



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS

“DISPOSITIVO PARA DISMINUIR LA
CONTAMINACIÓN EN CATÉTERES EMPLEADOS EN
DIÁLISIS PERITONEAL MEDIANTE EL EMPLEO DE
LUZ ULTRAVIOLETA SUBTIPO C”

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO
EN BIOINGENIERÍA MÉDICA

PRESENTA:

P.L. DE BIOI. MED. OSCAR ORTIZ VALLE

Directores de tesis

Dr. Rigoberto Martínez Méndez

Dra. en C. Araceli Consuelo Hinojosa Juárez

TOLUCA, MÉXICO, SEPTIEMBRE 2017

1. Tabla de contenido

Resumen	8
Abstract.....	10
Introducción.....	12
Planteamiento del problema	14
Justificación	16
Meta de Ingeniería	18
Objetivos.....	19
Estructura de la tesis	20
Capítulo 1. Marco teórico.....	22
1.1 Factores de riesgo que derivan en daño renal	22
1.2 Insuficiencia renal crónica	23
1.3 Diálisis peritoneal.	28
1.3.1 Técnica de diálisis peritoneal	29
1.4 Peritonitis	31
1.5 Luz ultravioleta germicida	34
1.5.1 Efectos secundarios de la radiación ultravioleta... ..	38
1.5.2 Interacción de la radiación UVC con el agua.	41
1.6 Criterios de Limpieza, desinfección y esterilización. ..	42
1.6.1 Limpieza	42

1.6.2.	Desinfección	43
1.6.3	Esterilización	44
1.7	Normas aplicables a dispositivos médicos.....	45
1.7.1	Normas Oficiales Mexicanas	45
1.7.2	Normas de seguridad eléctrica.....	46
Capítulo 2.	Estado del arte	50
2.1	Dispositivos desinfectantes no invasivos.....	51
2.2	Dispositivos que necesitan modificar el catéter.....	55
Capítulo 3	Desarrollo del sistema.....	58
3.1	Diseño del sistema	58
3.1.1	Fuente de luz UVC	58
3.1.2	Fuente de energía.....	61
3.2	Simulación del sistema electrónico.....	66
3.3	Programación de PIC	67
3.4	Implementación del dispositivo	68
3.5	Encapsulado del sistema	74
Capítulo 4	Pruebas y resultados.....	83
4.1	Diseño de pruebas de laboratorio.....	83
4.2	Material para la elaboración de las pruebas	88
4.2.1	Material para el sembrado de bacterias.	88

4.2.2	Material para la preparación del agar.	89
4.3	Pruebas de laboratorio.....	90
4.3.1	Pruebas de la metodología propuesta.	90
4.3.2	Validación de pruebas.	100
4.3.3	Pruebas con prototipo emisor de luz UVC.	109
	Conclusiones.....	122
	Bibliografía.....	126
	Apéndice 1. Registro de temperatura de los hornos para el crecimiento de las bacterias	134
A.	Hoja de registro de temperatura (60 °C ± 2)	134
B.	Hoja de registro de temperatura (35 °C ± 2)	135
	Apéndice 2. Planos.....	136
A.	Vista Frontal.....	136
B.	Vista inferior	136
C.	Vista frontal	137
D.	Vista inferior	137
E.	Parábola.....	138
F.	Tapa superior	138
G.	Tapa inferior.....	139
	Anexo 1. Certificado de indicadores.....	140

A.	Certificado de <i>Geobacillus stearothermophilus</i>	140
Anexo 2.	Tablas logarítmicas de eficiencia de los LEDs	143
A.	Eliminación de <i>S. aureus</i>	143
B.	Eliminación de <i>E. coli</i>	143

Resumen

Actualmente en México existe una tendencia al incremento de enfermedades renales derivadas de la diabetes mellitus y de la hipertensión, siendo la principal de ellas la insuficiencia renal crónica. Esta enfermedad consiste en la pérdida progresiva e irreversible de la función renal, debido a esto los pacientes con esta enfermedad deben de ser sometidos a tratamientos como la diálisis peritoneal y la hemodiálisis que les permiten eliminar las sustancias de desecho presentes en la sangre.

La diálisis peritoneal consiste básicamente en la colocación de un catéter en el área abdominal para llevar a cabo el proceso de filtrado por medio del peritoneo, la presencia permanente del catéter provoca la comunicación antinatural del medio ambiente con el medio interno del cuerpo, lo que favorece la presencia de infecciones. Debido a esto, la peritonitis es la principal complicación asociada a la diálisis peritoneal, esta patología llega a generar gastos por más de \$285,000.00 por cada paciente, esto sin contar con los problemas secundarios a los pacientes, que podrían degenerar en una muerte prematura.

En esta tesis se presenta un dispositivo que reduce la contaminación del catéter, mediante el empleo de luz ultravioleta germicida (UVC). Para el desarrollo de éste dispositivo se analizaron los factores involucrados en la aparición de peritonitis, así como los factores de riesgo asociados a el uso de luz ultravioleta subtipo C. El

prototipo consiste de un sistema electrónico portátil (123 mm de alto, 70 mm de ancho y 38 mm de grueso) el cual genera luz UVC por medio de LEDs y se aplican al catéter utilizando una fibra óptica rasgada para una mejor distribución de la luz a lo largo del catéter.

Se presentan evidencias de desinfección en catéteres empleando el dispositivo, por medio de pruebas de laboratorio in vitro. Para las pruebas se utilizaron cepas estandarizadas de *Staphylococcus aureus* y de *Geobacillus stearothermophilus*. Se encontró que el tiempo óptimo de exposición a la luz UVC por medio del dispositivo propuesto es de 50 minutos, ya que con este tiempo se logra un porcentaje de eliminación bacteriana del 99.99%. Este tiempo ha sido programado en el dispositivo para facilitar su uso.

Debido a que el prototipo sólo ha sido probado en laboratorio aún es necesario realizar más pruebas para determinar su eficiencia y sus posibles efectos secundarios en modelos animales antes de probarse en humanos.

Abstract

Currently in Mexico, there is a tendency to increase in renal diseases derived from diabetes mellitus and hypertension, the main one of them is the chronic renal failure. This disease consists on the progressive and irreversible loss of kidney function; due to this, renal failure patients must undergo treatments such as peritoneal dialysis and hemodialysis that help them to eliminate the waste substances present in the blood.

Peritoneal dialysis consists on placing a catheter in the abdominal area to carry out the filtration process through the peritoneum; the permanent presence of the catheter causes an unnatural communication of the environment with the internal environment of the body, which favors infections. For this reason, peritonitis is the main complication associated with peritoneal dialysis; it generates expenses greater than \$ 285,000.00 MXN each patient only due the treatment of infections, besides one should consider the collateral problems to patients, which could lead to early death.

This thesis presents a device that reduces contamination of the catheter by mean of the use of ultraviolet germicidal light (UVC). For the development of this device, it were analyzed several factors involved in the appearance of peritonitis, as well as the risk factors associated with the use of ultraviolet light subtype C. The prototype consists on a portable electronic system (123 mm high, 70 mm width and 38 mm thick), which generates UVC light using LEDs and is

applied to the catheter using a torn optical fiber for a better distribution of light along the catheter.

Evidence of disinfection in catheters is presented using this device, used during in-vitro laboratory tests. For the tests, standard strains of *Staphylococcus aureus* and *Geobacillus stearothermophilus* were used. It was found that the optimal exposure time to UVC light using the proposed device is 50 minutes, since this time achieve a percentage of bacterial elimination of 99.99%. The optimal time has been programmed into the device for ease of use.

Because the prototype has only been tested in laboratory environment, further testing is needed to determine its efficiency and possible side effects in animal models before being tested in humans.

Introducción

En México existen más de 150 mil personas con enfermedad renal crónica, patología que se encuentra en aumento debido a que en la mayoría de los casos está asociada a la obesidad [1]. Debido a que esta patología es irreversible y progresiva, el tratamiento se enfoca en sustituir la función renal para mantener a los pacientes con vida, ya sea mediante la diálisis peritoneal, la hemodiálisis y en el mejor de los casos un trasplante renal [2].

La diálisis peritoneal es el tratamiento más empleado debido al bajo costo y a la simplicidad que representa frente a las demás opciones. Éste consiste básicamente en utilizar el peritoneo como filtro para depurar líquidos, electrolitos y sustancias de desecho que, en condiciones normales, el riñón elimina [3]. Para realizar la depuración se hace circular una solución electrolítica con una concentración similar a la del plasma, además de glucosa u otro agente osmótico adecuado para realización de la diálisis, a través de un catéter colocado quirúrgicamente en la cavidad abdominal, cuando el líquido está en la cavidad peritoneal, se produce la diálisis: el exceso de líquidos y los productos de desecho pasan desde la sangre, a través de la membrana peritoneal, al fluido de diálisis, a este proceso se le llama "intercambio". Una vez ocurrido el intercambio el líquido es retirado de la cavidad abdominal y dependiendo de la modalidad en la que se encuentra el paciente es la frecuencia con la que se realiza este

procedimiento. En promedio los pacientes son sometidos a este tratamiento al menos una vez al día, los siete días de la semana [4].

Planteamiento del problema

Uno de los problemas asociados con el uso de esta técnica, es la frecuencia con la que se presentan las infecciones en el peritoneo (peritonitis), debido principalmente a la comunicación que existe entre el medio ambiente y el interior del cuerpo a causa de una vía no natural creada por la colocación del catéter [5]. Esta vía antinatural permite el paso de bacterias oportunistas (*Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Serratia marcescens* principalmente) que son las responsables de causar infecciones que ponen en riesgo la vida del paciente [6]. Se estima que un 60 % de las complicaciones relacionadas con las infecciones durante la diálisis peritoneal son causadas por la comunicación antinatural derivada de la implantación del catéter en el área abdominal [1].

El tratamiento de elección para prevenir las infecciones se basa en el uso de antibióticos. El inconveniente de emplear este tipo de tratamiento es que, después de un tiempo de utilizar tratamiento antibiótico se genera resistencia bacteriana. Esto implica que con el uso prolongado, la administración de antibióticos resulta ser ineficiente, causando que los pacientes reincidan en las infecciones [7]. Lo anterior, sin tomar en cuenta los posibles efectos secundarios derivados de la ingesta de antibióticos.

A causa de esto, han surgido algunas propuesta alternativas que buscan disminuir la posibilidad de infecciones utilizando sistemas tales

como: catéteres elaborados de materiales antibacteriales o sistemas para desinfectar los catéteres. Las desventajas de estos sistemas, y que posiblemente han frenado su uso, son el costo añadido, las necesidad de modificar los catéteres para emplear los sistemas de desinfección o la dificultad en el manejo de los sistemas empleados para desinfectar. En el capítulo 2 se presenta un análisis de estos sistemas alternativos.

Debido a esta problemática es que en esta tesis se presenta el prototipo de un dispositivo médico que elimina las desventajas de los sistemas existentes y que es capaz de reducir la cantidad de bacterias oportunistas, buscando con ello coadyuvar en la prevención de las infecciones que se presentan durante la diálisis.

Se propone el uso de la luz UVC, ya que en la literatura se encuentra documentado que la exposición de organismos bacterianos a la longitud de onda de este tipo de luz causa daño a su ADN impidiendo que este se replique y por lo tanto los microorganismos pierden sus propiedades infecciosas.

El prototipo planteado en esta tesis se ha diseñado con el objetivo de que cumpla con requerimientos tales como: tamaño reducido para hacerlo portable, posibilidad de uso en cualquier tipo de catéter existente en el mercado, garantía de la esterilidad a lo largo del catéter, costo accesible para los pacientes y uso sencillo.

Justificación

La creación de un dispositivo que evite la contaminación del catéter, para que este no se convierta en la vía para la aparición de peritonitis, permitirá reducir la frecuencia con la que se presentan las infecciones durante el tratamiento de diálisis peritoneal. Ésto traerá beneficios en diversos sectores. En el plano humanitario, permitirá mejorar (la ya de por sí reducida) calidad de vida de los pacientes, gracias a que una reducción de las infecciones también reducirá la frecuencia con la que el paciente necesita ser internado para atender este problema. Además, con el uso del dispositivo propuesto, se podrían reducir las muertes asociadas a complicaciones como la peritonitis.

En el ámbito médico, el uso del prototipo representaría reducir el número de personal sanitario (médico, enfermeras, etc.) que está dedicado a atender a los pacientes con episodios de peritonitis y permitiría redirigir los esfuerzos médicos en atender otro tipo de patologías, así como destinar la infraestructura que se requiere para atender esta patología hacia otro tipo de enfermedades.

En el plano económico, la reducción de infecciones significaría el ahorro de \$285,000 por paciente, estos costos están relacionados a los sueldos del personal sanitario, a la infraestructura necesaria para atender esta patología, estudios de laboratorio, tiempo de estancia hospitalaria y medicamentos. Estos costos, debido a la peritonitis, significan un duro golpe a la economía del paciente, así como para las

instituciones sanitarias gubernamentales por el alto número de pacientes y por la frecuencia que se presenta esta enfermedad [8].

Meta de Ingeniería

Diseñar y construir un dispositivo portátil para desinfectar catéteres utilizados en diálisis peritoneal mediante el empleo de luz ultravioleta subtipo C sin la necesidad de modificar el catéter y garantizando una desinfección del 99%.

Objetivos

Objetivo general

Diseñar un dispositivo médico que ayude a reducir el número de microorganismos que se presentan en los catéteres, ya sean de diálisis o hemodiálisis.

Objetivos específicos

- Realizar pruebas con luz UVC para determinar la capacidad germicida de este tipo de luz en bacterias oportunistas comúnmente causantes de infecciones en pacientes cateterizados.
- Diseñar y construir un dispositivo electrónico generador de luz UVC de tamaño y peso lo suficientemente reducido como para garantizar su portabilidad y con ello facilitar su uso.
- Realizar pruebas con el prototipo para determinar el tiempo óptimo de esterilización del catéter en pruebas de laboratorio.

Estructura de la tesis

Esta tesis consta de la presente introducción y cuatro capítulos. En el Capítulo 1 se presentan los conceptos básicos relacionados con la generación de esta propuesta, como son: detalles sobre las causas de la insuficiencia renal crónica, la técnica de diálisis peritoneal, qué es la peritonitis, características de la luz UVC y sus efectos en los organismos vivos, los criterios de limpieza y desinfección en el ámbito médico y, por último, las normas aplicables a dispositivos médicos.

En el Capítulo 2 se presenta el estado del arte relacionado con las soluciones que se han propuesto para reducir las infecciones. Éste capítulo se divide en dos secciones: sistemas de desinfección no invasivos y sistemas de desinfección que requieren modificaciones del catéter para poder funcionar.

En el Capítulo 3 se presenta el proceso de diseño y construcción del prototipo propuesto en este trabajo de tesis. Se describe el proceso de diseño electrónico y la programación del microcontrolador que controla la generación de luz UVC. Así mismo se muestra el diseño del encapsulado para el prototipo por medio de CAD y finalmente los resultados obtenidos en la construcción del dispositivo.

El Capítulo 4 contiene una descripción detallada de las pruebas realizadas para caracterizar el prototipo y los resultados obtenidos en la eliminación de bacterias en pruebas de laboratorio.

Finalmente se presentan las conclusiones y propuestas de trabajo futuro, un apartado con las referencias bibliográficas empleadas en el

desarrollo de este trabajo una serie de apéndices y anexos con diversos documentos útiles para la plena comprensión de este trabajo.

Capítulo 1. Marco teórico

1.1 Factores de riesgo que derivan en daño renal

Actualmente en México existe un problema de obesidad y sobrepeso que afecta al 30% de la población adulta, uno de los más altos índices junto con Estados Unidos [9]. Esta patología desencadena enfermedades secundarias, siendo las más representativas la diabetes y la hipertensión, así como otros mecanismos fisiológicos adaptativos causados por la propia enfermedad.

El proceso de adaptación renal causado por la obesidad, tanto estructural como funcional, incluye el aumento de la filtración glomerular en el flujo plasmático renal y la hipertrofia renal, así como con el desarrollo de glomerulomegalia y glomeruloesclerosis focal y segmentaria. Estos procesos de adaptación merman de manera progresiva la funcionalidad del riñón, lo que desencadena en distintas patologías, siendo la más representativa la insuficiencia renal.

Además de la obesidad, dentro de la patogenia de la enfermedad renal se encuentra la hipertensión arterial, proteinuria, exceso de angiotensina II, hiperglucemia, hiperuricemia, alta ingesta de proteínas y purinas, alto consumo de cloruro de sodio, alta ingesta de líquidos, hiperlipidemia, tabaquismo, hiperhomocistinemia, aumento de insulina endógena, agentes antiinflamatorios no esteroideos, hiperfosfatemia, anemia, exceso de aldosterona, depleción de potasio y niveles altos de procoagulantes [10].

Derivado de lo anterior, es posible inferir que el número de personas con una afección renal está en aumento a causa del estilo de vida actual. Ésto queda demostrado en un estudio realizado en México por la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), publicado en 2010 donde se estima un aumento de los pacientes con insuficiencia renal crónica (Imagen 1) [2].

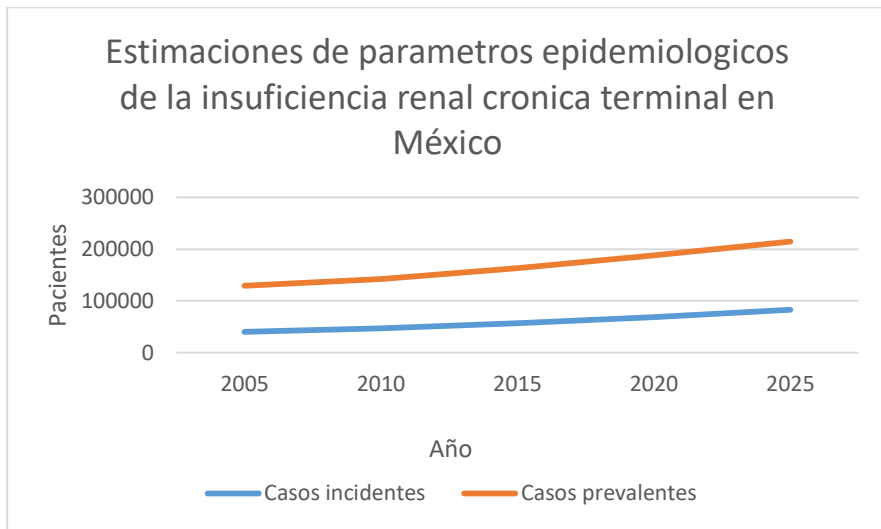


Imagen 1. La estimación realizada por la UNAM revela una prevalencia cercana a 129 mil casos de Insuficiencia Renal Crónica Terminal en México en el año 2005 y cerca de 214 mil casos para el 2025, lo que representa un incremento de 65.9%. (Imagen realizada con datos obtenidos de [2])

1.2 Insuficiencia renal crónica

La Insuficiencia Renal Crónica (IRC) se define como la pérdida irreversible y progresiva de la función renal. Esta patología está asociada a mecanismos de adaptación que permiten al riñón mantener el balance corporal del agua y solutos. Entre las principales causas de

IRC se encuentra la nefropatía diabética, la glomerulonefritis crónica, la nefropatía hipertensiva y la enfermedad renal poliquística. Sin embargo, una vez establecido el daño renal, el deterioro de la función renal tiende a avanzar independientemente de su causa.

Entre los factores que favorecen la progresión del daño renal se encuentran la hipertensión sistémica, hipertensión glomerular, hipertrofia glomerular y tubular, acidosis de sales de fosfato cálcico, hiperlipidemia, proteinuria, prostaglandinas y enfermedad tubulointersticial.

La reducción en el número de nefronas funcionales se acompaña de un incremento del 40% al 60% en la filtración glomerular (FG). Este aumento en la FG se debe al incremento del flujo plasmático renal (FPR) de las nefronas remanentes y a la elevación de la presión glomerular hidráulica intraglomerular, como resultado de la vasodilatación arteriolar aferente y eferente. Como la disminución en la resistencia de la arteriola aferente es mayor que la observada en la arteriola eferente, la presión intraglomerular se incrementa.

Lo anterior resulta en hipertensión, hiperfusión e hiperfiltración glomerular, lo cual conduce eventualmente a esclerosis glomerular (tejido cicatricial que se forma en la nefrona) mediante distintos mecanismos, entre los que destacan el daño directo al endotelio capilar, desprendimiento de las células epiteliales glomerulares, así como aumento en la producción de la matriz del mensangio. El daño al endotelio del capilar glomerular es similar al inducido por la

hipertensión sistémica y conduce a la formación de microtrombos y microaneurismas

El desprendimiento de las células epiteliales glomerulares permite la acumulación de macromoléculas en el espacio subendotelial dando lugar a la formación de depósitos hialinos, los cuales al incrementar su tamaño desplazan al endotelio y ocluyen el lumen capilar. El paso de macromoléculas hacia el mesangio así como la presión transmitida a estas células ocasiona un aumento en las citosinas que estimulan la proliferación celular y la formación de matriz mesangial lo que finalmente conduce al colapso del capilar glomerular lo que desencadena en una falla renal [10].

Se considera que cualquier enfermedad renal de cualquier etiología, ya sea, inmunológica, vascular, quística, metabólica o mixta, una vez establecida no es curable y por lo tanto una vez que se encuentra en la etapa inicial de la insuficiencia renal crónica esta no puede detenerse [11], por lo que la insuficiencia renal se clasifica en relación a la capacidad de filtrado de los riñones. (Tabla 1)

Tabla 1 Etapas de la insuficiencia renal progresiva.

Grado	Filtración glomerular (ml/min)
Reducción en función renal	120-90
Función renal deteriorada	90-60
Insuficiencia mínima	60-30
Insuficiencia moderada	29-10
Insuficiencia severa	>10
Insuficiencia terminal	>5

Una vez que se establece la etapa avanzada, ésta irremediablemente lleva a la muerte del paciente, a menos que éste entre a un programa de diálisis peritoneal, hemodiálisis o se efectúe un trasplante renal [11]. Muchos sujetos que tienen insuficiencia renal crónica en tratamiento sustitutivo o con injerto renal fallecieron por padecimientos cardiovasculares o por infecciones, dos de las principales causas de muerte en la insuficiencia renal crónica [12].

La insuficiencia renal crónica empeora paulatinamente la calidad de vida del paciente, hasta alcanzar la etapa terminal que significa que la funcionalidad del riñón es menor al 10%. En esta etapa el único tratamiento existente es la terapia renal sustitutiva, en sus dos modalidades **diálisis peritoneal** o **hemodiálisis** siendo esta la única terapia de por vida ya que no todos los pacientes son candidatos a un trasplante renal ya que como contraindicación para el trasplante se encuentran que el receptor debe tener esperanza de vida mayor a dos años; por lo que no debe presentar condiciones que ponen en peligro su vida, como infecciones, cáncer, enfermedad cardiovascular no controlada, falta de apego al tratamiento y enfermedad psiquiátrica grave; la edad no es una contraindicación absoluta para un trasplante, sin embargo, en la población de edad avanzada se deben de tomar en consideración un número mayor de variables porque la condición general de los pacientes y sus enfermedades concomitantes impactarán importantemente sobre la calidad de vida del trasplante y su

sobrevivencia [2]. Aunado a esto se encuentra el número bajo de donantes, por lo que el trasplante renal no es empleado comúnmente para el tratamiento de la insuficiencia renal, que de acuerdo a información del Centro Nacional de Trasplantes (CENATRA) en México durante 2016 solo se realizaron 2,978 trasplantes de riñón de los cuales 2,126 provenían de un donante vivo y el resto (852) provenían de donante muerto. Debido al número tan bajo de donantes actualmente (2017) existen 13,101 pacientes en lista de espera [13].

