



1. INTRODUCCIÓN.

SOBRE TRAZA

TRAZA está integrado por un equipo multidisciplinar con más de quince diez años de experiencia como **asesores y auditores** de empresas que requieren la implantación y seguimiento de sistemas de control para garantizar sus objetivos de seguridad alimentaria y salud pública.

TRAZA es una Empresa **especializada** para la impartición de Programas de Formación en materia de Higiene, Calidad y salud pública.

TRAZA dispone de certificación según normas Internacionales **ISO 9001:2015** con alcance para Consultoría y Auditoría de Sistemas de Calidad, Seguridad alimentaria, Estudios nutricionales y Sanidad ambiental, así como gestión e impartición de cursos de formación a empresas del sector alimentario.

TRAZA dispone del correspondiente **laboratorio** de productos alimenticios según el Reglamento (UE) 2017/625 del parlamento europeo y del Consejo relativo a los controles y otras actividades oficiales realizados para garantizar la aplicación de la legislación sobre alimentos y piensos, y de las normas sobre salud y bienestar de los animales, sanidad vegetal y productos fitosanitarios

TRAZA dispone de **número de registro A/045 como Laboratorio autorizado de Salud Pública y Agroalimentario** de la Región de Murcia. Asimismo, posee sendos registros para Comunidad de Madrid.

En TRAZA el tratamiento de la **confidencialidad de los datos** y los resultados obtenidos es fundamental, de forma que sólo el cliente y los auditores tienen conocimiento de todo lo que está relacionado con su empresa, incluso cuando sea necesario el control analítico, el personal de laboratorio desconoce el nombre de la empresa de procedencia de los productos ya que todas las muestras entran al mismo codificadas.

TRAZA pone a disposición del cliente los **canales de comunicación** y los soportes necesarios para informar a nuestra organización de posibles **quejas y/o reclamaciones**.

SOBRE CELTECNIA, S.L

Celtecnia S.L (en adelante CELTECNIA) es una empresa con más de 20 años de experiencia en el sector de tratamientos superficiales mediante radiación UVC/Ozono para la industria del calzado, que ha decidido ampliar su espectro de acción hacia el campo de la desinfección de superficies.

La dilatada experiencia en el campo de la aplicación de radiación UVC a superficies con diferentes formas y tamaños ha proporcionado a CELTECNIA las herramientas necesarias para aplicar radiación germicida, tanto a equipos como a estancias, siempre teniendo en cuenta las dosis de radiación germicida necesaria para la inactivación de los diferentes patógenos.

Los equipos se diseñan teniendo como principal parámetro la optimización de la cantidad de radiación recibida en las superficies, asegurando una dosis lo más uniforme posible, y con ello una correcta inactivación.

La inactivación de microorganismos mediante radiación germicida UVC se basa en la dimerización de las bases (hidratación) nitrogenadas de los ácidos nucleicos, siendo el dímero timina-timina el de mayor rendimiento cuántico. La formación de estos "puentes" entre bases adyacentes daña la estructura de los ácidos nucleicos, impidiendo la replicación de los mismos, y por tanto la reproducción del microorganismo.

Entre las principales ventajas de la desinfección mediante radiación germicida UVC aportadas por CELTECNIA destaca que, al tratarse de un proceso físico, no implica el uso de ningún compuesto químico desinfectante, siendo nula la toxicidad, y no dejando ningún tipo de residuo en las superficies tras el tratamiento.

Actualmente, CELTECNIA comercializa 2 líneas principales de producto para desinfección mediante radiación germicida UVC:

- Túneles de desinfección 3D en continuo para EPI's (mascarillas, pantallas, calzado...)
- Torres de desinfección UVC para estancias (clínicas, salas de espera, geriatría, peluquería/cosmética...)

Tal y como se ha mencionado anteriormente, CELTECNIA ha desarrollado su actividad empresarial vinculado al sector del calzado, por lo que ha aprovechado las sinergias existentes para la fabricación y puesta en el mercado de una maquinaria específicamente diseñada para la desinfección del calzado en personal sanitario.

2. ANTECEDENTES

Las infecciones asociadas a cuidados sanitarios (IACS) son aquellas que se adquieren o desarrollan como consecuencia de la atención sanitaria.

Clásicamente se ha denominado infección nosocomial o infección intrahospitalaria (IN). La hospitalización, por tanto, implica un riesgo de adquirir una infección nosocomial (IN).

