overnight" a 35-37 °C en agar tripteína soja (Merck, Argentina), los que posteriormente fueron suspendidos en solución fisiológica (8,5 g/L, ClNa FA VI) hasta obtener una concentración de  $2,7 \times 10^8$  ufc/ml. Para cada condición, las concentraciones del desinfectante ó antiséptico evaluadas fueron inoculadas por tres veces con 1 ml de la suspensión bacteriana a los 0, 10 y 20 min. Ocho min de contacto después de cada inoculación, se subcultivaron 5 gotas en cajas de Petri con agar tripteína soja y el neutralizante correspondiente, las que se incubaron por 48 h a 35-37 °C. Para la lectura de los resultados se consideró como concentración bactericida efec-

tiva aquella que después de la segunda inoculación no permitió el desarrollo de más de 5 ufc en el total de las 5 gotas sembradas.

A fin de inactivar la acción de los biocidas y así prevenir la bacteriostasis debida a la acción residual del agente en el medio, se empleó tiosulfato de sodio al 0,05% (Merck, Argentina) como neutralizante específico <sup>5</sup>.

La evaluación de los distintos germicidas se realizó considerando la influencia del medio en el cual se produjo la acción <sup>12</sup>, planteándose dos condiciones: ausencia de materia orgánica, es decir, condiciones limpias, empleando como diluyentes: agua destilada, agua corriente de abastecimiento público y agua de 300 ppm de dureza ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  al 10% y  $CaCl_2 \cdot 6H_2O$  al 10%) y presencia de materia orgánica: albúmina de huevo al 20% y 40% y suero humano al 20%, adicionada a la suspensión microbiana, como representante de condiciones sucias, en medio de dilución agua destilada para las albúminas y agua dura para suero. En todos los casos en que se empleó agua corriente, previamente se determinó la concentración de cloro residual mediante el método colorimétrico DPD <sup>13</sup>.

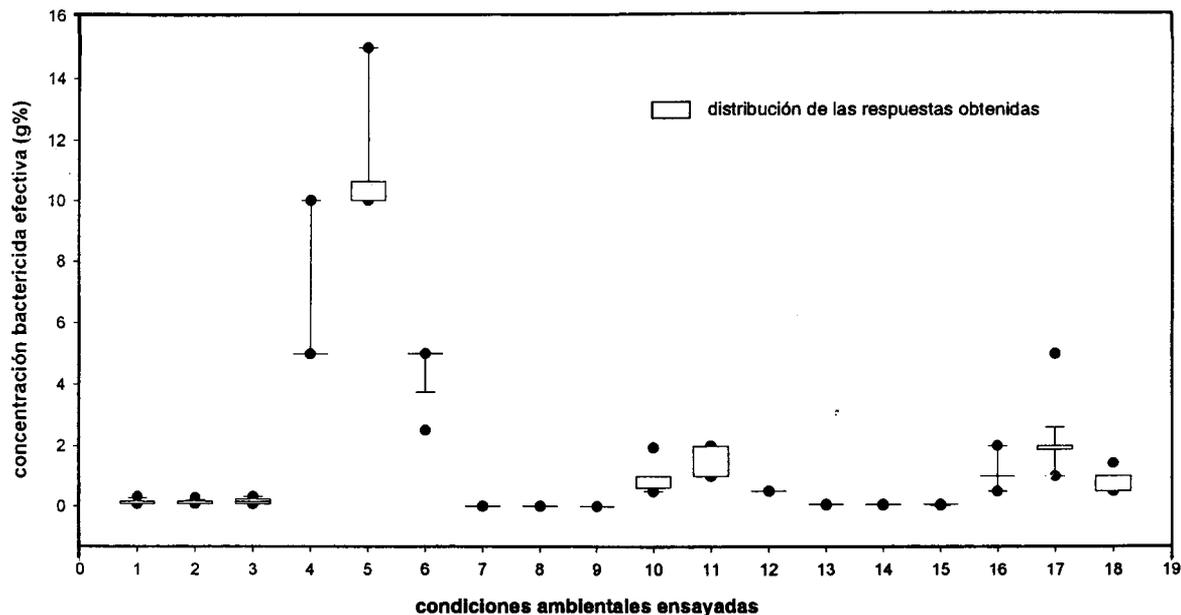
Los resultados obtenidos con las cepas de referencia y los aislamientos hospitalarios frente a cada desinfectante y cada situación ambiental fueron analizados estadísticamente por el test de Mann Whitney y Wilcoxon, mediante soporte informático GraphPAD InStat <sup>14</sup>.

