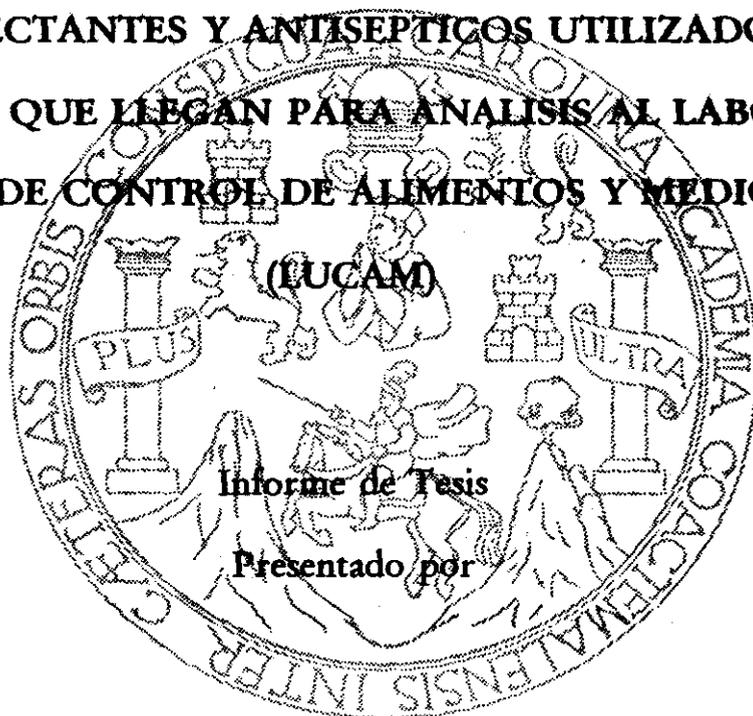


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

VERIFICACION DEL PODER GERMICIDA DE LOS
DESINFECTANTES Y ANTISEPTICOS UTILIZADOS EN
GUATEMALA QUE LLEGAN PARA ANALISIS AL LABORATORIO
UNIFICADO DE CONTROL DE ALIMENTOS Y MEDICAMENTOS



Informe de Tesis
Presentado por

Rosa María del Cid Morán

Para optar el título de

Químico Biólogo

Guatemala, octubre de 1994

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

(1650)

**NOMINA DE INTEGRANTES
HONORABLE JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

DECANO: Licenciado Jorge Rodolfo Pérez Folgar

SECRETARIO: Licenciada Gloria María Eleonora Gaitán

VOCAL I: Licenciado Miguel Angel Herrera Gálvez

VOCAL II: Licenciado Gerardo Leonel Arroyo Catalán

VOCAL III: Licenciado Miguel Orlando Garza Sagastume

VOCAL IV: Bachiller Jorge Luis Galindo Arévalo

VOCAL V: Bachiller Edgar Antonio García del Pozo

ACTO QUE DEDICO

A: Dios nuestro Señor

A mis padres: Roberto Del Cid Reyes
Irma Morán de Del Cid

**A mis Hermanos y
Familia:** José Roberto, Jorge Mario
y Víctor Manuel

A mi Esposo: Miguel Angel Sagastume Andrade

A mis Hijos: José Miguel, María José, Luis Miguel
y Ana Cristina

AGRADECIMIENTO

- A:** Guatemala
- A:** La Universidad de San Carlos de Guatemala
- A:** La Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
- A mis Asesores:** Licenciada Zoila Patricia Luna Urizar
Licenciada María de los Angeles Monterroso
- A:** El Laboratorio Unificado de Control de Alimentos y Medicamentos, LUCAM, por haberme brindado la oportunidad de elaborar el presente trabajo de investigación, en especial al personal profesional y técnico de la Sección de Microbiología de Medicamentos.

INDICE

1	RESUMEN	1
2	INTRODUCCION	3
3	ANTECEDENTES	4
4	JUSTIFICACIONES	26
5	OBJETIVOS	27
6	HIPOTESIS	28
7	MATERIALES Y METODOS	29
8	RESULTADOS	36
9	DISCUSION DE RESULTADOS	39
10	CONCLUSIONES	43
11	RECOMENDACIONES	44
12	REFERENCIAS	45
13	ANEXOS	49

1. RESUMEN

En el estudio de verificación del poder germicida de los desinfectantes y antisépticos que llegan para análisis al LUCAM se evaluaron 30 muestras, las cuales fueron sometidas a un conteo aeróbico en placa, para determinar su contenido de bacterias, hongos y levaduras. De los resultados obtenidos se encontró que sólo una de las muestras presentó conteos superiores a los límites permitidos, debiendo ser eliminada dicha muestra del estudio posterior.

Se procedió a realizar el estudio de poder germicida con las muestras que se encontraron dentro de las especificaciones con respecto a su contenido microbiano. Para dicho estudio se utilizó el método de valoración de la actividad antimicrobiana de sanitizantes, germicidas y detergentes, incluido en la Asociación Oficial de Química Analítica (A0AC).

De los resultados se obtuvo que 38 % de las muestras resultaron efectivas para inhibir el crecimiento de Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus aureus al cumplir con el 99.999% de reducción a los 30 segundos de contacto. El 34.5% de las muestras no fueron efectivas para ninguno de los 3 microorganismos evaluados ya que presentaron valores menores al 99.999% de reducción.

El 17.3% de las muestras resultaron efectivas para inhibir a uno de los microorganismos evaluados. El 10.2 % de las muestras resultaron efectivas para inhibir a dos de los microorganismos evaluados.

Luego de analizar los resultados sí se observó diferencia significativa según el tipo de desinfectante utilizado frente a los diferentes microorganismos evaluados.

El método de valoración de la actividad antimicrobiana de sanitizantes, germicidas y detergentes es fácil, sencillo de realizar y rápido cuando se trata de un pequeño número de muestras.

2. INTRODUCCION

En nuestro medio existe una gran variedad de desinfectantes utilizados en la industria de alimentos, medicamentos, cosméticos, y a nivel casero y hospitalario.

La industria responsable de la fabricación de todos estos productos debe garantizar a los usuarios la efectividad de los mismos. Para alcanzar dicho propósito se deben realizar los análisis respectivos para verificar que el producto cumple con las especificaciones.

Para determinar la acción germicida de los desinfectantes se utilizó en este estudio, el método de valoración de la actividad antimicrobiana de sanitizantes, germicidas y detergentes, propuesto por la Asociación Oficial de Química Analítica (A.O.A.C.).

Debido a que el uso de los desinfectantes influye de alguna manera sobre la conservación de la salud humana, se considera de suma importancia el desarrollo del presente trabajo, el cual pretende demostrar el grado de efectividad de los mismos.

3. ANTECEDENTES

3.1 Historia

El uso de antisépticos y desinfectantes es muy antiguo. Los egipcios utilizaban especias, gomas y óleos esenciales para conservar sus momias. El ahumado, la salificación y condimentado de alimentos fueron prácticas empleadas hace muchos siglos. Lo mismo ocurre en relación con varias sustancias químicas empleadas para tratar las heridas e impedir la diseminación de las dolencias infecciosas (1).

Las propiedades antisépticas del yodo y del cloro se conocían mucho antes de nuestro siglo. Sommelweis introdujo el cloruro de cal cerca de 1847. Las investigaciones básicas de Pasteur, Koch y otros científicos que probaron el carácter patógeno de los microorganismos, cimentaron la búsqueda de agentes antisépticos. En 1867, Lister comprobó el poder germicida del fenol, llamado ácido carbólico (1).

En 1881, Koch saturaba hilos de seda con cultivos bacterianos, posteriormente los trataba con un desinfectante y los colocaba en caldos estériles, para así comprobar el crecimiento de bacterias sobrevivientes (1,2).

En 1897, Kroning y Paul usaban granates que sumergían en cultivos de microorganismos, luego los pasaban al desinfectante y posteriormente a agua estéril, por último el agua de lavado se cultivaba para observar el efecto del tratamiento (1,2).

Smith, en 1869 y Koch, en 1881, demostraron que los compuestos inorgánicos de mercurio poseían actividad antiséptica. En 1889, Geppert comprobó que eran bacteriostáticos y no bactericidas. Este estudio condujo a la adquisición de agentes antisépticos nuevos y mejores entre los compuestos de mercurio inorgánicos y orgánicos (2,3).

La utilización de la desinfección en la industria de alimentos empezó a practicarse con la clorinación del agua para beber en 1897 en Maidstone Inglaterra, a raíz de una epidemia de tifoidea (2,3).

Se sabe desde 1906 que la urea posee una franca actividad bacteriostática. Pero el estudio se hizo hasta 1957, dando como resultado nuevas carbanilidas halogenadas, empleadas en jabones y desodorantes (2,3).

En 1912 Churchman observó el efecto inhibitor del cloruro de metilrosanilina sobre los microorganismos Gram positivo (2,3).

Browning luego, descubrió las propiedades antibacterianas de los colorantes amarillos de acridina (3).

Debido a la existencia de numerosos productos químicos provistos de poder germicida, se ha hecho necesario adoptar métodos para determinar su eficacia (3).

Rideal y Walker (1930) fueron los primeros en emplear el fenol como producto tipo para la comparación de la acción de otros desinfectantes en condiciones fijas (3,4).

Las técnicas diseñadas posteriormente, se basan en gran parte en la ideada por Rideal y Walker. La comparación de todos los desinfectantes con el fenol ha sido criticada, por lo que se han diseñado otros métodos que den un cuadro más real del valor de los compuestos no fenólicos (3,4).

3.2 Generalidades

3.2.1 Esterilización y desinfección

Estos términos juegan un papel muy importante en el control de la contaminación microbiana y prevención de infecciones. Sin embargo existen algunas diferencias entre ambos. Esterilización implica la muerte y remoción de todos los microorganismos vivos, su aplicación es por métodos físicos y químicos en forma de gas, como es el caso del óxido de etileno y formaldehído (2,5-7).

A diferencia de este proceso, desinfección no implica esterilización e involucra el uso de químicos germicidas en forma líquida y ocasionalmente gaseosa (1,2,5-7).

3.2.2 Agentes físicos y químicos que afectan a las bacterias

3.2.2.1 Agentes físicos

- a) **Calor:** de los cuales el calor húmedo es el más potente (calentamiento más rápido y uniforme de los cuerpos), siendo lo más seguro el vapor a presión en el autoclave a 120°

C durante 20 minutos, que destruye toda clase de vida, incluidas las esporas.

- b) Luz ultravioleta: de potente acción destructora de microorganismos.
- c) Presión osmótica: las soluciones salinas concentradas son deletéreas, lo que se aprovecha por ejemplo, en la conservación del pescado con sal (2,6-9).

3.2.2.2 Agentes químicos

Incluyen a los antisépticos, desinfectantes, etc., dentro de los cuales hay algunas definiciones importantes que tomar en cuenta:

- a) Desinfectante: es una sustancia que destruye los microorganismos dañinos, se aplica este término a sustancias utilizadas para objetos inanimados (1,2,5-13).
- b) Antiséptico: es la sustancia que aplicada a los microorganismos los hace inocuos, ya sea matándolos o impidiendo su crecimiento, el término se usa para drogas aplicadas a tejidos vivos (1,2,5-13).
- c) Germicida: es toda sustancia que destruye o sea que mata a los microorganismos; el término se emplea corrientemente como sinónimo de bactericida, aunque estrictamente este último se refiere a sustancias que matan a bacterias (1,2,5-13).
- d) Sanitizante: agente que reduce poblaciones microbianas en superficies inanimadas (1,2,5-13).

- e) **Bacteriostática:** es una sustancia que impide el crecimiento y multiplicación de las bacterias.

Ahora bien, debe tenerse en cuenta que la mayor parte de las sustancias bactericidas, a bajas concentraciones se comportan como bacteriostáticas, siendo correcto el término antiséptico que engloba ambas acciones (1,2,5-13).

3.2.2.3 De acuerdo a su acción antimicrobiana se clasifican en 3 niveles

- a) **Alto nivel:** efectivo contra todas las especies (esterilización)
- b) **Nivel intermedio:** no destruye a las esporas.
- c) **Nivel bajo:** no destruye esporas y virus (4).

3.3 Clasificación

Para mayor simplicidad, se puede clasificar estos agentes, según su estructura química, en ácidos, álcalis, fenoles y sus derivados, sales y compuestos de los metales pesados, alcoholes, halógenos, colorantes y compuestos varios (6).

