



INSTITUTO TECNÓLOGICO DE SONORA

**EVALUACIÓN DEL EFECTO MICROBICIDA DE
LOS SINFECTANTES USADOS EN MESAS DE
SIEMBRA DEL LABORATORIO DE
INVESTIGACIÓN EN MICROBIOLÓGIA DEL
INSTITUTO TECNÓLOGICO DE SONORA**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

QUÍMICO

PRESENTA

RAMÓN ABELARDO SOTO MAYTORENA

CD. OBREGÓN, SONORA

DICIEMBRE DE 2005

ÍNDICE

	Pág
ÍNDICE	<i>I</i>
LISTA DE TABLAS	<i>IV</i>
LISTA DE FIGURAS	<i>V</i>
RESUMEN	<i>VI</i>
I. INTRODUCCIÓN	<i>VIII</i>
1.1 JUSTIFICACIÓN.....	<i>X</i>
1.2 OBJETIVO GENERAL.....	<i>XI</i>
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	<i>XII</i>
1.4 HIPÓTESIS.....	<i>XIII</i>
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	<i>1</i>
2.1 Antecedentes.....	<i>1</i>
2.2 Importancia del control microbiano.....	<i>2</i>
2.3 Definición de términos.....	<i>2</i>
2.3.1 Esterilización.....	<i>3</i>
2.3.2 Desinfección.....	<i>3</i>
2.3.3 Desinfectante.....	<i>3</i>
2.3.4 Antiséptico.....	<i>3</i>
2.3.5 Higienizante.....	<i>4</i>
2.3.6 Germicida (microbicida).....	<i>4</i>
2.3.7 Bactericida.....	<i>4</i>
2.3.8 Agente antimicrobiano.....	<i>4</i>

2.4 Clasificación de desinfectantes.....	4
2.5 Espectro de actividad de los desinfectantes.....	5
2.6 Muerte microbiana.....	6
2.7 Factores que intervienen en la eficacia de los desinfectantes.....	6
2.8 Desinfectante ideal.....	8
2.9 Desinfectantes de estudio.....	9
2.9.1 Alcoholes.....	9
2.9.2 Compuestos clorados.....	10
2.9.3 Cloruro de benzalconio.....	12
2.9.4 Fenol.....	13
2.10. Microorganismos indicadores de contaminación.....	13
2.10.1 Mesófilos aerobios.....	13
2.10.2 Organismos coliformes.....	14
2.11 Resistencia o adaptación microbiana.....	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
3.1 Localización y sitio de muestreo.....	17
3.2 Selección del sitio de muestreo.....	17
3.3 Evaluación de los desinfectantes.....	19
3.3.1 Preparación de los desinfectantes.....	19
3.3.2 Aplicación de los desinfectantes.....	19
3.3.3 Muestreo.....	19
3.4 Recolección de la muestra.....	20
3.5 Análisis microbiológicos.....	20
3.5.1 Recuento de organismos mesófilos aerobios y coliformes totales por la técnica de vaciado en placa.....	21
3.6 Calculo del porcentaje de reducción.....	22
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
4.1 Resultados para la cuenta de organismos mesófilos aerobios con la aplicación de los diferentes desinfectantes.....	24

4.1.1 Resultados para la cuenta de organismos mesófilos aerobios con la aplicación de fenol al 5%.....	24
4.1.2 Resultados obtenidos para la cuenta de mesófilos aerobios con la aplicación de alcohol al 70%.....	26
4.1.3 Resultados obtenidos con la aplicación de cloro al 2%.....	28
4.1.4 Resultados obtenidos con la aplicación del cloruro de benzalconio al 2%.....	29
4.2 Recuento de organismos coliformes totales.....	31
V. CONCLUSIONES.....	32
RECOMENDACIONES.....	33
BIBLIOGRAFÍA.....	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Descripción	Página
1	Características con las que debe de cumplir el desinfectante ideal.....	8
2	Resultado de la cuenta total de organismos mesófilos aerobios y coliformes totales en UFC/100 cm ² con la aplicación de fenol al 5%.....	26
3	Resultados de la cuenta total de organismos mesófilos aerobios y coliformes totales en UFC/100 cm ² con la aplicación de alcohol al 70%.....	27
4	Resultado de la cuenta total de organismos mesófilos aerobios y coliformes totales en UFC/100 cm ² con la aplicación de cloro 2%.....	29
5	Resultado de la cuenta total de organismos mesófilos aerobios y coliformes totales en UFC/100 cm ² con la aplicación de cloruro de benzalconio al 2%.....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1	Croquis del laboratorio de microbiología.....	18
2	Diagrama de flujo para el recuento de organismos mesófilos aerobios y coliformes totales por la técnica de vaciado en placa.....	23

