



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA  
UNAN – LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

CARRERA DE FARMACIA



**Valoración de la efectividad antimicrobiana de un desinfectante de amonio cuaternario de última generación.**

*Monografía para optar al título de Licenciado Químico Farmacéutico*

**Autora: Bra. Yahaira Sarahí Vallejos Castro**

**Tutor: Lic. Kelvin José Núñez**

*León, Nicaragua*

*Mayo, 2009*



## **AGRADECIMIENTO:**

*Agradezco primordialmente a mi Señor Jesucristo por su fortaleza y amor que siempre me han llenado y por que estoy hoy aquí cumpliendo una meta más gracias a ÉL.*

*Quiero agradecer a mi familia por su apoyo, al ser que Él Señor me envió para ser mi guía, mi pilar, mi refugio, a quien amo con todo mí ser: Mi Madre ZURY JANETH CASTRO. Gracias por su amor incondicional, por ser un excelente ejemplo a seguir, una mujer fuerte y una madre maravillosa.*

*También le agradezco a mi Padre Marvin Vallejos por su amistad y cariño, a mi hermana Anielka Vallejos, a mi tía Gladis Castro por su apoyo sincero, a Aldo Andino por su ayuda. Y a todos los miembros de mi familia que de una u otra forma han sido un gran apoyo para mí.*

*Agradezco a Doña Martha Narváez, Rosa Gutiérrez y Mercedes Figueroa por haber abierto las puertas de sus casas y permitirme ser parte de su familia. A mis compañeros de clases gaquellos que me apoyaron incondicionalmente.*

*A los docentes que han creído en mi y me brindaron su conocimiento y amistad. A mi tutor Lic. Kelvin Núñez por su apoyo y a mi asesora Lic. Azucena Montenegro por todo lo que me ha enseñado a lo largo de mi carrera y, por su incondicional amistad. A Doña Gladis, a David y a Don Piura por haber estado a mi lado animando mis días en el Laboratorio de Microbiología.*

*A Kenneth J. Figueroa por ser parte fundamental de mi vida, por toda la ayuda y amor que me ha brindado y, por ser mi cómplice y amigo.*

*Y a todas y cada una de esas personas que me han alentado a seguir adelante y han creído en mí.*

**Muchas Gracias!!!**

---

*Yshaira Sarahi Vallejos Castro*



## **DEDICATORIA:**

*Dedico este trabajo monográfico a Dios por sobre todas las cosas, por ser mi mayor apoyo y fortaleza. Por ser quien ha estado a mi lado todo este tiempo especialmente cuando más sola me sentí. A TÍ Padre Celestial.*

*A mi familia, a mi Madre ZURY J. CASTRO, a mi hermana ANIELKA VALLEJOS, a mi padre MARVIN VALLEJOS, a mi novio KENNETH J. FIGUEROA por su apoyo en esta meta y a los dos angelitos más bellos que Dios ha permitido venir a alegrar mi vida y llenarla de travesuras y pachita, mis sobrinas: ZURY DANIELA y MELANY ISABELLA SAÉNZ VALLEJOS.*

*A todos los que han creído en mí y me han apoyado.*

---

*Yehaira Sarahi Vallejos Castro*



# INDICE:

<b>I. Introducción</b>	<b>Pág. 1</b>
<b>II. Objetivos</b>	<b>Pág. 3</b>
2.1.- <b>Objetivo General</b>	<b>Pág. 3</b>
2.2.- <b>Objetivos Específicos</b>	<b>Pág. 3</b>
<b>III. Marco Conceptual</b>	<b>Pág. 5</b>
3.1.- <b>Desinfectantes.</b>	<b>Pág. 5</b>
3.2.- <b>Características de los desinfectantes.</b>	<b>Pág. 5</b>
3.3.- <b>Tipos de desinfección.</b>	<b>Pág. 6</b>
3.4.- <b>Desinfección de Alto Nivel.</b>	<b>Pág. 6</b>
3.5.- <b>Desinfección de Nivel Intermedio.</b>	<b>Pág. 6</b>
3.6.- <b>Desinfección de Nivel Bajo.</b>	<b>Pág. 6</b>
3.7.- <b>Tipos de Mecanismos de Acción de los desinfectantes.</b>	<b>Pág. 7</b>
3.8.- <b>Clasificación, tipos de compuestos químicos desinfectantes.</b>	<b>Pág. 8</b>
3.8.1.- <b>Compuestos Inorgánicos.</b>	<b>Pág. 8</b>
a- <b>Colorantes</b>	<b>Pág. 8</b>
3.8.2.- <b>Compuestos Orgánicos.</b>	<b>Pág. 8</b>
3.8.2.1.- <b>Alcoholes</b>	<b>Pág. 9</b>
3.8.2.2.- <b>Halogenados.</b>	<b>Pág. 10</b>
a- <b>Yoduros.</b>	<b>Pág. 10</b>
b- <b>Yodóforos</b>	<b>Pág. 10</b>
c- <b>Cloruros.</b>	<b>Pág. 11</b>
3.8.2.3.- <b>Clorhexidina.</b>	<b>Pág. 11</b>
3.8.2.4.- <b>Aminas Terciarias.</b>	<b>Pág. 12</b>
3.8.2.5.- <b>Aldehidos.</b>	<b>Pág. 14</b>
3.8.2.6.- <b>Peróxidos.</b>	<b>Pág. 14</b>
3.8.2.7.- <b>Metales Pesados.</b>	<b>Pág. 14</b>
3.8.2.8.- <b>Fenoles.</b>	<b>Pág. 15</b>
3.8.2.9.- <b>Detergentes.</b>	<b>Pág. 15</b>
3.8.2.10.- <b>Amonios Cuaternarios.</b>	<b>Pág. 16</b>
3.8.3.- <b>Propiedades Químicas de algunos desinfectantes y sanitizantes</b>	<b>Pág. 19</b>
3.8.4.- <b>Tiempo de desinfección para diferentes materiales.</b>	<b>Pág. 20</b>
3.8.5.- <b>Espectro de acción de los desinfectantes</b>	<b>Pág. 21</b>
3.8.6.- <b>Clasificación del desinfectante Bardac.</b>	<b>Pág. 22</b>
3.9.- <b>Determinación de la actividad de los desinfectantes.</b>	<b>Pág. 23</b>
3.9.1.- <b>Cinética de actividad de antisépticos y desinfectantes.</b>	<b>Pág. 23</b>
3.10.- <b>Métodos de determinación de la actividad bactericida de antisépticos y desinfectantes.</b>	<b>Pág. 24</b>



3.10.1.- Método de portagérmenes.	Pág. 24
3.10.2.- Métodos normalizados de base.	Pág. 24
a. Método por filtración de membrana.	Pág. 24
b. Método por dilución neutralización.	Pág. 25
3.10.3.- Métodos no normalizados.	Pág. 25
a. Método de las estrías.	Pág. 25
b. Método de “Coeficiente Fenol.”	Pág. 26
3.11.- Factores que afectan la actividad de un desinfectante químico.	Pág. 27
3.12.-Suspensiones normalizadas o estandarizadas	Pág. 28
IV. Material y Método.	Pág. 31
4.1.- Tipo de Estudio.	Pág. 32
4.2.- Área de Estudio.	Pág. 32
4.3.- Universo.	Pág. 32
4.4.- Muestra.	Pág. 32
4.5.- Unidad de Análisis.	Pág. 32
4.6.- Procedimiento para la obtención de la información.	Pág. 32
4.7.- Método Utilizado.	Pág. 32
4.7.1.- Pasos realizados durante el procedimiento del Método de Portagermenes	Pág. 33
4.7.2.- Pasos realizados para pases de cuñas.	Pág. 36
4.7.3- Pasos para ajustar el Spectronic 20.	Pág. 36
4.8.- Materiales.	Pág. 37
4.8.1.- Cristalería.	Pág. 37
4.8.2.- Reactivos.	Pág. 37
4.8.3.- Microorganismos.	Pág. 37
4.9.- Plan de Análisis.	Pág. 38
V. Resultados.	Pág. 39
VI. Análisis de los Resultados.	Pág. 45
VII. Conclusión.	Pág. 47
VIII. Recomendaciones.	Pág. 49
IX. Bibliografía.	Pág. 51
X. Anexos.	Pág. 54



## **I. Introducción**

La desinfección eficiente frente a los agentes contaminantes es cada vez más un motivo de preocupación para los fabricantes y los organismos reguladores que velan por garantizar las condiciones de asepsia de áreas de producción así como otros entornos que así lo requieren.

En la actualidad el entorno de la asepsia, es fundamental para lo cual los desinfectantes se deben seleccionar sobre la base de su capacidad para ser eficaz contra los microorganismos patógenos que pueden transmitirse por contacto directo o indirecto con el medio ambiente.

Tradicionalmente las sales de amonio cuaternario han sido ampliamente utilizadas en formulaciones para aplicaciones de propiedades desinfectantes de superficies y áreas que deban cumplir requisitos de asepsia.

De los derivados del amonio cuaternario, el cloruro de benzalconio fue el primer compuesto de este tipo introducido en el mercado y es también denominado como Cloruro de N-Alquil Dimetil Bencil Amonio. Esta molécula sigue utilizándose ampliamente en la desinfección hospitalaria y veterinaria, así como bactericida de uso desodorante en talcos para pies y desinfectantes tópicos.

Aunque su clasificación los ubica en un nivel de desinfectantes de nivel bajo no por ello se obvia su importancia, siendo que en la desinfección de áreas que deben cumplir requisitos para evitar la resistencia de microorganismos nosocomiales el uso de desinfectantes de diversos niveles mantiene la población de los mismos dentro de los límites permisibles, de lo cual las sales de amonio cuaternario tienen un papel relevante.

La importancia del buen uso de los desinfectantes y de la buena eficacia de estos se debe a que han existido casos de brotes de microorganismos que se creían tratados previamente. Tal es el caso de un brote de *Salmonella enteritidis* en 1994 en EEUU; brotes de *Listeria* en Francia en 1992 por prácticas inadecuadas de limpieza de desinfección, entre otros brotes reportados en años pasados. Todo lo anterior afecta la salud pública de consumidores ya sea por consumo de productos o el entorno de áreas en las que se pueden contraer las conocidas enfermedades nosocomiales. En nuestro país no se reportan estudios destinados a evaluar la eficacia de desinfectantes.



Es por ello que la valoración de la eficacia de los desinfectantes se ha vuelto una norma para que su salida al mercado sea permitida. Actualmente se rigen bajo las normas de la Asociación Francesa de Normalización (AFNOR). Estas normas se han puesto en práctica desde marzo de 1981.

Es por ello que el desarrollo de nuevas combinaciones de sales de amonio cuaternario y la valoración de su eficacia es de mucha importancia, ya que su uso en la desinfección hospitalaria ha incrementado y debemos asegurarnos que su actividad bactericida y germicida sea la adecuada a su uso.



## **II-OBJETIVOS**

### **2.1.- OBJETIVO GENERAL:**

1. Valorar la efectividad de un desinfectante comercial de amonio cuaternario de última generación mediante pruebas microbiológicas de Laboratorio.

### **2.2.- OBJETIVOS ESPECIFICOS:**

1. Comprobar la efectividad del desinfectante para concentraciones de producto terminado por el método de porta gérmenes.
2. Probar la efectividad de los desinfectantes de referencia en los materiales ensayados aplicando diferentes tipos de microorganismos.
3. Comparar los resultados obtenidos en los desinfectantes de referencia y el producto evaluado.



# MARCO TEÓRICO

---

*Yohaira Sarahí Vallejos Castro*



### **III- MARCO CONCEPTUAL**

#### **3.1.- Desinfectantes:**

**Según la FDA, desinfectantes son** «aquellas sustancias químicas capaces de destruir en 10 a 15 minutos los gérmenes depositados sobre un material inerte o vivo, alterando lo menos posible el sustrato donde residen y abarcando en aquella destrucción todas las formas vegetativas de las bacterias, hongos y virus (excepto el de la hepatitis, HIV, esporas y levaduras)

Los Desinfectantes son preparaciones con propiedades germicidas y bactericidas, es decir, que eliminan microorganismos patógenos.