Las principales causas de insuficiencia renal crónica en México están relacionadas con:

1. Diabetes mellitus (48.5%).
2. Hipertensión arterial (19%).
3. Glomerulopatías crónicas (12.7%).
4. No determinada (7.4%).
5. Riñones poliquísticos (4.5%).
6. Malformaciones urinarias congénitas (3%).
7. Nefropatía lipídica (2.2%).
8. Nefropatía tubulointersticial (0.85%).
9. Litiasis urinaria (0.75%).
10. Enfermedades vasculares (0.55%).
11. Enfermedades Infecciosas (0.3%).
12. Nefropatías tóxicas (0.2%).

1.3 Diálisis peritoneal.

La diálisis peritoneal es el tratamiento predominante en México para atender la insuficiencia renal crónica. Aproximadamente el 70% de los pacientes con esta enfermedad se encuentra bajo este tratamiento, principalmente debido al bajo costo que representa comparado con la hemodiálisis. El tratamiento anual para la diálisis peritoneal manual es de aproximadamente 136,605 pesos, mientras que el tratamiento anual de hemodiálisis es de 190,000 pesos [5].

La diálisis es el proceso de eliminación de toxinas utilizando un líquido “dializante” introducido en la cavidad abdominal por medio de un catéter. El líquido se deja por un momento dentro de la cavidad y después se elimina por el mismo catéter de entrada. En este proceso se utiliza como filtro la membrana peritoneal y de allí surge su nombre (Imagen 2).

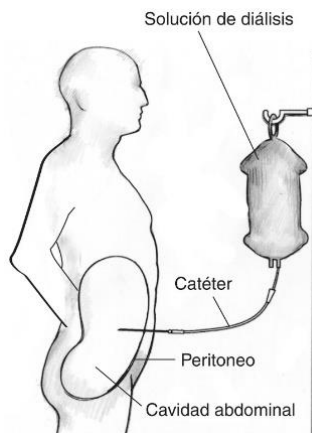


Imagen 2. El catéter para Diálisis Peritoneal es un pequeño tubo de silicona que se introduce en la cavidad peritoneal por medio de una cirugía, el lugar por donde sale el catéter se llama sitio de salida. (Imagen obtenida de la página: <https://catalog.niddk.nih.gov/Catalog/imagelibrary/detail.cfm?id=1006>)

La remoción de solutos en la diálisis peritoneal se logra por difusión y convección. El primer mecanismo (difusión) ocurre por un gradiente de concentración que se da entre la sangre del capilar peritoneal y la solución de diálisis infundida en el abdomen, esta solución tiende a equilibrarse con el plasma en el tiempo y es removida al final del intercambio después de un parcial o completo equilibrio entre ambos. La composición de las soluciones de diálisis permite remover, balancear o infundir solutos en el paciente.

El segundo mecanismo (convección) ocurre cuando una presión de gradiente transmembrana se genera entre la sangre y el compartimiento del dializado; agregando un agente osmótico a la solución de diálisis se crea un gradiente de presión osmótica a la solución de diálisis y así la ultrafiltración ocurre como una consecuencia, y los solutos son transportados a través de la membrana con el elevado flujo del volumen ocurriendo así también el transporte convectivo.

1.3.1 Técnica de diálisis peritoneal

La diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA) o diálisis de equilibrio peritoneal consiste en cuatro recambios diarios de dos litros de solución cada uno, con un periodo de estancia intraperitoneal entre cuatro a seis horas en los recambios durante el día y de 8 a 10 horas durante la noche. La solución es almacenada en un recipiente de plástico que contienen dos litros que son distensibles a 3 litros de capacidad; esta solución se transfiere por gravedad a la cavidad

peritoneal a través de un catéter fijo. Este líquido se drena una vez transcurrido el periodo de permanencia también por gravedad a la bolsa de drenaje, al final ingresa una nueva solución. El tiempo de diálisis es de 24 horas al día siete días a la semana [3].

Las contraindicaciones para DCPA:

1. Disminución significativa del área de transferencia peritoneal, a causa de una cirugía abdominal, por ejemplo.
2. La ostomias por el riesgo de conllevar infección crónica.
3. Las hernias abdominales.
4. Diverticulosis extensas del colon, ante riesgo de diverticulosis.
5. Obesidad severa, por los problemas técnicos que conlleva el exceso de grasa abdominal.
6. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica severa.
7. Riñones poliquísticos grandes.
8. Trastorno de columna lumbosacra.

La principal aplicación clínica de la diálisis peritoneal ha sido como terapia sustitutiva de la función renal, tanto en su deterioro crónico como agudo, sin embargo esta modalidad terapéutica puede ser usada como apoyo para el tratamiento de otras entidades clínicas [4].

El principal inconveniente que presenta la diálisis en cualquiera de sus modalidades es la existencia de una comunicación antinatural entre el medio interno del cuerpo con el medio ambiente, por lo que no existe

un sistema de defensa que impida el acceso de microorganismos por esta vía, debido a esto la peritonitis es la principal complicación asociada al tratamiento de diálisis peritoneal (Imagen 3).

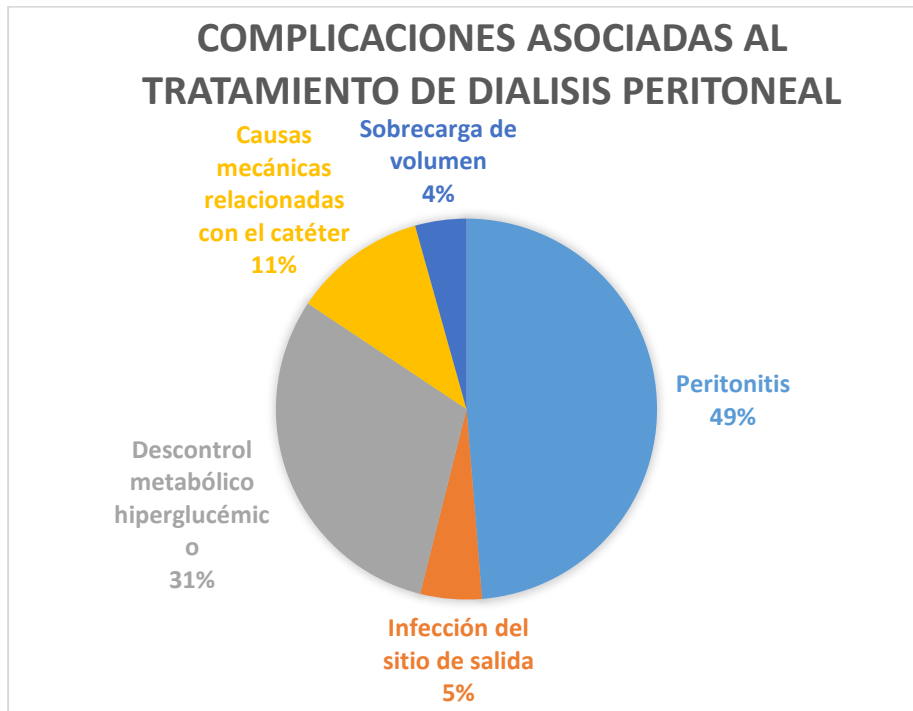


Imagen 3. Las complicaciones relacionadas con las infecciones son del 55%, por lo que eliminar este problema es uno de los mayores retos de la técnica de diálisis. (Imagen realizada con los datos obtenidos de [1])

1.4 Peritonitis

Debido a la existencia de una apertura de la cavidad peritoneal, no natural, comunicada con el exterior a través de un catéter y el empleo de líquido peritoneal, se crea una situación con alto riesgo de infección peritoneal. Ésta es una de las principales complicaciones ya que una

vez que los microorganismos llegan a la cavidad peritoneal su eliminación va a depender de las defensas locales peritoneales, alteradas por las soluciones de diálisis. Debido a esto, la principal complicación asociada con el tratamiento de la diálisis peritoneal es la peritonitis, esta consiste básicamente en la inflamación del peritoneo. El principal elemento de diagnóstico de esta alteración es la presencia de líquido peritoneal turbio con más de 100 leucocitos por microlitro, de los cuales más del 50% son polimorfonucleares.

La peritonitis es clasificada de acuerdo a la fuente de inflamación, siendo la infecciosa la más predominante como se muestra a continuación:

Peritonitis infecciosa (99%)

- Bacteriana: 90-95%
- Fúngicas: 4-8%
- Protozoos y parásitos: >1%

Peritonitis no infecciosas: 1%

- Inmunoalérgica (eosinofílica).
- Química
 - Vancomicina
 - Anfotericina
 - Antisépticos
 - Partículas
 - Escaldamiento
 - Caramelización de la glucosa
- Esclerosante

La contaminación del catéter a través de las rutas peri o intraluminares está relacionada con alrededor del 50 a 75% de los casos de peritonitis, sobre todo por estafilococos, estreptococos y difteroides [14].

Con los datos anteriores es posible concluir que la principal amenaza de aparición de peritonitis son las bacterias, por lo que si se evita la contaminación del catéter y la infección del sitio de salida o del túnel cutáneo del catéter es posible que la peritonitis ya no sea la principal complicación asociada al tratamiento de diálisis peritoneal, ya que junto con la translocación bacteriana gastrointestinal y bacteriemia estos son los mecanismos más comunes causantes de la peritonitis.

Los diversos métodos empleados actualmente para reducir la frecuencia con la que se presenta la peritonitis, un episodio por paciente cada dos o más años, han mostrado no ser suficientes puesto que la peritonitis de origen bacteriano es la principal causa de complicaciones durante la diálisis peritoneal. Los métodos actualmente utilizados para la prevención de este problema (peritonitis) empiezan desde antes de la inserción del catéter peritoneal con un tratamiento de antibioterapia, la desventaja de utilizar antibióticos como método para prevenir las infecciones es que fomenta la aparición de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos lo que las vuelve más peligrosas; otro método utilizado para la prevención de la contaminación del catéter es modificar los materiales y los sistemas de conexión del catéter para reducir la probabilidad de contaminación del mismo, la desventaja con este tipo de sistemas es que no inactivan o eliminan a los

microorganismos presentes naturalmente en el ambiente, por lo que un pobre mantenimiento de los mismos, acumulación de polvo o mala higiene, aumentan la probabilidad de que una bacteria logre flanquear estas barreras y los sistemas se vuelvan inútiles para prevenir la peritonitis. El método más importante para la prevención de la contaminación del catéter es la capacitación continua de los pacientes en la higiene del mismo, la desventaja de este método es que si un paciente relaja la técnica o si el ambiente donde realiza su tratamiento no es el adecuado, puede favorecer la contaminación del catéter.

Debido a esto es necesario contar con un método que inactive a la población bacteriana que no genere resistencia de las mismas, y que al mismo tiempo no dependa directamente de las técnicas higiénicas del paciente. Debido a lo anterior la propuesta de solución presentada en este trabajo de tesis es un dispositivo emisor de luz ultravioleta subtipo C (UVC) ya que esta cuenta con propiedades germicidas que no favorecen la resistencia de los microorganismos.

1.5 Luz ultravioleta germicida

La radiación ultravioleta (UV) se divide en tres bandas: UVA (320 a 400 nm), UVB (280 a 320nm), y la UVC (200 a 280 nm).

La cantidad de radiación UV que penetra en la piel depende de su longitud de onda, esta es absorbida por moléculas en la piel denominadas cromóforos, los cuales pueden ser endógenos (por ejemplo, el DNA, la melanina, el ácido urocánico, pequeños péptidos,

y el colesterol) o exógenos (drogas fotosensibilizantes) capaces de inducir una respuesta fotobiológica, como una quemadura solar. Los niveles de penetración de los rayos UVB y UVA a nivel de la piel son diferentes. El 70% de la radiación UVB es absorbida por el estrato córneo de la epidermis, a diferencia de la radiación UVA que es absorbida entre el 70-80% por células de la dermis y melanocitos de la epidermis basal [15] (Imagen 4). La probabilidad de que la radiación UVC cause alteraciones al ADN que puedan generar cáncer es menor, debido a que esta tiene menor penetración y absorción de energía a comparación del subtipo A y B, pero este es un factor que se debe tomar en cuenta en el desarrollo del dispositivo.

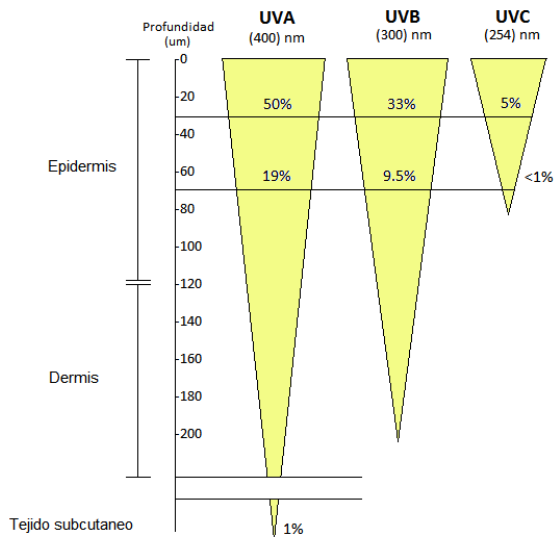


Imagen 4. Diversas profundidades en las que los rayos UV penetran en la piel. Estos datos se obtienen del informe titulado Ultraviolet Radiation (Environmental Health Criteria: 160, publicado por la Organización Mundial de la Salud en 1994). (Imagen obtenida de [15])

La radiación UVC afecta la capacidad de los microorganismos para reproducirse debido a que la radiación es absorbida por el ARN y el ADN ocasionando la dimerización de las moléculas de timina (Imagen 5) lo que distorsiona la estructura helicoidal del ADN impidiendo que éste pueda autorreplicarse. La dosis necesaria de radiación para inactivar el 90% de la mayoría de los tipos de organismos es muy baja con un rango típico de 2 a 6 mJ *cm⁻² [16].



Imagen 5. El proceso de dimerización, unir dos moléculas entre sí, es exclusivo del subtipo C, gracias a este proceso adquiere sus características germicidas. (Imagen obtenida de la página: <http://www.etelta.com/tecnologia-ultravioleta-uv.html>)

Los microorganismos cuentan con diversos mecanismos de reparación de los ácidos nucleicos dañados, pero el único relacionado a la exposición de radiación ultravioleta es el de fotoreactivación. Esta consiste en la inversión de la fotodimerización de los dímeros de tiaminas por una enzima fotoreactivada que usa luz entre 300 y 500 nm para activar la partición del dímero. Esta exposición debe ocurrir dentro de dos a tres horas para que pueda propiciarse el efecto fotoreparador.

La habilidad de las bacterias para fotorepararse está relacionada directamente a la extensión del daño, debido a que las transformaciones inducidas a los ácidos nucleicos por la exposición a la UVC no pueden ser reparados excepto por mecanismo de reparación obscuro [17], en el cual segmentos enteros de ácido nucleico son extraídos, y el segmento complementario sin dañar es usado como molde para reparar y reemplazar el segmento dañado, pero si ambos segmentos de las cadenas de ADN están dañados esta reparación no es posible (Imagen 6).

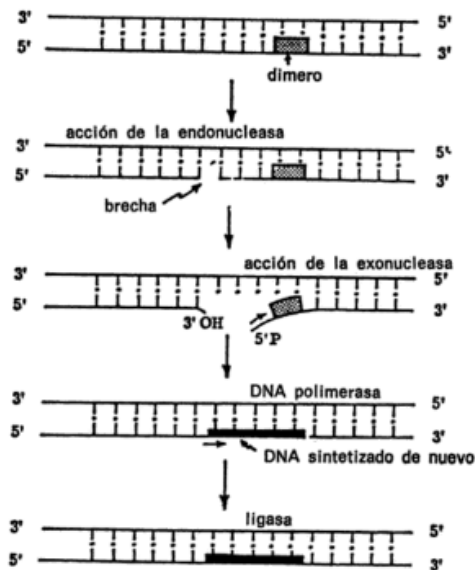


Imagen 6. Mecanismo de reparación oscura de ADN dañado por luz ultravioleta. La endonucleasa crea una brecha en un segmento específico del ADN, posteriormente a esto la exonucleasa separa las bases nitrogenadas del segmento de ADN dañado para que las DNA polimerasas puedan llevar a cabo la síntesis del nuevo segmento de cadena de ADN con el fin de eliminar el dímero causado por la luz UVC, por último se unen las dos extremos de las cadenas de ADN por medio de enlaces covalentes con la ayuda de la enzima ligasa. Si el daño en la cadena es muy grande este proceso de reparación no se puede llevarse a cabo. (Imagen obtenida de [17])

A diferencia de las bacterias, los virus no cuentan con mecanismos de reparación para invertir el daño creado por la luz UV por lo que el empleo de este tipo de radiación es altamente efectivo para prevenir la proliferación de virus [15].

Con las características mencionadas en esta sección se podría pensar que la radiación UVC es segura, pero el empleo prolongado de la luz UVC no es inocuo y puede desencadenar diversos efectos secundarios los cuales se comentan a continuación.

1.5.1 Efectos secundarios de la radiación ultravioleta.

Uno de los efectos secundarios con los que más se relaciona a la radiación ultravioleta en cualquier de sus longitudes de onda es con la aparición de cáncer de piel, sin embargo en el caso de la radiación ultravioleta subtipo C el daño producido al ADN impide que éste se siga replicando como se mencionó en la sección anterior, algo que en si es contrario al concepto de cáncer, que explicado de manera muy simple por la Organización Mundial de la Salud (OMS), es un proceso de crecimiento y diseminación incontrolados de células, debido a alteraciones genéticas que inactivan genes cuya función es limitar la división celular y eliminar células muertas o defectuosas [18].

1.5.1.1 Alteraciones en el ADN a causa de la radiación ultravioleta subtipo C.

La radiación ultravioleta tiene un efecto directo en la cadena de ADN, como ya se ha comentado anteriormente, pero la razón de que este daño no desencadene en cáncer se debe a que en células normales (durante la fase S del ciclo celular) responden al daño del ADN causado por UVC reduciendo la velocidad de síntesis del ADN.

La inhibición pasiva de la replicación del ADN se atribuye a la obstrucción física del aparato de replicación del ADN en sitios que presentan daño. Un ejemplo es la incapacidad de las DNA polimerasas replicativas para copiar a través de lesiones moldeadas inducidas por UVC tales como dímeros de pirimidina.

La inhibición activa es un efecto mediado a través de señales de punto de control que emanan de sitios de daño del ADN y finalmente inhiben la iniciación de replicones (unidad de ADN en la cual ocurre un acto individual de replicación). Esta respuesta de punto de control S impone retrasos transitorios en la progresión de la fase S y proporciona más tiempo para en reparación del ADN para eliminar las lesiones de la cromatina sin replicar [19].

Aunque esto podría ser considerado como un indicador de que la luz UVC no genera cáncer, esto no es del todo correcto como podremos ver en la información mostrada a continuación.

1.5.1.2 Efecto de la luz ultravioleta sobre la piel

Exponer la piel a luz ultravioleta provoca la aparición de células epidérmicas $T6^- DR^+$ presentadoras de antígeno (sustancia capaz de provocar respuesta inmunitaria), éstas son responsables del aumento de la capacidad de presentación de antígeno de las células epidérmicas, este efecto es muy marcado dentro de los subtipos B y C a diferencia del subtipo A que es un pobre inductor.

Otro efecto es que la radiación UV, en sus tres longitudes de onda, disminuye el porcentaje de células de Langerhans $T6^+ DR^+$, este efecto está más marcado en los subtipos A y B, mientras que en el C este efecto es menor [20].

Esta información nos indica que la radiación ultravioleta provoca la aparición de antígenos, incluidos los tumorales, pero con la disminución de células de Langerhans, que son las únicas células epiteliales encargadas de presentar el antígeno al sistema inmunitario, se ve mermada la capacidad de generar una respuesta inmune celular que elimine las células dañadas.

Con estos datos podemos concluir que el subtipo B tiene más probabilidades de causar cáncer, y que con los subtipos C y A las probabilidades de que se generen células tumorales que no puedan ser eliminadas por el sistema inmunitario son menores pero existen.

1.5.2 Interacción de la radiación UVC con el agua.

De acuerdo al uso propuesto para el dispositivo durante el tratamiento de diálisis peritoneal es necesario saber cómo éste interacciona con el agua debido a que este es el elemento principal que conforma el líquido dializante.

Varios estudios han identificado y caracterizado los subproductos de desinfección UV derivados de reacciones fotoquímicas aparte de las de dimerización de DNA. Se ha observado la formación de formaldehído, glioxal y acetaldehídos así como la reducción de 8 a 12 hidrocarburos de carbono cuando se irradia agua residual con UV. Durante éstos estudios los formaldehídos se incrementaron de 3.54 $\mu\text{g/L}$ a 9,62 $\mu\text{g/L}$ después de la aplicación de una dosis de 45 a 147 mWs/cm^2 . Estos niveles de formaldehído están por debajo de los indicados por la agencia de protección ambiental de los Estados Unidos (US EPA por sus siglas en inglés), en su artículo “*health advisory*”, de 1 mg/L para toda la vida de un adulto de 70 Kg. De acuerdo con lo anterior, se ha concluido que el riesgo a la salud presentado por los niveles observados de formaldehído era insignificante [21].

Se ha comparado la formación de subproductos en la desinfección de agua reciclada usando una dosis UV de 300 mWs/cm^2 con la obtenida después de desinfectarla con cloro. Mientras con el uso de cloro se obtuvieron incrementos significativos en los trihalometanos, con la UV no se formaron subproductos que pudieran dañar la salud. Trabajos posteriores confirmaron que la desinfección con UV no causa

la formación de subproductos mutagénicos o carcinogénicos ni causa la descomposición por oxidación de polímeros microbianos con base de azúcar [21].

En síntesis, la exposición de las bacterias a la UVC les daña el ADN evitando su replicación y esto también debería inhibir la formación de tejido canceroso asociado con la exposición de luz UV en la piel. Sin embargo, otros estudios han encontrado aumento de antígenos relacionados con el cáncer después de la exposición UVC aunque éstos son mínimos. Aún no se tienen datos concluyentes sobre posibles daños a la piel relacionados con la exposición a la UVC. Por otro lado la formación de subproductos de desinfección durante la desinfección de agua potable es despreciable y no se ha podido determinar un nivel medible de incremento en la toxicidad del agua atribuible a subproductos de la desinfección por UV.

1.6 Criterios de Limpieza, desinfección y esterilización.

Es importante saber diferenciar entre lo que significa limpiar, desinfectar y esterilizar puesto que la utilidad de la UV en este trabajo es evitar la contaminación del catéter y conocer estos conceptos nos ayudará a entender los límites del dispositivo propuesto en esta tesis.