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de microbiología de la Dirección Académica de Recursos Naturales del Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON), durante el periodo comprendido entre los meses de mayo a julio de 2005.

Se realizaron 2 muestreos semanales durante 15 días para cada desinfectante, completando 16 muestreos, los sitios de muestreo fueron la campana de flujo laminar, mesa de siembra 1 y 2, obteniendo 64 muestras de cada una dando un total de 192. Los desinfectantes utilizados fueron fenol al 5%, etanol al 70%, hipoclorito de sodio al 2% y cloruro de benzalconio al 2%.

Las muestras fueron recolectadas por medio de la técnica de la torunda húmeda para muestreo de superficies vivas e inertes en un área de 100 cm², la cual fue aplicada antes de la desinfección y pasados 5, 10 y 15 minutos. Los análisis microbiológicos realizados fueron la determinación organismos mesófilos aerobios por la técnica de vaciado en placa según la NOM-092-SSA1-1994, determinación organismos coliformes totales según la NOM-113-SSA1-1994. Los resultados obtenidos fueron expresados en UFC/100 cm². La efectividad de los desinfectantes se determinó con la fórmula del porcentaje de reducción.

Los resultados obtenidos indican que el cloro al 2% es el desinfectante que mayor efecto microbicida presenta ya que pasados 10 minutos de su aplicación se encontró una eliminación completa de la flora microbiana en la totalidad de las muestras, mientras que con el fenol al 5% a 15 minutos de su aplicación eliminó la totalidad de microorganismos en el 33.33% de las muestras. En el caso de etanol al 70% y cloruro de benzalconio al 2% se obtuvieron mejores resultados pasados 15 minutos del tratamiento debido a que se eliminó la totalidad de los microorganismos en el 75% y 41.6% de las muestras respectivamente.

Con los resultados obtenidos, se recomienda que una vez aplicado cloro al 2% se deje transcurrir 10 minutos para iniciar labores. En el caso de etanol al 70% y cloruro de benzalconio al 2 % se recomienda que transcurran 15 minutos.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Aunque muchos microorganismos son beneficiosos y necesarios para el bienestar humano, las actividades microbianas pueden tener consecuencias indeseables, como la putrefacción de alimentos, el desarrollo de enfermedades y la contaminación de áreas especializadas. En consecuencia, es fundamental poder destruir los microorganismos o inhibir su crecimiento para minimizar sus efectos destructivos (Prescott y col., 1999).

Para lograr lo anterior Pelczar (1993), menciona que los microorganismos pueden ser eliminados, inhibidos o muertos por agentes físicos, procesos físicos o agentes químicos. Dentro de los agentes químicos encontramos a los desinfectantes que son definidos por el mismo autor como agentes generalmente químicos capaces de matar las formas en desarrollo, pero no necesariamente las esporas de microorganismos patógenos.

Galán Alejo(2003), clasifica según su actividad a los desinfectantes químicos en 4 niveles: de nivel más alto que presentan un amplio espectro de actividad esterilizante, de nivel alto con amplio espectro de actividad incluso con cierta actividad esporocida, nivel intermedio con amplio espectro pero sin actividad esporocida y los de nivel bajo con reducido espectro de actividad.

Existen diferentes formas en las cuales los desinfectantes pueden conducir a la muerte de los microorganismos las cuales se basan en el daño a la pared celular, alteración de la permeabilidad celular, alteración de las proteínas y de

ácidos nucleicos y por último la inhibición de la acción enzimática, aunque cualquier daño o combinación de estos llevara a la muerte de las células.