Algunos desinfectantes tienen aplicaciones prácticas en el laboratorio, otros son utilizados en hospitales o en la industria. Dentro del uso de los mismos se puede citar:

3.3.1 Alcoholes

Los alcoholes son también desinfectantes, aunque su principal aplicación es como antisépticos en procesos quirúrgicos. Poseen un amplio rango de acción contra las formas vegetativas. Se consideran como concentraciones efectivas, soluciones alcohólicas de 60-90 por ciento, y un tiempo adecuado de contacto de 5 - 10 minutos para muchas bacterias vegetativas. Por su propiedad de evaporarse sin dejar residuos detectables significativos y por su rápida acción bactericida, se ha aceptado sea aplicado como tratamiento final para superficies estériles (3,14).

El alcohol etílico y el alcohol isopropílico diluidos con agua para dar una concentración de 70 por ciento, son usados para desinfectar la piel antes de inyecciones o para termómetros clínicos. El segundo tiene mayor actividad bactericida, ya que es considerado más eficaz para reducir o alterar la tensión superficial de las células bacterianas y desnaturalizar las proteínas. Tiene el inconveniente de su olor picante, que justifica su escaso empleo (1,3).

Se pueden usar solos o juntos con agentes como clorhexidina o yoduros. El alcohol conteniendo ácido sulfúrico al 1 por ciento posee actividad esporocida. Otra mezcla es formalina al 10 por ciento en alcohol al 70 por ciento (6,7).

3.3.2 Aldehídos

El formaldehído es el mejor conocido, debido a que es un gas, se vende en solución acuosa al 37 - 40 por ciento, conocido como formalina, la cual es utilizada para preservar especímenes anatómicos. En el laboratorio se utiliza formalina al 0.1 - 0.5 por ciento para matar cultivos de microorganismos no esporulados y para manipulaciones microbiológicas. También

es utilizada como fumigante. El formaldehído se usa con el amoníaco, formando hexametenamina, producto muy empleado como antiséptico urinario. Es usado para preparar ciertas vacunas virales, ya que inactiva a los virus sin destruir sus propiedades antigénicas. A temperaturas abajo de 20° C no es muy activo y requiere una humedad de al menos 70 por ciento. Soluciones de formaldehído al 4 por ciento, se usan para desinfectar superficies, en algunos casos cultivos y puede usarse en superficies metálicas, ya que no causa corrosión (3,5-7,15).

El glutaraldehído debe ser una preparación fresca al 2 por ciento en solución acuosa con pH 7.5-8.5, añadiendo, bicarbonato de sodio al 0.3 por ciento, como activante.

Algunos activantes tienen tintes, así el consumidor se asegura que ha sido activado. El grado de estabilidad y efectividad depende del producto. Puede ser usado para esterilizar material termolábil que no puede ser esterilizado por calor (3,5-7,15).

Ambas preparaciones son activas contra bacterias vegetativas, esporas y hongos. Su acción esporocida se ve incrementada por la temperatura y con una concentración al 8 por ciento de formaldehído. Este último es usado en forma gaseosa o en solución acuosa o alcohólica a una concentración de 3 - 8 por ciento. Sin embargo, estas soluciones son inapropiadas para uso rutinario, ya que pueden causar irritación a los tejidos, endurecimiento y rugosidad de piel (1,2,6,7,11,15,16).

3.3.3 Halógenos

Los hipocloritos son más activos contra una gran variedad de organismos incluyendo virus, pero son menos efectivos contra micobacterias y esporas, especialmente en superficies grasas. Los compuestos son ampliamente utilizados en la industria lechera y alimenticia y son vendidos en mezclas con detergentes aniónicos los cuales son efectivos agentes sanitizantes. Son inactivados por materia orgánica (15).

Dentro de los hipocloritos se incluyen el hipoclorito sódico y el cálcico. Según normas comerciales de los Estados Unidos, el contenido de cloro de una solución de hipoclorito no será menor de 2.5 por ciento y la velocidad de descomposición no será mayor del 10 por ciento en cloro en 6 meses. Estos son probablemente los más usados en industrias y tratamiento de aguas por su bajo costo. Son aniónicos e incompatibles con detergentes catiónicos. Su uso incluye jarras de descarte y desinfección de superficies, pero se debe tener precaución ya que corroen metales. Las soluciones diluidas deben ser reemplazadas después de 24 horas. Algunas materias colorantes añadidas a éstos son para identificarlos; no es un indicador de actividad (15).

Dentro de las soluciones de hipocloritos están Eusol y Dakin's, la cual es una solución usada para desinfectar heridas, úlceras y cavidades corporales (4-7,11,17).

3.3.3.1 Yodóforos

En soluciones alcohólicas o acuosas, son buenos desinfectantes para bacterias vegetativas, virus y esporas, pero tienen menos poder esporocida que los hipocloritos y son más

caros. Son una combinación de yoduro y agentes solubilizantes que liberan yodo al ser diluidos con agua. No son compatibles con detergentes aniónicos. Contienen un indicador y son activos mientras tengan un color café - amarillo. Un ejemplo de éstos es la povidona yodada, que es un compuesto orgánico yodado en una mezcla detergente, usado como desinfectante de la piel. Su eficacia disminuye en presencia de materia orgánica (1,4,7,14,15).

3.3.4 Fenoles y sus derivados

3.3.4.1 Fenol

Tiene un uso limitado, es muy tóxico.

3.3.4.2 Derivados del alquitrán

Lysol es una solución de cresol y jabón. Fuertes soluciones de Lysol son corrosivas. Una solución acuosa al 2% es la más utilizada en el laboratorio para jarras de descarte y como desinfectante general.

3.3.4.3 Fluidos blancos y negros

Son dos tipos de desinfectantes, los cuales contienen fracciones fenólicas similares a las del Lysol pero con diferentes formulaciones.

Los fluidos son más estables en dilución, las concentraciones que usualmente recomiendan son 0.5 - 1.0 por ciento (5,18).

3.3.4.4 Hexaclorofeno

Es usado en concentraciones de 2 - 3 por ciento en preparaciones líquidas de jabón en anfiteatros para reducir el número de bacterias en la piel y manos. Es un desinfectante débil, actúa generalmente más sobre microorganismos Gram positivo. Se incorpora a jabones, cremas, aceites y a otros vehículos para aplicación tópica. Existen emulsiones y jabones líquidos de hexaclorofeno, los cuales contienen diferentes formulaciones (13,15,19).

3.3.4.5 Cloroxilenos

Muestran un bajo grado de actividad antimicrobiana y son fuertemente inactivados por materia orgánica. No es irritante y no adecuado para uso general (4,15).

3.3.4.6 Cresoles

Mezclas de o-, m- y p-metilfenol, más efectivos que el fenol, pero menos solubles en agua y son solubilizados con jabones. Se pueden usar puros o en mezclas comerciales (tricresol, creolina) los cuales son eficaces germicidas, empleados en concentraciones del 1 - 5 por ciento, útiles en presencia de materia orgánica (5).

3.3.4.7 Fenoles solubles claros

Se les llama así a aquellas preparaciones refinadas de fenol. Su uso en las diluciones correctas no dañan la piel, se debe evitar su uso prolongado. Poseen amplio espectro bacteriano,

pero es débil contra esporas. Deben usarse en las mayores concentraciones recomendadas en situaciones difíciles (2 - 5 por ciento). Las diluciones se deben preparar diariamente y no tenerlo almacenado. El sudol es un fluido soluble claro que contiene como ingrediente activo xileno y etilfenol. Son conocidos comercialmente como: Clearsol, Printol, Stericol, Hycolin (3,5,7).

3.3.5 Desinfectantes activos de superficie

Contienen grupos hidrofílicos e hidrofóbicos y como consecuencia tienden a migrar a las superficies e interfases. De acuerdo a la ionización de su grupo hidrofílico se pueden clasificar como surfactantes aniónicos, catiónicos y no iónicos. Estos surfactantes tienen numerosas aplicaciones en tecnología y medicina como emulgentes, solubilizantes, detergentes y en el caso de los catiónicos, como antibacterianos. Dentro de estos últimos se encuentran el cloruro de benzalconio y la cetrimida. Las interferencias que estos compuestos tienen, es debida a interacción con las diferentes especies iónicas. Estos compuestos son inactivados a pH por debajo de 3.5 son activos frente a bacterias Gram positivo, algunos hongos, pero no contra esporas. Las bacterias Gram negativo, son las que presentan mayor resistencia a estos compuestos, en especial las del género Pseudomonas. Su uso en el laboratorio es limitado, pero tienen la ventaja de ser estables y no corroer metales. Usualmente son empleados en una dilución de 1 - 2 por ciento para limpiar superficies, son muy populares en la higiene de los laboratorios de alimentos por su naturaleza detergente. También se usan en hospitales para sanitización ambiental y limpieza de utensilios contaminados. Se emplean en cirugía, urología y ginecología en soluciones acuosas y alcohólicas (1,5,7,11,13,14,20-22).

3.3.6 Antimicrobianos sintéticos

Son utilizados solos o con otras sustancias. La clorhexidina es normalmente usada como gluconato, ya que es soluble en agua. Se han descrito muchas contaminaciones de estas soluciones con especies de Pseudomonas. Debido a sus propiedades catiónicas es incompatible con jabones y otros materiales aniónicos. Se usa en cirugía para desinfección preoperatoria de la piel e irrigación de heridas, en urología, ginecología, obstetricia y en la prevención de contaminación de quemaduras. Esta posee limitada acción antifúngica, pero su rápida acción bactericida ha contribuido a su amplio uso en medicina y veterinaria. El gluconato de clorhexidina al 4 por ciento es conocida como Hibistat (2,3,5,11,13,15,23,24).

Las soluciones comerciales de Savlón vendidas como concentrados para usar en hospitales, contienen 1.5 por ciento de clorhexidina y 15 por ciento de cetrimida. Savlón tiene buena propiedad detergente y es muy usado para lavar heridas. Buen desinfectante de uso general. La dilución recomendada de uso intra hospitalario está en el rango de 0.5 - 2.5 por ciento. Estos componentes pueden ser inactivados y contaminados por un manipuleo y almacenamiento incorrecto (2,3,5,7) (Tablas 1 y 2).

3.4 Métodos de aplicación de los desinfectantes

Pueden ser aplicados por una variedad de métodos, dependiendo de su naturaleza y la superficie a tratar. Agentes en preparaciones líquidas (fenólicos, compuestos de amonio cuaternario, halógenos, peróxidos y aldehidos) pueden ser aplicados por los siguientes métodos: aerosol, limpieza frotando superficies, inmersión, fumigación, nebulización con aerosol, etc.(10).

Algunos desinfectantes provocan efectos indeseables en la piel, ojos y tracto respiratorio. Guantes desechables, mascarillas, gafas o viseras y todas aquellas medidas de seguridad pertinentes, deben ser usadas por todas aquellas personas que manipulen desinfectantes fuertes, en especial al momento de la preparación de las diluciones a utilizar (7,10).

3.5 Mecanismos de acción de los desinfectantes

Estos pueden dañar a los microorganismos por diversos mecanismos, siendo los principales:

3.5.1 Precipitación y desnaturalización de proteínas

Los ácidos, alcoholes, fenoles, metales, compuestos metálicos y halógenos, provocan la precipitación y desnaturalización de las proteínas del protoplasma bacteriano. No hay una evidencia real que asegure que los ribosomas sean el blanco principal de los desinfectantes.(3,5,8).

3.5.2 Combinación e inhibición consiguiente de enzimas bacterianas con grupos sulfhidrilos y compuestos de mercurio, ocurre tanto a nivel de membrana como de citoplasma. La inactivación de enzimas es el mecanismo más frecuente. Opera en los halógenos, metales y compuestos metálicos, ureas, amidas, carbamatos y nitrofuranos. La acción sobre las enzimas de la membrana se observa en el caso del hexaclorofeno, que inhibe la cadena de transporte de electrones, inhibiendo así todas las actividades metabólicas de las bacterias aeróbicas (5,8).

3.5.3 Oxidación de los constituyentes bacterianos, especialmente enzimas, por ejemplo el

peróxido de hidrógeno o agua oxigenada (3,8).

3.5.4 Combinación con grupos amínicos de las proteínas bacterianas, por ejemplo en formaldehído, dióxido de azufre y glutaraldehído. En el caso de que estos grupos sean esenciales en actividades metabólicas, la célula bacteriana muere luego de este tipo de reacciones (8).