1.6.1. Limpieza

Limpieza se define como el proceso de remover, a través de medios mecánicos y/o físicos la suciedad visible [22], pero para evitar

infecciones esto no es suficiente por lo que es necesario escalar al siguiente nivel, la desinfección.

1.6.2. Desinfección

Desinfección se define como la eliminación de los gérmenes que infectan o que pueden provocar una infección. Existen diferentes niveles de desinfección que se clasifican de acuerdo al tipo de microorganismo que es capaz de eliminar y al tiempo necesario para llevarlo a cabo, pero ninguno de estos niveles es capaz de eliminar por completo los gérmenes patógenos, esto es lo que lo diferencia de la esterilización [22]. Estos niveles se muestran a continuación:

1.6.2.1 Niveles de desinfección

Desinfectantes de bajo nivel.

No son capaces de destruir en un periodo breve de tiempo esporas bacterianas, micobacterias y todos los hongos y/o virus no lipídicos o de tamaño pequeño. El tiempo de contacto mínimo para una desinfección de bajo nivel es de 10 minutos.

Desinfectantes de nivel intermedio.

No eliminan necesariamente las esporas bacterianas, pero inactivan bacterias vegetativas. El tiempo de contacto mínimo para una desinfección de nivel intermedio con estos desinfectantes es de 10 minutos.

Desinfectantes de alto nivel.

Inactivan todas las formas vegetativas de los microorganismos, pero no destruyen toda forma de vida microbiana, puesto que no siempre eliminan todas las esporas. La mayoría requiere un tiempo de unos 20 minutos para ejercer una acción desinfectante de alto nivel; aunque para destruir las esporas bacterianas requieren de un tiempo de contacto prolongado (entre 6 y 10 horas) [22].

1.6.3 Esterilización

La esterilización se define como el proceso mediante el cual se destruyen todos los microorganismos viables presentes en un objeto o superficie, incluidas las esporas bacterianas. El concepto de esterilidad expresa una condición absoluta: un determinado objeto o superficie está estéril o no está estéril. Puesto que la esterilidad no puede demostrarse de manera absoluta sin causar la destrucción completa de todas las unidades esterilizadas, se define la esterilidad en términos probabilísticas y se considera que un producto es estéril cuando la probabilidad de que una unidad estéril contenga algún microorganismo en forma activa o latente es igual o menor de 1 entre un millón (10^{-6}), esto se conoce como *sterility assurance level* (SAL), que en español significa coeficiente de seguridad de esterilidad [23].

En conclusión, de acuerdo a la información presentada, el dispositivo aquí propuesto se limitará solo a desinfectar debido a que para esterilizar se necesitaría aumentar la potencia de la radiación

UVC, así como su tiempo de exposición a la misma, y debido a que no se ha establecido la inocuidad de este tipo de radiación se ha considerado innecesario sobrexponer al paciente debido a que este cuenta con un sistema inmunológico funcional que podría hacer frente a los microorganismos que sobrevivan a la exposición de UVC, y de esta manera se evitan los posibles efectos secundarios en el paciente.

1.7 Normas aplicables a dispositivos médicos

1.7.1 Normas Oficiales Mexicanas

La normativa aplicable al dispositivo médico aquí propuesto está expuesta dentro de la NORMA Oficial Mexicana NOM-241-SSA1-2012, “Buenas prácticas de fabricación para establecimientos dedicados a la fabricación de dispositivos médicos” [24]. Dicha norma entre otras cosas clasifica el nivel de seguridad de cada dispositivo médico, entre los que se encuentra:

- Clase I: define a aquellos dispositivos médicos conocidos en la práctica médica cuya seguridad y eficacia están comprobadas y, que generalmente no se introducen en el organismo.
- Clase II: define a aquellos dispositivos médicos conocidos en la práctica médica y que pueden tener variaciones en el material con el que están elaborados o en su concentración y, generalmente, se introducen al organismo permaneciendo menos de treinta días.

- Clase III: define a aquellos dispositivos médicos nuevos o recientemente aceptados en la práctica médica, o bien que se introducen al organismo y permanecen en él, por más de treinta días.

De acuerdo a dicha clasificación, el dispositivo medico aquí propuesto pertenecería a la clase I. Este tipo de dispositivos están exentos de revisión si son de riesgo extremadamente bajo o son muy similares a los dispositivos existentes. De todos modos, estos dispositivos exentos deben cumplir con los estándares de fabricación y control de calidad [25].

Otra norma que involucra a los dispositivos médicos es la Norma Oficial Mexicana NOM-137-SSA1-2008, “Etiquetado de dispositivos médicos” [26]. Esta norma está más relacionada con la información que debe de proporcionar el fabricante al usuario que adquiera su producto, debido a las características de esta norma, el dispositivo aquí propuesto no estaría sujeto a las disposiciones expuestas en esta norma debido a que en este momento el objetivo de la tesis no es la comercialización de este producto.

1.7.2 Normas de seguridad eléctrica

Debido a que los dispositivos médicos funcionan gracias a la electricidad, los pacientes y el personal médico están en riesgo de sufrir descargas eléctricas. Debido a esto existe normativa que regula a los dispositivos médicos para evitar este problema.

Antes de conocer la normativa relacionada a este aspecto es necesario diferenciar entre lo que significa macroshock y microshock, pues dependiendo del significado de estos términos será la normativa aplicable a nuestro dispositivo.

El microshock se refiere a toda descarga eléctrica pequeña, 80 a 600 mA, ejercida directamente sobre el tejido cardiaco, esta descarga puede producir una fibrilación lo que pondría en riesgo la vida del paciente [27]. Mientras que el macroshock se refiere a la aplicación externa de una corriente eléctrica. Dependiendo de la intensidad de la descarga los efectos sobre el paciente varían, desde un ligero cosquilleo o hasta la muerte [28] (Imagen 7).

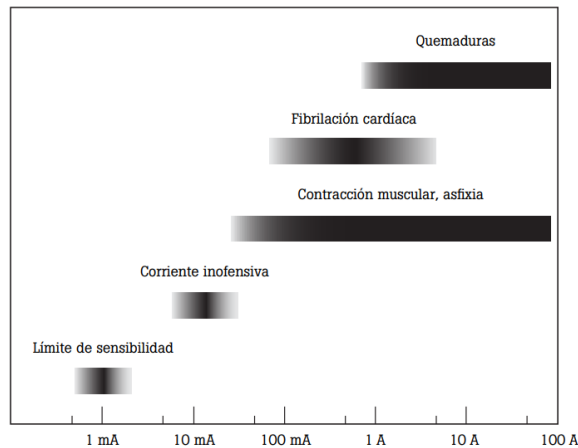


Imagen 7. Efectos del flujo de corriente desde un punto de contacto de la piel a otro. (Imagen obtenida de la página: http://support.fluke.com/Biomedical/Download/Asset/9460539_ENG_A_W.PDF)

Conociendo estos dos conceptos, macroshock y microshock, podremos concluir que solo la normativa asociada al macroshock es la que afecta al dispositivo.

En Estados Unidos, Europa y otras partes del mundo se han establecido diferentes normativas de seguridad eléctrica, pero el principal estándar que rige los dispositivos médicos es la IEC60601 AAMI/NFPA 99 de la Comisión Electrotécnica Internacional (IEC) [28].

Esta norma clasifica a cada dispositivo médico en diferentes clases:

- Clase I: Parte con corriente, recubierta de aislamiento básico y tierra de protección.
- Clase II: Parte con corriente recubierta de aislamiento doble o reforzado.
- Clase III: Fuente de alimentación interna.

De acuerdo a esta clasificación el dispositivo pertenece a los de clase III, en esta clase se encuentran los dispositivos que se alimentan a muy bajo voltaje, generalmente a baterías.

Otra clasificación que está incluida en esta norma es la que se refiere a las piezas o terminales aplicados al paciente [29]. Esta clasificación está compuesta por:

- Tipo B: Pieza aplicada al paciente puesta a tierra.
- Tipo BF: Pieza aplicada al paciente flotante (conductor de superficie).
- Tipo CF: Pieza aplicada flotante para su uso en contacto directo con el corazón.

Debido a que el dispositivo presenta encapsulamiento aislante, esto garantiza que no habrá corrientes de fuga, corrientes de fuga de 0.1 mA,

y a que no tiene partes eléctricas aplicadas directamente sobre el paciente el dispositivo se clasificaría como tipo BF.

Otra estándar a tomar en cuenta por parte de la IEC, cuando el dispositivo se encuentre en el mercado, es la 62353. Esta norma se desarrolló debido a que la IEC 60601.1 no cuenta con criterios de administración de riesgos y no sirve para realizar pruebas en entornos hospitalarios, pero como el dispositivo se encuentra en etapas de prueba solo se hará la mención de la existencia de este estándar.

Capítulo 2. Estado del arte

En los últimos años se han empleado dos métodos en la prevención de infecciones por cateterismo: la creación de biomateriales antiadhesivos mediante métodos físico-químicos, e incorporación de agentes antimicrobianos o antisépticos en los actuales biomateriales poliméricos.

Ha habido un éxito limitado con la utilización del primer método (biomateriales antiadhesivos) debido a que estos solo evitan la adhesión de microorganismos al catéter, pero no su paso al interior del organismo, mientras que con el segundo han surgido inconvenientes, debido a que la exposición a agentes antimicrobianos podría favorecer el desarrollo de resistencia o la expresión de genes responsables de la formación de biofilm (matriz extracelular adhesiva protectora), que funciona como barrera protectora (Imagen 8) [7].

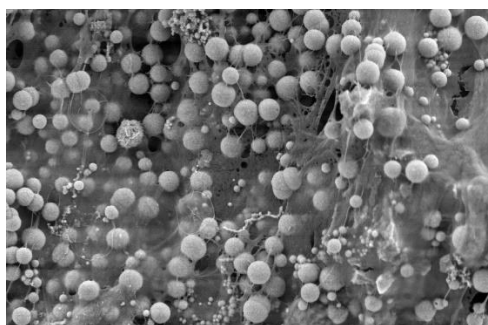


Imagen 8. Micrografía electrónica con un aumento de 21.850 x, mostrando los detalles de la superficie de un biofilm, una matriz hidratada de polisacárido y proteína formada por agregados de bacterias. (Imagen obtenida de la página: <http://dujs.dartmouth.edu/2009/11/biofilms-bacteria%E2%80%99s-elixer-of-survival/#.WamCWciLTIV>)

Debido a que estos métodos no han sido efectivos ha surgido otro método con el fin de reducir las infecciones relacionadas con catéteres. La prevención de infecciones mediante métodos físicos, siendo más específicos mediante el uso de radiación.

Se han propuestos diversas soluciones relacionadas con este método, a continuación se describen las más sobresalientes.

2.1 Dispositivos desinfectantes no invasivos

Este tipo de dispositivos de caracterizan por prevenir la contaminación del catéter por medio de la desinfección de la entrada del catéter por lo tanto no requieren la modificación del catéter para que el dispositivo funcione. Entre los ejemplos de este tipo de dispositivos de encuentran:

- En [30] se describe un dispositivo capaz de desinfectar catéteres por medio de pulsos de luz germicida en la conexión para generar un área de esterilización segura.
- En [31] se describe un dispositivo que se especializa en la desinfección de la entrada del catéter por medio de luz UV y luz visible, transmitida con la ayuda de un lente.
- En [32] se describe un dispositivo que envuelve la conexión entre el catéter y la conexión del líquido dializante para irradiar luz al mismo tiempo que pasa la solución a través del catéter (Imagen 9).

- En [33] se describe un dispositivo portátil con una entrada para el catéter proveniente del líquido dializante, éste se introduce a una fuente de luz para la desinfección del catéter, una vez atravesado el dispositivo sale el catéter con dirección al área abdominal del paciente.
- En [34] se describe un dispositivo que transmite luz ultravioleta emitida por LEDs mientras pasa el líquido dializante con la ayuda de una conexión para tal fin.
- En [35] se describe un dispositivo emisor de luz ultravioleta que rodea la conexión del catéter, el dispositivo incluye fotoceldas que mide el total de luz ultravioleta aplicada en cada proceso de esterilización y desconecta el equipo automáticamente al alcanzar la cantidad de radiación fijada. Este dispositivo está diseñado para desinfectar solamente en la entrada del catéter.
- En [36] se describe un sistema en “Y” donde en una de sus salientes se conecta al dispositivo transmisor de luz generada por una lámpara de mercurio que se activa por medio de un sensor que indica cuando la otra saliente está abierta para iniciar la esterilización y de esta manera se mantenga segura la conexión para el paciente.
- En [37] se describe un dispositivo emisor de luz ultravioleta subtipo C en forma de láser, que tiene como desventaja que si existe una curvatura en el catéter se

pierde el efecto desinfectante del láser, por lo que la eficiencia de este dispositivo está en entredicho.

- En [38] se describe un dispositivo que está compuesto de una fuente de radiación UV, un catéter con un solo lumen, y un cable de fibra óptica que está acoplado a una fuente de radiación UV. El cable de fibra óptica está dispuesto dentro del lumen del catéter y es capaz de emitir radiación UV a través de la pared del cable de fibra óptica. Además el aparato descrito anteriormente incluye un tubo de inserción que tiene dos trayectorias separadas, una trayectoria para una fuente de fluido y una trayectoria para un cable de fibra óptica (Imagen 10).

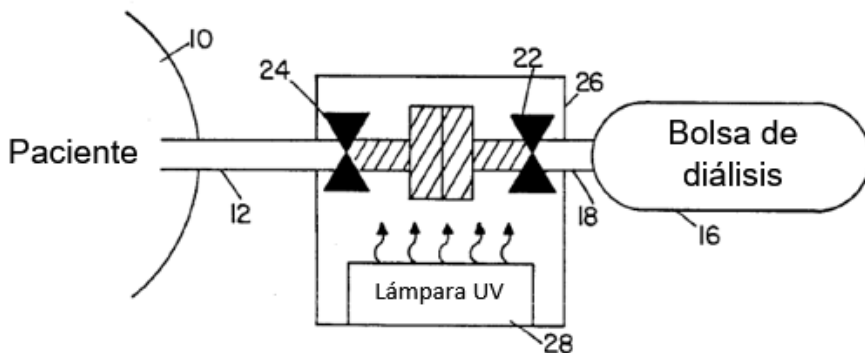


Imagen 9. Diagrama de un dispositivo externo emisor de radiación ultravioleta. En 10 se observa el área abdominal del paciente, en 12 el catéter del paciente, en 24 y 22 se observan abrazaderas para impedir el flujo de los catéteres, en 28 se observa la fuente de luz UVC todo esto está contenido en 26 que es la estructura que contiene el sistema, y en 18 el catéter hacia la bolsa de diálisis que se puede observar en 16. (Imagen obtenida de [32])

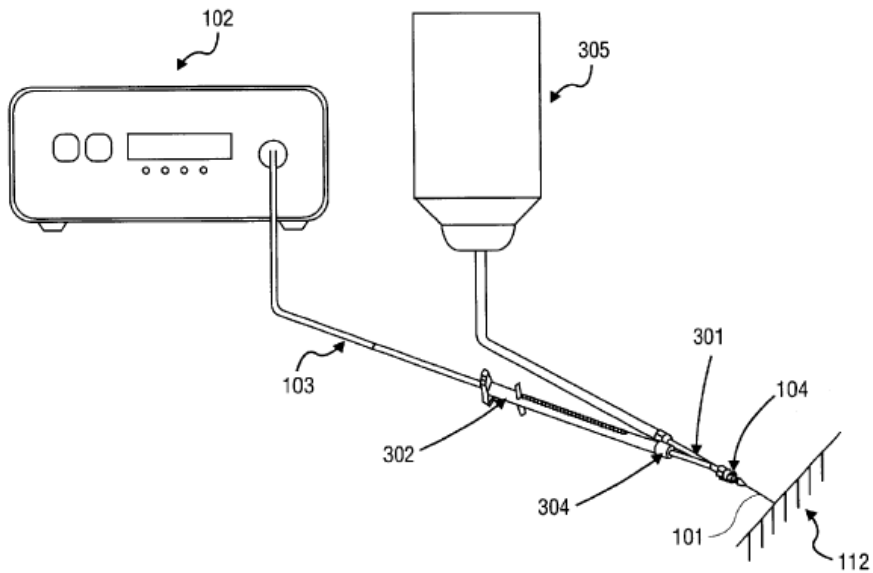


Imagen 10. Diagrama de un dispositivo fijo junto con un conector en Y. En 102 se ve el dispositivo generador de luz UVC, en 103 se ve la fibra óptica, en 302 se ve el sistema de conexión de la fibra, en 304 el sistema de apertura y cierre de la válvula, en 305 la bolsa del líquido dializante, en 301 el tubo de inserción del catéter de fibra óptica, en 104 el sistema de conexión al catéter del paciente y en 112 el área abdominal del paciente. (Imagen obtenida de [38])

La principal desventaja de este tipo de sistemas es que se enfocan principalmente en la entrada del catéter, lo que deja desprotegido el resto del catéter por lo que si una bacteria, por cualquier razón, llegara a sobrevivir a la radiación y se adhiriera al catéter, este se convertiría en la fuente de origen de los microorganismos causante de la peritonitis. Debido a esto es necesario contar con un sistema que involucre la mayor parte del catéter expuesto para evitar la contaminación del mismo.

Otra desventaja de algunos sistemas aquí mencionados es el alto costo económico que representan los sistemas por la utilización de

sensores comparado con sistemas más sencillos que no los involucran, lo que causa que estos dispositivos sean menos accesible para la población en general, por lo que sus beneficios no están al alcance de todos.

2.2 Dispositivos que necesitan modificar el catéter.

Este tipo de dispositivos basan su fundamento de desinfección en la modificación del catéter para que estos transmitan la radiación germicida y de esta forma evitar que se contaminen. Entre los ejemplos de este tipo de dispositivos de encuentran:

- En [39] se propuso un sistema para desinfectar basado en un generador de radiación electromagnética por medio de un láser, con una longitud de onda de 380 a 900 nm, transmitido mediante un componente óptico alojado en la pared del catéter.
- En [40] se describe un dispositivo que transmite radiación UV o infrarroja a través de fibra óptica de diferentes longitudes ubicada en el interior de las paredes del catéter (Imagen 11).
- En [41] se describe una fuente generadora de luz UV que se conecta al catéter cuyo eje está conformado por un material polimérico que permite la transmisión de la radiación.

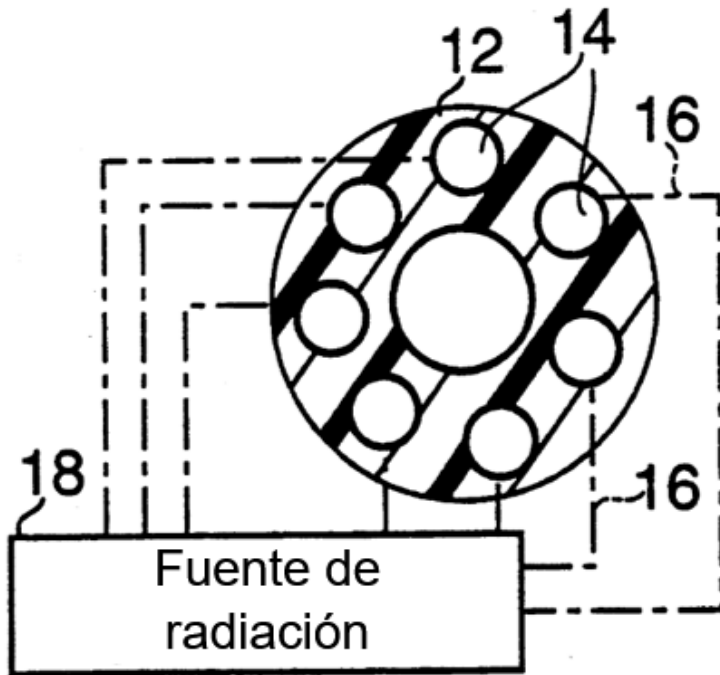


Imagen 11. Corte transversal de un catéter modificado para la transición de radiación germicida. Los elementos que lo conforman son: 12) pared del catéter, 14) fibra óptica, 16) líneas de transmisión de radiación y 18) fuente de radiación. (Imagen obtenida de [40])

Estas propuestas tienen como desventaja de que el catéter tiene que ser modificado para que la técnica funcione, lo que limita su aplicación a solo este tipo de catéteres, por lo tanto estos sistemas son inviables en la práctica puesto que se necesitaría la sustitución de todos los catéteres implantados actualmente, lo que sería un costo demasiado alto debido a la gran cantidad de pacientes. Además de que se tendría que existir un acople para los diferentes tipos de catéteres disponibles en el mercado para que funcione esta idea. Debido a esto es necesario crear un dispositivo desinfectante que no modifique los catéteres actuales que existen en el mercado.

El único dispositivo encontrado, que no requiere modificar el catéter está descrito en la patente [38] en la que se describe un aparato conformado por una fuente de luz ultravioleta y un cable de fibra óptica acoplado a la fuente de luz. El cable de fibra óptica puede ser fácilmente insertado cuando la esterilización es necesaria y removida fácilmente sin la necesidad de modificar las conexiones y componentes de los catéteres existentes. Se basa en una fuente de luz y una conexión especial tipo “Y” para permitir el uso del agente dializante y de la fibra óptica para desinfección. Este sistema utiliza una fuente de luz UV estacionaria a la cual se conecta el cable de fibra óptica por medio de un sujetador de seguridad. Sin embargo, el hecho de que la fuente de luz sea estacionaria limita el uso del equipo a instalaciones fijas.

El proyecto presentado en este documento presenta diversas innovaciones con respecto a lo reportado en [38] y en general con los trabajos reportados previamente. En primer lugar en ésta invención se propone el uso de un dispositivo portátil el cual es alimentado por baterías y que es capaz de controlar el tiempo de exposición del catéter a esterilizar en forma automática. La fuente de luz se basa en LEDs de UV-C con los que se logra el ancho de banda de luz adecuado además de minimizar el tamaño y potencia consumida del dispositivo. Se propone una parte cóncava semiesférica para la concentración de luz en el extremo de una fibra óptica. A diferencia de la fibra óptica mencionada en la patente [38] en este caso se propone una fibra óptica rasgada de manera que los rayos de UV-C se pueda dispersar a lo largo del todo el catéter.

Capítulo 3 Desarrollo del sistema

3.1 Diseño del sistema

Con base en toda la información expuesta anteriormente, se propone la creación de un sistema con las siguientes características:

- Funcionamiento de desinfección por medio de UVC
- Un sistema portátil que sea fácil de manipular y que no supere los 15 centímetros de longitud.
- Costo del dispositivo inferior a \$2,000.00 pesos, que comparado con el costo del tratamiento para el tratamiento de la peritonitis esto podría representar un ahorro de hasta el 99%.
- Que cumpla con los lineamientos de la NORMA Oficial Mexicana NOM-241-SSA1-2012, los estándares sobre seguridad eléctrica de la Comisión Internacional Electrotécnica (IEC 60364-7-710: 2002-11) y las demás normas aplicables al dispositivo.

3.1.1 Fuente de luz UVC

Como primer paso en el diseño del dispositivo se eligió la fuente de luz UVC más adecuada para el objetivo. Existen dos fuentes más comunes de luz UVC para fines de desinfección.