Hoy en día sigue siendo la complicación más frecuente en pacientes hospitalizados. Entre un 6-8% de todos los pacientes ingresados en los hospitales desarrollarán una o más infecciones como consecuencia de su ingreso o de los distintos procedimientos diagnósticos-terapéuticos recibidos.

En España los datos del Proyecto EPINE (Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España), que consiste en una encuesta de prevalencia anual en la mayoría de los hospitales de agudos del país, confirman estas estimaciones, situándose la prevalencia de infección nosocomial en torno al 6-8% los últimos 4 años. Estas cifras varían en función del tipo de hospital, siendo más elevadas en los hospitales de tercer nivel o universitarios (de más de 500 camas) debido a la mayor gravedad de la enfermedad de base de los pacientes ingresados y a la mayor complejidad de las técnicas diagnósticas y terapéuticas utilizadas.

Las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), con prevalencias entre el 30 y el 40%, son las áreas con mayores tasas de infección, mientras que las más bajas se producen en las áreas de pediatría y ginecología-obstetricia, si bien este tipo de infecciones afecta todos los niveles

Una de las funciones básicas de cualquier comité de control de infecciones nosocomiales (CCIN) es establecer un óptimo sistema de vigilancia para determinar la incidencia y las características generales de las IN, así como para definir las medidas de control necesarias y difundir esa información relacionada con el tema.

Los microorganismos aislados según el tipo de infección (nosocomial o comunitaria) y la frecuencia relativa en las infecciones nosocomiales (%) pone de manifiesto que microorganismos como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (entre otros), pueden ser representativos a la hora de realizar el presente estudio.

Teniendo en cuenta que uno de los mecanismos de propagación de microorganismos se produce a través de superficies contaminadas en centros hospitalarios, CELTECNIA plantea la posibilidad de poner en marcha análisis microbiológicos de tubos de ensayo inoculados en diferentes condiciones y obtener así resultados iniciales que permitan valorar la viabilidad de la puesta en el mercado de la maquinaria mencionada anteriormente.

3. PERSONAL PARTICIPANTE

La prestación del servicio por parte de TRAZA ha sido dirigida y coordinada por D. Vicente de Pablos Vicente, actuando como persona de enlace entre TRAZA y CELTECNIA y recibiendo todas las comunicaciones relativas a la prestación del servicio.

El personal técnico que ha colaborado en el presente estudio ha sido

Rafael Jiménez Nicolás (RJN)

- Licenciado en Biología por la Universidad de Murcia.
- Doctor por la UMU.

Isabel Guirao Guillén (IGG)

- Licenciada en Biología por la Universidad de Murcia.

Vicente de Pablos Vicente (VDPV)

- Licenciado en Veterinaria por la Universidad de Murcia.
- Licenciado en Ciencia y Tecnología de los alimentos
- Doctor por la UMU.

Por su parte, CELTECNIA designó a D. Víctor Martínez Carretero como enlace a efectos de comunicación y gestión del estudio.

4. MEDIOS MATERIALES EMPLEADOS

A continuación, se describen los elementos principales empleados para el desarrollo de los diferentes análisis microbiológicos

Equipos

- Cabina de flujo laminar
- Autoclave automático
- Micropipetas (100-100µL)
- Baño termostatzado digital (100°C)
- Incubador de aire forzado (30°C)
- Incubador de aire forzado (37°C)
- Agitador con calefacción
- Agitador de tubos vortex
- Tubos, matraces, frascos ISO
- Placas Petri estériles

Reactivos

- Agua de peptona tamponada
- Medio deshidratado PCA (Plate Count Agar)
- Medio deshidratado Rapid´E.coli 2 Agar
- Placas Baird Parker (90mm) listas para su uso
- Cepas de microorganismos procedentes de CECT (Colección Española de Cultivos Tipo)

5. OBJETO Y ALCANCE

El objeto de la oferta de prestación de servicios 1706.0 realizada a CELTECNIA fue definir los servicios de control analítico a realizar en tubos incubados con diferentes microorganismos y que se someterían a tratamiento con maquinaria desarrollada por CELTECNIA con el fin de verificar la eficacia del tratamiento, en diferentes condiciones.

Una vez realizados los análisis microbiológicos, TRAZA emitiría informe correspondiente y las conclusiones y valoraciones de los resultados de los análisis, siendo el resultado final el presente documento.

Se hace constar que, en ningún momento del estudio, personal de TRAZA ha estado presente en el tratamiento de los tubos con ultravioleta y ozono.