Una gran variedad de agentes desinfectantes se utilizan para destruir a los microorganismos y difieren grandemente en sus propiedades tóxicas. Los ingredientes activos mas comúnmente conocidos son fenol, cresol, aceite de pino, Alcohol isopropílico, entre otros.

#### **3.2.- Características**

- 1) Deben tener una buena concentración de ingredientes activos lo cual garantizará su efectividad y poder residual.
- 2) Si son desinfectantes para ambientes domésticos deben de tener un aroma agradable, para lo cual se le pueden adicionar esencias aromáticas, las cuales no alteran en absoluto el poder del ingrediente activo.
- 3) No deben contener sustancias tóxicas para el organismo humano o para animales menores, esto quiere decir, que al aplicarse el producto este no contamine.



### **3.3.- TIPOS DE DESINFECCIÓN**

- Desinfección de Alto Nivel
- Desinfección de Nivel Intermedio
- Desinfección de Bajo Nivel

### **3.4.- DESINFECCIÓN DE ALTO NIVEL**

Elimina formas vegetativas de las bacterias: bacilo TBC, hongos VIRUS

#### **Desinfectantes de alto nivel:**

- Glutaraldehído al 2%
- Peróxido De Hidrógeno Estabilizado 6%
- Acido Peracético

### **3.5.- DESINFECCIÓN DE NIVEL INTERMEDIO**

Actúa sobre las formas vegetativas de los microorganismos a excepción de las esporas.

#### **Desinfectantes de nivel intermedio:**

- Alcoholes
- Povidona Yodada
- Compuestos de Cloro

### **3.6.- DESINFECCIÓN DE NIVEL BAJO**

Su acción alcanza sólo las formas vegetativas.

#### **Desinfectantes de nivel bajo:**

- Amonio cuaternario
- Hexaclorofeno.



### **3.7.- TIPOS DE MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS DESINFECTANTES:**

#### **Inhibición síntesis pared celular: sobre la pared celular.**

Enzimas cuya función normal es la síntesis de la pared celular, cambian su papel de manera que su efecto ahora es la interrupción de la síntesis y la lisis de la pared.

Metales pesados, detergentes

#### **Desorganización de membrana citoplásmica**, que se puede dividir en 3 categorías

1. Acción sobre los potenciales de membrana.
2. Acción sobre los enzimas de membrana, sobre cadena de transporte de electrones.
3. Acción sobre la permeabilidad general de la membrana, desnaturalización de proteínas y desorganización de la bicapa lipídica.

Detergentes, compuestos fenólicos, alcoholes, ácidos, sales, clorados, ozono

#### **Citoplasma**

Bronopol, hipoclorito, I<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Ag, Cu

Formaldehído, glutaraldehído

Coagulación: fenoles, clorhexidina, formaldehído.

#### **Inhibición de la síntesis proteica en ribosomas.**

Disocian el ribosoma en sus dos partes constituyentes impidiendo su función, desnaturalización.

Aldehidos, amonios cuaternarios.

#### **Interferencia en la síntesis y/o metabolismo de los ácidos nucleicos.**

Se encajan en la doble hélice, hidroximetilaciones,

Acridina, aldehidos, glutaraldehido, óxido de etileno, yodados, clorados.

En general:

- Alteran la permeabilidad celular



- Bloquean mecanismos de transporte energético
- Bloquean actividad enzimática
- Coagulan citoplasma
- Alteran los ácidos nucléico

### **3.8.- CLASIFICACION, TIPOS DE COMPUESTOS QUÍMICOS DESINFECTANTES:**

#### **3.8.1.- Compuestos inorgánicos**

Las sustancias inorgánicas suelen tener efectos sobre las bacterias por la disolución de sus iones o su efecto oxidante. Los compuestos inorgánicos se pueden clasificar en 4 grandes grupos: ácidos y álcalis, sales minerales, **halógenos** y otros oxidantes.

El ácido acético, láctico o propiónico. El hidróxido sódico.

Los compuestos **halogenados** tienen un efecto bactericida, en general, por su efecto oxidante; de ellos, los más usados en la práctica son:

1. el **yodo** y sus compuestos: tintura de yodo, povidona yodada.
2. y el **cloro** y sus derivados: cloro gaseoso, el bióxido de cloro, los hipocloritos, y las cloraminas (Cl- -- ácido hipocloroso).

El ozono como fortísimo oxidante.

#### **a). Colorantes**

- Cristal violeta: antes usado como antiséptico. Ahora principalmente como antifúngico. Uso antiséptico en animales.
- Acridina: Uso como antiséptico.
- Verde de malaquita: peces en acuarios (tóxico para humanos).

#### **3.8.2.- Compuestos orgánicos**

Son muy variados los compuestos orgánicos que tienen efecto sobre las bacterias; entre los más importantes están:

---

*Yshaira Sarahí Vallejos Castro*



Alcoholes, fenoles, aldehídos y detergentes.

### **3.8.2.1.- Alcoholes**

Principalmente el etanol y el isopropanol. Con una concentración óptima de 60 al 90% en agua. El alcohol de fricción corriente tiene concentraciones de aprox. 70%.

**El mecanismo de acción** es la desnaturalización de proteínas; principalmente a nivel de membrana celular y también a nivel citoplasmático. Por lo que puede hacer disrupción de la membrana celular o alteración de la función de una proteína citoplasmática (es decir, una enzima); o bien un daño meramente estructural, que tienden a producir la muerte de estos m.o.

El alcohol etílico tiene poder deshidratante y efecto desnaturalizante sobre las proteínas bacterianas. El alcohol absoluto tiene un poder bactericida casi nulo y el alcohol de 60 a 80°, que es el más efectivo, resulta un desinfectante débil. El alcohol isopropílico es más activo, pero más tóxico. En el momento actual, cada vez se tiende a usar menos el alcohol por su efecto deshidratante sobre la piel y escaso poder sobre las bacterias. Otros derivados como el bromopol tienen más uso.

#### **Espectro:**

- G+ y G- con una susceptibilidad alta.
- Alcohol-ácido resistentes con una susceptibilidad media.
- No tienen efecto contra esporas bacterianas, ni priones.
- Virus son algo sensible, pero tiende a ser variable el efecto.

#### **Características del alcohol:**

- No posee actividad contra esporas
- No penetra material orgánico proteico; aunque desnaturalice proteínas, no son altamente penetrantes, van a estar dirigidos contra proteínas básicas o sencillas de los m.o.
- No tienen efecto contra virus hidrofílicos.
- Carece de efecto residual: se volatiliza rápidamente; se aplica, se evapora y luego no tiene más efecto.



- Es muy inflamable.
- Se podría tener metanol, que al 60 – 90% puede producir daño ocular.

### **3.8.2.2.- HALOGENADOS**

#### **a. Yoduros**

Tiene un efecto bactericida en un 1 min, y un efecto esporicida en 15 min. Viene en presentaciones de Tintura de Yodo usp (2% o al 2,4% + Na+).

Se debe pasar el yodo sobre la superficie (piel, por ejemplo) y se debe dejarse al menos 1 min.

Más bien, se prefieren trabajar sobre superficies húmedas por que no va tender a volatilizarse tan fácil como los alcoholes; los yoduros se aplican y se secan en el punto de aplicación.

Tienen mejor efecto antiséptico; y algunos efectos adversos pueden ser como: rxn's de HSP (Henoch-Schonlein Purpura o Vasculitis) y teñirse.

En sala de operaciones se limpia con una solución jabonosa, y luego pasan la tintura de yodo y lo dejan secar sobre la superficie.

En algunos laboratorio se utilizan alcohol yodado, y se usa así para evitar que el alcohol se volatilice más rápido por la presencia de yoduros, y además, que se tienen efectos añadidos: alcohol + yoduros. Lo recomendable es aplicar y dejar cierto tiempo, no se recomienda limpiar inmediatamente.

#### **b. Yodóforos**

Es el yoduro más algún agente adicional. Mejor antiséptico (yodovidona), que los yoduros. Se debe tener una exposición prolongada.

Se deben diluir según las indicaciones de la casa fabricante, no pensar en la economía. Si se diluye mucho pierde propiedades.

Presentan menos efectos adversos que los yoduros; mucho menos efectos de HSP (Henoch-Schonlein Purpura o Vasculitis).

Similar espectro que clorhexidina, pero los yodóforos tienen cierta actividad contra las esporas.



### **c. Cloruros**

Agentes altamente oxidantes, por ejemplo: hipoclorito de sodio al 5,25%. Se tienen diluciones de 1/10 en donde se obtienen 5000 ppm de cloruros.

- 5 ppm eliminan bacterias.
- Se necesitan 5000 ppm y mayor tiempo de exposición para tener efecto contra las esporas **bacterianas**.
- Es necesario, hasta 10000 ppm para tener efecto sobre las micobacterias.
- 100 ppm en 1 hora eliminan hongos.
- 500 ppm eliminan esporas **fúngicas**.
- 200 a 500 ppm para los virus.

Se debe almacenar en un recipiente sellado, ocupa y no debe ser metálico por que el agente tiende a corroer; y el medio en que se almacene debe estar en un pH de 7,5 a 8,0. Si no se tienen estos cuidados, la actividad se reduce.

Los cloruros son inactivados por sangre y otros materiales orgánicos; por lo que es sumamente necesario la limpieza general de la superficie antes de aplicar, para eliminar material orgánico.

Actualmente poco usados en el área quirúrgica. Son altamente tóxicos y corrosivos.

#### **3.8.2.3.- CLORHEXIDINA**

Común en enjuagues bucales. Es una biguanida catiónica con baja solubilidad en agua, pero existe una formulación con digluconato que es soluble en agua.

Tiene un efecto antiséptico, dispersándolo en la cavidad bucal.

#### **Mecanismo de acción:**

Se adsorbe en la superficie, causa fuga de moléculas pequeñas y la precipitación de proteínas citoplasmáticas.



Tiende a producir muerte de los m.o., y son de muy baja toxicidad para las células hospederas (definición de un antiséptico).

**Características:**

- Son activos a pH 5,5 – 7,0.
- Más lento en acción que los alcoholes, sin embargo, sí tiene efecto residual. Después, de aplicado persiste por tiempo adicional.
- Se debería cepillar los dientes y luego usar el enjuague bucal, por que si se hace al contrario se lava el enjuague y no da tiempo a que haga efecto.
- Forma de gluconato es relativamente resistente a la inhibición de la materia orgánica.
- Neutralizado por agentes humectantes, jabones neutros y agentes surfactantes.
- Tiene poco efecto irritante o doloroso sobre piel y/o mucosas, la cual es una ventaja sobre los alcoholes. Tiene buena tolerancia a nivel de mucosas, piel, boca y sensibilidad gastrointestinal.
- La forma digluconato al 4%, sigue siendo mejor que las formulaciones más nuevas que vienen un menor concentración de hasta 2%. Otras formulaciones mantienen su actividad, aunque tengan menores concentraciones del agente, porque le añaden ciertos alcoholes en alta concentración.
- Podría causar sordera si se utilizan concentraciones muy altas.

**3.8.2.4.- AMINAS TERCIARIAS:**

Trietanolamina: líquido viscoso, transparente, incoloro o ligeramente amarillo, muy higroscópico y de ligero olor a amoníaco. Miscible en agua y en alcohol. Soluble en cloruro de metileno y cloroformo. Poco soluble en éter.

**Espectro de actividad**

Por separado las aminas terciarias y los amonios cuaternarios son considerados desinfectantes de bajo nivel. Los compuestos de amonio cuaternario son pocos eficaces frentes a hongos e ineficaces frente a virus, micobacterias y esporas. Los productos compuestos por aminas terciarias no son esporicidas.



La combinación presenta un amplio espectro biocida y acción rápida, ya que ambos componentes actúan sinérgicamente.