3.1.1.1 Lámparas de UVC

Las lámparas UV consisten en un bulbo o tubo de cristal de cuarzo relleno de gas y con dos electrodos en los extremos. Al energizar los electrodos se forma un arco eléctrico entre ellos, calentando y subiendo la presión de dicho gas y produciendo la emisión de luz. El espectro de la luz emitida está determinada por la concentración de los gases y aditivos que contenga la lámpara [42].

Existen diferentes tipos de lámparas UVC en el mercado, estas varían de forma, tamaño y potencia. El precio de las lámparas es inversamente proporcional al tamaño por lo que a menor tamaño el precio aumenta. Dentro de las diferentes ofertas en el mercado no se encontraron lámparas lo suficientemente pequeñas para garantizar la portabilidad del dispositivo.

La principal causa por la que no se emplearon las lámparas UVC dentro del diseño del dispositivo es debido lo peligroso que podría resultar la fuga del gas que contiene la lámpara (además de que están hechas con materiales dañinos para el medio ambiente como lo es el mercurio [43]) y que esta interactúe con el orificio de entrada del catéter es un riesgo latente, por lo que se decidió utilizar una fuente de luz UVC más segura como lo son los LEDs.

3.1.1.2 LEDs de UVC

El LED es un tipo especial de diodo cuyo elemento semiconductor es una combinación de diversos materiales que poseen la propiedad de

emitir fotones de luz de diferentes longitudes de onda cuando lo recorre una corriente eléctrica [44].

Se utilizaron como fuente de radiación ultravioleta los LEDs debido a que sus pequeñas dimensiones (4 milímetros cuadrados de área y 0.5 mm de altura) que permiten diseñar un dispositivo portátil, además de que son más seguros que las lámparas UV y su consumo de energía es mínimo, lo que posibilita el uso de fuente de energía pequeñas, como baterías.

Dentro de las diversas opciones que se encuentran en el mercado se optó por utilizar el modelo TH-UV275A-3535-B que cuenta con las siguientes características: longitud de onda de $275 \text{ nm} \pm 5$, potencia 1.6-2.5 mW, Voltaje 5-7 V, corriente de 20 mA y una dimensión de 4 milímetros cuadrados (Imagen 12).



Imagen 12. LED UVC junto con su placa de montaje del LED. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Se decidió escoger este modelo de LED debido a que cumple con la longitud de onda que está dentro del rango germicida (240 y 280 nm), a sus pequeñas dimensiones y a que su consumo de potencia es lo suficientemente bajo (1.6 mW) como para funcionar con baterías, lo cual garantiza la portabilidad del sistema.

3.1.2 Fuente de energía

Para asegurar la portabilidad del dispositivo se debe utilizar una fuente de energía que permita funcionar al dispositivo el tiempo necesario para hacer su trabajo, que sea pequeña y de ser posible de bajo costo.

Las opciones más comunes como fuentes de energía son fuentes de voltaje dependientes del voltaje de la red eléctrica y fuentes de voltaje basadas en baterías.

3.1.2.1 Fuentes de voltaje dependientes de la red eléctrica

Es un dispositivo que convierte la corriente alterna proveniente de la red de suministro en corriente continua para alimentar a un dispositivo electrónico. Las fuentes de alimentación, para dispositivos electrónicos, pueden clasificarse básicamente como fuentes de alimentación lineales y conmutadas. Las lineales tienen un diseño relativamente simple, que puede llegar a ser más complejo cuanto mayor es la corriente que deben suministrar, sin embargo su regulación

de tensión es poco eficiente. Una fuente conmutada, de la misma potencia que una lineal, será más pequeña y normalmente más eficiente pero será más compleja y por tanto más susceptible a averías [45].

La desventaja que se tiene con una fuente de alimentación de este tipo para el dispositivo aquí propuesto es que este tendría que estar conectado durante su funcionamiento y esto iría en contra del principio de portabilidad que se quiere lograr con el dispositivo, pero la principal desventaja es en el plano económico, debido a el tamaño reducido del sistema y a la “complejidad” de los elementos electrónicos que conforman una fuente de voltaje (transformador, puente rectificador, filtros, etc.), este tendría que ser un sistema aparte lo que elevaría el costo del dispositivo, además de que, para que el dispositivo cumpla con el principio de portabilidad tendría que tener una batería que le permita almacenar la corriente proveniente de la fuente de voltaje, como por ejemplo baterías de ion litio, y este tipo de baterías es más costoso que unas baterías tradicionales.

3.1.2.2 Fuente de voltaje basada en Baterías

El fundamento de las pilas es la transformación de la energía química en eléctrica, mediante reacciones de oxidación-reducción producidas en los electrodos, que generan una corriente de electrones.

Cuando una batería entra en funcionamiento el material del ánodo (zinc) pierde dos electrones por átomo en un proceso llamado oxidación, dejando atrás iones inestables de zinc. Luego de que los

electrones regresan del dispositivo electrónico, vuelven a entrar a la celda en el cátodo, donde se combinan con el material activo (dióxido de manganeso) en un proceso llamado reducción. Los procesos combinados de oxidación y reducción no podrían ocurrir en una celda de energía sin un medio interno para devolver los electrones al ánodo, equilibrando la circulación externa de la corriente. Este proceso se logra por el movimiento de iones de hidróxido de carga negativa, presentes en la solución de agua llamada el electrolito. Cada electrón que entra al cátodo reacciona con el dióxido de manganeso para formar MnOO^- . Entonces, el MnOO^- reacciona con el agua del electrolito. En esa reacción, el agua se separa, liberando iones de hidróxido en el electrolito e iones de hidrógeno que se combinan con MnOO^- para formar MnOOH . El circuito interno se completa cuando los iones de hidróxido producidos en esta reacción en el cátodo circulan al ánodo en forma de corriente iónica. Allí, se combinan con los iones inestables de zinc que se formaron en el ánodo cuando los electrones fueron liberados originalmente en el circuito externo, lo que produce óxido de zinc y agua [46].

La razón por la que se escogió utilizar como fuente de alimentación del dispositivo una batería es principalmente porque es un elemento electrónico barato y de fácil acceso por lo que es fácil reemplazarlo en caso de que se dañe o agote, además de que es un elemento fácil de integrar en el diseño del dispositivo debido a sus dimensiones reducidas y tiene el voltaje necesario para alimentar a los leds.

La batería que se seleccionó es una de 9 V, la cual cubre el rango de voltaje de los LEDs seleccionados (5V a 7 V), Para limitar el voltaje a 7V se necesita un regulador de voltaje para evitar que los leds se dañen por una sobrecarga. Se decidió utilizar el LM317 como regulador de voltaje debido a que el rango de voltaje de salida ajustable es de 1,25 V hasta 37 V, tiene una corriente de salida superior a 1,5 A y una limitación de corriente en caso de cortocircuito interno. El regulador LM317 sirve para ajustar el voltaje de salida mediante una configuración recomendada por el fabricante (Imagen 13) donde sólo se varían la resistencia R_1 y R_2 para obtener el voltaje deseado. Los cálculos de los componentes se detallan más adelante. Los capacitores que se utilizan en esta configuración ayudan en la estabilidad del regulador y el diodo de retroalimentación es para protección e impide que el regulador sea polarizado inversamente, cuando se desconecta la tensión de alimentación de entrada mientras la fuente de salida permanece encendida o activa [47].

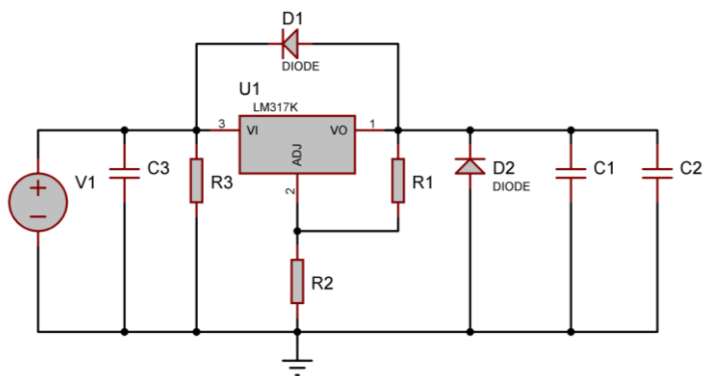


Imagen 13. Configuración del LM317 recomendada por el fabricante por el fabricante. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Para determinar el valor de la resistencia R_2 se propone el valor de R_1 y se emplea la ecuación (1) que es proporcionada por el fabricante en la hoja de datos del componente.

$$R_2 = \frac{R_1 \cdot V_{out}}{1.25} - R_1 \quad (1)$$

$$R_2 = \frac{270 \cdot 7}{1.25} - 270$$

$$R_2 = 1242 \Omega$$

Se obtiene un valor de resistencia R_2 de 1242 Ohms que coincide con los valores de resistencia R_1 y R_2 presentes en las tabla de relación de resistencias para el LM317 (Tabla 2) [47].

Tabla 2. Relación de resistencias en Ohms

Valor de R_2 (Ω)	Valor de R_1 (Ω)		
	240	270	330
1200	7.50 V	6.81 V	5.80 V
1500	9.06 V	8.19 V	6.93 V

Se quiere limitar el tiempo de uso del dispositivo para minimizar los posibles efectos secundarios por el uso prolongado de leds ultravioleta. Además, en un futuro se pretende controlar la potencia lumínica de los LEDs por medio de PWM, por ello se decidió utilizar un microcontrolador que controle el tiempo que los leds estén encendidos en primera instancia y que tenga un módulo de PWM. Se

eligió el microcontrolador PIC12F675 que tiene como características un oscilador interno de 4 MHz, 2 timers, 1 de 8 bits y otro de 16 bits (con módulo de PWM), 1 convertidor A/D de 10 bits.

3.2 Simulación del sistema electrónico

Una vez seleccionados los componentes principales se procede al diseño del circuito electrónico del dispositivo. Para esto se empleó el software de diseño electrónico *Proteus Desing Suite* en la versión “Proteus 8 Professional”. Este software permite realizar desde el diagrama electrónico, simulación de hardware y firmware e inclusive el diseño de las placas de circuito impreso. El software se utilizó en una computadora HP ENVY con un procesador AMD A10-5750M APU con Radeon™, HD Graphics 2.50 GHz, 6.00 GB de RAM con sistema operativo Windows 10 Home.

La simulación realizada con los datos obtenidos de los cálculos anteriores, muestra un voltaje de salida de 4.293 V del regulador de voltaje. Esto no coincide con el valor requerido de 7 V, por lo que se ajustan los valores de R2 para lograr el voltaje adecuado. El nuevo valor de R2 es de 3 k Ω . Se decide emplear un potenciómetro para modificar el voltaje de salida en caso de que se requiera. (Imagen 14). El pin6 (GP1) se emplea como salida para activar o desactivar los LEDs.

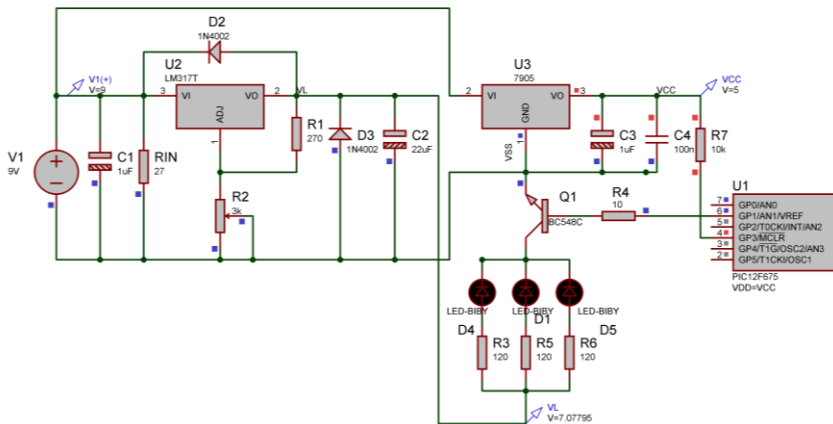


Imagen 14. Diagrama electrónico del dispositivo. Los valores de las resistencias están en Ohms, a menos que se indique lo contrario. V1 es una batería recargable de 250 mAh. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

3.3 Programación de PIC

Se requiere limitar el tiempo de exposición a la luz UV y al mismo tiempo asegurar el tiempo de eliminación bacteriana óptimo. El firmware programado en el microcontrolador se muestra a continuación. El tiempo de exposición programado será determinado por las pruebas de laboratorio, estas pruebas se explican posteriormente, por lo que esta variable “/* tiempo */” se programó una vez realizadas la pruebas detalladas en el capítulo 4. El firmware se realizó con el software PIC C compiler de la empresa CCS. Inc., el cual está basado en lenguaje C++.

```

#include <12F675.h>
#fuses INTRC_IO, NOWDT, NOPUT, NOPROTECT, NOCPD, NOMCLR
#use delay(internal=4000000)
#define GP0 PIN_A0

void init()

{
    set_tris_a( 0b11111100 );           // Conjunto
salida GP1, todas las                  // demás
entradas
    setup_comparator( NC_NC_NC_NC );   //
Deshabilitar comparadores
    setup_adc_ports( NO_ANALOGS );     //
Deshabilitar entrada analógica
    setup_adc( ADC_OFF );              //
Deshabilitar ADC
}

main()
{
    init();
    output_high( GP0 );                 // Encendido
del LED
    delay_ms( /* tiempo */ );          // Duración
de encendido
    output_low( GP0 );                  // Apagar LED
}

```

3.4 Implementación del dispositivo

Una vez corroborado en simulación el comportamiento del circuito se procedió a ensamblar el circuito con los elementos físicos para comprobar los resultados obtenidos en la simulación. (Imagen 15)

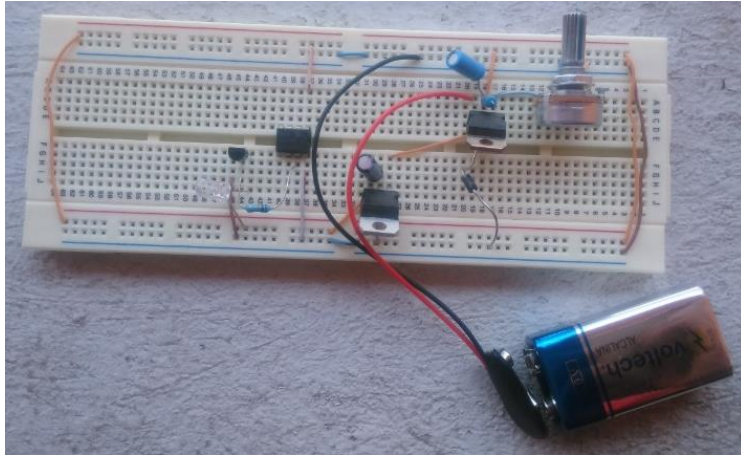


Imagen 15. Se ensambla el circuito de acuerdo a la simulación en una protoboard sustituyendo los leds de ultravioleta por un led común. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Las resistencias limitadoras de corriente (R3, R5 y R6) mostradas en el circuito de la IMAGEN 10, se calcularon para permitir una corriente máxima de 20 mA, que es la corriente máxima especificada por el fabricante. El valor de la resistencia se calculó con ayuda de la ecuación (2) :

$$R = \frac{V}{I} \quad (2)$$

Donde el voltaje (V) se determina como el voltaje de salida del regulador de voltaje (V_s) menos el voltaje de salida después de cada LED (V_L) (3).

$$V = V_s - V_L \quad (3)$$

$$V = 7 - 5$$

$$V = 2$$

Con este valor se calcula el valor de la resistencia por medio de la ecuación (2).

$$R = \frac{2 V}{20 mA}$$

$$R = 100 \Omega$$

Con todos los elementos determinados se procedió a diseñar la tarjeta de circuito impreso considerando como limitante que el tamaño de la tarjeta no debe exceder el espacio reservado para ella en el encapsulado. La implementación de los circuitos se realizó con dos tarjetas de circuito impreso, una para los componentes electrónicos de alimentación y control y otro solo para los LEDs (Imagen 16).

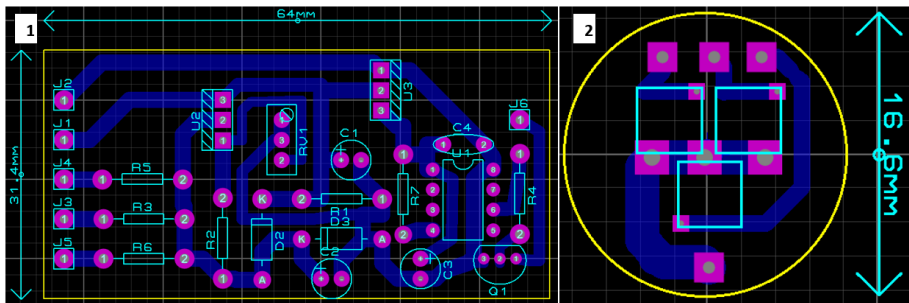


Imagen 16. En la figura 1 se muestra las pistas del circuito de alimentación del dispositivo mientras que en la figura 2 se muestran las pistas donde se colocaran los leds. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

La Imagen 17 muestra la visualización tridimensional del circuito diseñado. En la Imagen 18 se muestra el diseño de pistas del circuito impreso, el cual fue fabricado utilizando la técnica de transferencia por calor en la tarjeta de cobre y el grabado se realizó por medio de cloruro férrico. Este proceso se muestra de la Imagen 19 a la 21.

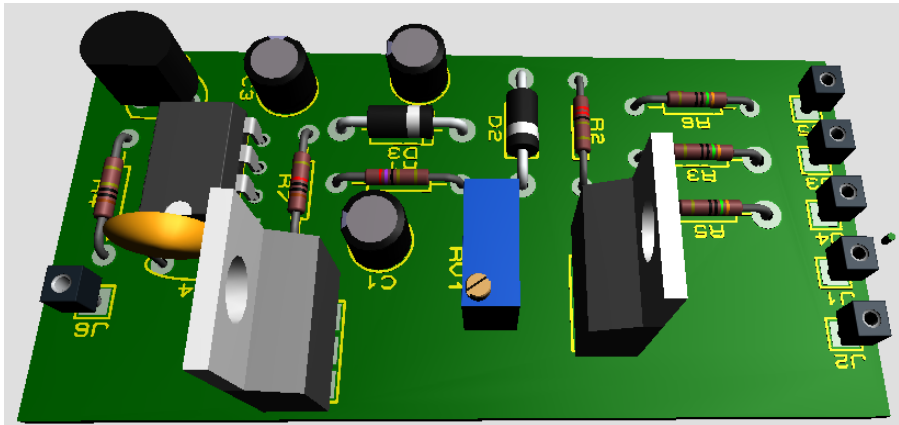


Imagen 17. Para asegurar que la tarjeta entre sin problemas en la tarjeta se dejan espacios en la misma para poder doblar los encapsulados estándar TO-220 que corresponden a los reguladores de voltaje y se colocan los conectores a los extremos para facilitar su conexión. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

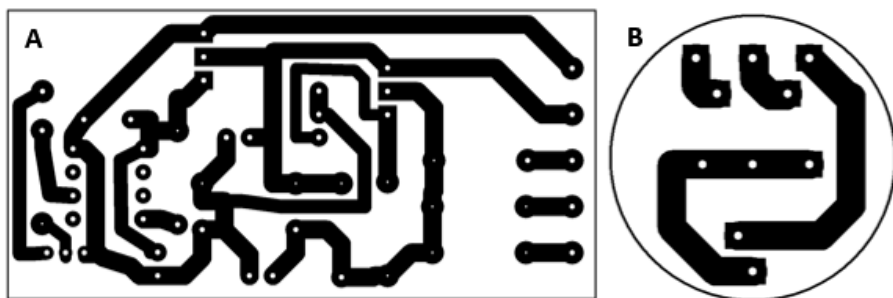


Imagen 18. Placa de circuitos impresos de A) Tarjeta de control del dispositivo y B) Tarjeta impresa de LED's. (Imagen obtenida de mi archivo personal)



Imagen 19. Se decide imprimir tres circuitos en la placa de cobre para aumentar la probabilidad de tener circuitos con las pistas completas y en caso de que presenten discontinuidad en las pistas se procede a completarlas con marcador permanente. (Imagen obtenida de mi archivo personal)



Imagen 20. Se sumerge completamente la tabla de cobre durante un tiempo aproximado de 15 minutos para eliminar el cobre que no se encuentra protegido por las pistas. (Imagen obtenida de mi archivo personal)



Imagen 21. Se elimina el exceso de cloruro férrico con agua y se procede a eliminar la tinta que protege a las pistas con una lima de agua. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Una vez que se limpiaron los restos de cloruro férrico se procedió a perforarla, cortarla y soldar los componentes. Este proceso se muestra de la Imagen 22 a la Imagen 24.



Imagen 22. Se realizan las perforaciones en los lugares donde se ubicaran los componentes con la ayuda de una Herramienta rotativa de la marca Dremel. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Las tarjetas cortadas y perforadas se muestran en la Imagen 23 y en la Imagen 24 se muestra el circuito ensamblado.

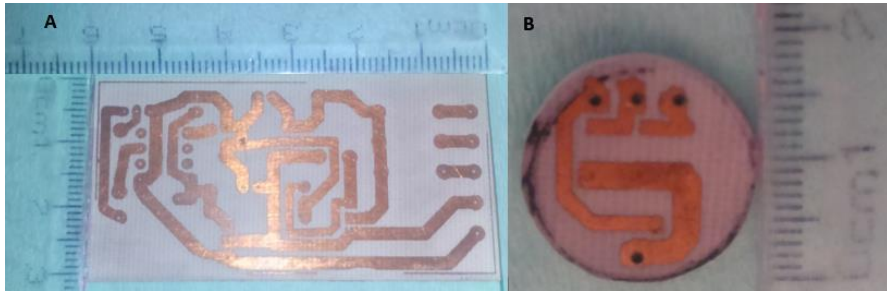


Imagen 23. Circuito impreso de A) Tarjeta de control y B) Tarjeta de LEDs. (Imagen obtenida de mi archivo personal)



Imagen 24. Se soldán los componentes electrónicos a la tarjeta de acuerdo a la simulación hecha en la computadora y se coloca un interruptor para controlar la alimentación proveniente de la batería de 9 V. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

3.5 Encapsulado del sistema

Con el fin de garantizar la protección del circuito electrónico y facilitar su uso, se diseñó un encapsulado que contendrá la placa de circuito impreso, la batería, los LEDs y un orificio donde insertar la

fibra óptica. El diseño del encapsulado se realizó con el software de la empresa Dassault Systèmes SolidWorks Corp. “*Solid Works Premium 2017*”, en un equipo de cómputo, HP ENVY con un procesador AMD A10-5750M APU con Radeon™, HD Graphics 2.50 GHz, 6.00 GB de RAM y con sistema operativo Windows 10 Home. El modelo tridimensional del dispositivo se muestra en la Imagen 25, así como en la Imagen 26 se muestran diferentes vistas del dispositivo y su explosionado en la Imagen 27; así como sus planos del dispositivo y sus piezas en Apéndice 2.