El Alcance del presente informe incluye únicamente los ensayos y actividades que se adjuntan como anexo I al presente documento (boletines 20200534925-29). Los resultados del informe sólo dan fe de las muestras analizadas. Asimismo, se informa que queda prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin autorización previa del laboratorio. El laboratorio no es responsable de la información aportada por el cliente. Las muestras utilizadas no han sido conservadas.

En el siguiente informe se muestran los resultados analíticos obtenidos utilizando $n=1$ por tratamiento, por lo que no se incluye ningún estudio estadístico. El diseño experimental de los tratamientos fue aportado por CELTECNIA.

6. ANÁLISIS REALIZADOS

TRAZA inoculó tubos de diluyente (Agua de peptona tamponada) con distintos microorganismos representativos de cuatro familias distintas en una concentración determinada y conocida. Los microorganismos utilizados (cepas) provienen de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT).

Las familias de microorganismos fueron:

- Enterobacterias. *Escherichia coli* (CECT 516) en concreto el microorganismo utilizado para representar esta familia.
- Estafilococos coagulasa positivos. *Staphylococcus aureus* (CECT 435), microorganismo utilizado para representar a esta familia.
- Microorganismos a 30°C (aerobios). *Bacillus subtilis* (CECT 356) es el microorganismo utilizado como representativo de esta familia.
- Coliformes totales. El microorganismo característico de esta familia utilizado es *Citrobacter freundii* (CECT 7400)

El trabajo llevado a cabo en el laboratorio se realizó en tres etapas:

Etapas 1: Activación de cada una de las cepas de los microorganismos utilizados. Dicha activación consiste en proporcionar las condiciones óptimas de crecimiento de cada uno de los microorganismos, condiciones de tiempo y temperatura además del diluyente (agua de peptona tamponada).

Etapas 2: Inoculación de los tubos que contienen 9mL de diluyente con los microorganismos en cuestión, a una concentración conocida.

Para cada uno de los microorganismos se prepararon 5 tubos, de los cuales, cuatro fueron sometidos a los 4 tratamientos desarrollados por CELTECNIA. El quinto tubo no se sometió a ningún tratamiento con el fin de comparar los posibles efectos de los tratamientos a estudiar. La concentración teórica de los distintos microorganismos en cada uno de los tubos fue de:

- *Escherichia coli*: 1E5 ufc/mL; 5,(log)
- *Staphylococcus aureus*: 1E5 ufc/mL; 5(log)
- *Bacillus subtilis*: 1E4 ufc/mL; 4(log)
- *Citrobacter freundii*: 1E9 ufc/mL; 9(log)

Una vez inoculados los cuatro tubos con los cuatro microorganismos, se transportaron a las instalaciones de CELTECNIA por personal cualificado de TRAZA, con el fin de someterlos a los distintos tratamientos. El transporte se realizó en condiciones de refrigeración.

Los tratamientos a los que fueron sometidos cada uno de los tubos, según información aportada por CELTECNIA fueron:

- Tratamiento 1: Distancia: 160 mm. Tiempo 1 minuto. Dosis A mJ/cm²
- Tratamiento 2: Distancia: 160 mm. Tiempo 3 minutos. Dosis B mJ/cm²
- Tratamiento 3: Distancia: 900 mm. Tiempo 6 minutos. Dosis: C mJ/cm²
- Tratamiento 4: Distancia: 900 mm. Tiempo 15 minutos: Dosis: D mJ/cm²

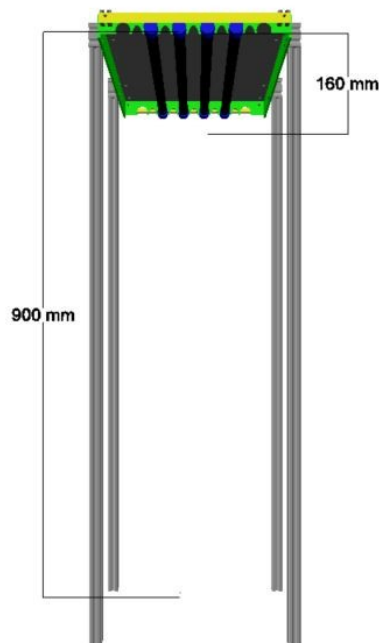


Imagen de prototipo aportada por CELTECNIA

Etapa 3: Los tubos tratados fueron entregados por personal de CELTECNIA al laboratorio de TRAZA para ser inmediatamente procesados y determinar así la concentración de cada microorganismo.