Una solución al 5% inactiva a bacterias (Gram positivas y negativas), hongos y micobacterias en 15 minutos. La acción virucida es más rápida (Hepatitis B/HIV, Herpes simple, Papovavirus, Rotavirus, se inactivan tras 5 minutos de contacto). La combinación es eficaz frente a microorganismos resistentes a antibióticos y frente a *Helicobacter pylori*.

Gram positivos	Gram negativos	Microbacterias	Virus lipídicos	Virus no lipídicos	Hongos	Esporas
+++	+++	++	+++	+++	+++	++

### **Aplicaciones como desinfectante**

- Desinfección de instrumental médico quirúrgico y de exploración termosensible: endoscopios (rígidos y flexibles), elastómeros, equipos de anestesia, instrumental quirúrgico, equipos de terapia respiratoria, de odontología
- Desinfección de paredes y suelos de hospitales (habitaciones, salas de operaciones)
- Desinfección de incubadoras.

### **Interacciones e interferencias**

Las aminas terciarias en combinación con amonios cuaternarios son compatibles con la mayoría de materiales (vidrio, cerámica, acero inoxidable, plástico, aluminio, goma). No son corrosivos para metales. Las soluciones pueden utilizarse en baños de ultrasonidos. Tienen efecto sinérgico con agentes acomplejantes como EDTA

No se inactivan en presencia materia orgánica.

### **Efectos adversos**

Es importante que el personal manipulador lleve guantes (de látex, nitrilo o neopreno) y se lave las manos antes de realizar otra actividad y/o al finalizar la jornada laboral.

*Yohaira Sarahí Vallejos Castro*



### **Estabilidad y condiciones de uso**

Las soluciones deben guardarse en recipientes cerrados, a temperatura ambiente y protegidos de la luz. Fuera de su envase original, las soluciones son estables durante una semana.

Irritación de piel, ojos y mucosas. Diluido (a una concentración del 6%) las soluciones no son irritantes cutáneas. En contacto prolongado con la piel existe posibilidad de sensibilización.

Si se ingiere accidentalmente produce vómitos, irritación, eritema y quemazón.

### **3.8.2.5.- ALDEHÍDOS**

Los más comunes son: formaldehído, glutaraldehído. Tienen efecto esporicida, pero es mayor en glutaraldehído.

Si se utiliza en concentraciones relativamente altas, con muy tóxicos (desventaja). Y no sólo toxicidad por contacto, sino que puede llegar a ser cancerígeno. No son corrosivos para metales, ni plásticos (ventaja).

**Mecanismo de acción:** Alquilación de proteínas y ac. nucleicos.

### **3.8.2.6.- PERÓXIDOS**

Tienen alto efecto oxidante. Por ejemplo, agua oxigenada (peróxido de hidrógeno). Tienen la desventaja de que son inactivados por catalasas y peroxidasas, producidas por ciertos m.o. Tienen metabolitos no tóxicos para el ambiente, ni para el cuerpo.

### **3.8.2.7.- METALES PESADOS**

Antes se utilizaba el mercurio, plata, entre otros.

Actualmente hay formulaciones como el timerosal (un agente mercuriano). Que se utiliza como agente preservante en vacuna, antitoxinas, sueros hiperinmunes. Desventaja: rxn's de HSP hasta un 4 % (que es relativamente alto).

Otra formulación es la sulfadiazina de plata, que se utiliza como ungüento, en aplicaciones tópicas en heridas pequeñas y quemaduras.



### **3.8.2.8.- FENOLES**

El fenol es un potente desinfectante que mata en algunas horas casi todas las bacterias a concentraciones del 2-5 %.

Los derivados fenólicos más activos son los bifenólicos, de escasa toxicidad, si bien está prohibido su uso sobre mucosas; son muy activos frente a bacterias y hongos. Entre ellos destaca el hexaclorofeno, que es muy activo en solución jabonosa y a pH 6.

Los derivados metilados del fenol son los cresoles, uniéndolos a jabones y lejías se obtienen emulsiones densas y estables, que son la base de los productos usados en la práctica: lisol, zotal, etc. Son buenos desinfectantes y desodorantes.

Biguanidinas. A este grupo de los fenoles pertenecen la clorohexidina y el cloroxilenol. La clorohexidina en solución alcohólica al 1% actúa muy rápidamente (en segundos) y tiene una acción residual persistente.

Son muy utilizado en hospitales, clínicas médicas o quirúrgicas, los preparados a base de digluconato de clorohexidina que es el 1,6-di- (4-clorofenildiguanido)-hexano, el cual se emplea en forma de soluciones acuosas o alcohólicas o se asocia a detergentes no iónicos (especialmente para el lavado de manos) o con un compuesto de amonio cuaternario, que es el bromuro de tetradecil-trimetil-amonio, para aumentar el poder detergente del antiséptico.

### **3.8.2.9.- DETERGENTES**

Para la desinfección química, los líquidos deben tener tensión superficial baja para que se extiendan por una mayor área y puedan ponerse en contacto más íntimamente con las células; los líquidos de baja tensión superficial muy humedecedores se consiguen con los productos químicos *surfactantes, tensioactivos o de superficie*, que, cuando se disuelven en el agua, reducen la tensión superficial y se concentran en la superficie de las células más que en la solución;

- el **jabón**, y los **detergentes sintéticos**



El **jabón**, que contribuye a la limpieza separando partículas contaminantes de una superficie y rompiendo las películas de grasa en pequeñas gotas, es aniónico, pero su poder bacteriostático es escaso o nulo; dicha acción se puede incrementar añadiéndoles desinfectantes como el hexaclorofeno.

Tienen la propiedad de neutralizar el efecto bacteriostático o bactericida de los detergentes catiónicos; de ahí la importancia de eliminar todo resto de jabón antes de hacer actuar un detergente catiónico

Según sea la porción hidrófila, los detergentes se pueden clasificar en:

detergentes iónicos:

- detergentes catiónicos (grupo activo con carga positiva)
  - sales de amonio cuaternario
- detergentes aniónicos (grupo activo con carga negativa)
  - jabones, saponinas, sales biliarres, ácidos grasos disociables

Detergentes no iónicos (no suelen tener actividad antimicrobiana).

### **3.8.2.10.- AMONIOS CUARTERNARIOS**

Dentro de los productos desinfectantes para los enseres de los aviarios no puede faltar el amonio cuaternario, además de sus altísimas cualidades tiene una gran ventaja que no es corrosivo.

Los compuestos de amonio cuaternario representan una familia de compuestos antimicrobianos, considerados como agentes activos catiónicos potentes en cuanto a su actividad desinfectante, ya que son activos para eliminar bacterias grampositivas y gram negativas, aunque éstas últimas en menor grado. Su actividad la desarrollan tanto sobre el medio ácido como alcalino, aunque en éste último muestra mejores acciones. Son compatibles con tensoactivos catiónicos, no iónicos y anfotéricos.

Son inactivados por cationes (ej. aluminio, sodio), materiales orgánicos y otros detergentes.

Generalmente incoloros o amarillentos, no irritantes y desodorantes. Por su estructura química a bajas temperaturas tienden a “gelarse” pero recuperan su estado líquido al entibiarlos. También tienen una acción detergente y son solubles en agua y alcohol. Tienen como



estructura básica al ión amonio ( $\text{NH}_4$ ), la cual al ser modificada, da lugar a diferentes generaciones.

Los compuestos de amonio cuaternario denominados de segunda generación (cloruro de etilbencilo) y los de tercera generación (mezcla de primera y segunda generación i.e. Cloruro de Benzalconio y el Cloruro de Alquil Dimetil Etil Bencil Amonio) son compuestos que permanecen más activos en presencia de agua dura. Su acción bactericida es atribuida a la inactivación de enzimas, desnaturalización de proteínas esenciales y la rotura de la membrana celular. Habitualmente son considerados como desinfectantes a concentraciones de 0.25% a 1.6% para la desinfección de superficies como suelos y paredes. Los cuaternarios de tercera generación, tienen un incremento en la actividad biocida, mayor detergencia y un incremento en la resistencia bacteriana al uso constante de una sola molécula.

Los cuaternarios de cuarta generación denominados "Twin or Dual Chain Quats" o cuaternarios de "cadena gemela", son productos cuaternarios con cadenas dialquílicas lineales y sin anillo bencénico, como: Cloruro de Didecil Dimetil Amonio o Cloruro de Dioctil Dimetil Amonio o Cloruro de Octil Decil Amonio, cada uno aislado. Estos cuaternarios son superiores en cuanto actividad germicida, son de baja espuma y tienen una alta tolerancia a las cargas de proteína y al agua dura. Se recomiendan para desinfección en industria alimenticia y de bebidas, ya que se pueden aplicar por su baja toxicidad.

Finalmente, los de quinta generación, son mezclas de la cuarta generación con la segunda generación, es decir: Cloruro de didecil dimetil amonio + cloruro de alquil dimetil bencil amonio + Cloruro de alquil dimetil etilbencil amonio +... otras variedades según las formulaciones. La Quinta generación tiene un desempeño mayor germicida en condiciones hostiles y es de uso seguro.

La aplicación de los cuaternarios se extiende a diversos ámbitos, entre ellos para:

- Saneamiento general de utensilios y equipos.
- Desinfección de hospitales, inodoros, instrumentos médicos.



- Desinfección en plantas procesadoras de carne y alimentos, lecherías e industrias conexas.
- Desinfección de ropa en lavanderías, hospitales, el hogar, etc
- Para el control y la inhibición de hongos, en baños de pies
- Para el control de algas en piscinas y sistemas industriales de recirculación de aguas
- Antisépticos para la desinfección de piel y ubres de vacas, así como de las manos del personal encargado de la ordeña.
- Para el control de lamas de origen bacteriano encontradas comúnmente en procesos industriales.
- En las industrias del papel y textil, con el objeto de impartir propiedades bacteriostáticas, controlando e inhibiendo el crecimiento microbiano.
- Para controlar los microorganismos que se encuentran en el agua de inyección empleada en la recuperación secundaria del petróleo.

**MECANISMO DE ACCION:** Según los estudios realizados sobre el principio activo se evidencia que los amonios cuaternarios actúan a distintos niveles sobre los microorganismos: reaccionan con las membranas celulares, desnaturalizan proteínas celulares esenciales o interaccionan con la enzima que cataliza la formación de los constituyentes celulares de los microorganismos a eliminar anulando su funcionalidad.

Los compuestos de amonio cuaternario penetran en las membranas de los microorganismos gracias a las cadenas carbonadas (hidrófobas). A través del nitrógeno catiónico (hidrófilo) interaccionan con los fosfatos de los fosfolípidos, causando la salida al exterior del material vital citoplasmático. Los compuestos de amonio cuaternario inhiben también la cadena respiratoria e inactivan enzimas celulares esenciales para el crecimiento.