## RESULTADOS

Los resultados obtenidos para los tres germicidas estudiados en las diferentes condiciones ambientales se muestran en la Figura 1.

En condiciones limpias, los distintos diluyentes no afectaron el comportamiento de los germicidas halogenados, a excepción del agua dura para la tintura de yodo ( $p = 0,0781$ ). Sin embargo, la materia orgánica disminuyó la actividad de estos compuestos de forma extremadamente significativa ( $p < 0,0001$ ). Al comparar la eficacia bactericida de los tres germicidas en albúmina al 20% y en suero al 20%, el hipoclorito de sodio fue el que presentó mayor diferencia en su actividad ( $p < 0,0001$ ). Asimismo, a mayor concentración de materia interferente, se observó un aumento significativo de las concentraciones efectivas para los tres desinfectantes ( $p = 0,0004$  para tintura de yodo,  $p < 0,0001$  para iodopovidona e hipoclorito de sodio).

Algunos aislamientos presentaron un especial comportamiento, ya sea por su resistencia o



1 a 6 = tintura de yodo débil; 7 a 12 = solución de hipoclorito de sodio; 13 a 18 = solución de iodopovidona,

1, 7, y 13 = medio de dilución agua destilada; 2, 8 y 14 = medio de dilución agua potable; 3, 9, y 15 = medio de dilución agua en 300 ppm de dureza, 4, 10, y 16 = presencia de albúmina de huevo 20%; 5, 11, y 17 = presencia de albúmina de huevo 40%; 6, 12, y 18 = presencia de suero humano 20%.

**Figura 1.** Actividad antimicrobiana de germicidas halogenados en diferentes condiciones ambientales.

sensibilidad, con respecto al resto de los microorganismos.

Con tintura de yodo, en condiciones limpias, no hubo diferencias significativas de comportamiento entre los distintos géneros de microorganismos, como tampoco la hubo de acuerdo a su procedencia, ni entre éstos y las cepas de colección. Sin embargo, dos aislamientos correspondientes al género *Pseudomonas* y uno perteneciente a *Morganella* evidenciaron ser resistentes ( $p = 0,0008$  para el primero y  $p = 0,0003$  en el caso de los otros dos).

En presencia de albúmina hubo una pequeña diferencia entre los aislamientos hospitalarios del género *Pseudomonas* y la cepa de colección del mismo género ( $p = 0,0625$ ). Cuando la concentración de albúmina ascendió al 40% también se observó una mayor resistencia de estos mismos microorganismos con respecto a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ( $p = 0,0313$ ). En esta condición, un aislamiento perteneciente a una cepa de *Klebsiella*, mostró una respuesta marcadamente resistente independientemente de la concentración de materia interferente ( $p < 0,0001$ ).

Con iodopovidona los resultados fueron muy variables, ya que al estudiar el medio de dilución no se observó una influencia de éste sobre algún grupo microbiano, mientras que cuando se empleó agua destilada como diluyente, los

aislamientos gram positivos fueron más sensibles que los gram negativos ( $p = 0,0078$ ). Cabe destacar la sensibilidad de todos los aislamientos correspondientes a *Staphylococcus aureus*, como así también un aislamiento de *P. aeruginosa* que tuvo el mismo comportamiento ( $p < 0,0001$ ).

En presencia de materia orgánica no se observó diferencia entre las respuestas de los aislamientos clínicos entre sí, a excepción de las cepas de *P. aeruginosa* que evidenciaron su resistencia comparadas con las enterobacterias y *S. aureus* en presencia de suero al 20% ( $p = 0,0313$ ). Cuando se compararon los valores correspondientes a los microorganismos hospitalarios y los obtenidos para las cepas de colección, se observó que en presencia de albúmina al 40% las enterobacterias hospitalarias fueron más resistentes que *S. aureus* ATCC 6538 ( $p < 0,0001$ ) y más sensibles que *E. coli* ATCC 25922 ( $p = 0,0005$ ), mientras que el género *Pseudomonas* fue más resistente que las cepas de colección de *P. aeruginosa* y *S. aureus* ( $p = 0,0078$ ). Esta misma situación se dio también en presencia de suero al 20% ( $p = 0,0156$ ). Por otra parte, bajo condiciones sucias, este biocida permitió observar una gran diversidad de comportamiento, encontrándose varios microorganismos tanto resistentes como sensibles.

Con el hipoclorito de sodio en condiciones

limpias y sucias no existieron diferencias entre los grupos de microorganismos provenientes de diferentes muestras clínicas, independientemente de los diluyentes empleados y de la naturaleza y concentración de la materia interferente.