3.5.5 Alteraciones de la permeabilidad de la membrana celular de las bacterias. Esta forma de acción opera en los fenoles, compuestos de amonio cuaternario y en algunos fármacos. Al alterar la permeabilidad de la membrana, provocan pérdida de constituyentes esenciales, con la subsiguiente muerte de la bacteria, ya que la membrana provee una unión dinámica entre el metabolismo y transporte. El potasio es de las primeras sustancias que aparecen cuando la membrana es dañada. Otras sustancias que se liberan son: amino ácidos, purinas, pirimidinas y pentosas. En el caso de que la acción de la droga no sea prolongada o expuesta a altas concentraciones, el daño puede ser reversible y causar solo una bacteriostasis (5,6,8).

3.5.6 Combinación con grupos ácidos y básicos del protoplasma bacteriano, lo cual sucede especialmente en el caso de las nucleoproteínas, por ejemplo los colorantes ácidos y básicos, respectivamente. Ocurre por ejemplo con la acriflavina. En el caso de las acridinas, su eficacia aumenta con el grado de ionización y también las proflavinas. Estas se intercalan en la estructura de la doble hélice, interfiriendo de tal forma en sus funciones que pueden causar la muerte de la célula (3,5,6,8) (Figura 1).

3.6 Condiciones que ha de reunir un desinfectante

Un desinfectante ha de tener una actividad germicida elevada, ha de ser efectivo en

presencia de materia orgánica y para el pH y la temperatura empleados, ha de ser estable y soluble en agua, no ha de tener gran toxicidad y se ha de producir a un costo razonable. Indudablemente no es fácil disponer de un agente químico que sea ideal en todos estos puntos (1,6).

Un agente químico será de poco valor si no tiene la capacidad de destruir varios tipos de bacterias, mohos y levaduras, patógenas o no, en las condiciones de empleo (1, 6, 25).

3.7 Desventajas y algunas consideraciones con el uso de desinfectantes

La eficacia química de casi todos los desinfectantes disminuye en presencia de materia orgánica, en mayor grado la de los hipocloritos, mercuriales y otros compuestos, y en menor grado la de los fenoles y tricresoles. A veces es muy importante la reacción del medio en que se emplea el desinfectante. Los hipocloritos son mucho más efectivos en un medio ligeramente ácido. Otros compuestos son más eficaces cuando el pH es relativamente elevado. Las flavinas, por ejemplo la acriflavina, son más efectivas cuando la reacción es alcalina (4,6).

En general la actividad germicida depende de las condiciones de uso, como: concentración, tiempo, temperatura, pH, dureza de las aguas, clase y cantidad de materia orgánica presente, características de la superficie, tipos y concentración de microorganismo a destruir. Estas no solamente influyen en la eficacia de la desinfección, sino también en la rapidez con que estas soluciones rebajen su fuerza, lo que determina, con frecuencia, que sea necesario repetir la operación de desinfección. La experiencia del laboratorio permitirá confeccionar con más precisión, la lista de reactivos y procedimientos capaces de evitar la proliferación de microorganismos sobre equipo y utillaje (4,6,10).

Con respecto a los factores antes mencionados se puede decir lo siguiente:

3.7.1 Temperatura

El grado de desinfección aumenta con la temperatura, aunque el efecto es más marcado con algunos agentes. El efecto de la temperatura, de aumentar el grado de actividad bactericida, a una concentración y tamaño de inóculo fijos, se denomina coeficiente de temperatura, que es un valor característico para cada desinfectante (2,5,6,23,26).

3.7.2 Concentración

Los efectos que pueda tener la dilución de un desinfectante sobre su actividad antibacteriana son de gran importancia. Existe el coeficiente de dilución que también es característico para cada desinfectante (2,5,6).

3.7.3 pH

Los cambios en el pH pueden afectar no solo la actividad de los desinfectantes, sino también el grado de crecimiento bacteriano y el estado fisicoquímico de su superficie. El crecimiento óptimo de las bacterias es de pH 6 - 8 y fuera de estos rangos declinan. Obviamente el grado de ionización de los productos químicos desinfectantes ácidos o básicos depende del pH. Algunos son activos en estado no ionizado, mientras que otros lo son como aniones o como cationes. De todo lo anterior se deduce que la actividad se verá aumentada en aquellos pH que favorezcan la formación de especies activas. Por ejemplo, los compuestos de amonio

cuaternario, compuestos catiónicos, son más activos en soluciones alcalinas, ya que se ve aumentada la negatividad de las células bacterianas; mientras que la interacción con aniones será facilitada en condiciones ácidas (2,5).

3.7.4 *Formulación*

La correcta formulación es crucial para el uso efectivo de los desinfectantes. Por ejemplo, el poder de penetración y aumento de efectividad de algunos agentes como clorhexidina y compuestos de amonio cuaternario, puede ser mayor en alcohol al 70 por ciento que en solución acuosa. Y así un sinúmero de pormenores que son de vital importancia (2,5).

3.7.5 *Factores fisicoquímicos*

Las propiedades de adsorción por la pared de las células, la penetración en el citoplasma y reacción con los constituyentes celulares, dependen de la naturaleza química y configuración del germicida, y a la vez éstas pueden ser influenciadas por la presencia de otras sustancias, que afectan la tensión superficial o la distribución lípido/agua del desinfectante (2,5).

3.7.6 *Sustancias del ambiente*

La materia orgánica como sangre y otros fluidos, pus, leche, residuos alimenticios, heces y proteínas coloidales, reducen en varios grados la efectividad de los desinfectantes. También materiales como plástico, hule, corcho y tela, adsorben ciertos desinfectantes (5).

3.7.7 Naturaleza y número de microorganismos

Influyen en la efectividad de los germicidas, en especial si hay esporas, que son más resistentes. Si el grado de contaminación es alto, se requiere mayor tiempo y concentración del germicida. Resulta de mucha utilidad conocer los niveles de acción germicida para facilitar su selección para determinado propósito (2,5,25).

Muchos desinfectantes excelentes, empleados en hospitales, no se utilizan en la higienización de alimentos por su toxicidad, corrosión o producción de sabores desagradables. El formaldehído, compuestos fenólicos y sales de metales pesados se usan raramente y algunos otros, entre los que se pueden incluir el óxido de etileno y cloro en forma de gas, se utilizan en la descontaminación de especias desecadas o a la cloración de agua, respectivamente, a nivel de limpieza, desinfección e higiene de alimentos (27).

Es importante conocer la solubilidad del desinfectante en agua y otros disolventes. Para la mayor parte de las aplicaciones de la desinfección se han de emplear compuestos químicos solubles en agua (6).

La mayor parte de los compuestos fenólicos no se emplean inmediatamente después de su fabricación, sino que permanecen almacenados durante meses antes de su venta. Aun después de adquiridos por el consumidor, el agente químico no se empleará inmediatamente. Por eso es importante que el desinfectante sea estable o que al menos se conozca aproximadamente la velocidad de descomposición. Esto último se aplica en la distribución de hipocloritos líquidos; para este tipo de desinfectantes es importante conocer la fecha de fabricación, la cantidad de cloro activo en un momento dado y la velocidad aproximada de descomposición para el

almacenaje en un lugar oscuro y a temperatura no superior a 20° C (5,6,10).

En algunos casos es indiferente que el desinfectante sea de color o no; pero en general es preferible esto último. Las creosotas son desinfectantes excelentes para el tratamiento de la madera; pero no pueden emplearse sobre las superficies que han de pintar, ni en las superficies internas o depósitos de tinta. Otra cuestión importante es la del olor. Los fenoles y cresoles no pueden emplearse en la proximidad de alimentos a causa de la facilidad con que muchos de éstos absorben los olores (5,6).

Los desinfectantes, que para ser empleados han de ponerse en contacto con las manos o con la piel, no deben poseer toxicidad demasiado elevada. La cuestión de la toxicidad para los tejidos es de importancia capital en el caso de los germicidas y antisépticos (6,10).

El uso de diferentes tipos de desinfectantes químicos en una base rotacional, es practicado por muchas compañías farmacéuticas. Teóricamente esta rotación previene el aparecimiento de microorganismos resistentes a determinado compuesto. Sin embargo es importante considerar que no todos los desinfectantes son compatibles entre sí y con otros agentes de limpieza. Algunas combinaciones pueden formar precipitados inactivos y superficies pegajosas, por ejemplo los compuestos fenólicos y yodóforos son incompatibles (4-6,10).

3.8. Métodos de evaluación de los desinfectantes

Cualquier método aprobado por el A.O.A.C., debe ser considerado aceptable para los usos que fue propuesto (14).

La acción bactericida o germicida de una sustancia puede ser evaluada por el método de Rideal y Walker, el cual ha sido revisado y modificado a través de aproximadamente 63 años, y en todas estas revisiones se ha conservado el concepto de utilizar el fenol como estándar de referencia. Con todas las modificaciones que se han sugerido se ha logrado llegar a un incremento de la precisión y exactitud del método (3,4).

En la actualidad existen varios métodos para el análisis bacteriológico de desinfectantes, siendo uno de los métodos oficiales el Coeficiente de Fenol. En los inicios de la práctica del Coeficiente de Fenol, la fiebre tifoidea era una de las principales enfermedades infecciosas causantes de mortalidad, por lo que fue seleccionada Salmonella typhi, como el microorganismo más empleado para la evaluación de los desinfectantes y aún continúa siendo utilizada en nuestros días, junto con Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa y Salmonella choleraesuis, estas últimas por la resistencia que presentaban a la desinfección (4,6,8).

Otro método propuesto por la A.O.A.C. es : Valoración de la actividad antimicrobiana de sanitizantes, germicidas y detergentes (28,29).

El método de valoración de actividad antimicrobiana de sanitizantes, germicidas y detergentes, se basa más que todo en determinar el porcentaje de reducción de un número determinado de microorganismos cuando se ponen en contacto con un germicida bajo condiciones de prueba específicas (28-30) (Figura 2).

La A.O.A.C. incluye métodos y procedimientos para determinar la actividad de agentes esporocidas, fungicidas, tolerancia de la dureza del agua, actividad virucida, tolerancia a materia orgánica, eficacia en superficies duras y otras. Los fabricantes de este tipo de productos, deben

realizar las pruebas necesarias para garantizar sus productos (4,8,10).

Existe otro método, cuyo fundamento es igual que el del Coeficiente de Fenol, diferenciándose en que se efectúan diluciones más seriadas. Este método lo usa la A.O.A.C. como confirmativo del método Coeficiente de Fenol. Si el resultado de la prueba no es satisfactorio, o sea, la dilución presumible requerida para aplicación práctica del desinfectante no es la correcta, se debe hacer un reajuste a la dilución recomendada de uso (4,18).

3.9. Otras Pruebas

3.9.1 Concentración mínima inhibitoria

Es la menor concentración de un desinfectante, el cual inhibe el crecimiento de un cultivo estándar de bacterias.

3.9.2 Estabilidad

Controlas (o verifica) la estabilidad y efectividad a largo plazo de un desinfectante.

3.9.3 Chick - Martin

Evalúa al desinfectante en presencia de materia orgánica.

3.9.4 Desinfectantes en uso

Determina la cantidad de bacterias vivas que hay en muestras de diferentes fuentes a las cuales se les ha añadido determinado desinfectante, por ejemplo: jarras de descarte, líquidos desinfectantes diluidos en uso, etc.

3.9.5 Toxicidad

in vivo sobre la piel humana o la de algún animal de experimentación (2,4,5,8,10,11,31).

4. JUSTIFICACIONES

Se considera conveniente la realización de este trabajo, debido a que la industria nacional fabricante de desinfectantes no cuenta con un Laboratorio de Control de Calidad que verifique que el producto cumpla con las especificaciones. Además, es oportuno efectuar dicho análisis a la industria internacional, ya que estos productos están involucrados de alguna manera en la conservación de la salud humana. Se considera de suma importancia garantizar la efectividad de dichos productos, verificándola a través del método de valoración de la actividad antimicrobiana de sanitizantes, germicidas y detergentes, y de esta manera, al hacer uso de los mismos, tener la certeza que cumplan con su finalidad.

5. OBJETIVOS

- 5.1** Estandarizar el método de valoración de actividad antimicrobiana de sanitizantes, germicidas y detergentes para ser utilizado en el análisis de muestras de estos productos en LUCAM.

- 5.2** Comprobar que los desinfectantes analizados en LUCAM, cumplen con la efectividad de la norma oficial adoptada.