Actualmente existen diversas pruebas propuestas para la comprobación de la eficacia de los desinfectantes pero la más conocida es la de índice de fenol, en la que se compara la eficacia de un desinfectante con la del fenol. Aunque el coeficiente de fenol es muy útil, este valor puede ser engañoso si se considera una indicación directa de la potencia de un desinfectante durante su uso normal. Esto se debe a que el coeficiente de fenol se determina en condiciones rigurosamente controladas, mientras que los desinfectantes se utilizan normalmente en poblaciones mixtas, en presencia de materia orgánica y con variaciones importantes en las condiciones ambientales. Tomando en cuenta lo anterior en el presente estudio se tomaron muestras de la superficies de mesas de siembra y campana de flujo laminar que fueron desinfectadas con fenol al 5%, etanol al 70%(etanol), cloro al 2% y cloruro de benzalconio al 2% con el fin de evaluar su efectividad.

1.2 OBJETIVO GENERAL

Realizar análisis microbiológicos en mesas de siembra y campana de flujo laminar del laboratorio de investigación en microbiología con el fin de evaluar el efecto microbicida de cuatro desinfectantes.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Aplicar la técnica de muestreo para superficies vivas e inertes sobre mesas de siembra y campana de flujo laminar para la obtención de las muestras.
- ❖ Emplear la técnica de vaciado en placa para la cuenta total viable con el fin de conocer la eficacia del fenol al 5%, etanol al 70%, hipoclorito de sodio al 2% y cloruro de benzalconio al 2%, tanto para mesófilos aeróbicos como para coliformes totales.
- ❖ Proponer la rotación de desinfectantes en base a los resultados obtenidos.

1.4 HIPOTESIS

El fenol será el desinfectante que mayor efecto microbicida presente.

CAPÍTULO II

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Antecedentes

Desde principios de la historia escrita, las personas han utilizado métodos de desinfección y esterilización, aunque durante mucho tiempo no se sospechó de la existencia de microorganismos. Los egipcios empleaban el fuego para esterilizar material infeccioso, y desinfectantes para embalsamar los cuerpos, los griegos quemaban azufre para desinfectar los edificios. La ley de Moisés obligaba a los hebreos a quemar todas las ropas de los que morían de lepra. En la actualidad, la capacidad de destruir microorganismos no tiene menos importancia, permite realizar técnicas asépticas en investigación microbiológica, conservación de alimentos y prevención de enfermedades (Prescott y col., 1999).

La necesidad de obtener cultivos puros en bacteriología, hizo preciso el desarrollo de métodos fiables, no solo para reducir, sino para eliminar microorganismos viables. Estas técnicas fueron después adaptadas para la prevención de la diseminación de las enfermedades infecciosas (Davis, 1996).

Actualmente las condiciones de salud de una nación están determinadas, en gran parte por la capacidad de sus habitantes para controlar eficazmente las poblaciones microbianas. Los procedimientos son muy específicos cuando se aplica medicación para eliminar microorganismos infecciosos del cuerpo, o generalizados, como las prácticas en el hogar u hospital. La costumbre diaria de purificar el agua, pasteurizar la leche o la conservación y preservación de los alimentos, son métodos para controlar las poblaciones microbianas. No solo se trata de dejar un producto fuera de riesgo desde el punto de vista de salud

pública, sino de hacerlo en bienestar de la comunidad. Los microorganismos son también capaces de destruir materiales valiosos, como madera y fibras textiles, causando pérdidas que necesitan evitarse con medidas eficaces (Pelczar, 1993).

2.2 Importancia del control microbiano

Para Pelczar (1993) las principales razones para controlar la actividad microbiana se pueden enumerar así:

1. - Prevenir la transmisión de la infección y la enfermedad.
2. - Prevenir la contaminación y proliferación de microorganismos perjudiciales.
2. - Prevenir el deterioro o destrucción de materiales por los microorganismos.

La desinfección se hace indispensable, sin embargo muchos de los potenciales desinfectantes resultan peligrosos para la salud (humana o animal), bien por su actividad residual tóxica o cancerígena, lo que plantea en la práctica numerosas restricciones de uso. La desinfección está en constante evolución. Productos nuevos, como las espumas, los nebulizadores, los compuestos sintéticos complejos, por ejemplo, facilitan la intervención y penetración de desinfectantes conocidos desde hace muchos años. Las implicaciones tecnológicas, políticas y medioambientales de la desinfección y los desinfectantes cobran cada vez mayor importancia, lo que tiende a complicar y a la vez a revolucionar las prácticas en las que se utilizan (Rodríguez F., 2005).