La evaluación de la respuesta de los diferentes géneros en comparación con las correspondientes cepas de colección mostró que, en condiciones limpias, los aislamientos de *P. aeruginosa* fueron más resistentes que *S. aureus* ATCC 6538 en agua destilada ( $p = 0,0156$ ), en agua de abastecimiento ( $p = 0,078$ ) y en agua dura ( $p = 0,00313$ ). Lo mismo sucedió con las enterobacterias en agua destilada y potable ( $p < 0,0001$ ) y en agua dura ( $p = 0,0005$ ).

En presencia de albúmina al 40% las *Pseudomonas* y las enterobacterias manifestaron su resistencia en comparación con las tres cepas de colección ( $p = 0,0039$ ). Cuando la concentración de albúmina fue del 20%, solamente se diferenciaron en su comportamiento los aislados de *Pseudomonas* ( $p = 0,0156$ ) y enterobacterias ( $p = 0,0020$ ) con respecto a *S. aureus* ATCC 6538. Las enterobacterias también mostraron mayor resistencia al hipoclorito que la *E. coli* de colección ( $p = 0,0020$ ). Con suero al 20% no se observaron variaciones en la respuesta al germicida de los distintos grupos de microorganismos hospitalarios entre sí, ni entre éstos y las correspondientes cepas de colección ensayadas.

Al igual que con iodopovidona, la actividad del hipoclorito de sodio mostró una gran variación en el comportamiento de las distintas cepas microbianas.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En condiciones limpias, los tres germicidas halogenados tuvieron buena actividad aún por debajo de sus concentraciones habituales de uso. Esta situación no se modificó por variaciones en el diluyente, a excepción de un leve efecto del agua dura sobre la tintura de yodo.

Nuestros resultados mostraron concentraciones bactericidas efectivas de 0,0625 g% para iodopovidona. Según German<sup>15</sup>, este biocida al 10% posee efecto bactericida en una dilución del 1% del producto en 1 min sobre microorganismos tales como *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli*. Recientemente, iodóforos de menor concentración (0,05 g%) han demostrado tener una buena actividad antimicrobiana, probablemente porque la cantidad de yodo libre aumenta, hasta cierto punto, a medida que se diluye la solución<sup>16,17</sup>.

La concentración de cationes presentes en el medio de dilución no afectó la actividad de la iodopovidona, así como tampoco el cloro residual presente en el agua de abastecimiento.

La tintura de yodo resultó tener una gran actividad y, a la vez, una gran rapidez de acción frente a todos los microorganismos, en coincidencia con lo encontrado por Dulong *et al.*<sup>18</sup>. Esto explicaría nuestros resultados, ya que las concentraciones de uso efectivas determinadas (0,32 g%) contienen un porcentaje mayor de yodo disponible que las de iodopovidona<sup>19</sup>.

En el caso del hipoclorito de sodio, el uso de agua de abastecimiento y agua dura como diluyentes presentaron valores muy variables, probablemente debido a los cambios de pH y a la influencia de este factor sobre las soluciones de hipoclorito, ya que la formación del ácido hipocloroso, de mayor actividad antibacteriana, se produce a pH 5, siendo en cambio estables a pH entre 7 y 9, y aumentando considerablemente la velocidad de degradación a valores más bajos (pH 6). Por otra parte, los iones  $Ca^{++}$  y  $Mg^{++}$  no exhibieron ningún efecto sobre la actividad del hipoclorito de sodio, en concordancia con resultados previos de nuestro grupo de investigación<sup>20</sup>.

Con la presencia de materia orgánica la actividad germicida disminuyó en todos los casos, en relación directamente proporcional a la concentración, debido a la naturaleza predominantemente oxidante de estos compuestos, tal como fuera encontrado por nosotros para los iodóforos<sup>21</sup>. Cabe destacar que fueron más eficaces en presencia de suero al 20% que con albúmina al 20%, efecto que se observa mejor en hipoclorito de sodio, ya que es el más afectado por la variación del pH, mientras que la suspensión de suero se comportaría como un buffer, razón por la que se generaría una mayor concentración de principio activo<sup>22,23</sup>.

El análisis del comportamiento individual de los distintos aislamientos clínicos mostró en varias ocasiones que los de *Pseudomonas aeruginosa* fueron extremadamente resistentes, datos coincidentes con los obtenidos por Santini *et al.*<sup>24</sup>, quienes encontraron aislados de *S. aureus*, *Salmonella enteritidis*, *E. coli*, *Providencia rettgeri* y *Candida albicans* más sensibles que *Pseudomonas* a la tintura de yodo.