7. RESULTADOS

El resumen de los resultados obtenidos se reflejan en la siguiente tabla:

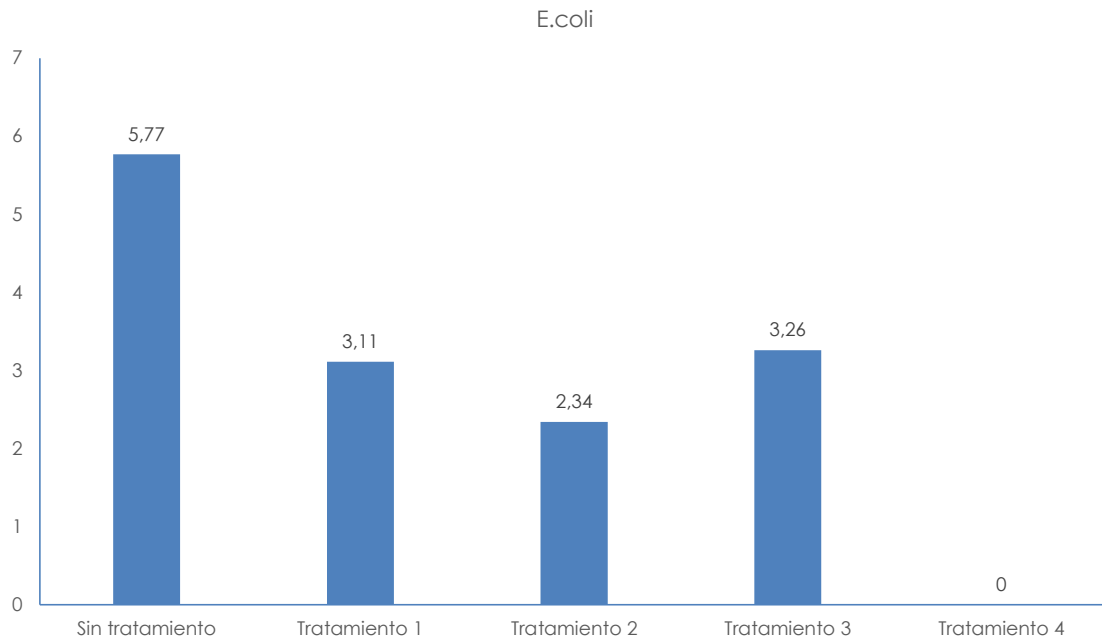
Microorganismo en tubos	Sin tratamiento	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3	Tratamiento 4
Enterobacterias (<i>Escherichia coli</i>)	5,9E5 ufc/mL 5,77(log)	1,3E3 ufc/mL 3,11(log)	2,2E2 ufc/mL 2,34(log)	1,8E3 ufc/mL 3,26(log)	<40 ufc/mL
Estafilococos coagulasa positivos (<i>Staphylococcus aureus</i>)	7,6E5 ufc/mL 5,88(log)	1,6E4 ufc/mL 4,20(log)	7,5E3 ufc/mL 3,88(log)	6,3E3 ufc/mL 3,80(log)	4,2E3 ufc/mL 3,62(log)
Aerobios (<i>Bacillus subtilis</i>)	8,5E4 ufc/mL 4,92(log)	5,8E3 ufc/mL 3,76(log)	7,8E2 ufc/mL 2,89(log)	5,1E3 ufc/mL 3,70(log)	<10 ufc/mL
Coliformes (<i>Citrobacter freundii</i>)	1E9 ufc/mL 9(log)	7,6E5 ufc/mL 5,88(log)	1,1E6 ufc/mL 6,04(log)	8,6E6 ufc/mL 6,93(log)	3,2E6 ufc/mL 6,50(log)

Comparativamente, el tratamiento que ha provocado una disminución mayor ha sido el tratamiento 4, ya que con dicho tratamiento se consigue reducir 4 unidades logarítmicas para el caso de microorganismos aerobios, hasta 6 unidades logarítmicas para coliformes, 5 unidades logarítmicas para el caso de *E. coli* y 2 unidades logarítmicas para el caso de *S. aureus*. El tratamiento menos efectivo en todos los casos ha sido el número 1.