Imagen 25. Dispositivo emisor de luz UVC. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

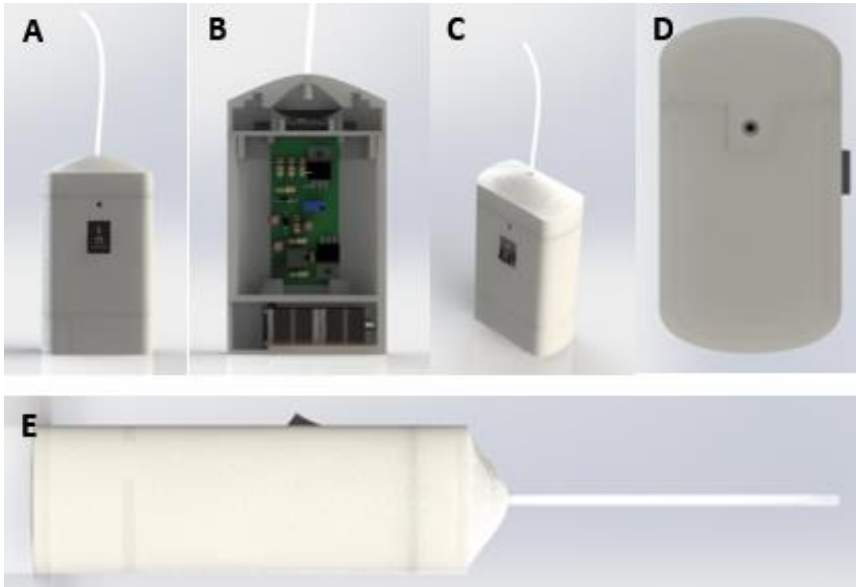


Imagen 26. Modelo tridimensional del dispositivo. A) Vista frontal, B) Vista frontal con corte de sección en la parte anterior de la carcasa, C) Vista isométrica, D) Vista inferior y E) Vista lateral. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

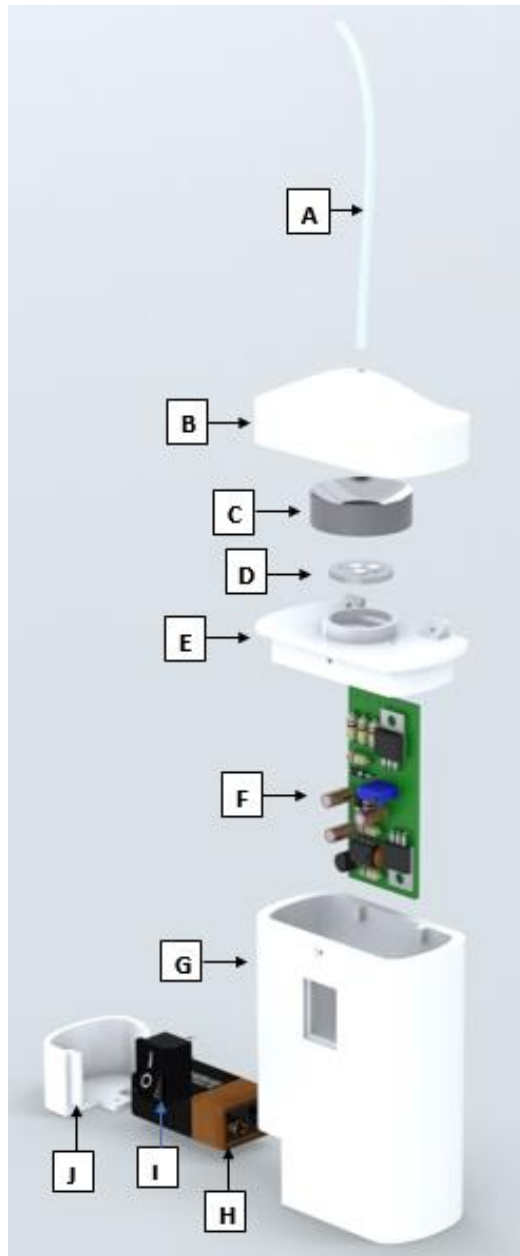


Imagen 27. A) Fibra óptica rasgada, B) Cono, C) Parábola, D) Base LED's, E) Tapa superior, F) Placa de circuito, G) Carcasa, H) Batería, I) Apagador y J) Tapa inferior. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Para utilizar el dispositivo durante la diálisis peritoneal es necesario utilizar un acople que permita el libre paso del líquido dializante y al mismo tiempo permita introducir la fibra óptica en el catéter. Con este fin se diseñó un acople (Imagen 28) que cumple con estas características y además no dificulta realizar el tratamiento de diálisis peritoneal.

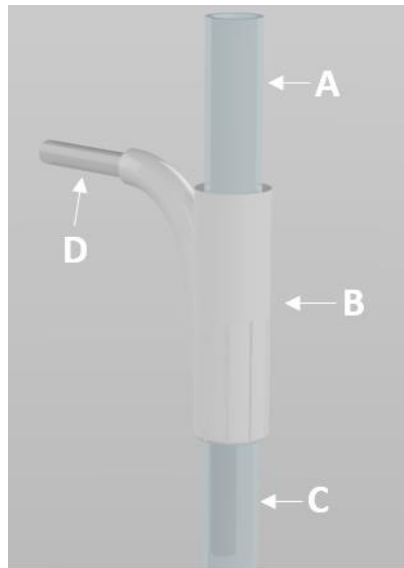


Imagen 28. Acople para la introducción de fibra óptica y libre paso de líquido dializante. Esta conexión cuenta con tres entradas en la sección A se muestra el catéter proveniente de la bolsa de diálisis, en la sección B se muestra el cuerpo de la conexión, en la sección C se muestra el segmento de catéter que se dirige al paciente y en la sección D se muestra la fibra óptica proveniente del dispositivo. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Una vez integrados todos los componentes y verificado que el circuito funcionara adecuadamente se procedió a introducirlo en el encapsulado. En la Imagen 29 e Imagen 30 se pueden observar las

diferentes partes del encapsulado en fue impreso en material ABS con ayuda de una impresora 3D.

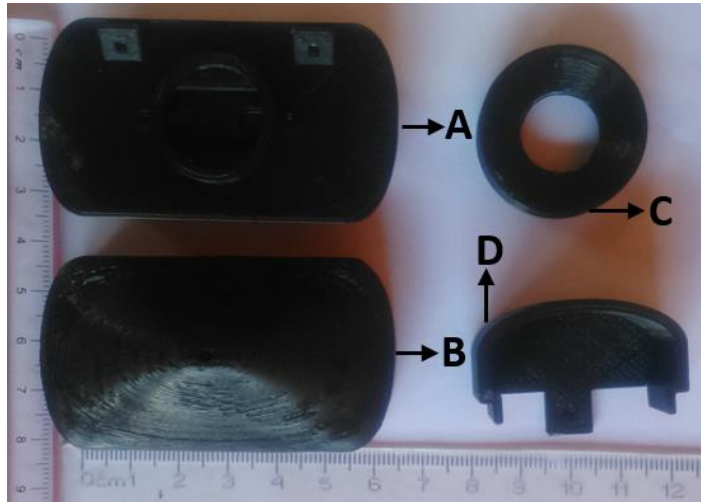


Imagen 29. A) Tapa superior, B) Cono, C) Carcasa, D) Parábola y D) Tapa inferior.
(Imagen obtenida de mi archivo personal)



Imagen 30. Carcasa principal del dispositivo. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Con los elementos estructurales del dispositivo listos se procedió a incorporar los componentes electrónicos (Imagen 31).

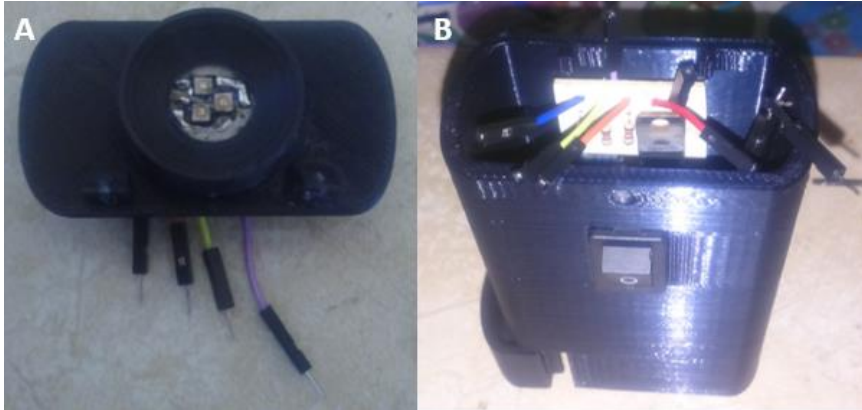


Imagen 31. En la imagen A se muestra la tapa superior junto con la tarjeta de los leds, que es asegurada con la ayuda de la parábola. En la imagen B se muestra la carcasa junto con la tarjeta de control, esta a su vez se conecta con la batería para alimentar el dispositivo. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Una vez armado el dispositivo se realizan las pruebas de encendido y apagado para corroborar que el dispositivo funcione correctamente y para finalizar se colocó la tapa (Imagen 32).

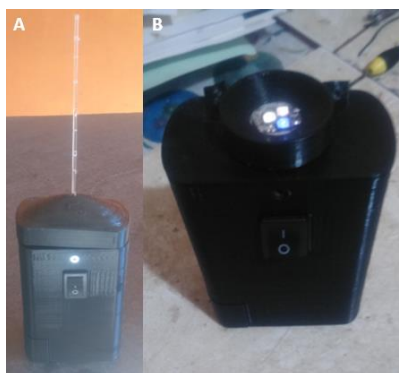


Imagen 32. En la imagen A se muestra el dispositivo con todos sus componentes, mientras que en la imagen B se muestran los LEDs funcionando. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Una vez realizado el tratamiento se procedería a retirar el catéter proveniente de la bolsa de diálisis y después se retirará la fibra óptica y se apagará el dispositivo.

Con esto ya se da por terminado el prototipo del dispositivo, el cual tiene las siguientes características:

- Tamaño: 111mm de alto, 70 mm de ancho y 38 mm de grosor
- Peso: 150 g
- Alimentación: Batería de 9 V
- Consumo de potencia: 450 mW
- Duración de batería: 2 horas
- Potencia lumínica: 1.6-2.5mW

En la Imagen 33 se muestra como se pretende que sea usado el dispositivo. Se sugiere que antes de realizar el tratamiento se desinfecte con alcohol el área expuesta del acople, debido a que en esta área no incide la radiación UVC. Una vez desinfectada esta área se procederá a encender el dispositivo y a introducir la fibra óptica a través del acople. Una vez con la fibra óptica insertada en el dispositivo se

procederá a realizar la conexión del acople con la bolsa de diálisis y entonces se procederá a realizar el tratamiento de manera normal.

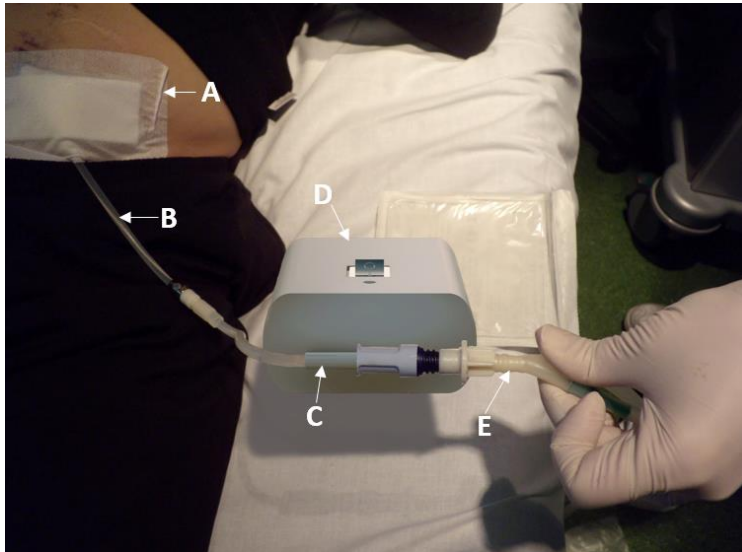


Imagen 33. Uso propuesto del dispositivo durante el tratamiento de diálisis peritoneal. En A se muestra el punto de inserción del catéter en el área abdominal del paciente, en B se muestra el catéter que se dirige al área abdominal, en C se muestra la conexión que comunica con la fibra óptica del dispositivo y el catéter proveniente de la bolsa de diálisis peritoneal, este se muestra en E, y en D se muestra el dispositivo. (Imagen obtenida y modificada de la página: <http://diariodialisis.blogspot.mx/2013/02/>)

Capítulo 4 Pruebas y resultados

4.1 Diseño de pruebas de laboratorio

Debido a que no existe un método establecido para probar la eficacia de métodos físicos para la esterilización, como lo es la radiación UVC, en materiales sólidos, se tomó como referencia el método establecido por la Asociación de Comunidades Analíticas (AOAC) para establecer un método apropiado de prueba para comprobar la eficacia del dispositivo propuesto.

El método establecido por la AOAC “*Use Dilution*” sirve para probar la eficacia de los desinfectantes líquidos en superficies sólidas. Este método es especificado por la Agencia de Protección Ambiental, EPA (por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos como el método requerido para la aprobación de cualquier sustancia como desinfectante.

El método de dilución se realiza, en resumen, remojando vehículos de acero inoxidable en bacterias, tratándolos con el desinfectante y finalmente colocando los vehículos en caldo de crecimiento para determinar si alguno todavía tiene bacterias sobrevivientes. Esto hace que el método sea cualitativo, lo que significa que los resultados se determinan por si las bacterias crecen o no, en vez de enumerar las bacterias [48].

Tomando como referencia la información anterior se diseñaron las pruebas para probar la eficacia del dispositivo con apoyo de la M. en

S.H.O. Lidia Sandoval Flores y de la Dra. en C. Araceli Consuelo Hinojosa Juárez. Estas pruebas se llevaron a cabo en el laboratorio de agentes patógenos de la Facultad de Medicina de la UAEMex.

La metodología de las pruebas consiste en 9 etapas:

1. Reactivación de cepa.

- Se tomara la cepa bacteriana inactiva para realizar el sembrado de la misma en una caja de Petri con agar, esto se hace con el fin de darle los nutrientes necesarios a la bacteria para que esta pueda volver a crecer.
- Se realiza la cosecha de la cepa bacteriana reactivada para realizar una suspensión bacteriana.

2. Realizar suspensión bacteriana.

- Se realizara una comparación cualitativa de la turbidez de la suspensión con la ayuda de un patrón de turbidez de 0.5 McFarland para tener una aproximación de las UFC presentes en la suspensión. El patrón McFarland es un pequeño tubo de cristal que cuenta con un líquido en su interior con cierto nivel de turbidez, esta turbidez sirve como referencia para determinar el número aproximado de UFC, puesto que dependiendo de la turbidez del McFarland este nos dará un aproximado del número de microorganismos que contendrá una suspensión bacteriana con la misma turbidez.

- Como el patrón de turbidez McFarland no discrimina a las bacterias vivas de las muertas en la suspensión, es necesario realizar una serie de diluciones para estimar el número de bacterias viables presentes en la suspensión.

3. Serie de diluciones

- Se tomara como punto de partida para conocer el número de microorganismos el indicador de turbidez de 0.5 McFarland, este nos indica que el número aproximado de microorganismos presentes en la suspensión es de 1.5×10^8 UFC*ml⁻¹, por lo que para tener un número contable de UFC, entre 25 y 250, es necesario realizar 6 diluciones.
- Se realizara una serie de diluciones 1:10 consecutivas, por lo que se emplearan 6 tubos de ensaye estériles, en estos se colocaran 9ml de solución salina al 9% y se rotularan de manera consecutiva del 1 al 6.
- Se tomara 1 ml de la suspensión bacteriana con la ayuda de una pipeta estéril y se vaciara en el tubo rotulado con el número 1.
- La suspensión en el tubo 1 se homogenizara por medio de dos succiones y vaciados consecutivos de la propia solución con la ayuda de una pipeta estéril de 1 ml, después con una pipeta nueva se tomara 1 ml y se vaciara en el tubo 2 y esta se

homogeneizara de la misma forma mencionada anteriormente y se seguirá con el mismo procedimiento para los demás tubos.

4. Sembrado de cepas bacterianas

- Después de homogeneizar las suspensiones en los 6 tubos se procederá a realizar el sembrado de las cepas presentes en los tubos rotulados con los números 4, 5 y 6.
- Se tomara 0.1 ml de los tubos mencionados anteriormente para realizar el sembrado por vertido en placa por duplicado en cajas de Petri con agar MUELLER HINTON y se pondrá a incubar en un horno durante 24 horas.

5. Determinación de bacterias activas en la suspensión bacteriana.

- Después de que se sembraron las placas se procederá a realizar el conteo de las UFC presentes en las estas.
- Ya con la cuenta de los microorganismos se procederá a realizar los cálculos matemáticos correspondientes para determinar el número de bacterias en la suspensión sin diluir.

6. Contaminación del catéter

- Para contaminar el catéter se utilizarán 3 bolsas resellables y en cada una de ellas se colocará 1.0 ml de la suspensión bacteriana que no está diluida junto con un corte de 10 cm de catéter estéril para impregnarlo con bacterias con la ayuda de movimientos oscilatorios.
- Se tomará 1 ml de la suspensión bacteriana y se sembrará en una caja de Petri, y esto nos servirá como control positivo.

7. Esterilización con luz UVC

- El catéter se expondrá a la luz UVC durante diferentes lapsos de tiempo, la bolsa se rotulará de acuerdo al tiempo de exposición que será expuesto el catéter.
- Se introducirá en el catéter la fibra óptica rasgada que a su vez estará conectada al dispositivo de luz UVC durante el tiempo marcado en la bolsa.

8. Recuperación de bacterias sobrevivientes

- Después de la exposición del catéter a la luz UV se recuperarán las células microbianas trasladando el catéter a una nueva bolsa resellable para realizar un enjuague en la superficie interna y externa del catéter con 1 ml de solución salina al 0.9%.

- Se obtiene una muestra de 0.1 ml para sembrarla por estría cerrada y cruzada en una caja de Petri para posteriormente incubarla durante 24 horas.

9. Determinación de porcentaje de eliminación

- Después de las 24 horas dentro del horno de incubación se procederá a realizar el conteo de las UFC presentes en las cajas de Petri.
- Se realizaran los cálculos correspondientes para determinar el porcentaje de eliminación bacteriana.

Una vez determinado la metodología a seguir durante las pruebas es necesario mencionar el material que se va a utilizar para la realización de las mismas.

4.2 Material para la elaboración de las pruebas

Una vez establecida la metodología se procedió a realizar el listado del material de laboratorio que se utilizó en las pruebas.

4.2.1 Material para el sembrado de bacterias.

- Pipetas de 1ml.
- Micropipetero.
- Tubos de ensaye de 75x10 mm.

- Tubos de ensaye de 100x16 mm.
- Cajas de Petri.
- Mechero Bunsen.
- Agujas de 1 ml.
- 1 asa para el sembrado bacteriológico.
- Material para desinfección del área de trabajo (alcohol al 70% y algodón).
- Equipo de seguridad (guantes, cubrebocas, lentes de seguridad y cofia).

4.2.2 Material para la preparación del agar.

- Vasos de precipitado de 1000 ml.
- Matraz Erlenmeyer.
- Probetas.
- Espátulas.
- Guantes de asbesto.
- Mechero bunsen.
- Rejilla.
- Trípode.
- Agar Mueller Hinton
- Agua destilada.

4.3 Pruebas de laboratorio

De acuerdo a la clasificación de microorganismos infecciosos por grupos de riesgo en el manual de bioseguridad de la OMS, las bacterias con los que se trabajan pertenecen al grupo de riesgo 1 debido a que son microorganismos oportunistas y con escasa o nula probabilidad de provocar enfermedades dentro del laboratorio [49], por lo que las medidas de seguridad tomadas durante el proyecto son las que se incluyen en el reglamento interno del laboratorio, el cual tiene un nivel de bioseguridad nivel 1 (enseñanza básica e investigación). Los desechos quedarán a disposición del mismo laboratorio para su segura eliminación de acuerdo al reglamento propio con el que cuenta el laboratorio.

4.3.1 Pruebas de la metodología propuesta.

Para iniciar las pruebas de laboratorio fue necesario estandarizar la metodología, esto con el fin de conocer las variables involucradas en el desarrollo en las mismas, por lo que en esta primera etapa se utilizó como fuente de luz ultravioleta una lámpara comercial.

Debido a que las cepas bacterianas se encontraban refrigeradas para su conservación fue necesario reactivarlas, en este caso se reactivó una cepa de *S. aureus* ATCC 6538.P. Para reactivarla se sembró la cepa bacteriana en distintos agares (Imagen 34) para comprobar la viabilidad de la misma (Imagen 35). Se realizó la cosecha de la bacteria activa (Imagen 36) para preparar 10 ml de

suspensión bacteriana con una turbidez McFarland No. 1 con la cual se estimó una concentración bacteriana de 3×10^8 UFC/ml.



Imagen 34. Se realiza la siembra en agar de sal y manitol, agar chocolate y agar sangre para reactivar la cepa. (Imagen obtenida de mi archivo personal)



Imagen 35. Con la activación de la cepa bacteriana nos aseguramos que esta es apta para realizar las pruebas. (Imagen obtenida de mi archivo personal)



Imagen 36. McFarland No. 0.5 y cepa de S. aureus ATCC 6538.P, con la que se realizó la suspensión bacteriana. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Se coloca 1.0 mL de la suspensión bacteriana (Imagen 37) dentro de una bolsa resellable junto con un segmento de 10 cm de catéter Nelaton de PVC transparente atóxico de grado médico estéril para impregnarlo con bacterias *S. aureus* ATCC 6538.P por medio de movimientos oscilatorios (Imagen 38).



Imagen 37. Suspensión bacteriana de S. aureus ATCC 6538.P con una turbidez estimada por comparación McFarland (MF) No. 1. (Imagen obtenida de mi archivo personal)



Imagen 38. Inoculo en contacto con catéter estéril de diálisis peritoneal con S. aureus ATCC 6538.P. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Se recuperaron las células microbianas trasladando el catéter a una nueva bolsa resellable y se agregó 1 ml de solución salina al 0.9% para lograr un enjuague en la superficie interna y externa del catéter (Imagen 39), se obtuvo una muestra de 1 ml para sembrarla por estría cerrada y cruzada en una caja de Petri con agar sangre, esta muestra fue tomada como control positivo.

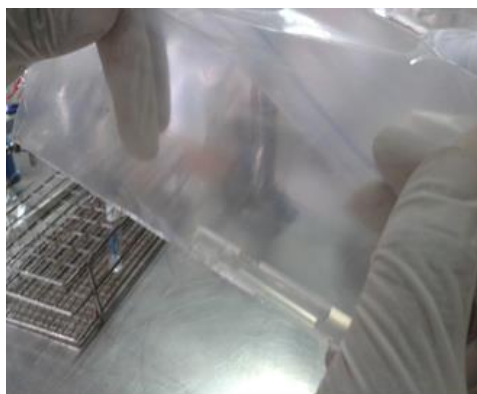


Imagen 39. El enjuague se realiza con el fin de recuperar los microorganismos que se encuentran adheridos a las paredes del catéter para determinar cuántas de estas son viables. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Para medir la efectividad del principio físico de desinfección de la luz UVC mediante su transmisión por medio de fibra óptica rasgada, se realizaron dos pruebas, una de 10 minutos y otra de 20 minutos.