**3.8.3- Propiedades químicas de algunos desinfectantes y sanitizantes:**

	Rango de pH	Concentración de uso (ppm)	Efecto de la dureza del agua	Efecto de orgánicos en el agua	Actividad Germinicida	Actividad contra bacterias Gram (+)
Hipoclorito	5-7	200	Moderada Tolerancia	Inactivado	Elevada	++++
Yodóforos	1-5	25	Actividad Reducida	Actividad Reducida	Moderada	++++
Amonios	8-11	200	Actividad Reducida	Moderadamente Estables	Variada	++++
Aldehidos	6-8	2%	Sin efecto	Actividad Reducida	Elevada	++++
Acidos	1-3	200	Actividad Reducida	Baja reactividad	Muy Buena	++++
Alcoholes	5-8	70%	Sin efecto	Pérdida de actividad	Moderada	++++
Fenoles	10.5-11.5	200-400	Moderada Tolerancia	Moderadamente Estables	Muy Buena	++++
Peracético	3.5-5.5	150-200	Efecto limitado	Reacciona y pierde actividad	Elevada	++++
Dióxido de cloro	2-5	5-15	Sin Efecto	Influencia limitada	Elevada	++++

++++ Altamente Efectivo  
 +++- Moderadamente Efectivo  
 ++-- Levemente Efectivo  
 ---- Inefectivo



**3.8.4.- Tiempo de desinfección para diferentes materiales.**

<b>Material</b>	<b>Limpieza</b>	<b>Desinfectante</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Aclarado</b>
Material óptico e instrumental que no pueda esterilizarse	Detergente degradante (enzimático)	Glutaraldehído al 2%. Glutaraldehído fenolato al 1:8	20-30 min.	Si (agua estéril)
Objetos caucho y polietileno	Detergente degradante (enzimático)	Clorhexidina Acuosa al 0.1%	10 min	Si
Termómetros, fonendoscopios	Detergente	Alcohol 70°	2 min.	
Superficies metálicas, carros curas, mesas quirúrgicas	Detergente	Aldehídos		
Cuñas y botellas	Detergente	Hipoclorito sódico	10 min.	Si
Saneamientos, lavados...	Detergente	Hipoclorito sódico		
Suelos, paredes y techos de áreas no críticas	Detergente	Hipoclorito sódico		
Suelos, paredes y techos de áreas críticas	Detergente	Aldehídos		



**3.8.5.- Espectro de acción de los desinfectantes:**

Desinfectantes	Microorganismos						
	Bacterias Gram+ Gram-	Microbacterias	Esporas	Hongos y Levaduras	Virus	Antagonismos	Sinergismos
<b>Aldehidos</b>	+++	+++	++	++	++	Amoniacco	Humedad ≥ 50%
<b>Compuestos clorados</b>	+++	+++	±	+	++	Materia orgánica, Tiosulfatos, Sulfuros, Sales ferrosas	
<b>Compuestos yodados</b>	+++	+++	++	++	+	Materia orgánica, Compuestos de Hg, Tiosulfato de sodio	Jabones Amonio Cuaternario
<b>Compuestos de amonio cuaternario (catiónicos)</b>	+++	+	±	±	discutido	Materia Orgánica	Cresol
<b>Fenoles</b>	+++	±	±	±	++	Materia orgánica, Amonio cuaternario, Ciertos jabones, Alcohol para el hexaclorofeno	Sales de sodio y potasio, Sales metálicas.



3.8.6.- Clasificación del desinfectante BARDAC:

Bardac Nº	Composición	Concentración	Características
<b>205M</b>	1. Cloruro dimetil bencil amonio. 2. Cloruro de octal decil dimetil amonio 3. Cloruro de dioctil dimetil amonio 4. Cloruro de didecil cimetil amonio	1. 20.0% 2. 15.0% 3. 6.0% 4. 9.0%	-Ligeramente explosivo. -No usar con agentes reductores u oxidantes. -No usar junto con jabones. -Corrosivo, toxico para los peces. -Uso industrial.
<b>2050</b>	1. Cloruro de octal decil cimetil amonio 2. Cloruro de dioctil dimetil amonio 3. Cloruro de didecil di,etil amonio	1. 25.0% 2. 10.0% 3. 15.0%	-Uso industrial y para la fabricación de pesticidas. -No usar con agentes reductores u oxidantes. -Corrosivo, ligeramente explosivo
<b>2250</b>	1. Cloruro de didecil dimetil amonio	1. 50.0%	-Uso industrial y procesos de formulaciones. -Corrosivo, toxico para los peces. -Fatal si es inhalado. -Puede causar daños irreversibles en los ojos y quemaduras severas en la piel.
<b>208M</b>	1. Cloruro de dimetil bencil amonio 2. Cloruro de octal decil dimetil amonio 3. Cloruro de dioctil dimetil amonio 4. Cloruro de didecil dimetil amonio	1. 32.0% 2. 24.0% 3. 14.4% 4. 9.6%	-Uso industrial y proceso de formulaciones. -Corrosivo a los ojos. -Toxico para peces. -Con contamina el agua
<b>2080</b>	1. Cloruro de octal decildimetil amonio 2. Cloruro de dioctil dimetil amonio 3. Cloruro de didecil dimetil amonio	1. 40.0% 2. 16.0% 3. 24.0%	-Fabricación de pesticidas -Corrosivo para los ojos -Toxico para los peces No usar con agentes reductores u oxidantes
<b>2180</b>	1. Cloruro de decil isononil dimetil amonio	1. 80.0%	-Fabricación de pesticidas. -Corrosivo para ojos y piel. -No inhalar sus vapores. -Toxico para peces y pajaros.
<b>2280</b> <b>QUAT</b>	1. Cloruro de didecil dimetil amonio	1. 80.0%	-Líquido germicida. -Para formulación de desinfectantes, sanitizantes, etc. -Corrosivo, toxico para peces -Fatal si se inhala
<b>CW-50</b>	1. Cloruro de decil isononil dimetil amonio	1. 50.0%	-Bactericida y Fungicida -Corrosivo. -Produccion de papel y borradores.



### **3.9.- Determinación de la actividad de los antisépticos y los desinfectantes.**

- **3.9.1.- Cinética de actividad de antisépticos y desinfectantes:**

Cuando se pone un producto antimicrobiano en presencia de una población de microorganismos, la destrucción de estos últimos no es resultado inmediato de una sola acción. La inactivación es un fenómeno complejo que se manifiesta para cada individuo según una intensidad y un plazo diferente.

El modelo matemático habitual para representar la destrucción bacteriana por un antiséptico o un desinfectante es el de la regresión logarítmica, enunciado desde 1897 por Kroning; en ciertos casos, la destrucción de una población de bacterias, expresada por el logaritmo del porcentaje de sobrevivientes, es proporcional a la duración del tratamiento.

$\text{Log } N = Kt$

t= tiempo de actividad

$N_0$

$N_0$ = población inicial

N= población después del tiempo de actividad

K= constante que expresa la rapidez de

inactivación

La importancia del modelo logarítmico es que permite definir los objetivos de destrucción. La referencia a una reducción  $N/N_0 = 10^5$ , llamada “5 log”, ha sido seleccionada por la A.F.N.O.R. aun cuando el modelo logarítmico no representa obligatoriamente la realidad para todos los microorganismos y tratamientos antibacterianos. Para que esta regresión sea siempre respetada, sería necesario que el blanco metabólico o fisiológico del tratamiento fuera único. Ahora bien, los antisépticos y desinfectantes son, en general, capaces de desnaturalizar varios blancos en el seno de una misma bacteria, lo que obliga a definir de una manera estricta las condiciones experimentales del estudio.



### **3.10.- Métodos de determinación de la actividad bactericida de antisépticos y desinfectantes:**

- **3.10.1.- Los métodos de los portagérmenes:**

Pequeños fragmentos de materiales diversos (madera, tela, vidrio, acero, etcétera) se contaminan artificialmente con bacterias. Después de secarse, se ponen en contacto con el desinfectante durante un tiempo dado; después de lavar para eliminar el desinfectante, se transfieren a un medio de cultivo para buscar bacterias sobrevivientes. Un método de este tipo se formalizó para los desinfectantes (AFNOR T 72 190). Estos métodos no se deben utilizar solos sin prueba de un efecto germicida obtenida por un método en suspensión (Métodos normalizados de base).

En la técnica de réplica sobre gelosa, pequeños tapones cilíndricos sirven de portagérmenes y permiten obtener réplicas de cultivo. Un inóculo estandarizado se controla por dos réplicas sucesivas con la ayuda de los pequeños tapones. En el momento del ensayo, otra parte del inóculo experimenta dos réplicas sucesivas, pero la primera se efectúa sobre un medio que contiene el antiséptico, la duración del contacto se mide con precisión. Después del cultivo, el número de colonias proporciona el número de bacterias sobrevivientes.

#### **3.10.2.- Métodos normalizados de base**

- **A. Método por filtración en membrana:**

Un ensayo preliminar permite una cuenta precisa del inóculo bacteriano y valida el ensayo definitivo verificando la ausencia de bacteriostasis residual. La membrana manejada antisépticamente se coloca en cultivo sobre gelosa. Una enumeración de las colonias aparecidas permite numerar el inóculo de partida. El número  $n$  de colonias aparecidas por membrana en el momento del ensayo preliminar no debe ser menor de 80% de  $N_0$ .

Si ese no es el caso, se debe recomenzar el ensayo preliminar aumentando el número de lavados o añadiendo un neutralizante a esta agua de lavado o al medio para la cuenta.



En el ensayo definitivo, 1 ml de inóculo bacteriano se pone en contacto con 2 ml de diferentes diluciones del antiséptico en los tubos de ensayo colocados en baño María a 21°C.

Después de un tiempo de contacto preciso de 5 minutos, 1 ml de la suspensión inóculo-antiséptico se transfiere en un porta filtro que contiene 50 ml de diluyente peptonado. Después de la filtración y el cultivo como anteriormente, se busca la primer membrana que tenga un número de colonias  $x$  menor o igual a  $N$ . Esta membrana recibió la concentración bactericida del antiséptico. Este ensayo permite evaluar una reducción de la población bacteriana de  $10^5$  veces. En efecto, para la cuenta, la suspensión bacteriana se diluye  $10^6$  veces, mientras que para el ensayo propiamente dicho, la dilución es solamente de  $1/10$ . La obtención en los dos casos del mismo número de bacterias corresponde bien a una reducción de  $10^5$  veces por el antiséptico.

- **B. Método por dilución neutralización:**

El producto que se va a probar se pone en contacto con el neutralizante en las condiciones del ensayo, el inóculo bacteriano se añade luego, después de 5 minutos de contacto, transferido en medio de gelosa. El neutralizante se juzga eficaz si al menos 50% de las bacterias del inóculo se encuentran después de la cuenta.

El ensayo propiamente dicho consiste en poner en contacto durante cinco minutos el antiséptico y la suspensión de microorganismos. A este contacto le sigue un estadio de dilución a la décima en el neutralizante durante un tiempo de 10 minutos. Posterior a esta operación, se efectúa una cuenta sobre medio gelosado, después de incubar durante 48 horas. Paralelamente, una cuenta de control  $N$  se efectúa sobre la suspensión bacteriana diluida  $10^5$  veces. La concentración bactericida es aquella que, en estas condiciones, permite obtener un número de colonias  $n$  igual o inferior a  $N/10$ .

### **3.10.3.- Métodos no normalizados:**

- **A. Método de las estrías**

Esta técnica consiste en poner en contacto el antiséptico y la cepa bacteriana considerada durante un tiempo determinado después de tomar, con ayuda de un asa de platino calibrada, una cantidad de la mezcla antiséptico-bacterias para la siembra en estrías sobre un medio de gelosa nutritiva vaciadas en cajas de Petri.



Después de incubar a 37 °C durante 18 a 24 horas, la interpretación del cultivo al nivel de la estría permite determinar la capacidad bactericida.

El ensayo propiamente dicho se realiza diluyendo el antiséptico a la dilución más baja que no provoque bacteriostasis.

En el momento del ensayo, 1 ml de inóculo bacteriano se pone en contacto con 9 ml de esta dilución de antiséptico, en tubos de ensayo colocados en baño María a 21 °C.

Después de un tiempo de contacto preciso de 5 minutos, se sumerge un asa calibrada de 1µl en la suspensión inóculo-antiséptico y se “descarga” en estrías sobre una gelosa nutritiva en cajas de Petri. Después del cultivo (24 horas en loa estufa), esas estrías se comparan con una serie de estrías obtenidas con la ayuda de diluciones del inóculo (al inicio 1 en 4, para colocarse en las condiciones del ensayo después de 10 en 10) según la misma técnica. Para tener un efecto bactericida, la dilución del antiséptico debe permitir la obtención de una estría que presente al máximo tantas colonias como la estría correspondiente a la dilución  $10^{-5}$  del inóculo.

- **B. Los métodos “Coeficiente fenol”:**

Estos métodos cuyo origen se atribuye a Rideal y Walter en 1903 y a Brewer fueron normalizados por la Association of Oficial Analytucal Chemists (A.O.A.C. 1980)

La actividad del producto desinfectante, en la fase final, se compara con la de una solución de 5% de fenol, la neutralización de las propiedades bacteriostáticas se obtiene por simple dilución.