- 5.3** Establecer las diferencias de efectividad entre los distintos tipos de desinfectantes analizados.

- 5.4** Comparar la efectividad de los desinfectantes frente a cada uno de los microorganismos utilizados en el análisis.

6. HIPOTESIS

Los desinfectantes y antisépticos, que son analizados por el Laboratorio Unificado de Control de Alimentos y Medicamentos (LUCAM), presentan un 99.999 por ciento de reducción de microorganismos, cumpliendo con las especificaciones oficiales adoptadas del A.O.A.C.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 Universo del trabajo

Para la realización del presente trabajo, se cuenta con muestras de antisépticos y desinfectantes que se analizan en el Laboratorio Unificado de Control de Alimentos y Medicamentos (LUCAM), por motivos de registro, denuncia, control, particulares y de Droguería Nacional.

7.1.1 Muestras

Se analizaron treinta muestras que ingresaron al LUCAM en un período de dos meses, por el método de valoración de la actividad antimicrobiana de sanitizantes, germicidas y detergentes, el cual está incluido en el A.O.A.C., con modificaciones del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) y LUCAM (32).

7.2 Medios

7.2.1 Recursos Humanos

7.2.1.1. Autor: Rosa María del Cid Morán

7.2.1.2. Asesor: Licda. María de los Angeles Monterroso

7.2.2 Material y Equipo

Beakers

Pipetas de 1,5,10,20, y 25 ml

Tubos pyrex de cristal de 15 x 125 mm y 22 x 175 mm

Probetas

Balones de 25,50,100,250,500 y 1000 ml

Cajas de Petri

Erlenmeyers

Estufa

Agitadores

Cronómetro

Balanza analítica

Refrigeradora

Incubadora

Autoclave

Horno

Baño maría

Espectrofotómetro

Agitador mecánico

Horno esterilizador de calor seco

Potenciómetro

Asa bacteriológica

Cámara de recuento Quebec

Gradillas

Magnetos

7.2.3 Medios de cultivo y soluciones

Agar tripticasa soya

Agar papa dextrosa

Caldo tripticasa soya

Caldo lactosado

Agar nutritivo A

Solución nuetralizante

Solución amortiguadora de fosfatos 0.25 M

Solución amortiguadora de fosfatos diluida

7.2.4 Microorganismos de prueba

ATCC

Staphylococcus aureus

6538P

Escherichia coli

10536

Pseudomonas aeruginosa

15442

7.3 Metodología

7.3.1 Análisis para el control microbiológico

Se investigó en las muestras la contaminación microbiológica según el método de la

Farmacopea de los Estados Unidos (USP), de límites microbiológicos.

7.3.2 Valoración de la actividad antimicrobiana de sanitizantes, germicidas y detergentes

Este método consiste en determinar el porcentaje de reducción de un número conocido de microorganismos al ponerse en contacto con las muestras diluidas o puras, en condiciones establecidas de medios de cultivo, temperatura y tiempo.

7.3.2.1 Conservación y preparación de los microorganismos de prueba

Se conservaron las cepas de microorganismos resemebrándolas mensualmente en tubos de 15 x 125 mm que contenían 7 ml de agar nutritivo inclinado, incubándolos a una temperatura de 35 - 37° C por periodos de 20 - 24 horas, transcurrido este tiempo se mantuvieron los cultivos en refrigeración. Antes de realizar la prueba se efectuaron dos resiembras diarias consecutivas y se incubaron en las condiciones señaladas. A partir de estos cultivos, se resemebraron tres tubos de 22 x 175 mm que contenían 12 ml de agar nutritivo inclinado y se incubaron bajo las condiciones antes señaladas.

Se recuperó el crecimiento de cada tubo con tres ml de solución salina estéril y se estandarizó la suspensión en condiciones asépticas a 80% de transmitancia, a una longitud de onda de 580 nm., la suspensión debería contener de 75 - 125 X 10⁶ cel/ml.

7.3.2.2 Preparación de la muestra

Se utilizó el producto a la concentración señalada por el fabricante (directa o diluida).

Se midieron exactamente y por duplicado 99 ml del producto o de su dilución, haciendo la transferencia a un matraz erlenmeyer de 250 ml, estéril con tapón de rosca. Se prepararon dos matraces más con 99 ml de la solución amortiguadora de fosfatos estéril, las cuales se utilizaron para determinar el número inicial de microorganismos.

7.3.2.3 Inoculación

Se agitó el matraz y suspendió la misma justamente antes de la inoculación para que en el momento de la misma aún existiera un movimiento residual del líquido y así facilitara la incorporación del inóculo.

Se inoculó individualmente la suspensión del microorganismo en el centro y sobre la superficie del líquido, evitando tocar con la pipeta el cuello o las paredes del matraz durante la inoculación. Se agitó y exactamente a los 30 segundos de la inoculación se transfirió 1 ml del cultivo expuesto a 9 ml de la solución neutralizante, se mezclaron y transfirieron alícuotas de 1 ml a cajas de Petri estériles, agregando 12 a 15 ml de medio agar nutritivo con neutralizante (el medio se preparó en forma convencional y antes de su esterilización se agregaron 25 ml de la solución neutralizante), se homogenizó y se permitió que solidificara, invirtiendo e incubando las placas durante 48 horas a 35 - 37° C.

7.3.2.4 Determinación de la cuenta inicial

Se transfirió 1 ml de la suspensión a 99 ml de la solución amortiguadora de fosfatos diluida y se efectuaron las siguientes diluciones decimales necesarias para obtener placas que contengan entre 30 y 300 colonias por placa. Se colocó 1 ml de cada una de las diluciones en

cajas de Petri estériles, agregando de 12 a 15 ml de agar nutritivo, se dejaron solidificar, se invirtieron e incubaron las placas durante 48 horas a 35 - 37° C. Después del período de incubación se realizó el recuento de las placas, tanto del producto de prueba como del control, reportando el porcentaje de reducción en función del número de microorganismos inicial y el número obtenido después del contacto con el producto. (para que la prueba sea válida el número de microorganismos inicial debe estar entre $75 - 125 \times 10^6$ cel/ml).

7.3.2.5 Interpretación

El producto debe cumplir con el valor de 99.999% de reducción a los 30 segundos de contacto, según el A.O.A.C. (28, 29).

Cálculos:

$$\% \text{ Reducción} = 100 - \frac{(B \times 100)}{A}$$

A

A = Cuenta inicial

B = Cuenta obtenida

7.4 Diseño de Investigación

7.4.1 Muestreo

Se analizó el número de muestras de antisépticos y desinfectantes que ingresaron al LUCAM en un período de 2 meses, haciendo un total de 30 muestras.

7.4.2 Análisis de resultados

Se utilizó estadística descriptiva.

8. RESULTADOS

Las 30 muestras de antisépticos y desinfectantes fueron sometidas a un análisis previo para detectar la presencia o ausencia tanto de bacterias como de hongos. De todas las muestras solamente una presentó contaminación, a la cual se le realizó un recuento aeróbico en placa, encontrándose conteos mayores a los límites permitidos, debiendo eliminar dicha muestra para evaluar poder germicida .

Las muestras que no presentaron contaminación alguna, se analizaron por el método de valoración de la actividad antimicrobiana de sanitizantes, germicidas y detergentes, el cual está incluido en el A.O.A.C., y así evaluar el poder germicida de los mismos .

Partiendo de los datos anteriores se logró determinar lo que observamos en la siguiente tabla:

Tabla No. 1

RESULTADOS SEGUN TIPO DE DESINFECTANTE

TIPO DE DESINFECTANTE	NUMERO DE MUESTRAS						
	Cumplen con los 3 M. O.	No cumple con los 3 M. O.	Cumplen con <u>S. aureus</u>	Cumplen con <u>E. coli</u>	Cumplen con <u>P. aeruginosa</u>	Cumplen con <u>E. coli y P. aeruginosa</u>	Cumplen con <u>S. aureus y P. aeruginosa</u>
Antimicrobianos sintéticos	3	1	1	1	-	-	-
Derivados de amonio cuaternario	4	3	-	1	1	1	-
Alcoholes	1	2	-	-	-	-	1
Alógenos	2	1	-	-	-	-	-
Derivados de Mercurio	-	-	-	-	-	-	1
Peróxidos	1	3	-	-	1	-	-
TOTAL	11	10	1	2	2	1	2
Porcentajes	37.94%	34.48%	3.44%	6.9%	6.9%	3.44%	6.9%

Es importante mencionar que en las gráficas 3 al 8 se tomó como valor más bajo 99.99 por ciento de reducción, para poder lograr efectos de comparación más detallada de aquellas muestras que resultaron efectivas, ya sea para uno, dos, tres o ninguno de los microorganismos evaluados. Se realizó control de ambiente de las áreas de trabajo.

9. DISCUSION DE RESULTADOS

Según los resultados obtenidos, del estudio inicial realizado a las muestras se logró determinar que el 96.6 por ciento de las muestras no presentó ningún tipo de contaminación, únicamente el 3.4 por ciento se encontró contaminado. Las muestras analizadas pertenecían a varios laboratorios fabricantes, siendo los datos anteriores muy importantes, ya que indican que el proceso de fabricación utilizado por estos laboratorios está siendo controlado microbiológicamente para evitar contaminaciones en dicho proceso.

Además, los resultados anteriores permitieron seleccionar las muestras en las que se evaluó el poder germicida por el método de valoración de la actividad antimicrobiana de sanitizantes, germicidas y detergentes, descartándose del estudio la muestra contaminada.

Con dicho método se evaluó cada muestra con 3 microorganismos. Se debe mencionar la importancia que tiene el trabajar con un control a la par, ya que resulta de mucha utilidad para conocer si la cantidad de inóculo agregado a las muestras se encuentra dentro de los límites de $75 - 125 \times 10^6$ cel/ml necesarios para considerar válida la prueba.

Otra información que da la utilización del control es que se inocularon microorganismos vivos y que el 65.5 por ciento de las muestras lograron reducir en diferentes grados la cantidad de inóculo agregado, ya sea para uno, dos o los tres microorganismos utilizados en el estudio.

Durante el estudio se realizó control microbiológico del ambiente considerando la

importancia que tiene el efectuar estos controles.

El A.O.A.C. establece que para que un desinfectante sea considerado efectivo, debe cumplir con el valor de 99.999 por ciento de reducción de microorganismos a los 30 segundos de contacto. Dicho cálculo se realizó en función del número de microorganismos inicial y el número obtenido después del contacto con el producto.

Del total de las muestras el 38 por ciento alcanzaron el 99.999 por ciento de reducción con los tres microorganismos, quedando demostrada una buena actividad antimicrobiana de estos desinfectantes.

Otro 31 por ciento de las muestras fueron efectivas o sea que alcanzaron un 99.999 por ciento de reducción sólo con 1 ó 2 de los microorganismos en estudio pudiendo decir de estos resultados que existen diferencias de actividad según el tipo de desinfectante utilizado, frente a los diferentes microorganismos evaluados.

Un 34.5 por ciento de las muestras alcanzaron valores menores del 99.999 por ciento de reducción con los 3 microorganismos, necesarios para considerarlas efectivas, pudiendo decir de estos datos que las muestras resultaron ineficaces en diferentes grados, para inhibir a los microorganismos en estudio. Como posibles causas se pueden mencionar:

Formulación incorrecta, ya que ésta es crucial para el uso efectivo de los desinfectantes.

Diluciones recomendadas por el fabricante no son las adecuadas, ya que la dilución de un desinfectante sobre su actividad antibacteriana es de gran importancia.

Cambios en el pH del producto, ya que la actividad antibacteriana de éstos se ve incrementada en aquellos pH que favorecen la formación de especies activas del desinfectante, y otros cambios que pudieran afectar su poder germicida.

Desarrollo de resistencia a algunos agentes antimicrobianos, debido probablemente a la capacidad de algunos microorganismos de acumular grandes cantidades de lípidos en o alrededor de la pared celular, impidiendo la entrada del desinfectante.

También se puede mencionar la habilidad de algunos microorganismos para degradar estos compuestos, haciéndolos entonces menos dañinos, pudiendo llegar a utilizarlos como fuente de nutrición, como es el caso de algunas levaduras y Pseudomonas que pueden metabolizar fenoles y cresoles.

Según el tipo de desinfectante y su diferente actividad sobre los microorganismos en estudio, se observó en algunos casos variación frente a microorganismos Gram positivo o Gram negativo.