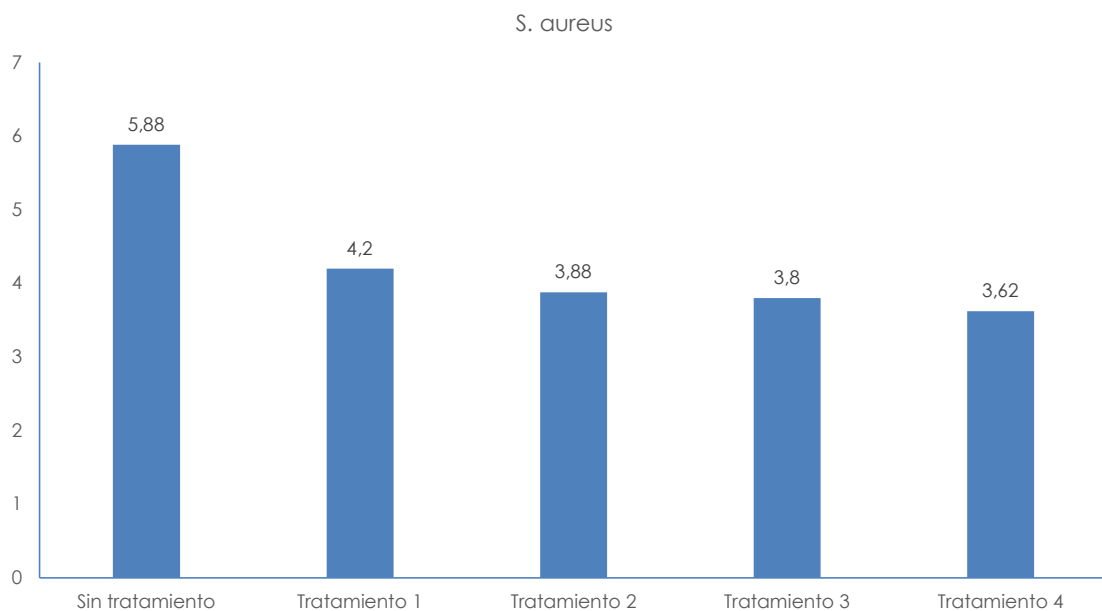
En el siguiente informe se muestran los resultados analíticos obtenidos utilizando n=1 por tratamiento, por lo que no se incluye ningún estudio estadístico. El diseño experimental de los tratamientos fue aportado por CELTECNIA.

A continuación, se representan para cada uno de los gérmenes analizados, las unidades logarítmicas en cada tratamiento utilizado.

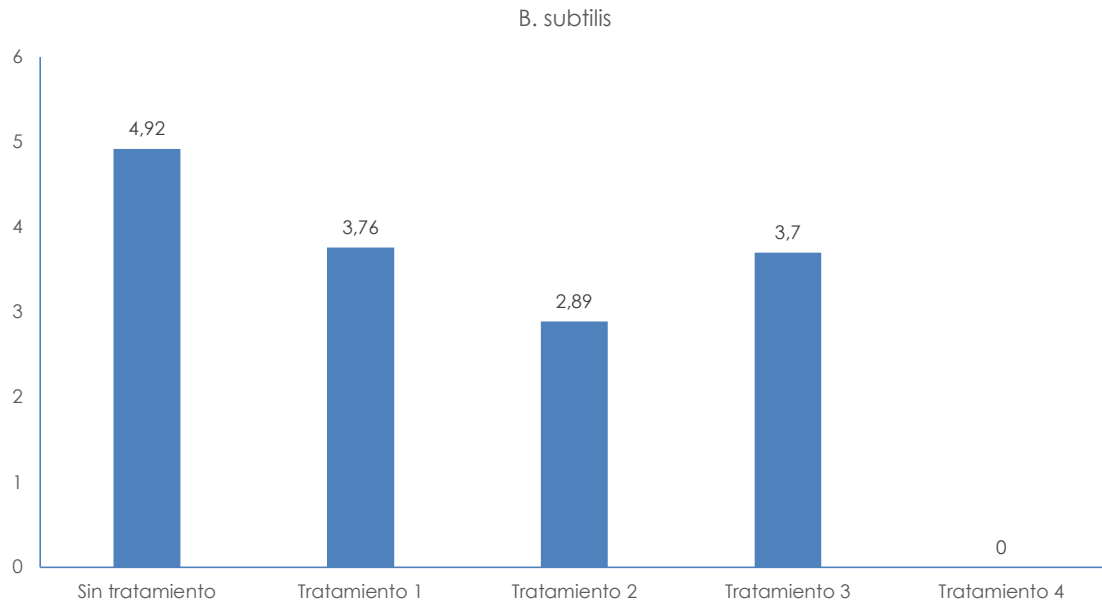
Representación gráfica 1. Efecto de los diferentes tratamientos sobre Enterobacterias (*Escherichia coli*) (expresado en unidades logarítmicas)