La primera muestra de catéter se trasladó a una bolsa resellable estéril para realizar la primera dilución donde se aplicó la luz UVC a través de fibra óptica rasgada (Imagen 40) durante 10 minutos (Imagen 41) con la ayuda de una lámpara UV modelo UVGL-25 *mineralight lamp multiband uv 254/366 nm* (Imagen 42).



Imagen 40. Se introduce en el catéter un cartucho de fibra óptica rasgada para transmitir la luz ultravioleta germicida después de que este se sumergió en una suspensión bacteriana. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

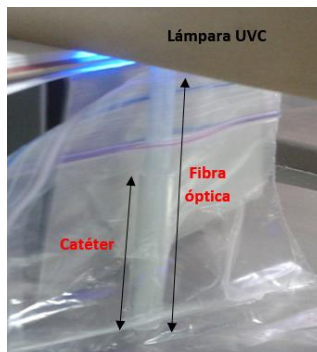


Imagen 41. Aplicación de luz UV durante diferentes intervalos de tiempo para ver cuál es el óptimo para asegurar la desinfección del catéter. (Imagen obtenida de mi archivo personal)



Imagen 42. Lámpara UV utilizada durante la realización de la prueba. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Posteriormente se recuperaron las células microbianas a través de un lavado del catéter contaminado, con 1 ml de solución salina al 0.9% para recuperar las UFC adheridas al catéter irradiado con luz UVC, con una relación 1:2.

Con la suspensión bacteriana anterior se realizó el sembrado de la segunda dilución tomando 0.1 ml y colocándola en una caja de Petri con agar sangre por medio del mismo estriado.

Para la segunda muestra del catéter de prueba se realizó el mismo procedimiento de contaminación, mencionado anteriormente, aumentando el tiempo de exposición a la luz UVC a 20 min.

Se rotulan las tres cajas de Petri como (“Control +”, “10 minutos” y “20 minutos”), éstas se incuban durante 24 horas a una temperatura de 37 ± 2 °C.

Después de 24 horas de incubación se procede a realizar el conteo de las UFC presentes en las tres cajas de Petri:

- En la caja rotulada como “Control +” se tuvo una gran proliferación bacteriana por lo que el resultado se reporta como incontables las UFC (Imagen 43).
- En la caja rotulada como “10 minutos” se aprecia una reducción de UFC en comparación con “Control +” pero aun resultan ser demasiadas para ser contabilizadas de acuerdo con la teoría del número de UFC estadísticamente representativos entre 25-250 UFC (Imagen 44) (si son menores que 25 UFC podría tratarse de contaminación y si son mayores de 250 UFC son demasiadas por lo que la cercanía entre las colonias podrían sobreponerse y no se tendría un numero correcto de UFC presentes).
- En la caja rotulada como “20 minutos” se contabilizaron 114 UFC (Imagen 45) por lo que fue seleccionada para realizar el cálculo del porcentaje de reducción.

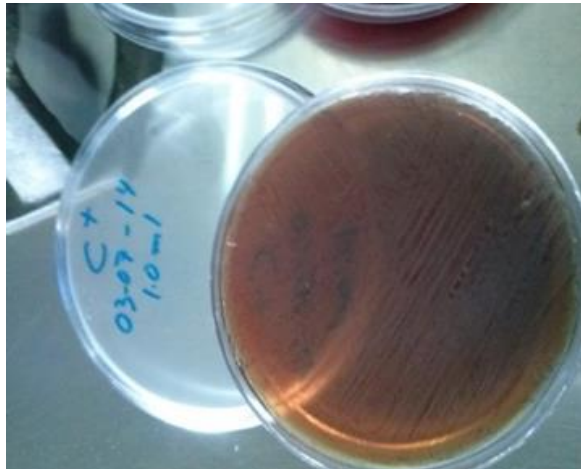


Imagen 43. Caja de Petri con agar sangre utilizada como “Control +” del crecimiento de S. aureus ATCC 6538.P donde el número de UFC es incontable. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

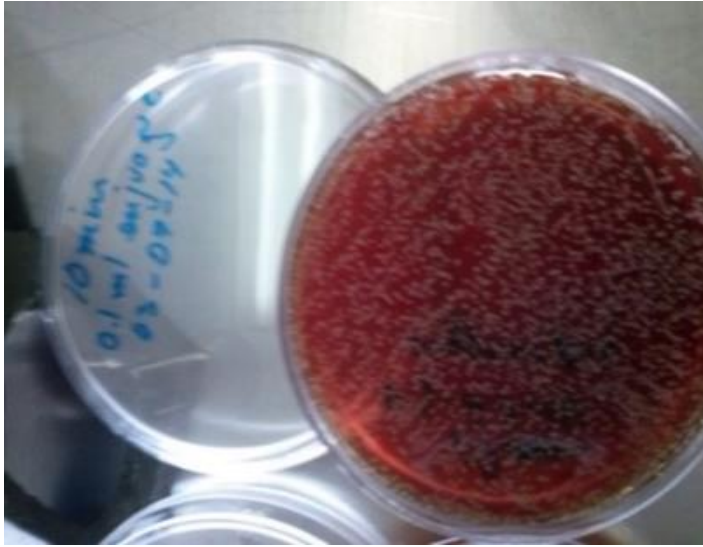


Imagen 44. Prueba de recuperación de *S. aureus* ATCC 6538.P en el catéter contaminado después de ser irradiado 10 minutos con luz UV. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

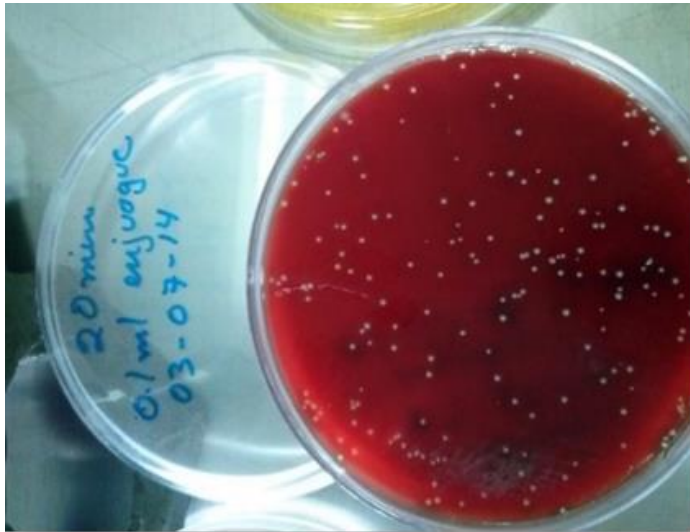


Imagen 45. Prueba de recuperación de *S. aureus* ATCC 6538.P en el catéter contaminado después de ser irradiado 20 minutos con luz UV. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

El cálculo de la reducción de UFC se realizó acorde a la metodología de reducción bacteriana para trabajar métodos de esterilización, por medio de la ecuación (4).

$$\text{Porcentaje de reducción} = \frac{N_o - N_F}{N_o} \times 100 \quad (4)$$

$$\begin{aligned} \therefore N_o &= \text{número de UFC en la suspensión} \\ N_F &= \text{número de UFC finales} \end{aligned}$$

Donde:

$$N_o = 3 \times 10^8 \text{ UFC/mL}$$

Para determinar N_F es necesario tomar en cuenta el número de bacterias sobrevivientes a la radiación y el número de diluciones hechas, para ello se utiliza la ecuación (5).

$$N_F = (\text{UFC sobrevivientes}) \times (\text{Dilución}) \quad (5)$$

Para calcular la dilución se multiplica la inversa de la dilución que se obtuvo, en este caso 1:2, por la inversa del volumen en ml sembrados, por lo que se obtiene la ecuación (6):

$$\text{Dilución} = \frac{2 \times 2}{1 \times 1 \times 0.1 \text{ mL}} = 40/\text{ml} \quad (6)$$

Se calcula N_F por medio de (5).

$$N_F = 114 \text{ UFC} \times 40/\text{mL} = 4560 \text{ UFC/ml}$$

Calculando porcentaje de reducción por medio de la ecuación (4).

Porcentaje de reducción

$$\begin{aligned} &= \frac{3 \times 10^8 \text{ UFC/ml} - 4560 \text{ UFC/ml}}{3 \times 10^8 \text{ UFC/ml}} \times 100 \\ &= 99.9984 \% \end{aligned}$$

Se obtiene un porcentaje de eliminación del 99.998% a los 20 minutos (Imagen 46). Este dato valida el principio físico de que es posible transmitir radiación ultravioleta germicida por medio de fibra óptica rasgada, por lo que es posible seguir con las pruebas para desarrollar el dispositivo.

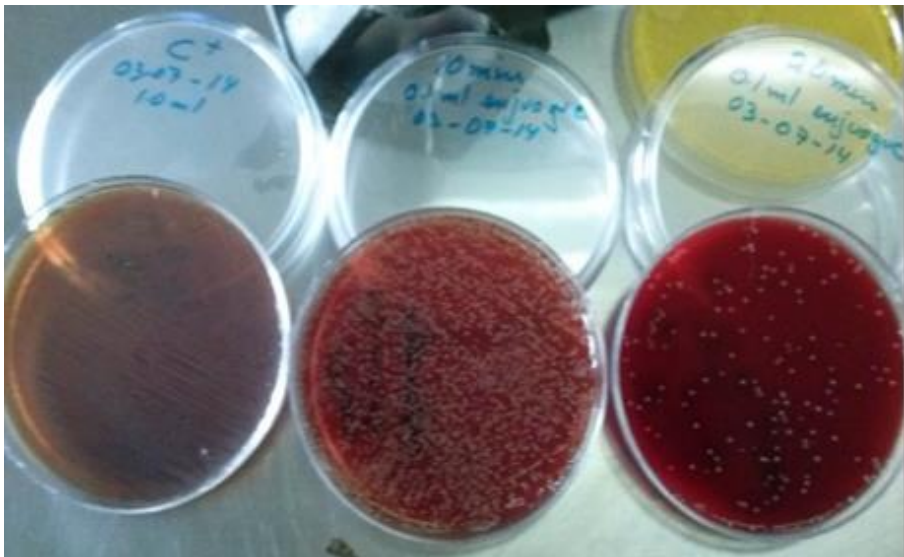


Imagen 46. Porcentaje de reducción bacteriana de 99.9984% que no es suficiente para ser considerado un desinfectante ni esterilizante. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

4.3.2 Validación de pruebas.

A diferencia de la prueba anterior, en esta prueba es necesario conocer el número de UFC que se encuentran presentes en la suspensión por lo que es necesario realizar una serie de diluciones consecutivas para determinar el número inicial de microorganismos a exponer a luz UV-C para obtener resultados representativos (Imagen 47).

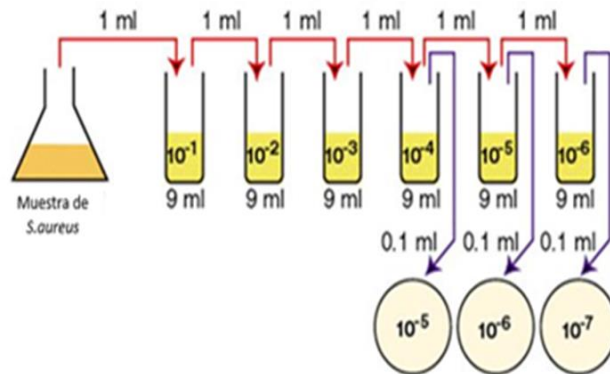


Imagen 47. Serie de diluciones consecutivas realizadas para saber el número inicial de microorganismos con los que se cuenta al hacer la prueba. (Imagen obtenida y modificada de la página: <http://programs.clarendoncollege.edu/programs/NatSci/Biology/microbiology/micro%20online/dilution%20handout%20summer%202006.htm>)

Para realizar la dilución 1:10 se toman 6 tubos estériles de 16x150 donde en cada uno se colocan 9 ml de solución salina al 9% y se rotulan con un número de 1 al 6. En el tubo 1, aparte de los 9 ml de solución salina, se agrega 1 ml de la suspensión con turbidez McFarland No. 0.5 y se homogeneiza la solución con dos succiones y vaciados sucesivos de la propia solución con la ayuda de una pipeta estéril de 1 ml después con una nueva pipeta se toma 1 ml y es vaciada en el tubo

2 y esta es homogeneizada de la misma forma mencionada anteriormente y se sigue el mismo procedimiento hasta los seis tubos (Imagen 48).

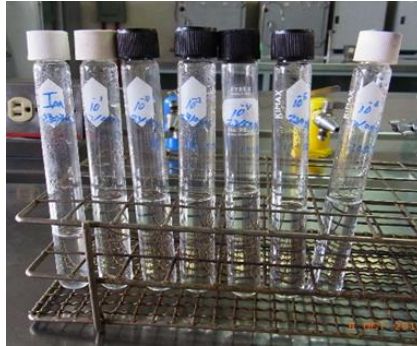


Imagen 48. Se realizó una serie de diluciones para conocer el número original de bacterias, de acuerdo al McFarland con el que se comparó el nivel de turbidez se estiman 10^6 UFC, es por esto que se realizaron 6 diluciones para que en los últimos 3 tubos de ensaye el número de bacterias sea contable y de esta forma por extrapolación determinar el número de UFC con el que se trabajó. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

De los últimos tres tubos (tubo 6, tubo 5, tubo 4) se toma 0.1 ml y se realizó sembrado por vertido en placa por duplicado en cajas de Petri con agar Mueller Hinton (Imagen 49) y fue puesto a incubar durante 24 horas.

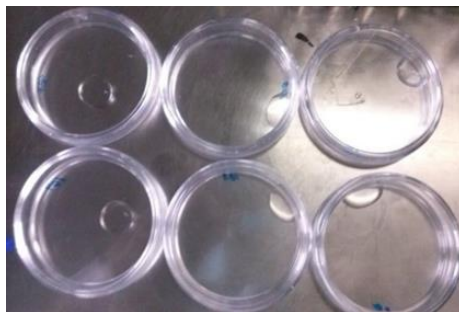


Imagen 49. Sembrado en placa de la cuarta, quinta y sexta dilución para poder calcular el número inicial de microorganismos con los que se trabaja. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Transcurridas las 24 horas se realiza el conteo de las UFC, resultando que sólo en el duplicado del tubo 6 son contables, 114 y 128 UFC correspondientemente (Imagen 50), por lo que al realizar los cálculos correspondientes se tiene 12,100,000 UFC/ml en la dilución original.

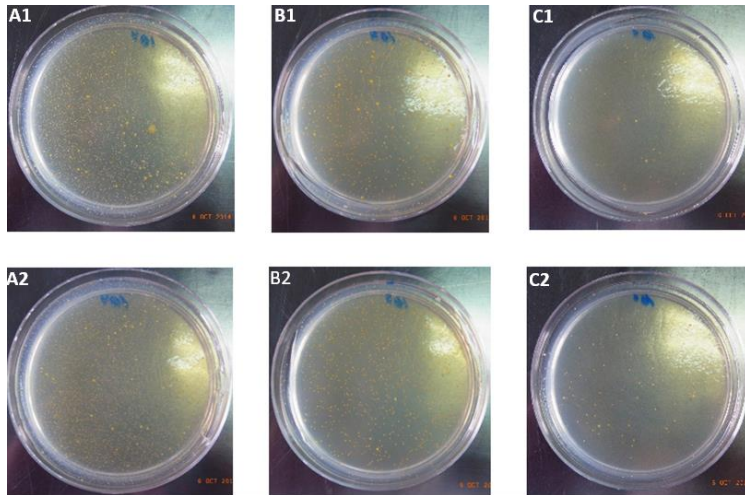


Imagen 50. Resultado del sembrado de la A) cuarta, B) quinta y C) sexta dilución del inoculo. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Se realiza el mismo procedimiento de contaminación y aplicación de luz ultravioleta mencionado anteriormente solo variando el tiempo de exposición a 30 y 40 minutos realizando el sembrado de las bacterias por duplicado.

Se obtuvo para 30 minutos 19.5 UFC y para 40 minutos 3.5 UFC en promedio respectivamente (Imagen 51)

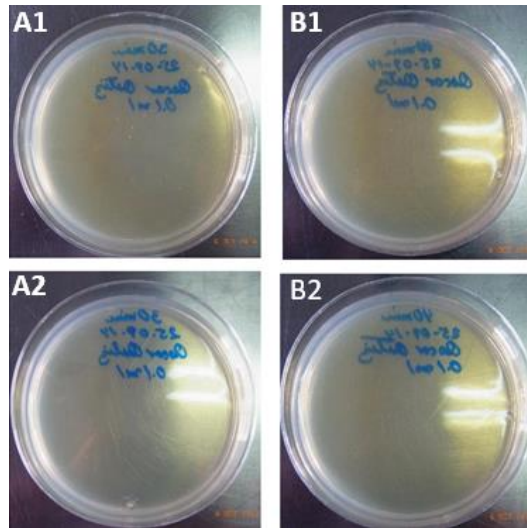


Imagen 51. Resultados del promedio de UFC al ser expuesto durante A) 30 y B) 40 minutos, 19.5 y 3.5 UFC respectivamente, el catéter a luz UV-C. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Con el número de UFC presentes en el inóculo sin diluir se procede a calcular el porcentaje de reducción de UFC correspondiente:

Donde:

$$N_o = 1210 \times 10^4 \text{ UFC} / \text{mL}$$

Después de 30 minutos de exposición a la radiación ultravioleta del inóculo se presentan en cada caja 16 y 23 UFC respectivamente dando en promedio 19.5 UFC, mientras que en las cajas de Petri donde se sembró el inóculo que fue expuesto 40 minutos se presentaron 5 y 2 UFC dando en promedio 3.5 UFC.

Se calcula N_F por medio de la ecuación (5) y como se realizaron dos diluciones como en la prueba anterior se utiliza la ecuación (6).

Para 30 minutos:

$$N_{F30} = 19.5 \text{ UFC} \times 40/\text{mL} = 780 \text{ UFC/mL}$$

Para 40 minutos:

$$N_{F40} = 3.5 \text{ UFC} \times 40/\text{mL} = 140 \text{ UFC/mL}$$

Calculando porcentaje de reducción por medio de la ecuación (4) para los dos intervalos de tiempo:

Para 30 minutos:

Porcentaje de reducción₃₀

$$\begin{aligned} &= \frac{12,100,000\text{mL} - 780 \text{ UFC/mL}}{12,100,000\text{mL}} \times 100 \\ &= 99.9935 \% \end{aligned}$$

Para 40 minutos:

Porcentaje de reducción₄₀

$$\begin{aligned} &= \frac{12,100,000 \text{ UFC/mL} - 140 \text{ UFC/mL}}{12,100,000 \text{ UFC/mL}} \times 100 \\ &= 99.9988 \% \end{aligned}$$

La primera prueba se realizó mediante la comparación visual del inóculo de prueba con un patrón de turbidez MacFarland 0.5, lo que indica una concentración estimada de 3×10^8 UFC/ml; sin embargo esta prueba solo sirvió para la estandarización de la técnica e identificación de parámetros de partida de tiempo.

En esta segunda prueba se conoce el número inicial de microorganismos a exponer a luz UVC para obtener resultados representativos, así el inóculo de prueba es 12.1×10^6 UFC/ml y con la exposición de 30 minutos se observa una importante reducción del 99.9935%; en cambio con los resultados de exposición a 40 minutos se deja ver una mayor reducción con 99.9988%.

Una porción de catéter con una longitud de 10 cm de catéter expuesto en contacto directo con una suspensión bacteriana con una cepa de *S. aureus* ATCC 6538.P y posteriormente radiado con luz UV durante 10, 20, 30 y 40 minutos y se obtuvo un porcentaje de reducción bacteriana importante.

Estas pruebas sirvieron para cimentar las bases técnicas con las que se realizaron las pruebas con el dispositivo, por otro lado, la contaminación microbiana en un catéter de diálisis peritoneal inicia con un número de microorganismos que no es necesariamente igual o semejante a la concentración microbiana necesaria para provocar una peritonitis, por lo que al utilizar un gran número de microorganismos se está garantizando el éxito del dispositivo, debido a que las condiciones con las que se presenta una peritonitis en un paciente son menores que las empleadas en esta prueba.

1.1.1.1 Pruebas con esporas

Debido a la gran diversidad de microorganismos que están involucrados en la peritonitis es necesario realizar pruebas con

microorganismos más resistentes por lo que se utilizaron esporas bacterianas, en este caso se empleó una ampolla con solución de esporas de *Geobacillus stearothermophilus* y de *Bacillus firmus*.

Con ambas cepas se realizaron pruebas de control positivo para corroborar la viabilidad de la cepa y de control negativo para corroborar que el agar no este contaminado (Imagen 52). Los materiales que se utilizaron en la prueba son los mismos que ya se mencionaron en las pruebas anteriores. Se siguió empleando la metodología desarrollada en las pruebas anteriores.

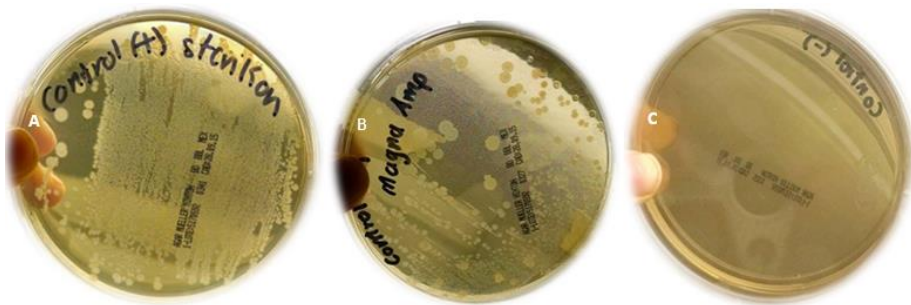


Imagen 52. A) Control positivo de *Geobacillus stearothermophilus* y de B) *Bacillus firmus*, y C) control negativo del agar Mueller Hinton. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Con el número de UFC correspondiente se procedió a calcular el porcentaje de reducción de UFC con la ecuación (4) durante los diferentes intervalos de tiempo.

Cálculo a 10 minutos:
 Porcentaje de reducción₁₀

$$= \frac{600,000 \text{ esporas/mL} - 507 \text{ esporas/mL}}{600,000 \text{ esporas/mL}} \times 100$$

% de reducción=99.9155%

Cálculo a 20 minutos:
*Porcentaje de reducción*₂₀
$$= \frac{600,000 \text{ esporas/mL} - 177 \text{ esporas/mL}}{600,000 \text{ esporas/mL}} \times 100$$

% de reducción=99.9705%

Cálculo a 30 minutos:
*Porcentaje de reducción*₃₀
$$= \frac{600,000 \text{ esporas/mL} - 219 \text{ esporas/mL}}{600,000 \text{ esporas/mL}} \times 100$$

% de reducción=99.9635%

Con los resultados de las pruebas con esporas y *Staphylococcus* obtenidos se realizó la Tabla 3 encontrándose que a partir de los 20 minutos en ambas pruebas el porcentaje de reducción bacteriana decae (Imagen 53), pero en el caso de *Staphylococcus* la eliminación bacteriana a los 40 minutos ya no es significativa con respecto a los 20 minutos, con las esporas ya no se posee estos datos porque no se hicieron pruebas a los 40 minutos para corroborar un resultado similar.