Con respecto a las muestras de alcohol y halógenos, que fueron efectivas, sí se observó buena actividad, tanto para microorganismos Gram positivo como para Gram negativo, característica de este tipo de desinfectantes.

De las muestras de compuestos derivados de amonio cuaternario que fueron efectivas mostraron buena actividad antimicrobiana tanto para Gram positivo y Gram negativo en un 13.7 por ciento y un 10.5 por ciento lo fueron solo con microorganismos Gram negativo. A pesar de

que este tipo de productos se consideran como de una actividad antimicrobiana regular frente a microorganismos Gram negativo, quedó demostrada su eficacia en los desinfectantes que dieron estos resultados.

Los antimicrobianos sintéticos que fueron efectivos, demostraron una buena actividad antimicrobiana tanto para microorganismos Gram positivo como Gram negativo. Se observó un caso de mayor actividad frente a microorganismo Gram positivo dato que concuerda con lo reportado por la literatura, siendo que las bacterias Gram negativo son las que presentan mayor resistencia a estos compuestos, debido a la compleja naturaleza de su envoltura celular, que actúa como una barrera.

10. CONCLUSIONES

- 10.1** El método valoración de actividad antimicrobiana de sanizantes, germicidas y detergentes quedó estandarizado en el LUCAM, para ser utilizado en el análisis de muestras de este tipo.

- 10.2** Solamente el 38 por ciento de las muestras presentaron valores iguales o superiores al 99.999 por ciento de reducción a los 30 segundos de contacto con los 3 microorganismos en estudio, cumpliendo con la efectividad de la norma oficial adoptada.

- 10.3** Se observó la existencia de diferencias de actividad, según el tipo de desinfectante utilizado, frente a los diferentes microorganismos evaluados.

- 10.4** El uso de controles en el estudio es importante, ya que demuestra los diferentes comportamientos que tienen las muestras con respecto a los microorganismos, proporcionando bases de comparación. El método utilizado es fácil y económico de realizar.

11. RECOMENDACIONES:

- 11.1** Generalizar este tipo de estudio a todos aquellos productos cuya finalidad, por mínima que sea, involucre desinfección, tan estrechamente relacionada con la salud humana.

- 11.2** Poner énfasis, para que por medio de estos estudios, las diluciones recomendadas por el fabricante sean las eficaces.

- 11.3** Que las autoridades correspondientes establezcan controles a los laboratorios fabricantes y realicen inspecciones del producto en el mercado.

12. REFERENCIAS

1. Goodman A, Gilman A. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 6 ed. New York: Macmillan Publishing, 1980. XVI + 1843 p. (p. 987 - 1002).
2. Wilson GS, Miles A. **Principles of Bacteriology, Virology and Immunity**. 6 ed. Great Britain: Butler & Tanner, 1975. XI + 1248 p. (p. 144 - 186).
3. Merchant IA, Packer RA. **Bacteriología y Virología Veterinarias**. 2 ed. España: Acribia, 1965. 840 p. (p. 115 - 126).
4. Oliveros Sosa DJL. **Evaluación de los desinfectantes usados en la Industria Alimenticia de Guatemala**. Guatemala: USAC, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1983. (p. 4 - 23).
5. Hugo WB, Russell AD. **Pharmaceutical Microbiology**. 3 ed. London: Blackwell Scientific, 1983. X + 470 p. (p. 201 - 262)
6. Preseott SC, Gordon DC. **Microbiología Industrial**. 2 ed. España: Aguilar, 1952. (p. 881 - 890).
7. Collins CH, Lyne P. **Microbiological Methods**. 5 ed. London: Butterworths, 1984. X + 448 p. (p. 32 - 48).

8. Litter M. *Farmacología Experimental y Clínica*. 6 ed. Argentina: El Ateneo, 1980. X + 1953 p. (p. 1453 - 1456).
9. Rhodes A, Fletcher DL. *Principles of Industrial Microbiology*. Great Britain: Pergamon Press, 1966. XVIII + 320 p. (p. 47 - 57).
10. Parenteral Drug Association Task Force on Decontamination Agents. *Decontaminating Agents*. J. Parenter. Sci. Technol. 1986; 40: 104 - 109.
11. Martindale; *The Extra Pharmacopoeia*. 28 ed. London: The Pharmaceutical Press, 1982. XXX + 2025 p. (547 - 548).
12. Sollman MD. *A Manual of Pharmacology*. 8 ed. U.S.A.: W.B.B. Saunders, 1957. XI + 1535 p. (p. 803).
13. Remingtons. *Pharmaceutical Science*. 16 ed. U.S.A.: Mack Publishing Company, 1980. 1928 p. (p. 529, 1390 - 1393).
14. Carleton JF, Agalloco JP. *Validation of Aseptic Pharmaceutical Processes*. New York: Marcel Delcker, 1986. (p. 387 - 409).
15. Collins CH, Lyne P. *Microbiological Methods*. 3 ed. London: Butterworths, 1970. IX + 454 p. (p.82 - 95).

16. Trujillo R, Lindell K. New Formaldehyde Base Desinfectants. *App. Microbiol.* 1973;26: 106 - 109.
17. Frazier WC. *Microbiología de los Alimentos*. España: Acribia, 1962. 467 p. (p. 418 - 419, 145).
18. Garrat DC. *The Quantitative Analysis of Drugs*. 3 ed. Tokyo: Toppan, 1964. XIII + 925 p.(p. 201 - 209).
19. *The United States Pharmacopeia. The National Formulary*. 15 ed. Easton Pa., U.S.A.: United States Pharmacopeial Convention, 1980. LII + 1445 p.(p. 367 - 369).
20. *Farmacopea Nacional Argentina; Codex Medicamentarius Argentino*. 6 ed. Buenos Aires :Codex, 1978. 1283 p. (p.178).
21. *The Pharmacopoeia of Japan*. 10 ed. Japan: Society of Japanese Pharmacopoeia Yakiyi Nippo, 1981. 1360 p. (p. 106).
22. *British Pharmacopoeia*. England: HMSO, Vols. 2, Vol 1. 1980. XIV + 516 p. (p.47).
23. Burdon DW, Whitby JL. Contamination of Hospital Desinfectants with *Pseudomonas* Species. *Brit. Med. J.* 1967; 2: 153 - 155.
24. Hugo WB. *Inhibition and Destruction of the Microbial cell*. London: Academic, 1971. 819 p. (95 - 105).

25. Hugo WB. Types and Characteristics of Desinfectants. *J. Appl. Bact.* 1967; 30: 7 - 16.
26. Freke CD, Haggie D. Improved Bactericidal Efficiency of an Acidic Quaternary Ammonium Compound with Increasing Temperature. *J. Food Protect.* 1981; 44: 699 - 700.
27. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. *Ecología Microbiana de los Alimentos 1*. España: Acribia, 1980. XV + 332 p. (p.250).
28. Association of Official Analytical Chemists; *Official Methods of Analysis*. 12 ed. Washington: Association of Official Analytical Chemist, 1977. XXI + 1094 p. (p.63 - 65).
29. Association of Official Analytical Chemists; *Official Methods of Analysis*. 13 ed. Washington: Association of official Analytical Chemists, 1980. XX + 1018 p. (p.61 - 63).
30. Sylvester JC. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. New York: American Society for Microbiology, 1964. XIII + 789 p. (p.466 - 469).
31. Kolmer J. *Métodos de Laboratorio*. México: Interamericana, 1955. 1152 p. (p. 584 - 595).
32. *Actividad antimicrobiana de sanitizantes, germicidas y detergentes*. México: Instituto Mexicano del Seguro Social, Doc. Tec. 1980. 6 p. (p. 1 - 6).

13. ANEXOS

Tabla No. 1
Blancos Celulares de Drogas Antibacterianas no Antibióticos (5)
Agentes Antimicrobianos - no Antibióticos

Blancos de Reacción	Colorantes de Acridina	Alcoholes	Clorhexidina	Formaldehido	Glutaraldehido	Hexaclorofeno	Peróxido Hidrógeno	Hipocloritos	Yoduros	Fenoles	OAC	Sales Plata
1 Pared Celular				+	+			+		+		
2 Membrana Citoplasmática												
2.1 Acción en los Potenciales						+				+		
2.2.1 Cadena de Transporte de Electrones												
2.2.2 Adenosin Trifosfatasa			+			+						
2.3 Acción General en la permeabilidad		+	+									
3. Citoplasma										++	+	
3.1 Coagulación general			+++		++	+++						
3.2 Ribosomas							+			+++	++	+++
3.3 Acidos Nucléicos	+											
3.4 Grupos Thiol					+		+	+	+			
3.5 Grupos Amino				++	+			+				

Nota: Las cruces indican actividad. Esta actividad es dependiente de la concentración, y el número de cruces indica el orden de concentración al cual el efecto es alcanzado.
 Ej.: + a bajas concentraciones
 +++ a altas concentraciones
 OAC= Compuestos de amonio Cuaternario

Tabla No. 2
Propiedades de Algunos Desinfectantes (7)

	Hongos	Bacterias		Activos Contra		Mycrobacterias	Esporas	Proteinas	Materiales Naturales	Inactivados por Materiales Manuales	Agu a Dur a	Detergentes			Toxicidad		
		Gram +	Gram -	Piel	Ojos							Pulmone					
Fenoles	+++	+++	+++	+++	+	++	.	+	++	++	+	C	+	+	+	.	
Hipocloritos	+	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+	+	+	C	+	+	+	+	
Alcoholes	.	+++	+++	+++	+	+++	.	+	+	+	+	.	.	+	+	+	
Formaldeidos	+++	+++	+++	+++	+++	+++	--a	+	+	+	+	.	.	+	+	+	
Glutaraldehido	+++	+++	+++	+++	+++	++	--b	NA	+	+	+	.	+	+	+	+	
Yodoforos	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+++	+	+	+	A	+	+	+	.	
Q.A.C.	+	+++	+++	+++	+++	.	.	+++	+++	+++	+++	A(C)	+	+	+	.	

Bueno +++
 Regular ++
 Poco +
 Nada .
 Arriba de 40 °C a
 Arriba de 20 °C b
 Catiónico C
 Aniónico A