2.3 Definición de términos

La terminología tiene especial importancia cuando se aborda el tema del control microbiano, por que hay términos como desinfectante y antiséptico que se emplean constantemente como sinónimos. Esta situación incluso se vuelve

confusa por que un tratamiento particular puede inhibir el crecimiento o destruir los microorganismos, según las condiciones, los términos a definir son:

2.3.1 Esterilización

Es el proceso de destruir todas las formas de vida microbianas. Un objeto esterilizado, en el sentido microbiológico, está libre de microorganismos vivos (Pelczar, 1993). Para Ingraham J.L y col., (1998) es un tratamiento que destruye todas las formas de vida microbiana.

2.3.2 Desinfección

Destrucción de microorganismos, aunque no generalmente de las esporas bacterianas; no mata necesariamente a todos los microorganismos, aunque los reduce a un nivel que no resulta nocivo ni para la salud ni para la calidad de los artículos perecederos. El término es aplicable al tratamiento de objetos y materiales inanimados (Hobs B., 1986).

2.3.3 Desinfectante

Para Freeman (1984), un desinfectante es un agente químico que destruye organismos patógenos.

2.3.4 Antiséptico

Una sustancia que se opone a la infección o previene el crecimiento o acción de los microorganismos, bien sea destruyendo o bien inhibiendo su actividad y crecimiento (Pelczar, 1993).

Sustancia química de aplicación tópica sobre tejidos que destruye o inhibe los microorganismos sin afectar a los tejidos sobre los que se aplica (Anónimo, 2005).

2.3.5 Higienizante

Es un agente que reduce la población microbiana hasta niveles que se juzgan seguros para las exigencias de la salud pública. Usualmente es un agente químico que mata en 99.9 % de las bacterias en crecimiento. Los higienizantes suelen aplicarse a objetos inanimados y generalmente se emplean en el cuidado diario de equipos y utensilios en plantas lecheras y de preparación de alimentos, así como para vasos, platos y utensilios en los restaurantes (Pelczar, 1993).

2.3.6 Germicida (microbicida)

Un agente que mata las células vegetativas pero no necesariamente las formas esporuladas de los gérmenes. En la práctica, germicida es casi sinónimo de desinfectantes, pero un germicida se usa generalmente para toda clase de gérmenes (Pelczar, 1993).

2.3.7 Bactericida.

Agente capaz de matar a las bacterias (Longrée k., 1984).

2.3.8 Agente antimicrobiano

Es un agente que interfiere con el crecimiento y metabolismo de los microbios (Pelczar, 1993).

2.4 Clasificación de desinfectantes

Las sustancias con actividad desinfectante tienen grados variables de actividad sobre los diferentes grupos de microorganismos. Se pueden clasificar, en 4 categorías según su potencia y efectividad de acción contra los microorganismos: de baja actividad entre los que se puede encontrar el cloruro de benzalconio, de actividad intermedia como el etanol e isopropanol, de actividad alta por ejemplo

glutaraldehído, hipoclorito sódico y el peróxido de hidrógeno, y muy alta como el oxido de etileno y glutaraldehído (Galán A., 2003).

2.5 Espectro de actividad de los desinfectantes.

Los desinfectantes de bajo nivel pueden destruir la mayor parte de las formas vegetativas bacterianas, tanto grampositivas como gramnegativas, algunos virus y hongos, pero no *Mycobacterium spp*, ni las esporas bacterianas. Los desinfectantes de nivel intermedio consiguen inactivar todas las formas bacterianas vegetativas, incluyendo *Mycobacterium tuberculosis*, la mayoría de los virus y hongos filamentosos, pero no destruyen necesariamente las esporas bacterianas. En cambio, los desinfectantes de alto nivel consiguen destruir todos los microorganismos, excepto algunas esporas bacterianas y los de nivel muy alto son los que a parte de presentar amplio espectro de destrucción bacteriana también eliminan sus esporas, entre ellos podemos encontrar al glutaraldehído y el oxido de etileno (Anónimo, 2005).