### 3.11.- FACTORES QUE AFECTAN LA ACTIVIDAD DE UN DESINFECTANTE QUIMICO:

- a) **Concentración del agente y tiempo de actuación:** Cuando se diluye, pierde actividad y el tiempo de aplicación cambia. Cuando se mide el tiempo de muerte en función de la concentración del desinfectante da el valor. (N): exponente de la concentración o coeficiente de dilución.

$$N = (\log t_2 - \log t_1) / (\log C_1 - \log C_2)$$

$$C_n \times \Delta t = K \text{ ó } K = (C_n)(\Delta t)$$

Donde: C= es la concentración del agente.

T= es el tiempo de actuación.

N y K= coeficiente de dilución.

- b) **Número y localización de los microorganismo.**
- c) **Materia orgánica:** es lo que más influye por que con ella reacciona.
- d) **pH:** provoca cambios en la molécula del desinfectante o cambios en la superficie. Si el pH aumenta normalmente los desinfectantes pasan a la forma iónica. Cuando se alcaliniza el pH, la bacteria pasa a tener muchas cargas negativas en la superficie y tendrá atracción con los desinfectantes con carga positiva. Los agentes aniónicos suelen ser más efectivos a pH ácidos y los agentes catiónicos muestran más eficacia a pH alcalinos.
- e) **Temperatura:** la mayoría son más eficaces al aumentar la temperatura. Para el Fenol, la subida de 10 grados representa multiplicar por 5 o por 8 la eficacia.
- f) **Dureza del agua:** algunos desinfectantes son afectados por iones  $Ca^{+2}$  o iones  $Mg^{+2}$ .
- g) **Naturaleza del microorganismo:** Las esporas son las más resistentes seguida de las micro bacterias, las gram (-) y por último las más sensibles a la desinfección son gram (+).



### **3.12.-Suspensiones normalizadas o estandarizadas:**

La estandarización de las suspensiones de microorganismos proporciona una metodología de trabajo que facilita la obtención de los resultados esperados.

Normalmente, la Farmacopea para ensayos de recuperación microbiana en presencia de producto (validación de la esterilidad o grado de contaminación) indica que se siembren un número determinado de microorganismos de cultivos recientes. Es por ello, que debemos tener un sistema para asegurar el número aproximado de microorganismos que tenemos en una suspensión sin tener que esperar a los resultados de un recuento (mínimo 24 horas de espera) ni trabajar a ciegas.

La manera más fácil de estandarizar una suspensión de microorganismos es por determinación de la turbidez en un espectrofotómetro o en escala de MacFarland. Siempre que preparemos la suspensión es un mismo medio y a la misma turbidez medida en espectrofotómetro a una longitud de onda determinada, tendremos aproximadamente el mismo número de microorganismos.

#### **Ejemplo: PREPARACIÓN DE UNA SUSPENSIÓN ESTANDARIZADA**

Se describe la preparación de una suspensión de *Staphylococcus aureus* en agua de peptona 0.1%.

##### ***1- Material necesario***

EL propio de un laboratorio de Microbiología.

##### ***2- Suspensiones***

Se han preparado 10 suspensiones de *S.aureus* en agua de peptona 0.1%. Una vez diluidas se han ajustado al 70% de transmisión en espectrofotómetro regulado a una longitud de onda de 580 nm. Posteriormente se han diluido estas suspensiones y se ha efectuado un recuento de las células viables presentes.



3- **Resultados de los recuentos**

<b>Suspensiones n°/placa</b>	<b>Resultados (UFC/ml) dilución 10<sup>-6</sup></b>
<b>1/1</b>	<b>136</b>
<b>1/2</b>	<b>145</b>
<b>2/1</b>	<b>154</b>
<b>2/2</b>	<b>162</b>
<b>3/1</b>	<b>215</b>
<b>3/2</b>	<b>213</b>
<b>4/1</b>	<b>189</b>
<b>4/2</b>	<b>196</b>
<b>5/1</b>	<b>204</b>
<b>5/2</b>	<b>194</b>
<b>6/1</b>	<b>203</b>
<b>6/2</b>	<b>199</b>
<b>7/1</b>	<b>174</b>
<b>7/2</b>	<b>198</b>
<b>8/1</b>	<b>165</b>
<b>8/2</b>	<b>187</b>
<b>9/1</b>	<b>185</b>
<b>9/2</b>	<b>203</b>
<b>10/1</b>	<b>214</b>
<b>10/2</b>	<b>213</b>
<b>N</b>	<b>20</b>
<b>Media</b>	<b>187.45</b>



<i>Desviación st.</i>	<i>23.84</i>
<i>Coficiente Variación</i>	<i>12.72</i>

El resultado final será pues que la suspensión contiene aproximadamente  $(1.87 \pm 0.24) * 10^8$  UFC/ml.

#### ***4.-Conclusión***

Una suspensión de *S. auerus* en agua de peptona 0.1% al 70% de transmisión a 580 nm contiene aproximadamente  $2 * 10^8$  UFC/ml. El ensayo se considera válido con una precisión del 12.7%.



# MATERIAL Y MÉTODO.



## **IV. MATERIAL Y MÉTODO**

**4.1.-TIPO DE ESTUDIO:** Experimental y descriptivo

**4.2.-AREA DE ESTUDIO:** Laboratorio de control de calidad Microbiológica Departamento de Análisis de drogas tóxicas y medicamentos de la facultad de ciencias químicas UNAN-León

**4.3.-UNIVERSO:** Sales de Amonio Cuaternario utilizadas como desinfectantes a nivel comercial

**4.4.-MUESTRA:** BARDAC 208 M al 2% en formulación.

**4.5.-UNIDAD DE ANÁLISIS:** Sales de amonio cuaternario contenidas en la formulación

### **4.6.-PROCEDIMIENTO PARA OBTENCIÓN DE LA INFORMACIÓN:**

A través de gestión realizada por el tutor se realizaron las coordinaciones necesarias para la obtención de la muestra objeto de estudio, así como los reactivos y medios de cultivo requeridos para cada ensayo.

### **4.7.-METODO UTILIZADO:**

Primeramente se ajustó el Spectronic 20 para luego poner en práctica el método de portagermenes, descrito previamente en el marco teórico.



### ***Método de Portagermenes:***

#### **4.7.1.-Pasos realizados durante el procedimiento del Método de Portagermenes:**

1. Se preparó una suspensión de micro organismos (Salmonella, Shiguella, E. coli, S. auerus) a una longitud de onda de 580nm y % de transmitancia de 70, en el Spectronic 20.
2. Se Prepararon diluciones a partir de esta suspensión tomando 0.1 ml de esta.
3. Se añadieron los 0.1 ml de la suspensión madre a la primera dilución que contiene 9.9ml de solución salina al 0.9%.
4. Agitamos.
5. Tomamos una alícuota de 0.1 ml de la dilución N°1 y se lo agregamos a la dilución N°2 que también contiene solución salina al 0.9%.
6. Agitamos.
7. Se procedió de la misma manera hasta dilución N° 4.
8. Se lavó con agua y detergente una lámina de acero inoxidable.
9. Se esperó que secará a Temperatura ambiente.
10. Ya seca la lámina, se tomó un aplicador previamente esterilizado, lo empapamos de solución salina al 0.9% y le realizamos un hisopado a la cara N°1 de la lámina.
11. Se tomó una placa petrí que contenga ATS y con el aplicador realizamos estrías sobre el agar.
12. Se incubó la placa Petrí, previamente identificada.
13. Se repitieron los pasos 13 al 15, pero en la cara N°2 de la lámina de acero inoxidable.
14. Se tomó la dilución N°3 de SS y empapamos un algodón con esta.
15. Se llenó de dilución N°3 de SS la cara N°1 de la lámina de acero inoxidable.
16. Se descartó el algodón en un Erlenmeyer con agua y cloro, al igual que los aplicadores.



17. Se tomó un aplicador, lo empapamos de solución salina y realizamos un hisopado sobre la cara N°1 de la lámina de Acero Inoxidable.
18. Se tomó una placa petri que contenga ATS y con el aplicador realizamos estrías sobre el agar.
19. Se incubó la placa petri, previamente identificada.
20. Con un marcador se identificaron 3 zonas diferentes en la cara N° 1 de la lámina de Acero como A, B y C. (ver foto en anexos)
21. Se agregó sobre la zona A, el Desinfectante Bardac 208M puro y lo dejamos actuar por 30 minutos.
22. Se agregó sobre la zona B, el producto a evaluar y lo dejamos actuar por 30 minutos.
23. Se agregó sobre la zona C, fenol y lo dejamos actuar por 30 minutos.
24. Pasados los 30 minutos se tomó un aplicador, se empapo con solución salina y se hisopó la zona A.
25. Se tomó una placa petri que contenga ATS y con el aplicador realizamos estrías sobre el agar.
26. Se incubó la placa petri, previamente identificada.
27. Se repitieron los pasos 24 al 26 pero el hisopado se realiza en la zona B.
28. Se repitieron los pasos 24 al 26 pero el hisopado se realiza en la zona C.
29. Se repitieron los pasos 17 al 31 pero en la cara N°2 de la lámina de Acero Inoxidable y la dilución N° 3 de Shiguella.
30. Se lavó la lámina de acero, ambas caras, con jabón líquido y detergente.
31. Dejamos la lámina sumergida en agua por 12 horas.
32. Se sacó la lámina y se enjuago con abundante agua.
33. Se repitieron los pasos 11 al 16.
34. Se repitieron los pasos del 17 al 32 con la diferencia de que en la cara N°1 de la lámina de acero inoxidable usamos la dilución N°3 de E. Coli y en la cara N°2 la dilución N°3 de St. Aureus.
35. Se repitieron los pasos del 33 al 36.
36. Se tomó un termómetro de vidrio A1 y se le realizó un hisopado con un aplicador previamente empapado de solución salina al 0.9%
37. Se tomó una placa petri que contenga ATS y con el aplicador realizamos estrías sobre el agar.



38. Se incubó la placa petri previamente identificada.
39. Se tomó la dilución N°3 de Salmonella y se empapo un algodón con esta.
40. Se llenó de dilución N°3 de Salmonella todo el termómetro.
41. Se descartó el algodón en un Erlenmeyer con agua y cloro al igual que los aplicadores.
42. Se tomó un aplicador, se empapo de solución salina y se realizó un hisopado sobre todo el termómetro.
43. Se tomó una placa petri que contenga ATS y con el aplicador se realizaron estrías sobre el agar.
44. Se incubó la placa petri, previamente identificada.
45. Se agregó sobre este termómetro el desinfectante Bardac 208M puro y se dejó actuar por 30 minutos.
46. Pasados los 30 minutos, se tomó un aplicador se empapó con solución salina y se hisopó todo el termómetro.
47. Se tomó una placa petri que contenga ATS y con el aplicador se realizaron estrías sobre el agar.
48. Se incubó la placa petri previamente identificada.
49. Se tomó el Termómetro de vidrio B1 y se realizó los pasos del 39 al 51 pero esta vez se utilizó el producto a evaluar en el paso N° 48.
50. Se tomó el Termómetro de vidrio C1 y se realizó los pasos N°39 al 51 pero esta vez se utilizó Fenol en el paso N°48.
51. Luego se repitieron los pasos N°39 al 54 con los termómetros A2, B2 Y C2 con la dilución N°3 de Shigella.
52. Se repitieron los pasos del N°39 al 54 con los termómetros A3, B3 y C3 con la dilución N°3 de E. Coli.
53. Se repitieron los pasos del N° 39 al 54 con los termómetros A4, B4 y C4 con la dilución N°3 de St. Aureus.
54. Al finalizar se desecharon todos los termómetros.
55. Durante toda esta práctica, que nos tomó un día, se colocó una placa petri con ATS y se dejó semi abierta sobre la mesa de trabajo para utilizarla como control de ambiente.
56. Se incubó la placa petri, previamente identificada.
57. A las 24 horas completas se realizó la primera lectura de las placas incubadas.