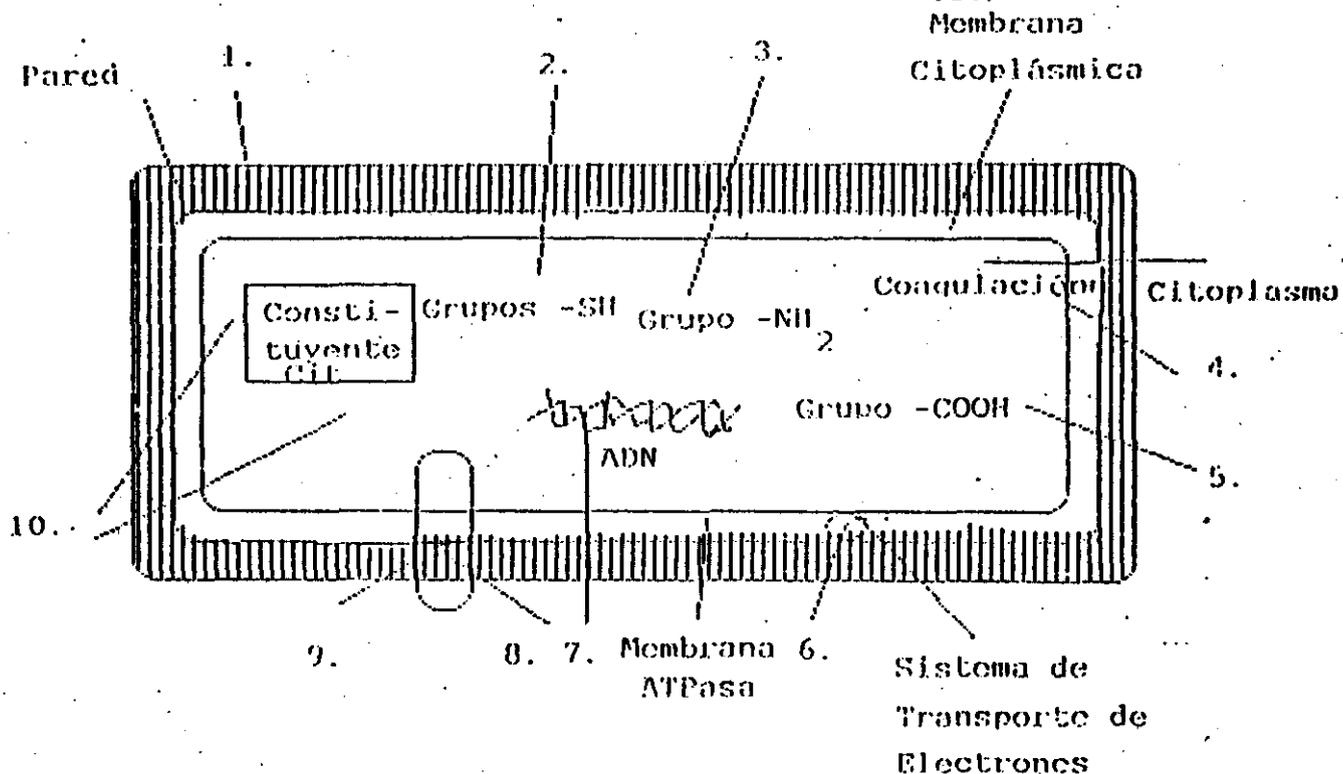
Tabla No. 3

PORCENTAJES DE REDUCCION

No. DE MUESTRA	TIPO DE DESINFECTANTE	PORCENTAJES DE REDUCCION		
		<u>S. aureus</u>	<u>E.coli</u>	<u>P. aeruginosa</u>
	Antimicrobianos Sintéticos			
1		100.000	100.000	100.000
2		99.999	99.999	99.999
3		99.806	99.999	99.999
4		99.920	99.987	86.660
5		100.000	99.974	99.987
6		100.000	100.000	100.000
	Derivados de Amonio cuaternario			
7		100.000	100.000	100.000
8		98.400	100.000	75.904
9		99.833	99.978	99.980
10		99.999	99.999	99.999
11		100.000	100.000	100.000
12		99.960	99.983	100.000
13		99.465	99.720	99.390
14		90.991	100.000	100.000
15		99.592	97.520	95.926
16		100.000	100.000	99.999
	Alcoholes			
17		99.991	99.946	99.774
18		59.760	94.840	91.020
19		99.999	99.917	99.999
20		100.000	100.000	100.000
	Halógenos			
21		99.952	99.890	99.916
22		100.000	100.000	100.000
23		100.000	100.000	100.000
	Derivados de mercurio			
24		100.000	99.880	100.000
	Peróxidos			
25		38.835	97.685	99.940
26		84.466	99.963	99.983
27		55.932	94.186	100.000
28		77.273	81.130	83.470
29		100.000	100.000	100.000

FIGURA # 1

Blancos de Agentes antibacterianos (5).



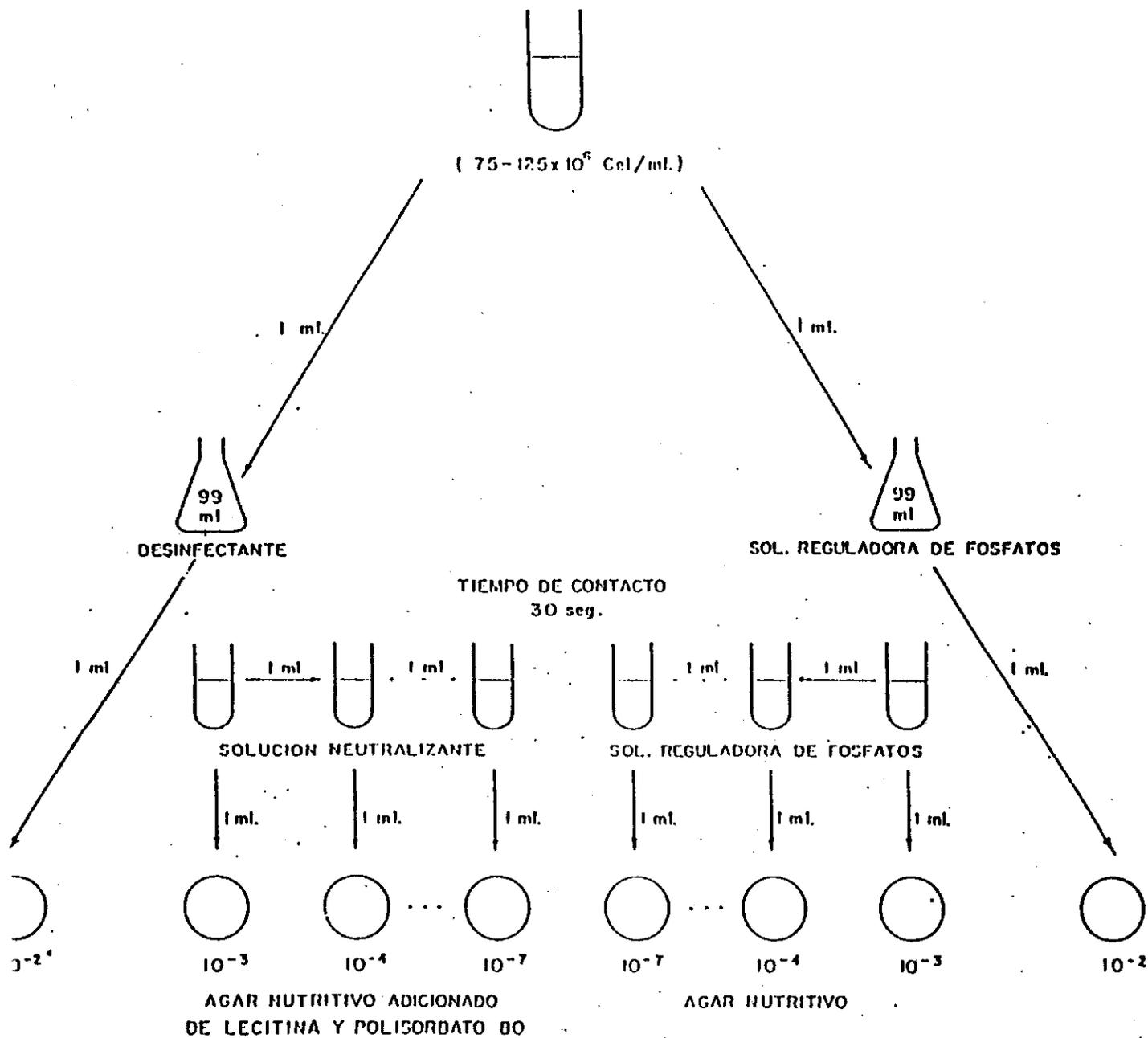
1. Fenol, Formaldehído, Mertiolate, Hipoclorito de Sodio.*
2. Hipocloritos, Yoduros, peróxido de hidrógeno, Glutaraldehído.
3. Formaldehído, Glutaraldehído, Oxido de etileno
4. A altas concentraciones: Hg, Fenoles, Clorhexidina, Glutaraldehído.
5. Agentes Catiónicos.
6. Hexaclorofeno.
7. Acridinas.
8. 2,4-Dinitrofenol, Carbanilidas, algunos fenoles.
9. Fuerza motriz de protones
10. Fenoles, Detergentes, Clorhexidina, Alcoholes.

* A bajas concentraciones.

GERMICIDAS Y DETERGENTES SANITIZADORES

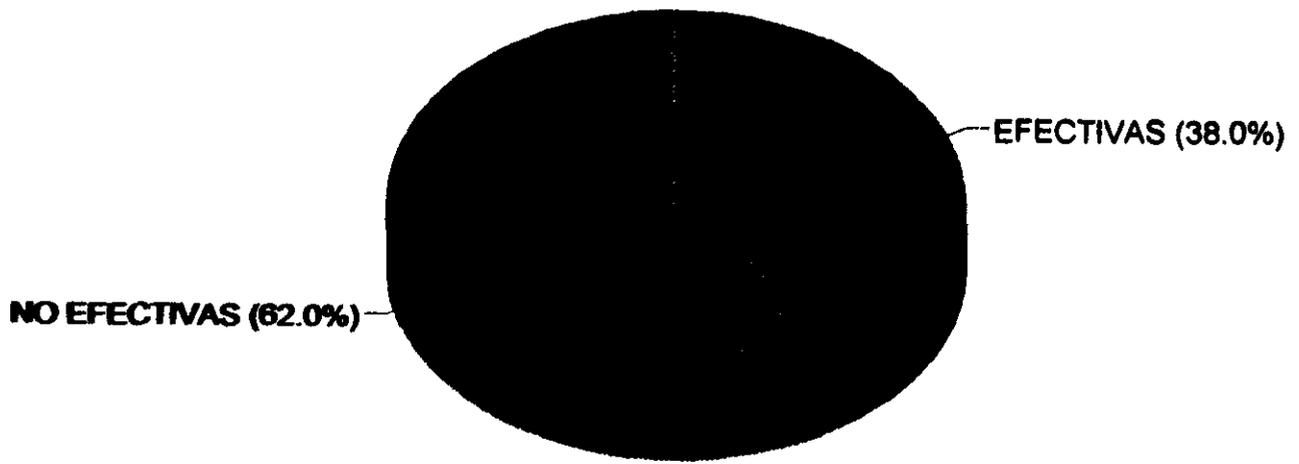
OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS (1980)

SUSPENSION BACTERIANA (32).