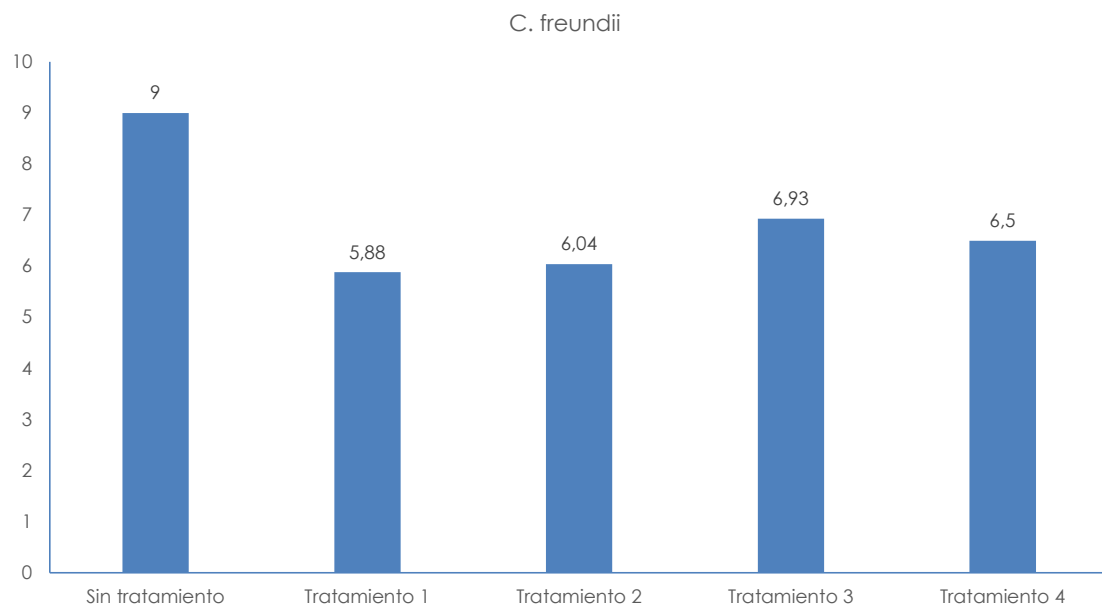
Representación gráfica 2. Efecto de los diferentes tratamientos sobre Estafilococos coagulasa positivos (*Staphylococcus aureus*) (expresado en unidades logarítmicas)



Representación gráfica 3. Efecto de los diferentes tratamientos sobre Aerobios (*Bacillus subtilis*) (expresado en unidades logarítmicas)



Representación gráfica 4. Efecto de los diferentes tratamientos sobre coliformes (*Citrobacter freundii*) (expresado en unidades logarítmicas)



8. CONCLUSIONES

Se observa una disminución en la población microbiana en todas las cepas y tratamientos realizados respecto al ensayo donde no se aplicó ningún tratamiento, pudiendo observar un efecto mayor en la cepa de *E. coli* sometida al tratamiento 4.

Se debe considerar que la radiación aplicada es absorbida parcialmente por el medio líquido del tubo, por lo que cabe esperar que una eventual aplicación directa en superficies contaminadas implicaría una mayor disminución de la población microbiana.

Podemos concluir que los tratamientos administrados parecen tener un efecto en la viabilidad de las cepas tratadas de *E.coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* y *Citrobacter freundii*, sirviendo como experimento inicial que puede dar base a siguientes estudios que confirmen y profundicen sobre los resultados obtenidos.

9. BIBLIOGRAFÍA

Infección asociada a cuidados sanitarios (infección nosocomial)

C. Fariñas-Álvarez, R. Teira-Cobob y P. Rodríguez-Cundína

Servicio de Medicina Preventiva, Calidad y Seguridad del Paciente y Servicio de Medicina Interna. Hospital Sierrallana. Torrelavega. Cantabria. España.

Medicine. 2010;10(49):3293-300

ESTUDIO EPINE-EPPS 2017 Según el protocolo "EPINE-Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in acute care hospitals, ECDC, 2016-2017" Estudio EPINE nº 28: 1990-2017. Informe global de España

Responsable del informe
Socio-director
TRAZA

Dr. Vicente de Pablos Vicente