De acuerdo a nuestros resultados, las especies de *Serratia* y *Proteus* fueron las más sensibles, entre las enterobacterias estudiadas, mientras que los géneros *Klebsiella* y *Pseudomonas* fueron los más resistentes. Los microorganismos

correspondientes a *Klebsiella* son saprófitos respiratorios, que desarrollan en soluciones y equipos de respiración asistida, siendo el hombre portador intestinal en alrededor del 5% de los casos. El género *Pseudomonas* está ampliamente distribuido también y *P. aeruginosa* ha sido aislada de soluciones antisépticas, colirios y utensilios de uso diario en el establecimiento asistencial. El 10% de la población hospitalaria son portadores intestinales<sup>25</sup>. Se han localizado genes plasmídicos asociados con la multiresistencia a antisépticos y desinfectantes en bacterias gramnegativas<sup>26,27</sup>, así como también se conoce que *Burkholderia cepacia* conserva su resistencia a biocidas halógenos en medios mínimos, que simularían condiciones ambientales adversas<sup>28</sup>, lo que resalta la capacidad de dichos microorganismos para adaptarse a distintas situaciones ambientales. Sin embargo, cuando Kunisada *et al.*<sup>29</sup> estudiaron la resistencia de aislamientos clínicos, encontraron que las cepas que adquirían resistencia a un antiséptico mostraban resistencia cruzada para todos los antisépticos excepto para iodopovidona, lo cual concuerda con datos obtenidos por Lanker Klossner *et al.*<sup>30</sup>, quienes demostraron que el uso continuo de iodopovidona no producía resistencia bacteriana en pacientes dializados, confirmando la utilidad clínica de este antiséptico.

Por otra parte, *Acinetobacter* spp es un microorganismo que causa cada vez con mayor frecuencia infecciones hospitalarias, cuya resistencia a antibióticos es amplia, y en este trabajo se demuestra una resistencia significativa a los biocidas estudiados, bajo algunos de los factores interferentes ensayados.

Asimismo los aislamientos de *Staphylococcus aureus* a veces evidenciaron valores de concentraciones bactericidas tan altos como los de *Pseudomonas aeruginosa*, resultado que debería tenerse en cuenta, ya que generalmente se considera que son gérmenes más sensibles a la desinfección que los gram negativos.

La respuesta de los distintos grupos de microorganismos hospitalarios no permitió observar, en general, diferencias significativas, como así tampoco entre los gram positivos y gram negativos. Sin embargo, la evaluación de los aislamientos hospitalarios con respecto a las cepas de colección puso en evidencia que los primeros fueron más resistentes a la acción desinfectante.

La notable resistencia de los aislamientos ensayados con respecto a los microorganismos de colección, y en particular en comparación con *S. aureus* ATCC 6538, cepa recomendada para evaluar la eficacia de desinfectantes y antisépticos, indica que existiría una fuerte presión de selección ejercida por los distintos agentes antimicrobianos. Debido a esto, el uso de esta cepa de *S. aureus* como único microorganismo control para evaluar la efectividad de desinfectantes hospitalarios debe ser cuidadosamente interpretado.

Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten aseverar que los biocidas ya no son un "veneno protoplasmático general" y que los microorganismos muestran diferentes grados de resistencia<sup>31</sup>, lo que nos debe impulsar a validar, en forma permanente y mediante metodologías como la que se empleó en este trabajo, el comportamiento de los agentes químicos a fin de prevenir y controlar la infección hospitalaria.

**Agradecimientos.** Nuestro agradecimiento a la Dra. Carmen Lopreto y el Bioquímico José Alberto Viegas Caetano del Hospital Interzonal General de Agudos General San Martín de La Plata por la contribución con los aislamientos hospitalarios; a las Farmacéuticas María Paula De Berti y Verónica Alessi y al Bioquímico Pedro Brignoles por su valioso aporte técnico a la realización de este estudio. El presente trabajo se llevó a cabo parcialmente con los aportes de la Universidad Nacional de La Plata y del Colegio de Farmacéuticos de la Provincia de Buenos Aires.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hernández Esquivel, L. & J. Silva Montaña (1995) "El proceso de prevención de la infección hospitalaria", en "*Infecciones Hospitalarias*" (G. Malagón Londoño & L. Hernández Esquivel, eds), Editorial Médica Panamericana, Bogotá, D. C. - Colombia, cap. VII, págs. 90-120
2. de Andrade, D., E.L.S. Angerami & C.R. Padovani (2000) *Rev. Panam. Salud Pública* 7: 179-83
3. Pannuti, C.S. (1997) "A importância do meio ambiente hospitalar", en "*Infeções hospitalares - prevenção e controle*" (Rodrigues, E.A.C. *et al.*, eds.), Sarvier, São Paulo, págs. 449-54