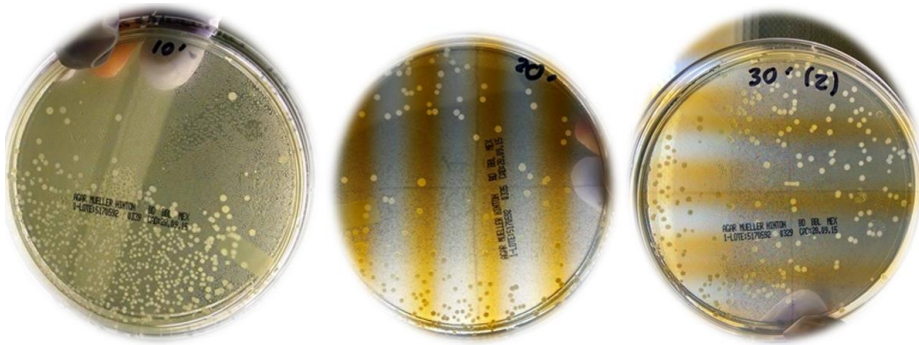


Imagen 53. Resultados después de la exposición de las esporas a 10, 20 y 30 minutos de exposición UV-C. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Tabla 3. Tabla comparativa de eliminación bacteriana.

Tiempo de exposición	% de reducción UFC de esporas	% de reducción de UFC de <i>Staphylococcus</i>
10 minutos	99.9155%	-----
20 minutos	99.9705%	99.9984 %
30 minutos	99.9635%	99.9935 %
40 minutos	-----	99.9988%

Con los datos obtenidos en esta prueba y en la anterior es posible realizar las pruebas correspondientes con el prototipo.

4.3.3 Pruebas con prototipo emisor de luz UVC.

Para iniciar las pruebas microbiológicas con el prototipo es necesario esterilizar el material (Imagen 54) de laboratorio con el que se realizan las pruebas, de la misma forma que se hizo en las pruebas anteriores.

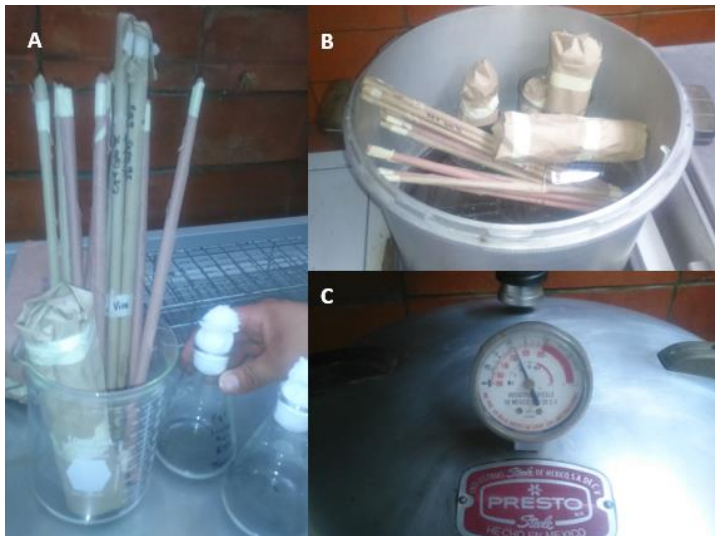


Imagen 54. Se envuelve el material con papel estraza con un tapón de algodón para evitar que se contaminen cuando se saque el material de la autoclave (Imagen A). Se coloca agua hasta el nivel indicado y se acomoda el material a esterilizar en el interior de la olla a presión (Imagen B) y se pone a esterilizar durante 30 minutos a una presión de 10 libras (Imagen C). (Imagen obtenida de mi archivo personal)

De acuerdo al *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), antes conocida como *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS), se recomienda el uso del agar Mueller Hinton para la realización de antibiogramas (método o prueba que determina la sensibilidad de los gérmenes a los antibióticos en medio sólido), debido a que presenta buena reproducibilidad en las pruebas de sensibilidad, su contenido en inhibidores de sulfonamidas,

trimetoprima y tetraciclina es bajo, por lo que la mayoría de los patógenos crece satisfactoriamente [50].

Debido a estas características el medio de cultivo con el que se realizaron las pruebas fue Mueller Hinton (Imagen 55).



Imagen 55. Proceso para la preparación del agar existe una relación entre cantidad de agar y de agua destilada, que de acuerdo a la etiqueta, por cada litro de agua destilada son 54 gramos de agar (Imagen A). Después de haber decidido la cantidad de agar a preparar, se vacían sus componentes en un Matraz Erlenmeyer y es agitado hasta disolver el agar, una vez disuelto el agar este se calienta para homogenizarlo (Imagen B). Una vez homogenizado se procede esterilizar el agar durante 15 minutos en una olla con una presión de 10 libras (Imagen C). (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Después de esterilizar el agar se procedió a realizar las pruebas de esterilidad (Imagen 56) de las mismas por lo que se usó a incubar durante 18 horas. Transcurridas las 18 horas se revisó el agar para

corroborar que no existiera crecimiento bacteriano. De esta manera se aseguró que no existieran bacterias externas que compitan por los nutrientes del agar y que alteren los resultados de las pruebas realizadas.

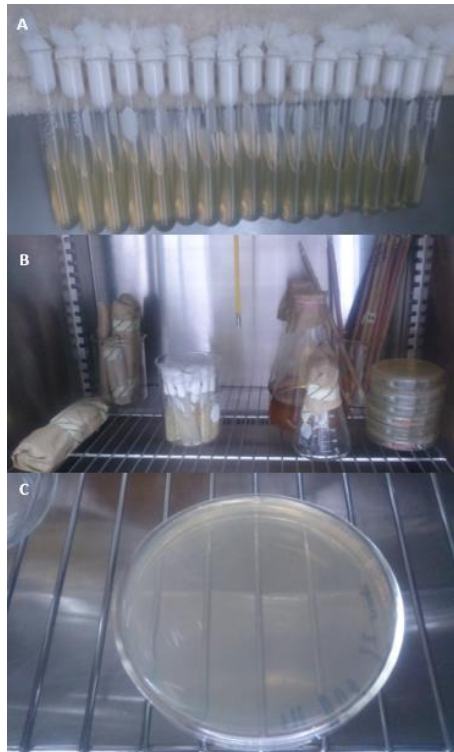


Imagen 56. Cuando el agar se encuentra todavía en estado líquido, este se vacía en sus respectivos contenedores que se van a utilizar para realizar las pruebas (tubos de ensaye y cajas de Petri) (Imagen A). Teniendo los contenedores con agar se procede a realizar la prueba de esterilidad (Imagen B) para verificar que durante el proceso de vaciado este no se haya contaminado (Imagen C). (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Se procedió a realizar la reactivación de los microorganismos mediante su sembrado en agar Mueller Hinton. Antes, se aseguró la esterilidad del área de trabajo desinfectándolo con alcohol al 70% y

colocando un mechero encendido en el centro para evitar que el área de trabajo se contamine.

Las cepas con la que se trabajan son de *Staphylococcus aureus* y *Geobacillus stearothermophilus* (Imagen 57), solo se pudo obtener el certificado de *Geobacillus stearothermophilus*, como se muestra en 0.

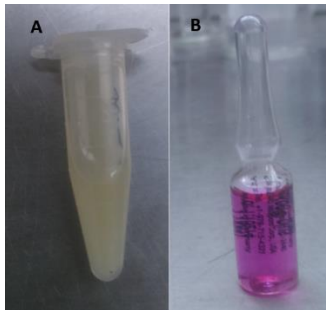


Imagen 57. En la imagen A se muestra la ampolleta donde se encuentra el *S. aureus*, mientras en la imagen B se muestra la ampolleta con *G. stearothermophilus*. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

El sembrado de las bacterias se realizó en una caja de Petri por medio de estría cerrada en dos extremos para asegurar su crecimiento y en los otros dos extremos por estría abierta para revisar la morfología de las cepas y poder realizar su cultivo.

Una vez sembradas las cepas se procede a rotular las cajas con el nombre de las cepas que contiene, la fecha en la que se realizó el sembrado y el nombre del propietario de las cajas. Se ponen a incubar las cajas de Petri en un horno durante 18 horas a una temperatura de 37 °C. Para el control de la temperatura del horno se tiene una hoja de registro donde se marca la temperatura diaria del horno, como se muestra en Apéndice 1.

Se procede a realizar el cultivo de los microorganismos para trasplantarlos en los tubos de ensaye con agar en pico de flauta. Se toma una sola UFC y se cultiva por estría cerrada en cuatro tubos, tres para cultivo y uno para la conservación de la cepa. Estos tubos se incuban a una temperatura de 37°C durante 18 horas (Imagen 58).

A diferencia de las pruebas anteriores el tiempo de incubación fue menor, esto debido al tiempo disponible con el que se contaba para trabajar dentro del laboratorio, este tiempo se encuentra dentro del intervalo de incubación de las bacterias que es de 18 a 24 horas por lo que el resultado de las pruebas no se ve afectado.

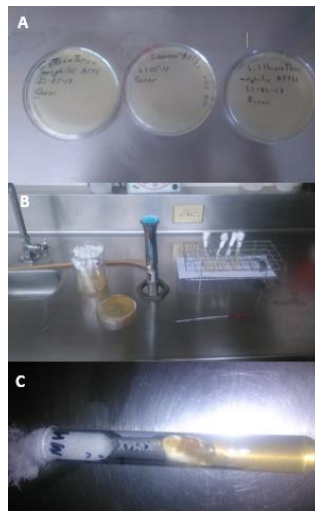


Imagen 58. De las cajas de Petri con las bacterias activas (Imagen A) se procede a realizar el cultivo de los microorganismos para trasplantarlos en los tubos de ensaye con agar en pico de flauta (Imagen B). Se toma una sola UFC y se cultiva por estría cerrada en cuatro tubos, tres para cultivo y uno para la conservación de la cepa. Estos tubos se incuban a una temperatura de 37°C durante 18 horas (Imagen C). (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Para determinar el número original de bacterias se procede a realizar una suspensión bacteriana con una turbidez de 0.5 McFarland

(Imagen 59), esto proporciona una aproximación de cuántas bacterias se encuentran en la suspensión bacteriana, como este es un método inexacto debido a que es un parámetro cualitativo que solo compara la turbidez y no diferencia entre las bacterias activas de las inactivas se procede a realizar 6 diluciones para determinar el número original de bacterias.

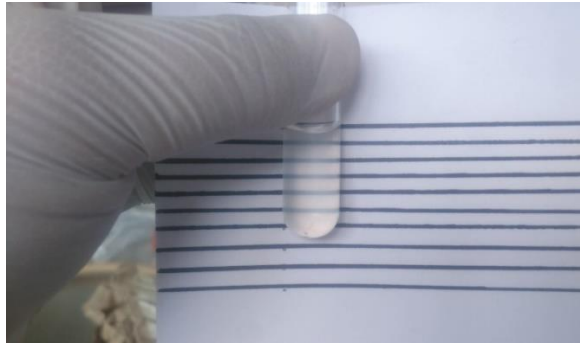


Imagen 59. Se utiliza una hoja rayada para ayudar ver la turbidez y de esta forma compararla con el patrón de McFarland. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Ya con la suspensión bacteriana lista se procede a realizar 6 diluciones 1:10 por lo que se rotulan 6 tubos de ensaye con numeración consecutiva del 1 al 6. A cada uno de los tubos de ensaye se le colocan 9 mL de solución salina al 9%. Del tubo rotulado “Suspensión bacteriana” se realiza la homogenización de la suspensión con la ayuda de una micropipeta realizando dos succiones y dos vaciados consecutivos, posteriormente a esto se toma 1 ml de la suspensión y es vaciada sin tocar la solución salina en el tubo rotulado con el número “1”, se realiza el cambio de la punta de la micropipeta por otra punta estéril y se realiza el proceso de homogenización mencionado

anteriormente y se vacía en el tubo rotulado con el número “2”. Se realiza este proceso hasta tener los 6 tubos de ensaye listos.

Se toma 1 mL de suspensión bacteriana de los tubos “4”, “5” y “6” y es vaciada en las cajas de Petri, para posteriormente vaciar agar y de esta forma realizar el sembrado por vaciado. Una vez que las cajas estén listas se meten a incubar por 18 horas a una temperatura de 37°C. Transcurridas 18 horas se procede a realizar el conteo de las bacterias. En las cajas rotuladas con el número “4” y “5” el número de UFC es incontable debido a la gran cantidad de UFC (Imagen 60).

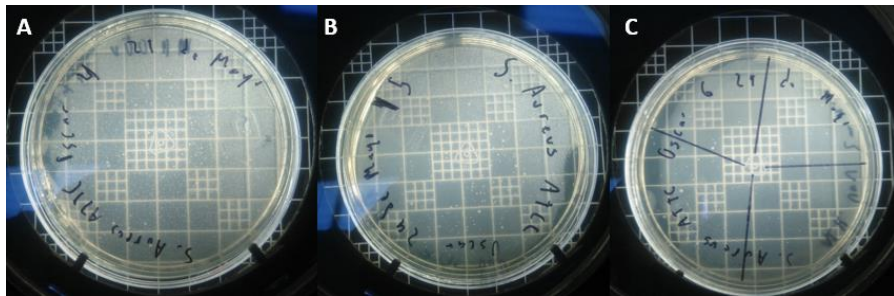


Imagen 60. La imagen A muestra la caja correspondiente a la cuarta dilución, la imagen B corresponde a la quinta dilución y la imagen C corresponde a la sexta dilución. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

En la caja rotulada con el número “6” que es la dilución 10^{-6} el número de UFC presentes en las tres cajas es de 103, 115 y 83 por lo que el promedio es de 100 UFC/mL .

Donde:

$$N_o = 100 \times 10^6 \frac{UFC}{mL}$$

Se procede a realizar la contaminación del catéter de la misma manera que las pruebas anteriores. Ya contaminado el catéter se procede a introducir fibra óptica rasgada en el catéter y se conecta con el dispositivo durante diversos intervalos de tiempo 20, 30 y 40 minutos (Imagen 61).

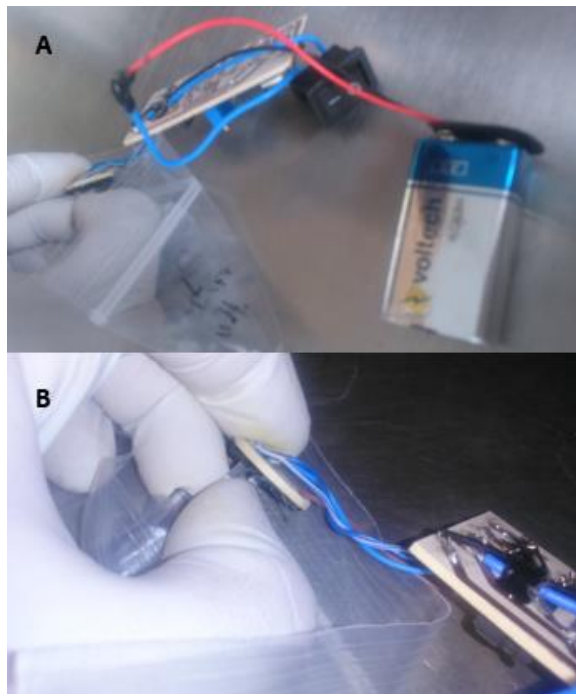


Imagen 61. Realización de las pruebas con el dispositivo, en A se muestra completo el dispositivo, mientras que en B se hace más énfasis a la conexión de los LEDs con la fibra óptica. Aunque se realizaron estas pruebas sin la carcasa, porque en ese momento no se contaba con ella, se espera que con la utilización de esta se limite la pérdida de la radiación y se pueda concentrar más la radiación en la fibra óptica, además de que el sistema sería más eficiente y seguro gracias que la fibra se sujetaría de manera mecánica y ya no manual. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Transcurrido el tiempo se pasó el catéter a otra bolsa hermética y se realizó el enjuague con 1 ml de solución salina para recuperar las bacterias sobrevivientes a la radiación UVC. Del enjuague se tomó 0.1 ml y se colocó en una caja de Petri y se vació agar líquido para realizar el sembrado por vaciado en placa y se puso a sembrar a 37°C durante 18 horas (Imagen 62).

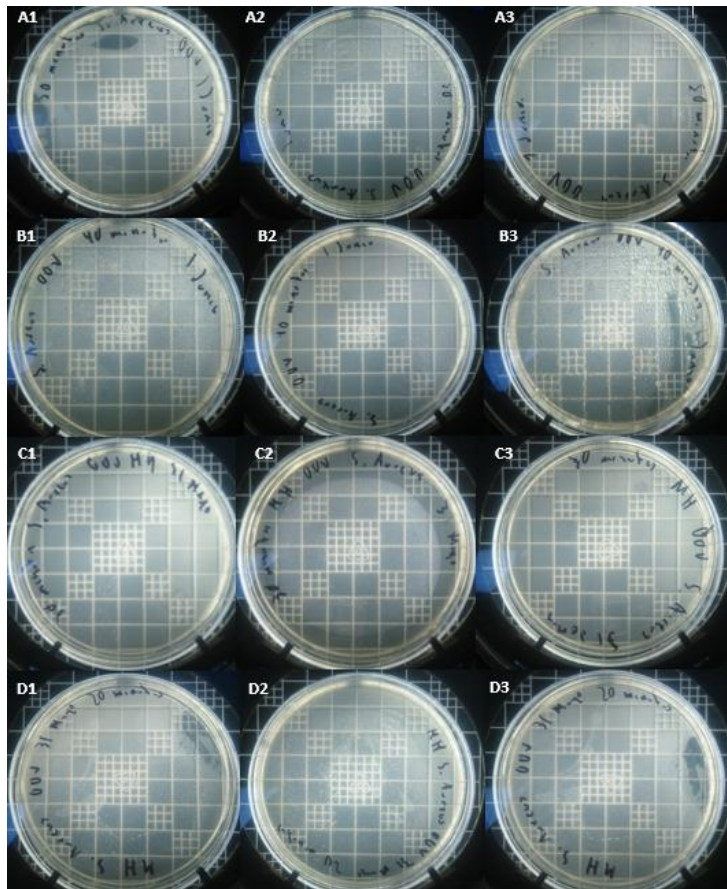


Imagen 62. La siembra de los microorganismos se realizó por triplicado por lo que las imágenes A corresponden a 50 minutos de exposición, Imágenes B corresponden a 40 minutos de exposición, Imágenes C corresponden 30 minutos de exposición y las imágenes D corresponden a 20 minutos de exposición. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Las UFC en cada caja de Petri se distinguen como pequeños puntos en el agar como se muestra a continuación (Imagen 63):



Imagen 63. La cuadrícula del contador de bacterias facilita identificar el número UFC en cada caja. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

A los 50 minutos de exposición el conteo de bacterias en cada caja es de 129 UFC, 124UFC y 142 UFC respectivamente, lo que en promedio resulta 131 UFC.

Se calculó N_F por medio de la ecuación (5) y como se realizaron 2 diluciones, el mismo número de diluciones que en las otras pruebas, se utilizó la ecuación (6).

$$N_F = 131 \text{ UFC} \times 40/\text{mL} = 5,240 \text{ UFC}/\text{mL}$$

Una vez determinado N_F se calculó el porcentaje de reducción bacteriana con la ecuación (4):

Porcentaje de reducción

$$\begin{aligned} &= \frac{1 \times 10^8 \text{ UFC}/\text{mL} - 5240 \text{ UFC}/\text{mL}}{1 \times 10^8 \text{ UFC}/\text{mL}} \times 100 \\ &= 99.99544 \% \end{aligned}$$

Este porcentaje de eliminación es alto (Imagen 64), pero no cumple con los requerimientos necesarios para considerarse como esterilizante, por lo que esta metodología se clasificaría como una técnica desinfectante.

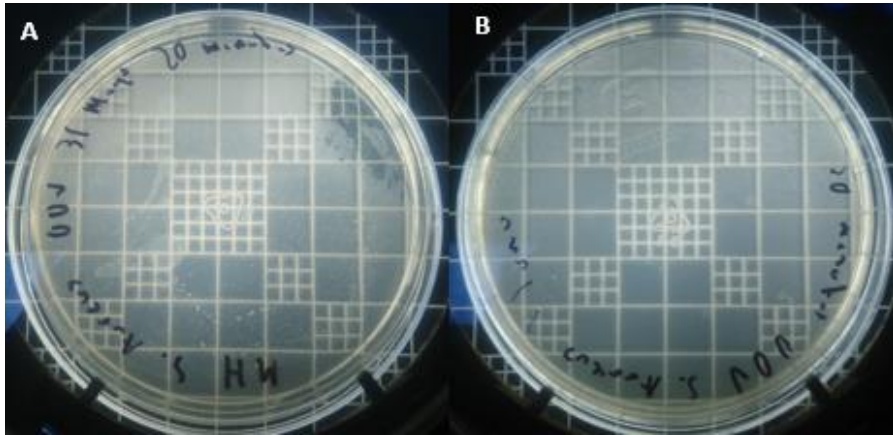


Imagen 64. La imagen A corresponde a la exposición del catéter a la luz UVC durante 20 minutos, mientras que la imagen B corresponde a 50 minutos de exposición. Con esta comparativa se aprecia el gran efecto germicida que tiene la radiación UVC en el cateter. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Con las esporas de *G. stearothermophilus* se realizó el mismo procedimiento de diluciones (Imagen 65).

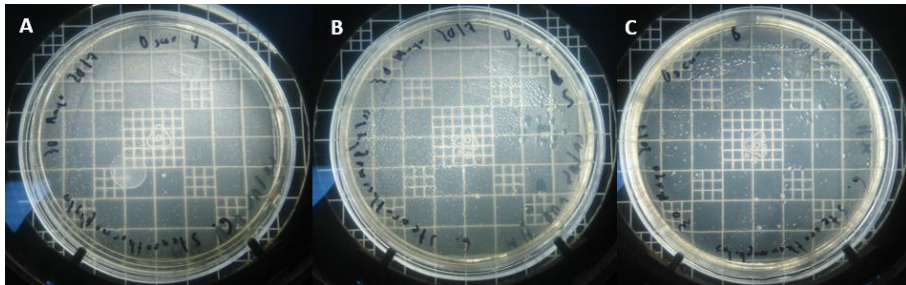


Imagen 65. La imagen A corresponde a la cuarta dilución, la imagen B corresponde a la quinta dilución y la imagen C corresponde a la sexta dilución. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

En la sexta dilución la cantidad de UFC en cada caja es de 225, 193 y 159 respectivamente, dando un promedio de 192 UFC.

Donde:

$$N_o = 192 \times 10^6 \frac{UFC}{mL}$$

Se repitió el mismo procedimiento de contaminación del catéter y exposición a la radiación UVC (Imagen 66) a la que fueron sometidas las bacterias de *S. aureus*.