2.6 Muerte microbiana

Una población microbiana no se destruye instantáneamente cuando se expone a un agente letal. La muerte de una población al igual que su crecimiento, es generalmente exponencial o logarítmica, es decir, la población se reduce en niveles iguales a intervalos constantes. Si se presenta el logaritmo del número de microorganismos de la población que sobrevive, frente al tiempo de exposición a un agente determinado, resulta una línea recta. Cuando la población se ha reducido notablemente, la velocidad de destrucción puede disminuir debido a la supervivencia de cepas microbiana más resistentes.

Para estudiar la eficacia de un agente letal hay que saber cuándo los microorganismos están muertos, tarea no tan fácil como cuando se trata de

organismos de mayor tamaño. Una bacteria se considera muerta si no crece cuando se inocula en un medio de cultivo que normalmente facilitaría su crecimiento (Prescott y col., 1999).

2.7 Factores que intervienen en la eficacia de los desinfectantes

La destrucción de los microorganismos y la inhibición de su crecimiento no es algo sencillo ya que la eficacia de un desinfectante depende de al menos 6 factores:

1. Tamaño de la población. Como se destruye una fracción constante de población microbiana en cada intervalo, una población mayor necesitara más tiempo para morir, que una más pequeña.

2. Composición de la población. La eficacia de un agente varia considerablemente con la naturaleza de los organismos que se van a tratar por que estos difieren sustancialmente en cuanto su susceptibilidad. Las esporas bacterianas son más resistentes a la mayoría de los desinfectantes que las formas vegetativas, y las células jóvenes normalmente con mayor facilidad que los organismos maduros. Algunas especies son capaces de soportar mejor que otras las condiciones adversas. *Mycobacterium tuberculosis*, es mucho más resistente a desinfectantes que la mayoría de las bacterias.

Existen diferencias entre las bacterias grampositivas y las gramnegativas, *Escherichia coli* es mucho más resistente a desinfectantes catiónicos, que *Staphylococcus aureus* (Pelczar, 1993).

Existe un espectro aproximado de sensibilidad de los microorganismos a los desinfectantes. Los más sensibles son la bacteria vegetativa, los hongos y los virus que contienen lípidos. Las micobacterias y los virus que no contienen lípidos son menos sensibles y los esporas son por lo general más resistentes (Collins, 1989).

3. Concentración o intensidad del desinfectante. A menudo, pero no siempre, cuanto más concentrado esté un agente químico o más fuerte sea uno físico, más rápidamente se destruyen los microorganismos. Sin embargo, la eficacia de un agente no está normalmente relacionada con la concentración o intensidad. En un rango corto, un aumento pequeño en la concentración ocasiona una elevación exponencial de la eficacia; por encima de cierto punto, puede que los aumentos no aumenten en absoluto la velocidad de destrucción. A veces, un agente es más eficaz en concentraciones bajas. Por ejemplo el etanol al 70% es más eficaz que al 95%.

La desinfección deberá utilizar la concentración óptima, ya que a mayores concentraciones no necesariamente será más efectiva, esto debido a que la relación entre la muerte bacteriana y la concentración del desinfectante no sigue una relación lineal (Galán A., 2003).

4. Duración de la exposición. Cuanto más tiempo se exponga la población a un agente microbicida, más organismos se destruirán. Para conseguir una esterilización hay que realizar una exposición suficiente para reducir la probabilidad de supervivencia a 10^{-6} o menos.

5. Temperatura. Normalmente, un agente químico incrementa su eficacia al aumentar la temperatura. Por ello, con frecuencia se puede reducir la concentración de un desinfectante o esterilizante si se utiliza una temperatura superior.

6. El entorno. La población por controlar no está aislada, sino rodeada de factores ambientales que pueden ofrecer protección o facilitar su destrucción. Por ejemplo, como el calor destruye más fácilmente a un pH ácido, los alimentos y bebidas ácidos, como frutas y tomates, se pasteurizan con más facilidad que los alimentos con pH más altos, como la leche. Otro factor ambiental importante es la presencia de materia orgánica que puede proteger a los microorganismos del

calor y los desinfectantes químicos. Puede ser necesario limpiar un objeto antes de su desinfección o esterilización (Prescott y col., 1999).