4. Baigorri, A., J. Hofman, M.T. Melendi & M. Mori (1990) *Acta Farm. Bonaerense* **9**: 193-5
5. D'Aquino, M. & R. Rezk (1995) "Desinfección". 1ª Edición. Editorial EUDEBA, Argentina, cap. 9 y 10
6. Magariños, M.C. (1996) "Esterilización y Desinfección", en "Microbiología Biomédica" (J.A. Basualdo, C.E. Coto, R. De Torres, eds.). 1ª Edición. Ed. Atlante, Buenos Aires, Argentina, págs. 151-71
7. Agolini, G. (1990) *Boll. Chim. Farmaceutico* **129**: 67-75
8. Mc Donnell, G & D. Russell (1999) *Clin. Microbiol. Rev.* **12**: 147-79
9. D'Aquino, M. & S.A. Teves (1994) *Bol. Oficina Sanit. Panam.* **117**: 289-94
10. The United States Pharmacopeia XXIII Ed. (1995) The United States Pharmacopeia Convention Inc., USA, pág. 1269
11. Kelsey, S.C. & G. Sykes (1969) *Pharm. J.* **202**: 607-9
12. Chevalier, J. & A. Crémiex (1992) *J. Appl. Bacteriol.* **73**: 342-8
13. Eaton, A.D., L.S. Clesceri & A.E. Greenberg (eds) (1995) "Standard methods for the examination of water and waste water". 19th edition. American Public Health Association, Washington, D.C., págs. 4.36-46
14. GraphPAD InStat. (1990) *Software*. Versión 1.13
15. German, A (1973) *Agressologie* **14**: 39-47
16. Larson, E. (1988) *Am. J. Infect. Control* **16**: 253-6
17. Garland, J. S., R.K. Buck, P. Maloney, D.M. Durkin, S. Toth Lloyd, M. Duffy, P. Szocik, T.L. Mc Auliffe, & D. Goldman (1995) *Pediatr. Infect. Dis. J.* **14**: 510-6
18. Dulong, D., C. Rosnay & J.B. Fourtillan (1978) "Antiseptiques & Antisepsie". Documentation Sarget. Bordeaux, págs. 8-9
19. Gottardi, W (1995) *J. Hosp. Infect.* **29**: 9-18
20. Reynaldo, MB, M.B. Flores, A.Y. Infanti, J. A. Viegas Caetano, S.M. Castelo, E. Benitez, M.C. Magariños & M. D'Aquino. (2000) *Acta Bioq. Clin. Latinoam.* **34**: 463-70
21. Penacca, AC, MC Magariños, M.G. Guillén, M.N. Cozzarín, L.C. Albina & A.M. Martínez (1999) *Acta Farm. Bonaerense* **18**: 183-9
22. Gutierrez, C.B., J.Y.R. Barbosa, J. Suarez, O.R. González, R.Y. Tascon & E.F.R. Ferri (1995) *Am. J. Vet. Res.* **56**: 1025-9
23. Vera, A., G. Volkovsky & Y. Sanchez (1992) *Rev. Cubana Cienc. Vet.* **23**: 59-60
24. Santini G. F., M. Crovatto, P. De Paoli, A. Borsatti, M. Battistin, A. Cammarota & G.C. Manicardi (1982) *Boll. Chim. Farm.* **121**: 190-211
25. Cechini, E. & S. González Ayala (1996) "Infección hospitalaria", en "Microbiología Biomédica" (J.A. Basualdo, C.E. Coto, R. De Torres, eds.). 1ª Edición. Ed. Atlante, Buenos Aires, Argentina, págs. 861-4
26. Paulsen, I.T., T.G. Littlejohn, P. Radstrom, L. Sundstrom, O. Skold, G. Swedberg, & R.A. Skurray (1993) *Antimicrob. Agents Chemother.* **34**: 761-8
27. Weir, S.C., H. Lee & J.T. Trevors (1994) *Microb. Releases* **2**: 239-45
28. Pyle, B.H., S.K. Watters & G.A. McFeters (1994) *J. Appl. Bacteriol.* **76**: 142-8
29. Kunisada, T., K. Yamada, S. Oda & O. Hara (1997) *Dermatology* **195**(S2): 14-8
30. Lanker Klossner, B., H.R. Widmer & F. Frey (1997) *Dermatology* **195**(S2): 10-3
31. Block, S.S (editor) (1991) "Disinfection, Sterilization and Preservation". 4th edition. Lea & Febiger, Philadelphia, PA, págs. 1-50