58. Se anotaron los resultados.
59. A las 48 horas se realizó la segunda lectura de las placas incubadas.
60. Se anotaron los resultados.
61. Al finalizar el proceso se procedió a descontaminar el material que se uso en autoclave, y, al lavado y secado de este.
62. Luego se analizaron los resultados obtenidos de las lecturas.

#### **4.7.2.-Pasos realizados para pases de cuñas:**

1. Se tomaron cuñas inclinadas conteniendo ATS.
2. Junto a un mechero, se tomó un ASA y se realizó el pase de microorganismo a la cuña. El pase se realizó de otra cuña que siempre se mantiene refrigerada.
3. Se incubó la cuña previamente identificada.
4. La incubación de cuñas dura 24 horas.
5. Luego de haberla usado se refrigeró.

#### **4.7.3-Pasos para ajustar el Spectronic 20:**

1. Se preparó una solución de Dicromato de Potasio al 8%.
2. De esta solución madre se prepararon 5 diluciones al 1%, 2%, 3%, 4% y 5%.
3. Se conecto el Spectronic 20 y se esperó 15 minutos para ajustarlo.
4. Se preparó un blanco de solución salina al 0.9%
5. Se ajustó con el blanco.
6. En la celda se le adicionó la primera dilución de Dicromato de Potasio al 1%.
7. Se anotó la absorbancia y % de transmitancia.
8. Se repitió la operación 5 veces y se obtuvieron 5 resultados.
9. Se repitieron los pasos 5 al 8 pero con la segunda dilución de Dicromato de Potasio al 2%.
10. Se repitieron los pasos 5 al 8 pero con la segunda dilución de Dicromato de Potasio al 3%.



11. Se repitieron los pasos 5 al 8 pero con la segunda dilución de Dicromato de Potasio al 4%.
12. Se repitieron los pasos 5 al 8 pero con la segunda dilución de Dicromato de Potasio al 5%.
13. Se realizaron los datos necesarios con los datos obtenidos.
14. Se realizó un grafico de Ajustación (calibración).

#### **4.8.-MATERIALES:**

##### **4.8.1.-Cristalería:**

- Placas Petrí.
- Tubos de ensayo.
- Balanzas.
- ASAS.
- Mecheros.
- Agitador.
- Pipetas.
- Erlenmeyer.
- Termómetros de vidrio.
- Lámina de Acero Inoxidable.
- Aplicadores.
- Autoclave.
- Horno para descontaminar.

##### **4.8.2.-Reactivos:**

- Agar Tripticasoja (ATS).
- Dicromato de Potasio.
- Cloruro de Sodio.
- Agua Destilada.
- Fenol sobresaturado.



#### **4.8.3.-Microorganismos:**

- Salmonella sp.
- Shiguella sp.
- Escherichia Coli
- Staphylococcus Aureus sp.

#### **4.9.-PLAN DE ANALISIS:**

Los datos fueron analizados tomando en consideración los criterios microbiológicos establecidos para cada prueba, los cuales se presentan en gráficos y tablas.



# *RESULTADOS*



## IV. Resultados

En las siguientes tablas aparecen los resultados obtenidos luego de haber expuestos diluciones de los microorganismos: Salmonella, Shigella, E. Coli y St. Aureus, a tres desinfectantes incluido el desinfectante a evaluar (dos de ellos utilizados como referencia), para comparar y valorar su efectividad antimicrobiana.

**Tabla N° 1.1:**

**RESULTADO DEL HISOPADO REALIZADO AL MATERIAL ANTES DE UTILIZARLO**

<i>Material</i>	<i>Lectura a las 24 horas</i>	<i>Lectura a las 48 horas</i>	<i>Observaciones</i>
<i>A.I. Cara 1</i>	<i>128 UFC</i>	<i>&gt;300UFC</i>	<i>Ensayo N°1</i>
<i>A.I. Cara 2</i>	<i>Presencia de Bacilos</i>	<i>2 UFC y hongos</i>	<i>Ensayo N°1</i>
<i>Termómetro 1</i>	<i>Negativo</i>	<i>2 UFC</i>	<i>Ensayo N°1</i>
<i>Termómetro 2</i>	<i>Negativo</i>	<i>2 UFC</i>	<i>Ensayo N°1</i>
<i>Termómetro 3</i>	<i>4 UFC</i>	<i>6 UFC</i>	<i>Ensayo N°1</i>
<i>Termómetro 4</i>	<i>6 UFC</i>	<i>19 UFC</i>	<i>Ensayo N°1</i>
<i>Termómetro 5</i>	<i>3 UFC</i>	<i>4 UFC</i>	<i>Ensayo N°1</i>
<i>Termómetro 6</i>	<i>Negativo</i>	<i>4 UFC</i>	<i>Ensayo N°1</i>

**RESULTADO DEL HISOPADO REALIZADO AL MATERIAL ANTES DE UTILIZARLO**

<i>Material</i>	<i>Lectura a las 24 horas</i>	<i>Observaciones</i>
<i>A.I. Cara 1</i>	<i>26 UFC</i>	<i>Ensayo N°2</i>
<i>A.I. Cara 2</i>	<i>1 UFC</i>	<i>Ensayo N°2</i>
<i>Termómetro 1</i>	<i>2 UFC</i>	<i>Ensayo N°2</i>
<i>Termómetro 2</i>	<i>1 UFC</i>	<i>Ensayo N°2</i>
<i>Termómetro 3</i>	<i>3 UFC</i>	<i>Ensayo N°2</i>
<i>Termómetro 4</i>	<i>Negativo</i>	<i>Ensayo N°2</i>
<i>Termómetro 5</i>	<i>Negativo</i>	<i>Ensayo N°2</i>
<i>Termómetro 6</i>	<i>1 UFC</i>	<i>Ensayo N°2</i>

A.I.: Acero Inoxidable.

UFC: Unidad Formadora de Colonias.



**Tabla N°1.2:**

*Crecimiento de las Disoluciones de los microorganismos utilizados.*

<i>Solución</i>	<i>Microorganismo</i>	<i>Lectura a las 24 hrs.</i>	<i>Lectura a las 48 hrs.</i>
10 <sup>4</sup>	<i>Salmonella</i>	11 UFC	13 UFC
10 <sup>4</sup>	<i>Shigella</i>	6 UFC	6 UFC
10 <sup>4</sup>	<i>E. Coli</i>	3 UFC	No se realizo.
10 <sup>4</sup>	<i>St. Aureus</i>	2 UFC	No se realizo.
SM	<i>Salmonella</i>	>300 UFC	>300 UFC
SM	<i>Shigella</i>	>300 UFC	>300 UFC
SM	<i>E. Coli</i>	>300 UFC	No se realizo.
SM	<i>St. Aureus</i>	>300 UFC	No se realizo.

UFC: Unidad Formadora de Colonia

**Tabla N° 2.1:**

*Yuhaira Sarahí Vallejos Castro*



*Efectividad de los Desinfectantes en los materiales ensayados.*

<i>Material</i>	<i>Producto utilizado</i>	<i>M.O.</i>	<i>Lectura a las 24 horas</i>	<i>Lectura a las 48 horas</i>
<i>Acero Inoxidable</i>	<i>Bardac 8%</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>
<i>Acero Inoxidable</i>	<i>Fenol</i>	<i>Salmonella</i>	<i>3UFC</i>	<i>3UFC</i>
<i>Acero Inoxidable</i>	<i>Bardac 8%</i>	<i>Shigella</i>	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>
<i>Acero Inoxidable</i>	<i>Fenol</i>	<i>Shigella</i>	<i>1 UFC</i>	<i>3 UFC</i>

*Efectividad de los Desinfectantes en los materiales ensayados.*

<i>Termómetro</i>	<i>Bardac 8%</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>
<i>Termómetro</i>	<i>Fenol</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>
<i>Termómetro</i>	<i>Bardac 8%</i>	<i>Shigella</i>	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>
<i>Termómetro</i>	<i>Fenol</i>	<i>Shigella</i>	<i>Negativo</i>	<i>2UFC</i>

UFC: Unidad Formadora de Colonias.

**Tabla N° 2.2:**

*Efectividad del Desinfectante Evaluado en los materiales ensayados*

<i>Acero Inoxidable</i>	<i>P.E.</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>
<i>Acero Inoxidable</i>	<i>P.E.</i>	<i>Shigella</i>	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>
<i>Termómetro</i>	<i>P.E.</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>
<i>Termómetro</i>	<i>P.E.</i>	<i>Shigella</i>	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>

P.E.: Producto Evaluado.g.

UFC: Unidad Formadora de Colonias.



**Tabla N° 3.1:**

<i>Efectividad de los Desinfectantes en los materiales ensayados.</i>				
<i>Material</i>	<i>Producto Utilizado</i>	<i>M.O.</i>	<i>Lectura a las 24 horas</i>	<i>Observaciones</i>
<i>Acero Inoxidable</i>	<i>Bardac 8%</i>	<i>E. Coli</i>	<i>Negativo</i>	<i>No se realizó lectura a las 48 hrs. Por descontaminación del Laboratorio</i>
<i>Acero Inoxidable</i>	<i>Fenol</i>	<i>E. Coli</i>	<i>5 UFC</i>	<i>No se realizó lectura a las 48 hrs. Por descontaminación del Laboratorio</i>
<i>Acero Inoxidable</i>	<i>Bardac 8%</i>	<i>St. Aureus</i>	<i>Negativo</i>	<i>No se realizó lectura a las 48 hrs. Por descontaminación del Laboratorio</i>
<i>Acero Inoxidable</i>	<i>Fenol</i>	<i>St. Aureus</i>	<i>1 UFC</i>	<i>No se realizó lectura a las 48 hrs. Por descontaminación del Laboratorio</i>
<i>Efectividad de los Desinfectantes en los materiales ensayados.</i>				
<i>Termómetro</i>	<i>Bardac 8%</i>	<i>E. Coli</i>	<i>Negativo</i>	<i>No se realizó lectura a las 48 hrs. Por descontaminación del Laboratorio</i>
<i>Termómetro</i>	<i>Fenol</i>	<i>E. Coli</i>	<i>Negativo</i>	<i>No se realizó lectura a las 48 hrs. Por descontaminación del Laboratorio</i>
<i>Termómetro</i>	<i>Bardac 8%</i>	<i>St. Aureus</i>	<i>Negativo</i>	<i>No se realizó lectura a las 48 hrs. Por descontaminación del Laboratorio</i>
<i>Termómetro</i>	<i>Fenol</i>	<i>St. Aureus</i>	<i>Negativo</i>	<i>No se realizó lectura a las 48 hrs por descontaminación del Laboratorio</i>

**TablaN° 3.2:**

*Yuhaira Sarahi Vallejos Castro*



<i>Efectividad del Desinfectante Evaluado en los materiales ensayados</i>				
<i>Acero Inoxidable</i>	<i>P.E.</i>	<i>E. Coli</i>	<i>Negativo</i>	<i>No se realizó lectura a las 48 hrs. Por descontaminación del Laboratorio</i>
<i>Acero Inoxidable</i>	<i>P.E.</i>	<i>St. Aureus</i>	<i>Negativo</i>	<i>No se realizó lectura a las 48 hrs. Por descontaminación del Laboratorio</i>
<i>Termómetro</i>	<i>P.E.</i>	<i>E. Coli</i>	<i>Negativo</i>	<i>No se realizó lectura a las 48 hrs. Por descontaminación del Laboratorio</i>
<i>Termómetro</i>	<i>P.E.</i>	<i>St. Aureus</i>	<i>Negativo</i>	<i>No se realizó lectura a las 48 hrs. Por descontaminación del Laboratorio</i>

P.E.: Producto Evaluado.