2.8 Desinfectante ideal

Para Pelczar (1993), no existe todavía un desinfectante ideal y quizás nunca exista debido a que son demasiados los factores con los que afectan el desempeño de los mismos. En la Tabla 1 se presentan las características que debe de cumplir el desinfectante ideal en caso de que existiera.

Tabla 1. Características con las que debe de cumplir el desinfectante ideal

AMPLIO ESPECTRO	Debe tener un amplio espectro antimicrobiano y efectivo frente a virus, células vegetativas y esporas de bacterias y hongos.
RÁPIDA ACCIÓN	Debe producir una rápida muerte.
NO SER AFECTADO POR FACTORES DEL MEDIO AMBIENTE	Debe ser activo en presencia de materia orgánica (sangre, esputo, heces) y compatible con detergentes, jabones y otros agentes químicos en uso.
NO TÓXICO	No debe ser irritante para el usuario ni para el paciente. Aunque hasta la fecha todavía no se ha logrado, pero con el avance de la ciencia y tecnología se encuentra en curso.
COMPATIBLE CON LAS SUPERFICIES	No debe corroer metales ni deteriorar plásticos, gomas, etc.
SIN OLOR	Debe tener un olor suave o ser inodoro.
ECONÓMICO	El costo se debe evaluar en relación con la dilución, el rendimiento y la seguridad.
FÁCIL DE USAR	La complejidad en la preparación, concentraciones, diluciones y tiempo de exposición del producto pueden crear confusión en el usuario.
EFFECTO RESIDUAL NO TÓXICO SOBRE LAS SUPERFICIES	Muchos desinfectantes tienen acción residual sobre las superficies, pero el contacto de las mismas con humanos puede provocar irritación de piel, mucosas u otros efectos no deseables.

Fuente: <http://www.monografias.com>

2.9 Desinfectantes de estudio

Los desinfectantes más utilizados en trabajos de laboratorio son los fenoles líquidos y los hipocloritos. Los aldehídos tienen una aplicación limitada y el alcohol y las mezclas de alcoholes son menos populares, aunque merecen mayor atención (Collins, 1989).

2 9.1 Alcoholes

Los alcoholes son productos muy utilizados como antisépticos para la limpieza y desinfección de heridas, así como desinfectantes a nivel industrial. Actúan destruyendo la membrana celular y desnaturalizando las proteínas, son en general bactericidas y fungicidas, pero no esporicidas y se caracterizan porque tienen excelente actividad antibacteriana frente a la mayoría de las bacterias Gram positivas.

Los dos alcoholes más utilizados en la desinfección son el alcohol etílico (etanol) y el alcohol isopropílico (propanol). Ambos compuestos se suelen utilizar diluidos en agua hasta concentraciones finales v/v del 70 por ciento el alcohol etílico y al 50 por ciento el isopropílico. Normalmente, los alcoholes se utilizan como desinfectantes en combinaciones con fenoles, compuestos de amonio cuaternario y clorhexidina. El alcohol etílico (C_2H_5OH) se caracteriza por su amplio espectro de acción frente a las bacterias y a la mayoría de virus lipofílicos. Entre sus inconvenientes hay que destacar la gran volatilidad, su capacidad corrosiva e inflamable y la poca actividad que muestra en presencia de materia orgánica. El alcohol isopropílico, $[(CH_3)_2CHOH]$ tiene la ventaja de ser menos corrosivo y volátil que el alcohol etílico y más fácil de conseguir en el mercado (Luque y col, 1995).

El efecto desinfectante de los alcoholes alifáticos aumenta según va creciendo la longitud de la cadena hasta llegar a los de 8-10 átomos de carbono, momento a partir del cual su solubilidad acuosa es excesivamente baja. El efecto

desinfectante de los alcoholes, al igual que su acción desnaturalizante sobre las proteínas, requiere de la participación del agua. La máxima potencia del etanol se consigue en soluciones acuosas de entre el 50-70% al 100% es un mal desinfectante (Davis, 1996).

Sus ventajas son:

1. Se puede usar como desinfectante doméstico para retirar manchas de muebles, lámparas y cables eléctricos, sin dejar residuo.
2. Desinfectar instrumentos delicados. Para evitar la corrosión del metal, se les puede agregar solución de nitrito de sodio al 0,2%.
3. Es bactericida y fungicida a un mínimo contacto de 10 minutos.
4. Mata el bacilo de la tuberculosis y a los virus en un mínimo de 15 minutos de acción.