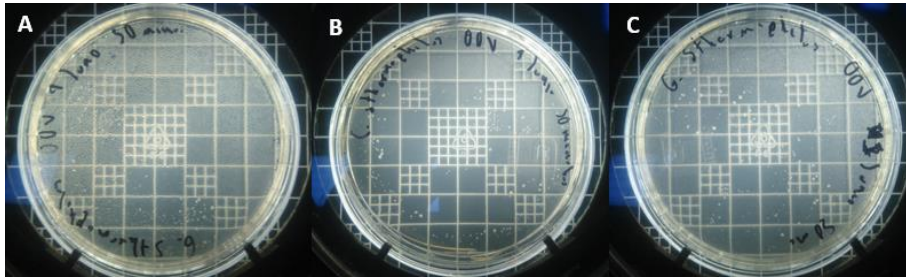


Imagen 66. Este conjunto de imágenes corresponde al tiempo de exposición de 50 minutos de *G. stearothermophilus*. (Imagen obtenida de mi archivo personal)

Se calculó N_F por medio de la ecuación (5) y como se realizaron 2 diluciones, como en la prueba anterior se utiliza la ecuación (6).

$$N_F = 434 \text{ UFC} \times 40/\text{mL} = 17,373 \text{ UFC/mL}$$

Calculando el porcentaje de reducción por medio de la ecuación (4):

Porcentaje de reducción

$$\begin{aligned} &= \frac{192 \times 10^6 \text{ UFC/mL} - 17373 \text{ UFC/mL}}{192 \times 10^6 \text{ UFC/mL}} \times 100 \\ &= 99.9909 \% \end{aligned}$$

En todas las pruebas realizadas con el dispositivo y con la lámpara comercial se tuvieron porcentajes de eliminación superiores al 99% (Tabla 4), esto indica la factibilidad que tiene la realización de este

proyecto. La siguiente etapa del proyecto sería trasladar estas pruebas ahora en modelos animales, pero esto sería tema para otro documento escrito.

Tabla 4. Porcentajes de eliminación bacteriana con los mayores tiempos de exposición a la luz UVC.

Cepa bacteriana	Porcentaje de eliminación bacteriana	
	Lámpara comercial	Dispositivo
<i>Staphylococcus aureus</i>	99.9988%	99.99544 %
<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	99.9635%	99.9909 %

Con las pruebas realizadas con la lámpara comercial de luz UV se obtuvo un mayor porcentaje de eliminación bacteriana en menor tiempo a comparación con el dispositivo, pero el dispositivo es de menor tamaño que la lámpara y es portátil, puesto que la lámpara necesita conectarse a la red eléctrica para funcionar.

Esta información permite concluir que el dispositivo es más eficiente, porque alcanza casi el mismo porcentaje de eliminación que la lámpara pero con menos energía. El dispositivo todavía puede ser mejorado por lo que se puede reducir el tiempo de exposición con lo que se reducirían los riesgos a la salud del paciente.

Conclusiones

En este trabajo se ha presentado el diseño y la construcción de un dispositivo para reducir la contaminación de bacterias oportunistas en catéteres de pacientes bajo tratamiento de diálisis peritoneal. A diferencia de las propuestas existentes para la reducción de infecciones las cuales son o muy costosas o poco viables por razones tecnológicas.

El dispositivo propuesto en este trabajo tiene las ventajas de ser portátil, lo que garantiza su facilidad de uso, por lo que no requiere de grandes instalaciones o espacios. Por otro lado, el bajo costo asociado a su tecnología, componentes y método de fabricación garantiza que, aún fabricado a gran escala, su costo total sería menor al de otros dispositivos similares.

Por otro lado, el dispositivo presentado cuenta con las siguientes innovaciones con respecto al trabajo más parecido al aquí presentado [38].

- Utiliza una fibra óptica rasgada para garantizar una mejor distribución de la radiación germicida, esto es una gran ventaja que tiene nuestro dispositivo, debido a que como la fibra del otro dispositivo no está rasgada no existe pérdida de luz por lo que este dispositivo solo se enfoca en un punto de desinfección, la conexión entre el catéter del paciente y el de la bolsa de diálisis, mientras que el dispositivo que proponemos actúa sobre un área mayor lo que minimiza la probabilidad de que el paciente se infecte.

- Cuenta con una estructura en forma parabólica con el fin de concentrar la luz de los LEDs en el extremo inicial de la fibra óptica.
- Genera la luz UVC con LED, lo que garantiza un menor peso, tamaño, costo y consumo de potencia.
- Gracias a su diseño cumple con las normas aplicables a dispositivos médicos de este tipo y con ello garantiza la seguridad del paciente.

Por otro lado, en este trabajo se presenta un método para probar la efectividad en la eliminación de gérmenes, y cuyo empleo pudo demostrar que el dispositivo propuesto es capaz de eliminar hasta el 99.99544% de las bacterias en un tiempo de 50 minutos. Considerando que para la realización de estas pruebas se utilizó una gran concentración bacteriana, que muy difícilmente ocurre en condiciones normales, por lo que probablemente el tiempo que necesite estar activo sea menor.

Como parte de las líneas de investigación en futuras pruebas, estas ya no se enfocarán en el tiempo de desinfección, sino también si el dispositivo es capaz de mantener un área libre de microorganismos mientras pasa el líquido dializante, porque es en este momento cuando existe el mayor riesgo de desinfección.

Otra de las futuras líneas de investigación, debido a que aún no está del todo claro la interacción de la luz UVC con los tejidos animales, es saber si las paredes del catéter funcionan como filtro de la

luz UVC debido a que esta presenta problemas para atravesar sólidos. Esta información sería de gran utilidad, porque de ser cierta esta teoría se garantizaría por completo la seguridad del dispositivo, y en caso de que esto sea falso saber que daños podría causar a los pacientes.

El dispositivo es aun perfectible por lo que como trabajo futuro, y después de analizados los resultados del trabajo presentado, se podría proponer el control de potencia de la luz por medio de la modulación por ancho de pulsos (PWM) para verificar si la modulación de la potencia o de pulsos UVC tienen un impacto directo en el índice de eliminación de las bacterias.

La estructura del dispositivo se modificaría con el fin de evitar que el paciente interactúe lo menor posible con su catéter, esto con el fin de reducir aún más los riesgos de contaminación (el actual dispositivo necesita que se introduzca y saque la fibra óptica del catéter) por lo que en la siguiente versión del dispositivo se propondría que la fibra óptica este acoplada en la división en “Y” y de esta forma se quede de manera “permanente” dentro del catéter. Además, en caso de conseguir LEDs UVC con mayor potencia luminosa o de menor costo, se podrían añadir más para aumentar la potencia del dispositivo con el fin de garantizar una correcta desinfección.

Se iniciarán las pruebas con modelos animales para ver el efecto real de la radiación UVC en organismos vivos. La metodología de estas pruebas no está aún definida, por lo que esto es parte del trabajo a futuro.

Si las pruebas en modelos animales resultan satisfactorias, se buscaría una alianza con un centro médico del sector público para empezar las pruebas en humanos, este acercamiento con el sector público, además de permitirnos seguir con el desarrollo del dispositivo, permitirá dar a conocer el dispositivo en el área médica, esto con el fin de que nos den retroalimentación para mejorar el producto y que sí en un futuro este se comercialice, este ya les resulte familiar y por lo tanto de más fácil adopción en su práctica clínica.

Bibliografía

- [1] J. F. M. B. Antonio Méndez Duran, «Epidemiología de la insuficiencia renal en México,» *ELSEVIER*, pp. 7-10, 2010.
- [2] M. Lopez, «Enfermedad renal crónica y su atención mediante tratamiento sustitutivo en México,» *Facultad de Medicina UNAM*, pp. 21-28, 2010.
- [3] C. Lenhe, «Terapia sustitutiva continua de la función renal en pacientes con insuficiencia renal,» de *Tratado de Nefrología*, México, Prado, 2003, pp. 1297-1312.
- [4] H. S. Breins-Alcaraz, «Prescripción dialítica y aplicación clínica de la diálisis peritoneal,» de *Tratado de Nefrología*, México, Prado, 2003, pp. 1567-1580.
- [5] M. Coronel, «El rumbo de la insuficiencia renal,» *EL ECONOMISTA*, pp. 1-3, 28 Noviembre 2010.
- [6] J. C. Paredes-Palma, C. Rivera-Benítez, E. Durán-Pérez y L. Balladares-Macedo, «Estudio bacteriológico del paciente con peritonitis debida a diálisis peritoneal continua ambulatoria en el Hospital General de México,» *Medicina Interna de México*, vol. 22, nº 3, pp. 172-182, 2006.

- [7] A. Pascual, «Pathogenesis of catheter-related infections: lessons for new designs,» *Clin Microbiol Infect*, n° 8, pp. 256-264, 2002.
- [8] E. López-Hernández, «Impacto del costo beneficio de pacientes con peritonitis por diálisis peritoneal continua ambulatoria,» *Universidad Veracruzana*, pp. 15-30, 2010.
- [9] J. Torres, J. d. J. Gonzales y A. Barrera, «Panorama de la obesidad en México,» *Revista Medica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, p. 243, 2014.
- [10] G. G. García, «Insuficiencia renal crónica,» de *Tratado de Nefrología*, México, Prado, 2003, pp. 1151-1162.
- [11] A. T. Becerra, «Progresión de la insuficiencia renal crónica,» de *Tratado de Nefrología*, México, Prado, 2003, pp. 1231-1251.
- [12] A. Méndez-Durán, F. Méndez-Bueno y T. Tapia-Yáñez, «Epidemiología de la insuficiencia renal crónica en México,» *Diálisis y Transplante* , pp. 8-10, 2009.
- [13] C. N. d. Transplantes, «Reporte anual 2016 de donación y transplantes en México,» *Centro Nacional de Transplantes* , pp. 21-33, 2017.

- [14] J. Montenegro, «Peritonitis,» de *Tratado de Nefrología*, México, Prado, 2003, pp. 1659-1699.
- [15] W. E. Cumbie. Estados Unidos Patente 7,306,620, 2007.
- [16] P. Brickner, R. Vincent, E. Nardell, M. Murray, M. First y K. Will, «The application of ultraviolet germicidal irradiation to control transmission of airborne disease: bioterrorism countermeasure,» *Public Health Reports*, pp. 99-114, 2003.
- [17] Davidson, *Bioquímica de los ácidos nucleicos*, Barcelona: Reverté, 1980.
- [18] Organización Mundial de la Salud, «Cáncer,» [En línea]. Available: <http://www.who.int/topics/cancer/es/>. [Último acceso: 05 05 2017].
- [19] T. Heffernan, D. Simpson, A. Frank, A. Heinloth, R. Paules, M. Cordeiro-Stone y W. Kaufmann, «An ATR- and Chk1- Dependent S Checkpoint Inhibits Replicon Initiation following UVC-Induced DNA Damage,» *Molecular and Cellular Biology*, pp. 8552-8561, 2002.
- [20] O. Baadsgaard, H. Wulf, G. Wantzin y K. Cooper, «UVB and UVC, but not UVA, Potently Induce the Appearance of T6 DR Antigen-Presenting Cells in Human

Epidermis,» *The Journal of Investigative Dermatology*, pp. 113-118, 1986.

- [21] H. Wright y W. Cairns, «Desinfección de agua por medio de luz ultravioleta,» *Trojan Technologies Inc.*, pp. 1-28, 2007.
- [22] R. F. KAHRS, «Principios generales de la desinfección,» *Revue Scientifique Et Technique*, vol. 1, n° 14, pp. 143-163, 1995.
- [23] M. Hernández Navarrete, «Fundamentos de antisepsia, desinfección y esterilización,» *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, pp. 681-688, 2014.
- [24] Secretaría de Salud, *NORMA Oficial Mexicana NOM-241-SSA1-2012, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos dedicados a la fabricación de dispositivos médicos.*, Ciudad de México: Diario Oficial de la Federación, 2012.
- [25] S. Anguita-Lorenzo, «Dispositivos médicos: regulación,» Facultad de Ingeniería Deusto, 1 Diciembre 2016. [En línea]. Available: <https://blogs.deusto.es/master-informatica/regulacion-medevs/>. [Último acceso: 14 Junio 2017].

- [26] Secretaria de Salud, *NORMA Oficial Mexicana NOM-137-SSA1-2008, Etiquetado de dispositivos médicos.*, Ciudad de México: Diario Oficial de la Federación, 2008.
- [27] K. Miller y M. O'Toole, *Encyclopedia & Dictionary of Medicine, Nursing & Allied Health*, U.S.A.: Elsevier, 2005.
- [28] Fluke Biomedical, «Introducción a las pruebas de seguridad eléctrica: Parte I,» Fluke Biomedical, Marzo 2014. [En línea]. Available: http://support.fluke.com/Biomedical/Download/Asset/9460539_ENG_A_W.PDF. [Último acceso: 8 Agosto 2017].
- [29] A. J. Salazar-Gómez y D. K. Cuervo-Ramírez, «Protocolo de pruebas de seguridad eléctrica para equipos electromédicos: caso de estudio de equipos de telemedicina,» *Revista de Ingeniería*, pp. 27-32, 2013.
- [30] S. Marty y N. Strobbel. Internacional Patente 074350, 2002.
- [31] R. Eckhardt, G. Jenkins y S. Kimball. Internacional Patente 102421, 2002.
- [32] R. Popovich y J. Moncrief. Estados Unidos Patente 4620845, 1986.
- [33] J. Segal. Estados Unidos Patente 0257910, 2009.

- [34] K. Sobue, T. Nakajima y A. Matsuzaki. Internacional Patente 006506, 2009.
- [35] K. Sobue, T. Nakajima y A. Matsuzaki. Estados Unidos Patente 8469545, 2013.
- [36] J. Rasooly y M. Mclean. Internacional Patente 158507, 2013.
- [37] J. Bak y T. Begovic, «A prototype catheter designed for ultraviolet C,» *Journal of Hospital Infection*, n° 84, pp. 173-177, 2013.
- [38] C. Boudreaux. Estados Unidos Patente 6461569, 2002.
- [39] N. Rhodes, A. Bracken y M. de la Presa. Estados Unidos Patente 0267888, 2013.
- [40] P. Wilk y J. Tiefenbrun. Estados Unidos Patente 5,260,020, 1993.
- [41] R. Rioux, R. Lareau y K. Dimatteo. Internacional Patente 024478, 2008.
- [42] Alpha-Cure, «Infrarrojos y lámparas ultravioleta,» 15 05 2017. [En línea]. Available: <http://www.lamparas-ultravioleta.com/lamparas-uv.html>.
- [43] Shenzhen Health Lighting Tech. Co., Ltd, «Alibaba,» 15 05 2017. [En línea]. Available:

<https://spanish.alibaba.com/product-detail/high-bacterial-killing-effect-quartz-glass-uv-254nm-germicidal-lamp-60222781422.html>.

- [44] Electrónica Unicrom, «Electrónica Unicrom,» 16 05 2017. [En línea]. Available: <http://unicrom.com/diodo-semiconductor/>.
- [45] E. Ramirez-Carbajal, «Prezi,» 28 Julio 2014. [En línea]. Available: <https://prezi.com/bcoczedtsyfn/diferencia-entre-fuentes-linales-y-conmutadas/>. [Último acceso: 07 Agosto 2017].
- [46] Duracell, «Preguntas más frecuentes,» [En línea]. Available: <https://www.duracell.com/es-us/help/faq/como-funciona-una-bateria>. [Último acceso: 16 05 2017].
- [47] Electronics Tutorials, «Miscellaneous Circuits,» [En línea]. Available: <http://www.electronicstutorials.ws/blog/variable-voltage-power-supply.html>. [Último acceso: 16 05 2017].
- [48] L. Microchem, «AOAC Use Dilution Test,» 9 Marzo 2017. [En línea]. Available: <http://microchemlab.com/test/aoac%ADuse%ADdilution%ADtest%ADaoac%AD95514%AD95515%AD964021/2>.

- [49] Organización Mundial de la Salud , «Laboratorios básicos - niveles de bioseguridad 1 y 2,» *Manual de Bioseguridad en el laboratorio*, vol. III, pp. 9-21, 2005.
- [50] Britania, «Mueller Hinton Agar,» [En línea]. Available:
<http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/muellerhintonagar.htm>. [Último acceso: 20 Junio 2017].

Apéndice 1. Registro de temperatura de los hornos para el crecimiento de las bacterias

A. Hoja de registro de temperatura ($60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$)

Fecha	Hora	Registro de temperatura	Quien registra	Observaciones
24/05/2017	2:10 pm	43 °C	Oscar	No hay crecimiento bacteriano
25/05/2017	9:54 am	44 °C	Oscar	Se aumenta la temperatura debido a que el crecimiento de las bacterias es a 60 °C
29/05/2017	9:26 am	60 °C	Oscar	
30/05/2017	9:40 am	61 °C	Oscar	
31/05/2017	9:33 am	60 °C	Oscar	
01/05/2017	9:28 am	61 °C	Oscar	

02/05/2017	9:47 am	60 °C	Oscar	
------------	------------	-------	-------	--

B. Hoja de registro de temperatura (35 °C ± 2)

Fecha	Hora	Registro de temperatura	Quien registra	Observaciones
22/05/2017	4:25 pm	36 °C	Oscar	
23/05/2017	9:49 am	37 °C	Oscar	
24/05/2017	10:30 am	37 °C	Oscar	
25/05/2017	9:52 am	37 °C	Oscar	
29/05/2017	9:25 am	37 °C	Oscar	
30/05/2017	9:40 am	37 °C	Oscar	
31/05/2017	9:33 am	37 °C	Oscar	
01/05/2017	9:28 am	36 °C	Oscar	
02/05/2017	9:46 am	37 °C	Oscar	

Apéndice 2. Planos

A. Vista Frontal

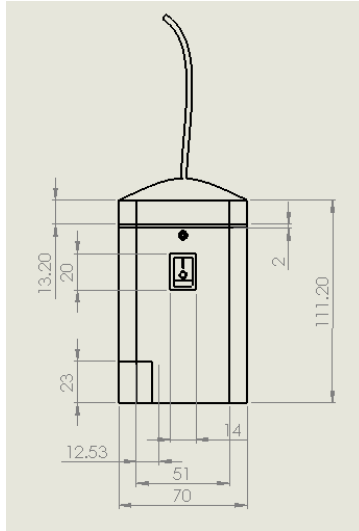


Imagen 67. Plano de la vista frontal del dispositivo. Todas las cotas están en mm.

B. Vista inferior

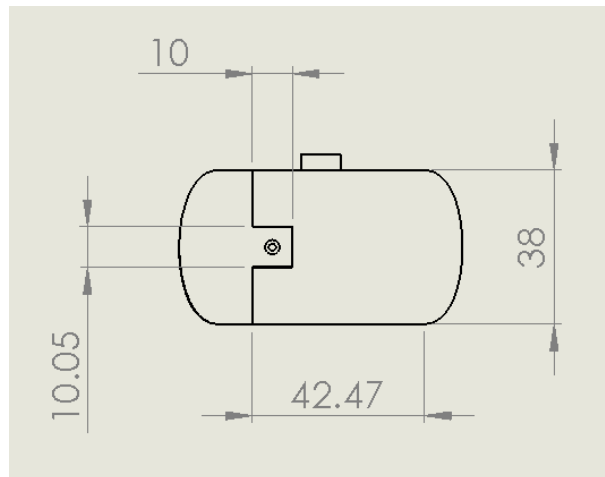


Imagen 68. Plano de la vista inferior del dispositivo. Todas las cotas están en mm.

E. Parábola

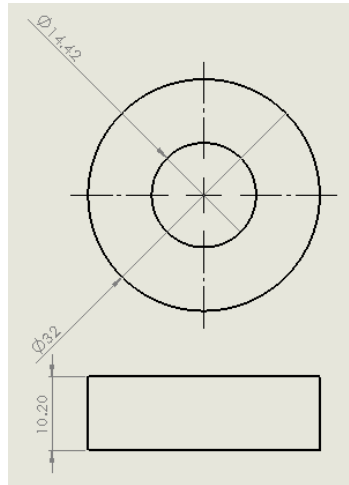


Imagen 71. Vista superior y lateral de la parábola. Todas las cotas están en mm.

F. Tapa superior

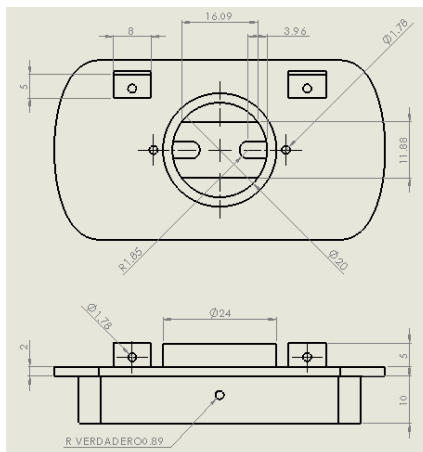


Imagen 72. Vista superior y lateral de la tapa superior. Todas las cotas están en mm.

Anexo 1. Certificado de indicadores

A. Certificado de *Geobacillus stearothermophilus*

Descripción	
Número de catálogo	110274
Reemplaza	1.10274.0003
Información del producto	
Código HS	3002 90 50
Información de seguridad según el Globally Harmonized System (GHS)	
Clase de almacenamiento	10 – 13 Otros líquidos y sustancias solidas
WGK	NWG ningún peligro para el agua
Información de almacenamiento y transporte	
Almacenamiento	Almacenar entre +2°C y + 8°C
Información de transporte	
Declaración (vía férrea y carretera) ADR, RID	Kein Gefahrgut
Declaración (transporte aéreo) IATA-DGR	No Dangerous Good

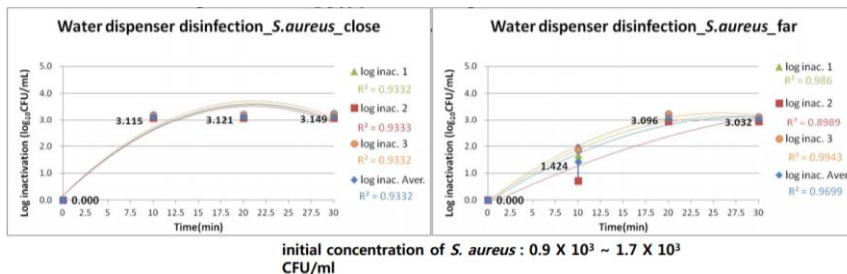
Declaración (transporte marítimo) Código IMDG	No Dangerous Good
Especificaciones	
Apariencia	Violeta opalescente y rojizo
Número de esporas viables por ampolla	5.0E+05 – 1.0E+07
Crecimiento (35 °C)	Sin crecimiento
Crecimiento (60 °C)	Crecimiento
Prueba de rendimiento (15 min, 121 °C)	Tiempo de muerte 15 min / 121 °C
Valor D (121 °C)	1.5 - 2.0 min
Valor Z	7.0 – 10.0 °C
Identidad	Geobacillus stearo- thermophilus ATCC 7953
<p>La determinación del valor D se basa en el método de Stumbo-Murphy-Cochran.</p> <p>El control de identidad se realiza a través de MicroSeq-System.</p>	
<p>Organismo: Geobacillus stearothermophilus ATCC 7953 (optimización de la esporulación).</p> <p>Ampollas: 2 ml.</p>	

Temperatura de almacenamiento: +2° a + 8 °C.

Anexo 2. Tablas logarítmicas de eficiencia de los LEDs

Estas tablas fueron proporcionadas por el fabricante.

A. Eliminación de *S. aureus*



B. Eliminación de *E. coli*