**TablaN° 4:**

**Cuadro comparativo de la Efectividad de los Desinfectantes de Referencia y el Desinfectante Evaluado en los materiales ensayados.**

Material/M.O.	Bardac 8%g	Fenol	Producto Evaluado
<b>AI/ Salmonella</b>	<b>Negativo</b>	<b>3UFC</b>	<b>Negativo</b>
<b>AI / Shigella</b>	<b>Negativo</b>	<b>1 UFC</b>	<b>Negativo</b>
<b>AI / E. Coli</b>	<b>Negativo</b>	<b>5 UFC</b>	<b>Negativo</b>
<b>AI / ST. Aureus</b>	<b>Negativo</b>	<b>1 UFC</b>	<b>Negativo</b>
<b>Termómetro / Salmonella</b>	<b>Negativo</b>	<b>Negativo</b>	<b>Negativo</b>
<b>Termómetro / Shigella</b>	<b>Negativo</b>	<b>Negativo</b>	<b>Negativo</b>
<b>Termómetro / E. Coli</b>	<b>Negativo</b>	<b>Negativo</b>	<b>Negativo</b>
<b>Termómetro / St. Aureus</b>	<b>Negativo</b>	<b>Negativo</b>	<b>Negativo</b>

A.I.: Acero Inoxidable

UFC: Unidad Formadora de Colonias

## V. Análisis de los resultados

*Yehaira Sarahí Vallejos Castro*



En la **Tabla N° 1.1**, aparecen los resultados obtenidos del hisopado realizado a los materiales previo a la realización del primer ensayo con los productos a evaluar. En ellos se puede ver que en la lámina de acero inoxidable había presencia de Bacterias en gran cantidad a diferencia de los termómetros los cuales fueron retirados de su empaque original poco antes de su utilización, sin haber estado en contacto con el medio ambiente de trabajo por mucho tiempo. Las bacterias encontradas se debieron a la contaminación presente en el medio ambiente, lo que se comprobó con la placa de control de medio.

En esta misma tabla se puede observar que al realizar el segundo ensayo, luego de lavar la lámina de acero inoxidable esta presento menos cantidad de bacterias y los termómetros al igual que los usados en el primer ensayo no presentaron bacterias, es decir no habían estado en contacto con el medio del laboratorio.

En la **Tabla 1.2**, se observan las lecturas realizadas a las diluciones que se ocuparon para empapar los materiales ensayados las cuales contenían los microorganismos utilizados. En ellas vemos que en cada una de las diluciones  $10^4$  hay presencia activa de los microorganismos a utilizar en el método.

En la **Tabla N° 2.1**, se pueden observar los resultados obtenidos luego de realizar el primer ensayo utilizando Salmonella y Shiguella como microorganismos contaminantes, el Desinfectante Bardac 208M 8% y el Fenol como productos de referencia. En la lámina de acero inoxidable el desinfectante Bardac 208M 8% utilizado para formular el producto a evaluar dio como resultado un crecimiento negativo de los microorganismos contaminantes, es decir presenta efectividad como bactericida, mientras que el Fenol dio como resultado un crecimiento positivo con ambos microorganismos, lo cual nos indica que este tipo de desinfectante no es efectivo en este material (Acero Inoxidable).

En relación a los termómetros, se observa que los dos desinfectantes son bactericidas efectivos, ya que no hubo crecimiento positivo de las bacterias ensayadas.

En la **Tabla 2.2**, se observan los resultados obtenidos para el producto evaluado, los cuales son satisfactorios ya que no hubo crecimiento de bacterias luego de practicado el ensayo.



En la **Tabla N° 3.1**, se puede observar los resultados obtenidos luego de realizar el segundo ensayo utilizando *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* como microorganismos contaminantes, el Desinfectante Bardac 208M 8% y el Fenol como productos de referencia. En la lámina de acero inoxidable el desinfectante Bardac 208M 8% dio como resultado un crecimiento negativo de los microorganismos contaminantes, es decir muestra efectividad como bactericida, al contrario de el Fenol dio como resultado un crecimiento positivo para ambos microorganismos, lo cual nos revela que este tipo de desinfectante no es efectivo en este material (Acero Inoxidable).

En los termómetros, se observa que los dos desinfectantes son bactericidas efectivos, debido a que el crecimiento de bacterias fue negativo.

En la **Tabla N° 3.2**, se aprecian los resultados obtenidos para el producto evaluado, los cuales son satisfactorios ya, que no hubo crecimiento de bacterias luego de practicado el segundo ensayo en los materiales utilizados.

En la **Tabla N°4**, se presenta un cuadro comparativo de los resultados obtenidos para cada desinfectante utilizado, con el cual podemos comprobar que luego de practicado el método de portagermenes el desinfectante evaluado posee buena efectividad ante los microorganismos ensayados, igual comportamiento se observo con los materiales utilizados.



# CONCLUSIÓN

## **VI. Conclusiones:**

---

*Yehaira Sarahí Vallejos Castro*



Luego de realizar las pruebas microbiológicas, mediante el método de Porta gérmenes y teniendo en consideración los resultados obtenidos, hemos llegado a las siguientes conclusiones:

1. El desinfectante Bardac 208M al 8% utilizado en la formulación del producto evaluado como materia prima, es efectivo contra los microorganismos utilizados en los ensayos.
2. El fenol a pesar de que en la literatura es referido como un buen desinfectante, en los ensayos realizados en el estudio solamente demostró efectividad en los termómetros de vidrio, no así en el acero inoxidable.
3. El producto evaluado Bardac 208M al 2% en formulación es efectivo frente a los microorganismos contaminantes: E. Coli, Salmonella, Shiguella, St. Aureus. También resulto efectivo en ambos tipos de materiales: Acero Inoxidable y termómetros de vidrio.



# RECOMENDACIONES

## **VII. Recomendaciones**

---

*Yehaira Sarahí Vallejos Castro*



1. Debido a que el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Unan-León se utiliza en prácticas de laboratorio con estudiantes de pre-grado es necesario desinfectar con mayor frecuencia dicha área, para evitar una contaminación cruzada.
2. Considerando que se han aumentado el número de practicas de docencia, es necesario incrementar la cantidad de material (Cristalería, Reactivos, Microorganismos) en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Unan-León para garantizar el buen desarrollo de los trabajo monográficos.
3. Cambiar el envase de plástico conteniendo el desinfectante Bardac 208M al 2%, para evitar el deterioro del mismo, durante su uso y almacenamiento.
4. Darle continuidad al estudio realizando un estudio monográfico de validación de la efectividad del Fenol en Acero Inoxidable.
5. Renovar con mayor frecuencia las cepas de microorganismos existentes en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas, para certificar la confiabilidad de los resultados.
6. El producto evaluado Bardac 208M al 2%, de acuerdo a la efectividad presentada puede ser utilizado como desinfectante de amplio espectro, tanto para microorganismos gram negativo como gram positivos, en todo tipo de material(vidrio, acero, pisos, entre otros).



# BIBLIOGRAFÍA

## **VIII. Bibliografía:**

---

*Yehaira Sarahí Vallejos Castro*



- 1) <http://www.epa.gov/opp00001/safety/spanish/healthcare/handbook/Spch19.pdf> Desinfectante.
- 2) [http://www.quiminet.com.mx/ar3/ar\\_5%253A%2527%25DA%25FC%25DC%250D8.htm](http://www.quiminet.com.mx/ar3/ar_5%253A%2527%25DA%25FC%25DC%250D8.htm) amonios cuaternarios
- 3) <http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=888&io=4115> *Los amonios cuaternarios*
- 4) <http://www.monografias.com/trabajos14/desinfectantes/desinfectantes.shtml> Desinfectantes
- 5) <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030305/030515.pdf> *evaluacion de un desinfectante..*
- 6) <http://es.wikipedia.org/wiki/Desinfectante> Desinfectante
- 7) <http://es.answers.yahoo.com/question/index?qid=20081017020140AAHVSf7> amonios cuaternarios
- 8) <http://www.acercar.org.co/industria/biblioteca/eventos/fase6/ips/23032006/04.pdf> SELECCIÓN Y USO DE DESINFECTANTES
- 9) [http://www.borrmart.es/articulo\\_limpiezas.php?id=835&numero=59](http://www.borrmart.es/articulo_limpiezas.php?id=835&numero=59) Amonios cuaternarios
- 10) <http://www.mundoacuicola.cl/blog/?cat=6> Amonios Cuaternarios
- 11) [http://www.e-industria.com/ar2/ar\\_%25F5%25F7m%258F%2527%25CC%250A%25F5.htm](http://www.e-industria.com/ar2/ar_%25F5%25F7m%258F%2527%25CC%250A%25F5.htm) clasificacion de los amonios cuaternarios
- 12) <http://apuntes.rincondelvago.com/agentes-desinfectantes.html> agentes desinfectantes
- 13) <http://www.clon.uab.es/recursos/descargar.asp?clau='0000001163'> limpieza y desinfección
- 14) [http://es.wikipedia.org/wiki/Amonio\\_\(qu%C3%ADmica\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Amonio_(qu%C3%ADmica)) Amonio (química)
- 15) <http://www.ilender.com.pe/servicios/publicaciones/notas/rotaciondesinfectantes2.pdf> ACERCA DE LA ROTACION DE DESINFECTANTES
- 16) <http://www.azochemcorp.com/webinfo.php?web=21>



- 17) [http://www.sempsph.com/sempsph/attachments/065\\_Gu%C3%ADa%20de%20Antis%C3%A9pticos.pdf](http://www.sempsph.com/sempsph/attachments/065_Gu%C3%ADa%20de%20Antis%C3%A9pticos.pdf) GUÍA DE UTILIZACIÓN DE ANTISÉPTICO
- 18) [http://www.cadperu.com/virtual/file.php/1/moddata/data/3/10/3972/DESINFECTANTE\\_ADECUADO.pdf](http://www.cadperu.com/virtual/file.php/1/moddata/data/3/10/3972/DESINFECTANTE_ADECUADO.pdf) desinfectante adecuado
- 19) Validación de métodos analíticos/ Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria-AEFI/ Marzo 2001/ Gráficas GISPert, S.A. Barcelona/ pag. 146- 148