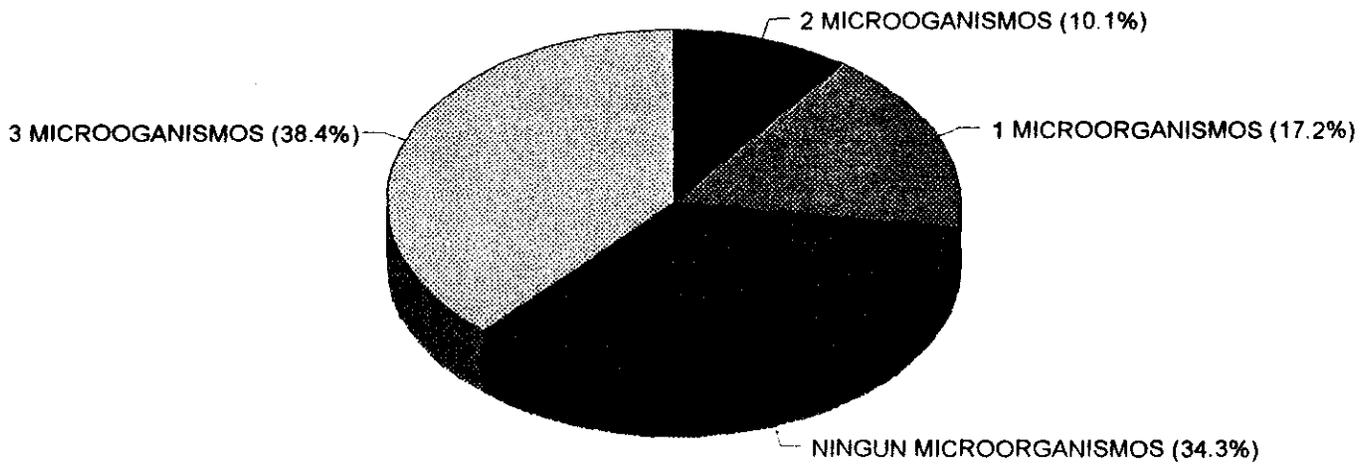
GRAFICA No. 1

**EFFECTIVIDAD DE LAS MUESTRAS
CON LOS 3 MICROORGANISMOS**



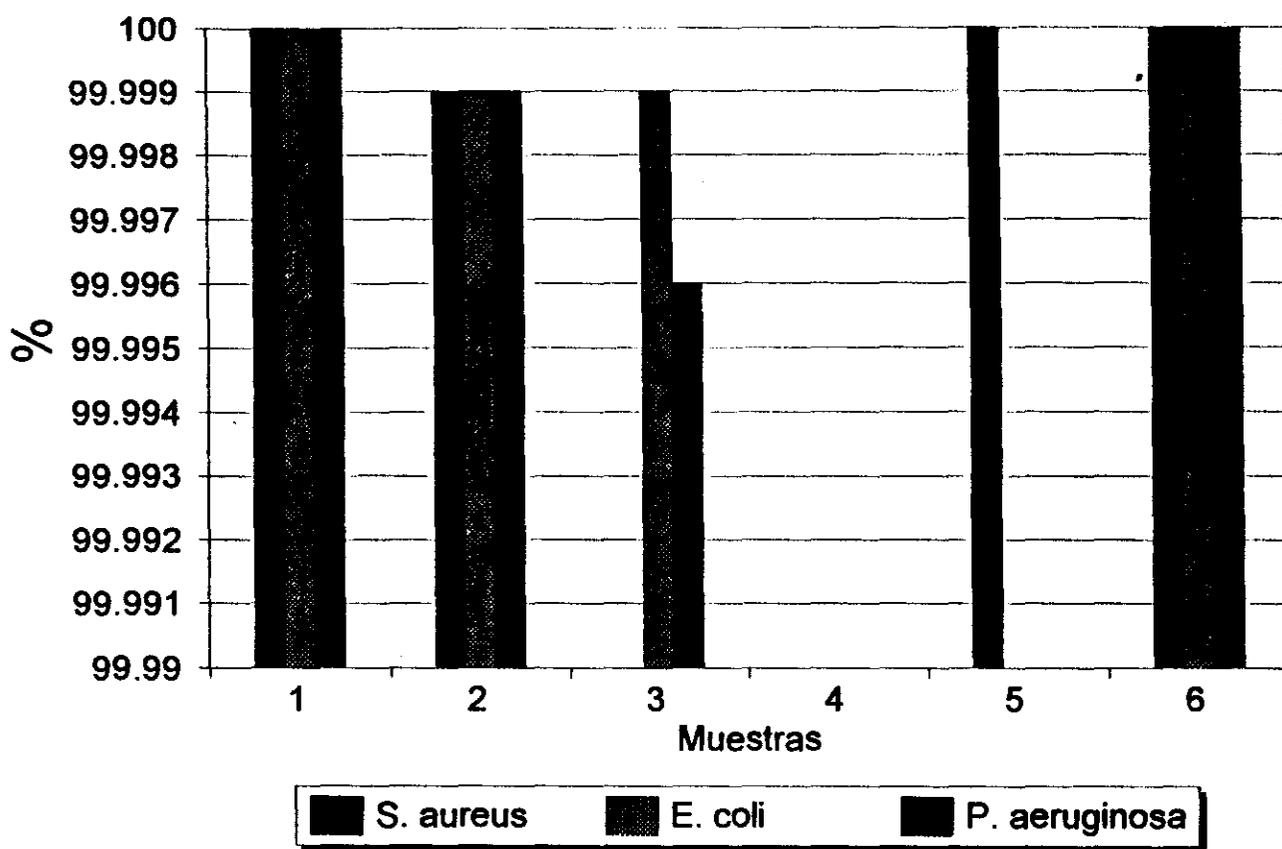
GRAFICA No. 2

EFFECTIVIDAD DEL TOTAL DE MUESTRAS



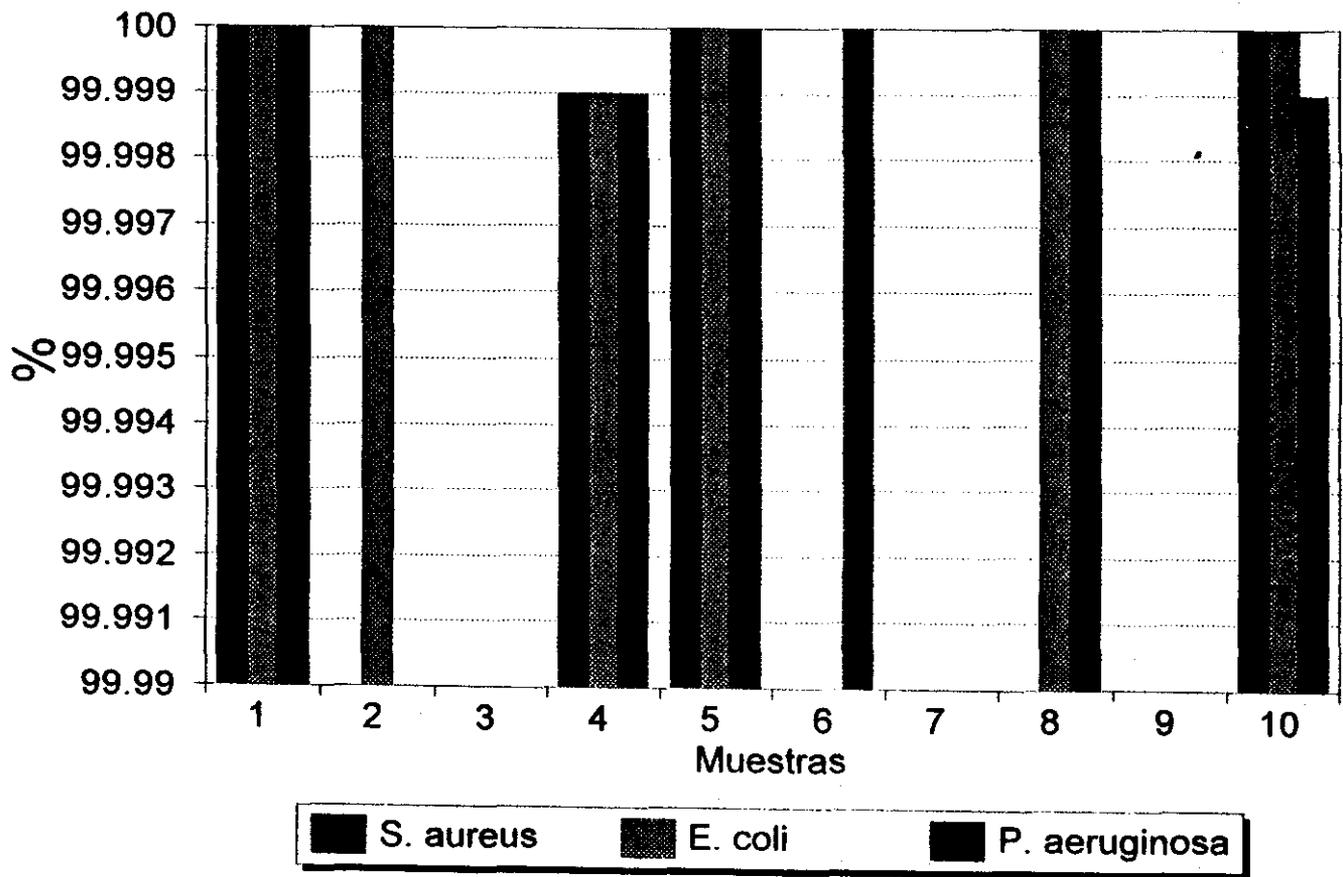
GRAFICA No. 3

PORCENTAJES DE REDUCCION CON ANTIMICROBIANOS SINTETICOS



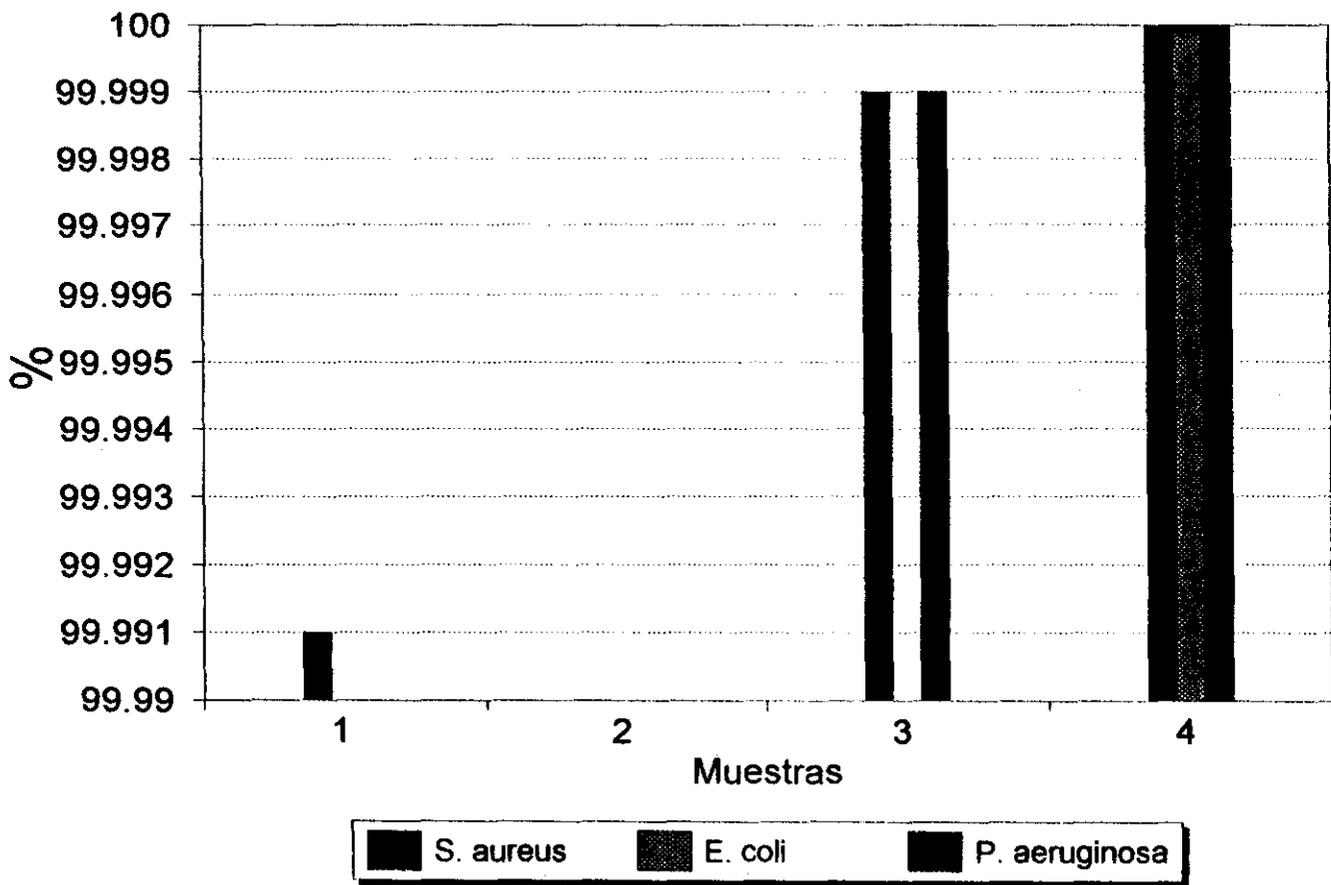
GRAFICA No. 4

**PORCENTAJES DE REDUCCION CON DERIVADOS
DE AMONIO CUATERNARIO**



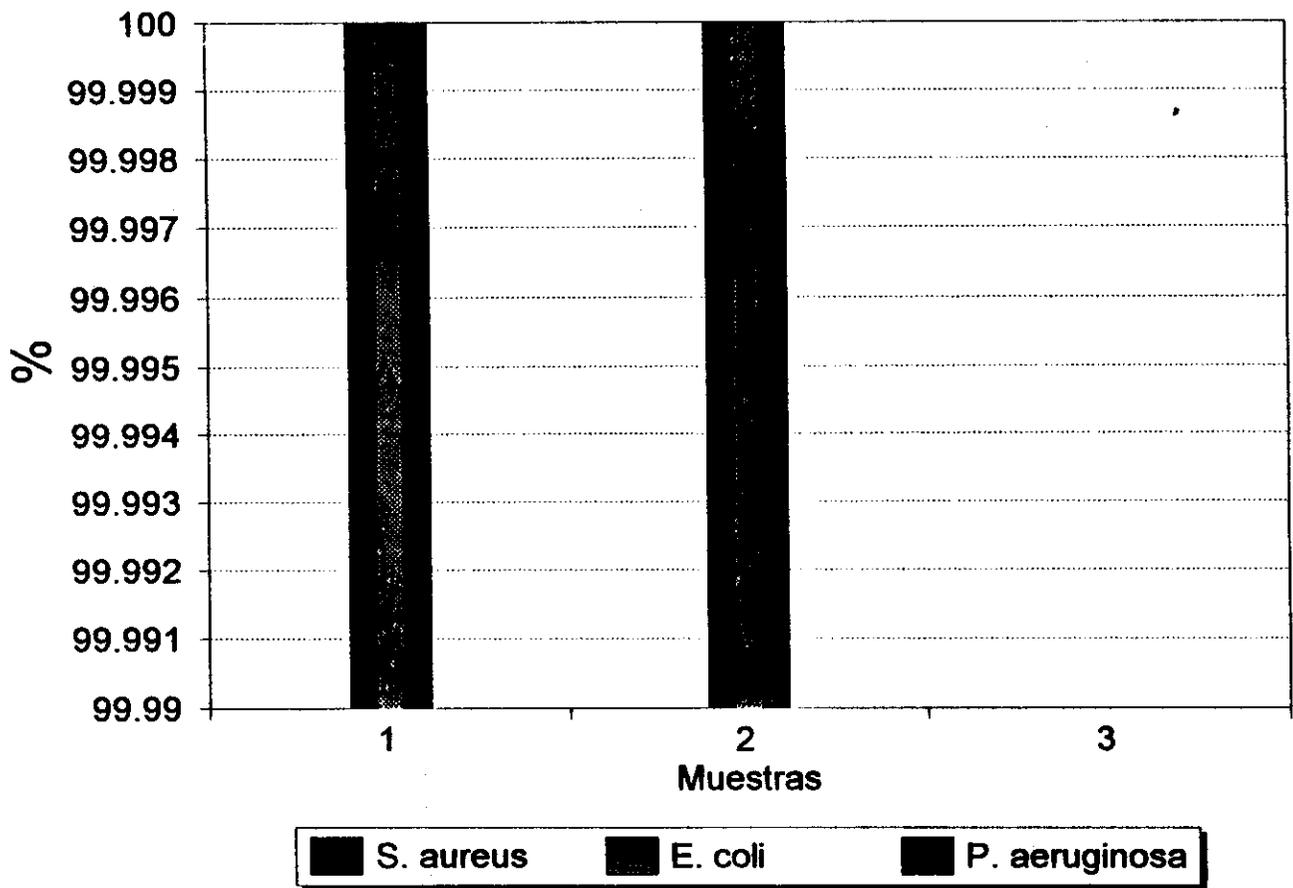
GRAFICA No. 5

PORCENTAJE DE REDUCCION CON ALCOHOLES



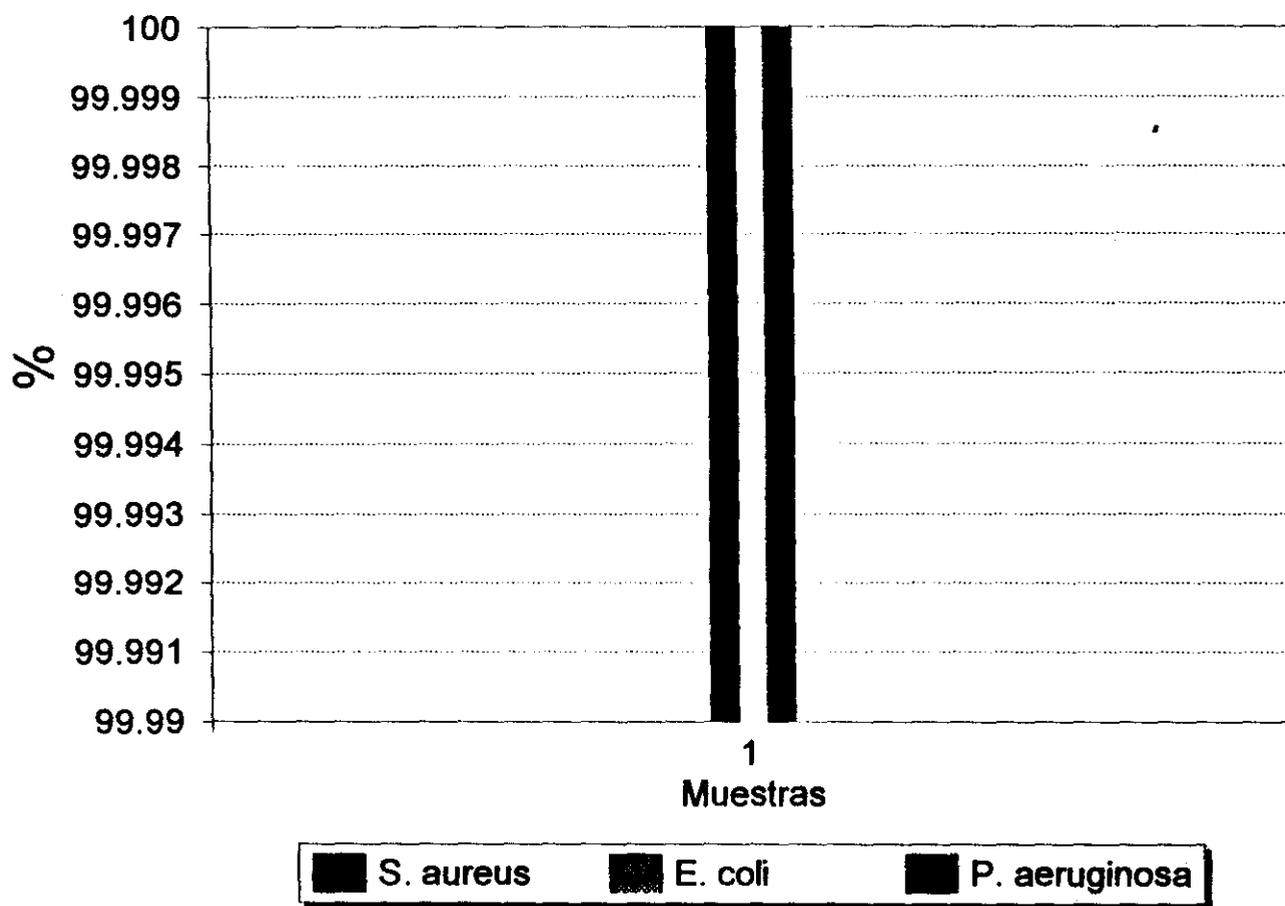
GRAFICA No. 6

PORCENTAJE DE REDUCCION CON HALOGENOS



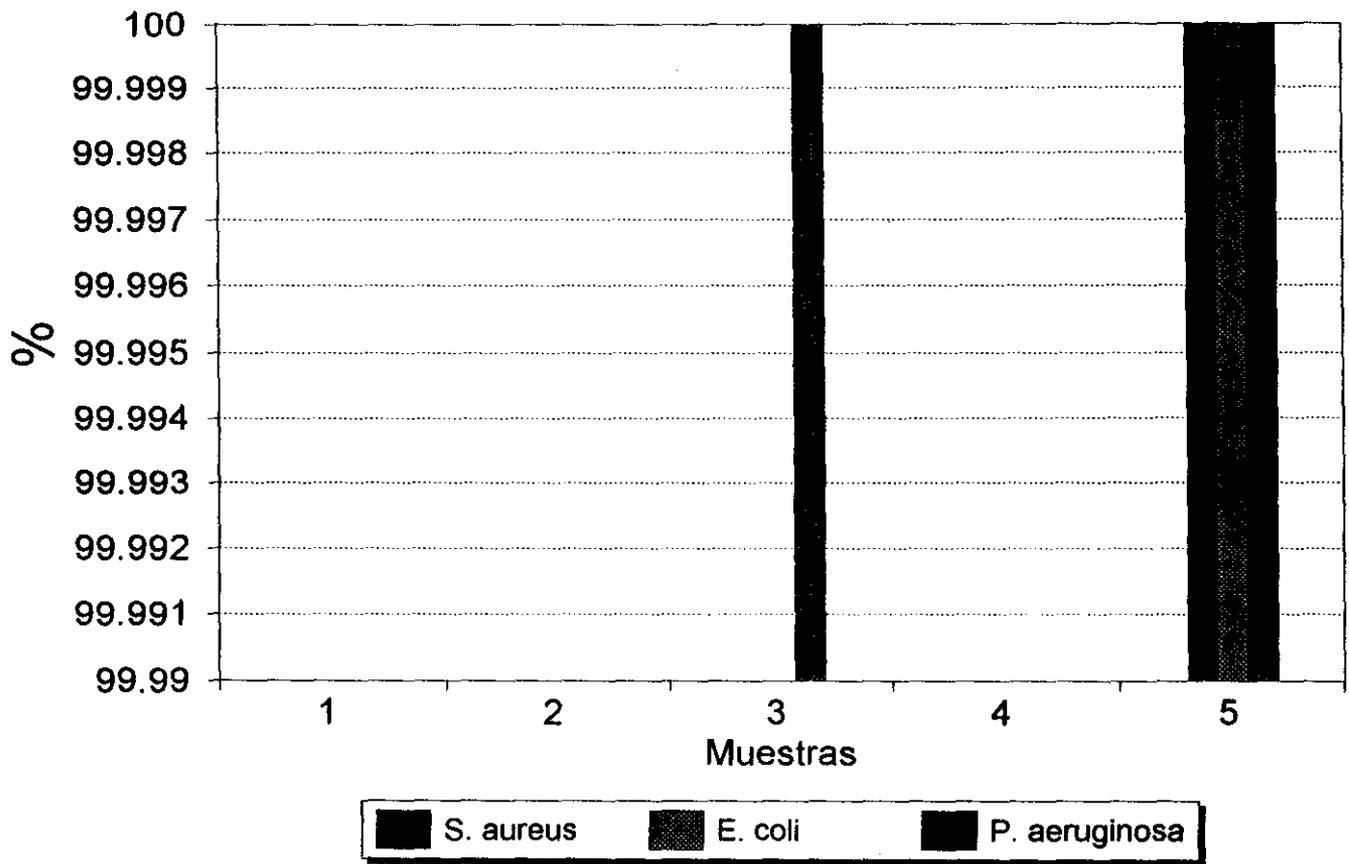
GRAFICA No.7

PORCENTAJE DE REDUCCION CON DERIVADOS DEL MERCURIO



GRAFICA No. 8

PORCENTAJES DE REDUCCION CON PEROXIDOS



Anexo 14

Medios para el método de análisis según inciso 7.3.2.

Agar nutritivo A:

Extracto de carne	3 g
Peptona Bacto	5 g
Agar	15 g
ph final	6.8 + 0.2

Solución nuetralizante:

Azolecitina (lecitina de soya)	40 g
Polisorbato 80	260 ml
Solución amortiguadora de fosfatos 0.25 M	1.25 ml

Solución amortiguadora de fosfatos 0.25 M:

Fosfato monobásico de potasio	34 g
Agua destilada	1000 ml

Solución amortiguadora de fosfatos diluida:

Solución amortiguadora de fosfatos 0.25 M	1.25 ml
Agua destilada	

-04-

ANEXO 15

-e4-

ANEXO 15

Preparación de medios

Medios para control microbiológico según incisos 7.3.1 y 7.3.2:

Pesar y resuspender la cantidad de cada uno de los medios especificados por el fabricante, para un litro de agua. Disolver por calentamiento hasta ebullición durante un minuto. Envasar en forma adecuada y esterilizar a 121° C durante 15 minutos.

Solución neutralizante:

Mezclar los ingredientes, disolverlos en agua destilada hasta obtener un volumen final de un litro, ajustar el pH a 7.2, distribuir en porciones de 9 y 99 ml. Esterilizar a 121° C durante 15 minutos.

Solución amortiguadora de fosfatos 0.25 M:

En un matraz volumétrico aforado de 1000 ml, disolver el KH_2PO_4 en 500 ml de agua destilada, ajustar el pH a 7.2 ± 0.1 utilizando NaOH 1 N, llevar a volumen con agua destilada, mezclar y distribuir en porciones de 100 ml. Esterilizar a 121° C durante 15 minutos y conservar en refrigeración.

Solución amortiguadora de fosfatos diluida:

Tomar 1.25 ml de solución amortiguadora de fosfatos 0.25M, colocarla en un matraz volumétrico de 1000 ml y llevar a volumen con agua destilada, mezclar y distribuir en tubos y matraces porciones de 9 y 99 ml respectivamente. Esterilizar a 121° C durante 15 minutos.

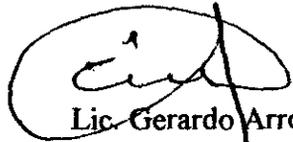


Rosa María del Cid Morán
Autora

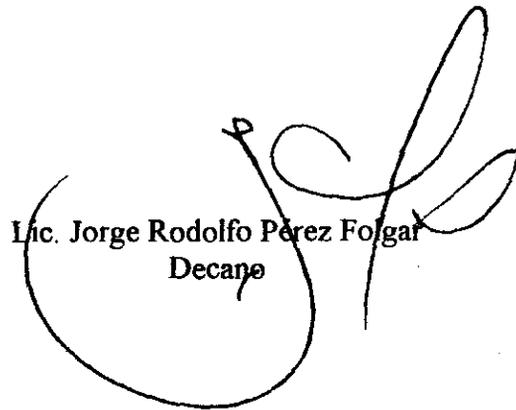


Licda. María de los Angeles Monterroso

Asesor



Lic. Gerardo Arroyo
Director



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central