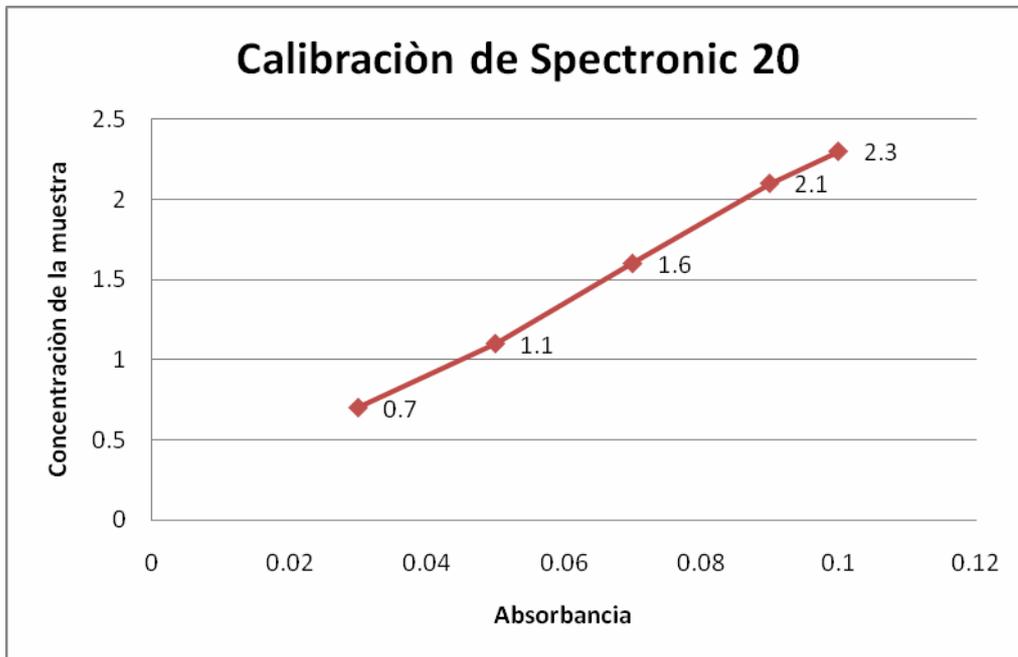


# IX. ANEXOS



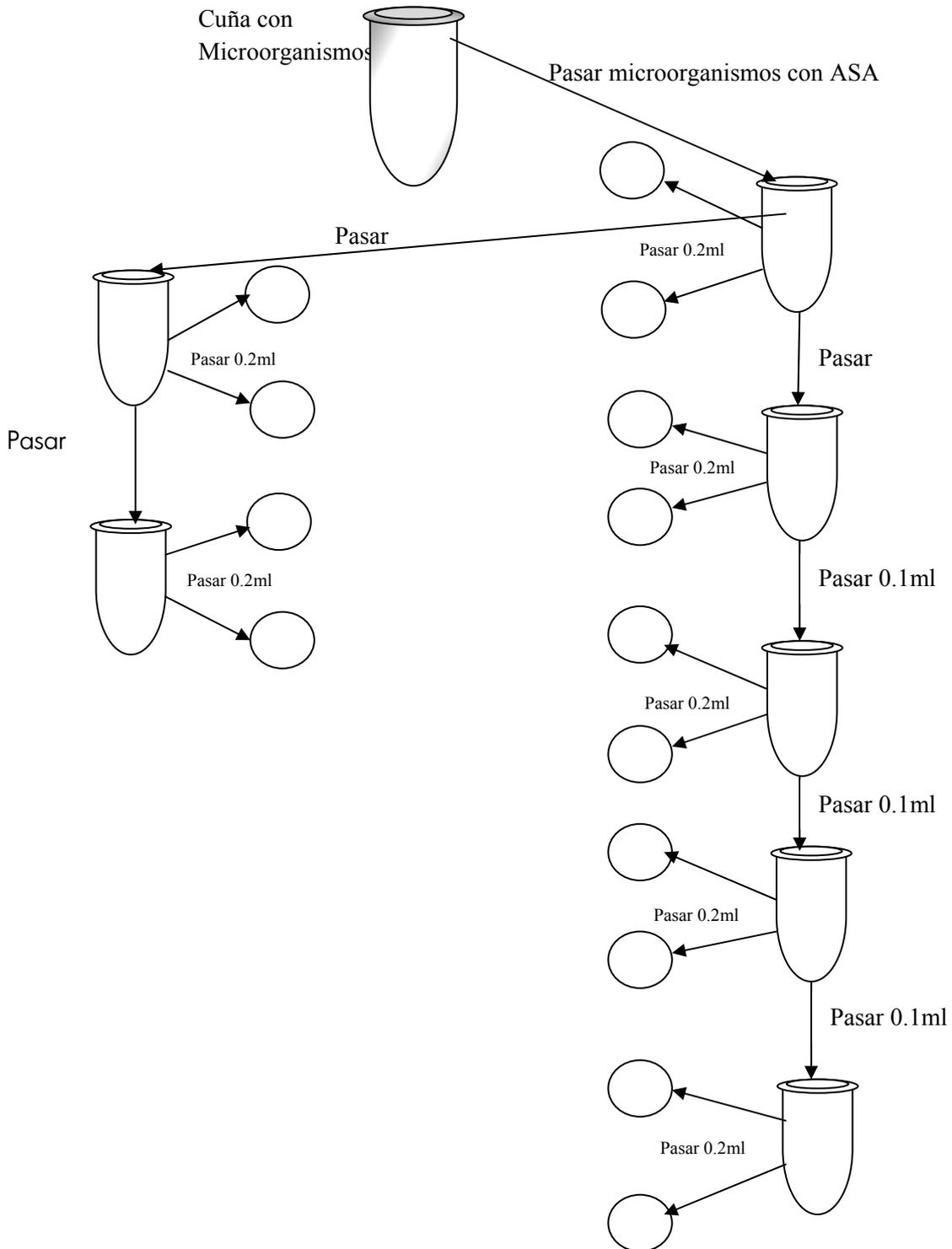
**Anexo N°1.** Tabla y Gráfico del ajuste realizado al Spectronic 20.

Concentración de la Muestra	Absorbancia
2.3	0.1
2.1	0.09
1.6	0.07
1.1	0.05
0.7	0.03





Es quema de trabajo de las diluciones

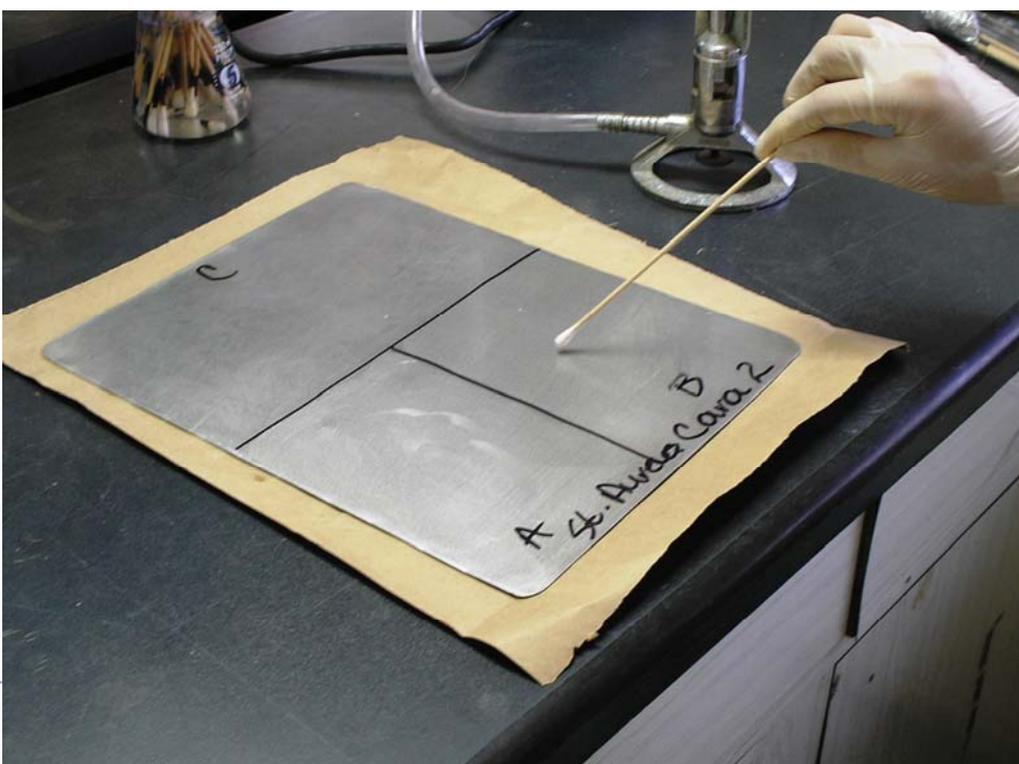




***Ensayo a termómetros al aplicar los desinfectantes.***

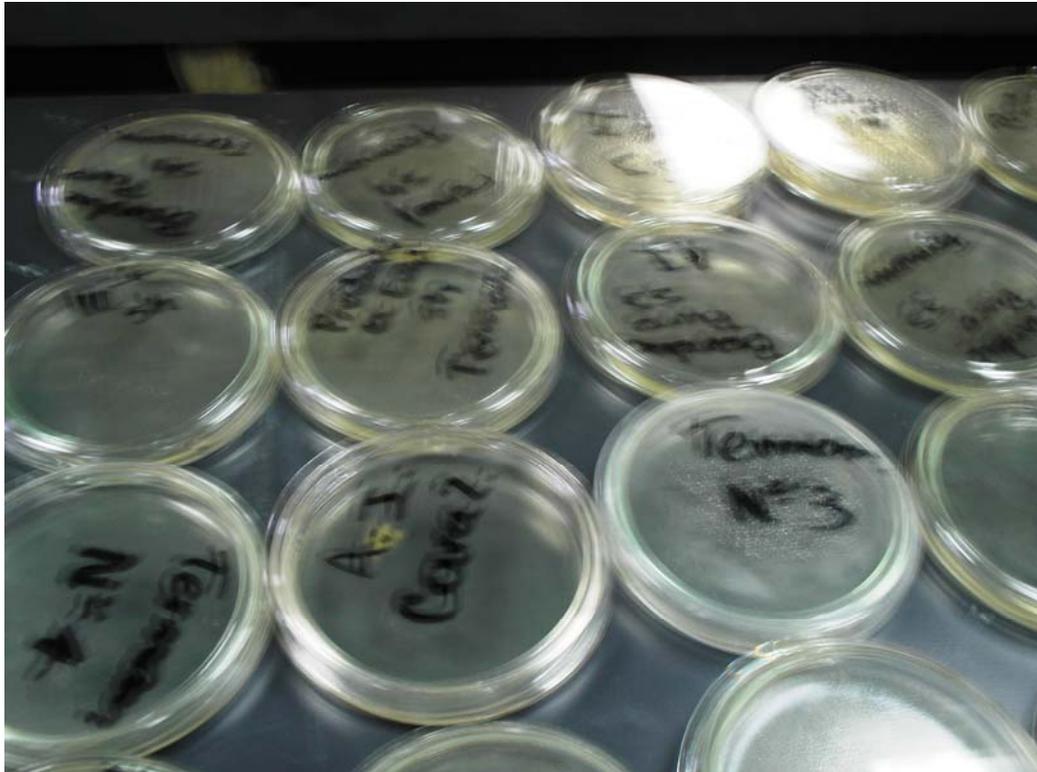


***Hisopado a lámina de acero inoxidable luego de aplicar los desinfectantes***





*Placas petri antes de introducirlas a la incubadora.*

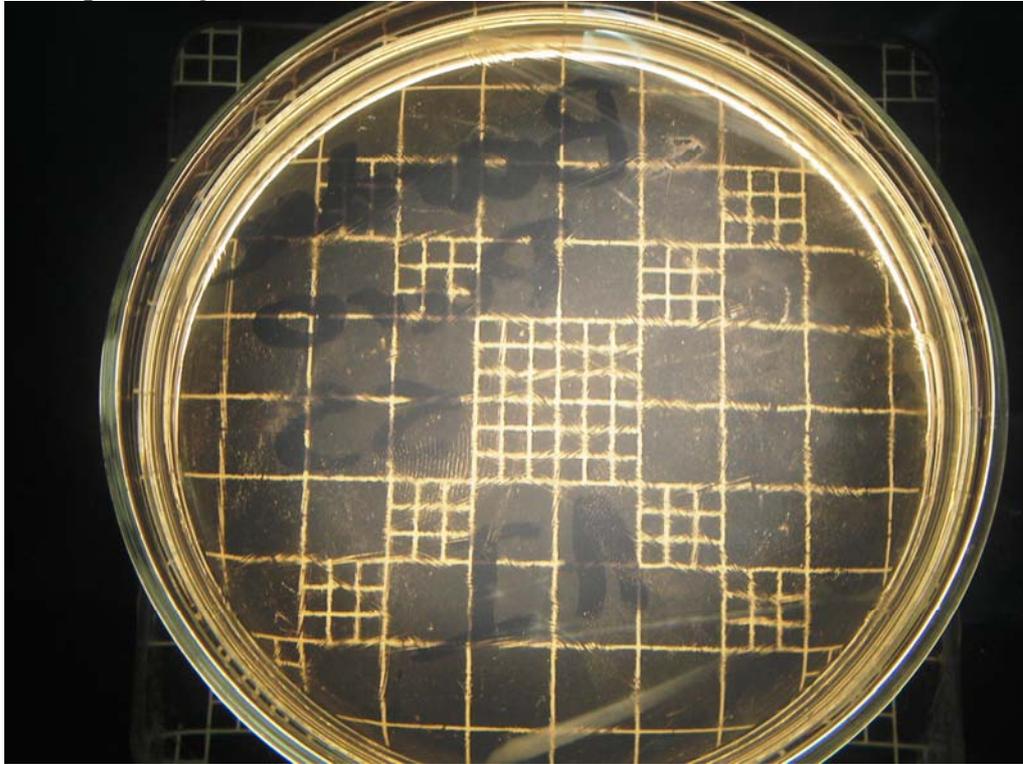


*Dilución  $10^4$*





***Placa petri luego de 24 hrs. De incubación con Bardac Puro***



***Placa petri luego de 24 hrs. de incubación con Producto Evaluado.***