Desventajas:

1. Es volátil; ejerce su acción sólo mientras esté en solución. El alcohol al evaporarse pierde su acción destructiva a una concentración inferior al 50%.
2. Es inactivo en presencia de materia orgánica. No penetra los aceites cutáneos adheridos a los instrumentos.
3. Deja manchas blancas en loseta asfáltica.
4. Al contacto prolongado con materiales plásticos (como tubos, sondas, etc.) incluido el polietileno, los endurece e hincha.

2.9.2 Compuestos clorados

El cloro y compuestos que liberan cloro, es decir polvos blanqueantes fueron usados ya como desinfectantes en medicina a principios del siglo XIX. Los éxitos de Semmelweis, entorno al año 1847, al combatir la fiebre infantil o juvenil desinfectando las manos y utillaje con cloro fueron asombrosamente espectaculares. Este conocimiento condujo al uso del cloro para desinfectar el

equipo usado en la producción y almacenamiento de alimentos, así como también el agua de bebida y el agua de procesado tecnológico. Actualmente el cloro se usa en la desinfección de superficies y es muy apreciado por sus características (Lück y col. 2000).

En un estudio realizado por Torres y col (2004); en el que se sometió muestras inoculadas de perejil fresco con *Shigella sonnei* a un tratamiento de desinfección con cloro a 200 y 400 ppm y ácido acético grado reactivo al 2 y 5 % analizados a los 10, 20 y 30 minutos de exposición, se encontró que el ácido acético grado reactivo al 5% es mejor desinfectante que el cloro a 200 y 400 ppm e incluso que ácido acético al 2%.

La actividad antimicrobiana del cloro se basa en su alta capacidad oxidante y la rapidez con la que se une a las proteínas. El cloro también ataca los dobles enlaces de las biomoléculas. Estas reacciones tienen un efecto letal para los microorganismos (Trueman 1971). Además el cloro destruye la membrana celular y reacciona con el DNA (Dychdala, 1977).

La acción de cloro se ve gravemente afectada, por la presencia de materia orgánica por que ésta reacciona con aquél, reduciendo la cantidad de sustancia activa. En condiciones prácticas, hay que tener en cuenta esta pérdida de cloro. Por consiguiente, en medios altamente contaminados, como las aguas residuales, el factor de cloro usado en los cálculos debe de ser correspondiente al componente activo; o sea, el cloro libre disponible (Lück y col. 2000).

El calor intensifica considerablemente la acción antimicrobiana del cloro. Los esporos de bacilos a 50 °C, por ejemplo, mueren 10 veces más rápido que a 20 °C con la misma concentración de cloro. El cloro actúa mejor a pH neutro o ligeramente ácido. A pH 6, por ejemplo, su acción es entre 2 y 60 veces más rápida que a pH 10, dependiendo del tipo de microorganismo (Trueman, 1971).

El cloro tiene un espectro antimicrobiano muy amplio. Actúa tanto frente a las bacterias, incluidas las esporas, levaduras y mohos, como frente a las algas, protozoos y muchos virus. Se aplican en vasijas de desechos y desinfección de superficies, aunque hay que tener cuidado por que corroe los metales (Collins, 1989).

Las concentraciones al 1% de cloro activo se utilizan cuando hay sangre o productos orgánicos en la superficie que se quiere desinfectar. Diluciones al 1:50, con una concentración de 1.000 ppm de cloro, son necesarias para destruir las micobacterias.

Las diluciones se deben realizar con agua del grifo a temperatura ambiente y en recipientes cerrados de plástico opaco. Se recomienda utilizar soluciones preparadas al día (Anónimo, 2005).

2.9.3 Cloruro de benzalconio

Es un compuesto cuaternario de amonio, cuya fórmula condensada es n-alkil metil benzil cloruro de amonio. El cloruro de benzalconio ha sido un desinfectante común empleado en odontología por años. El sumergimiento de los artículos en solución al 2% durante 10 a 15 minutos destruye algunas bacterias y hongos pero no los virus, las esporas ni los bacilos de la tuberculosis. La desventaja del cloruro de benzalconio es que se contamina con rapidez con el empleo intenso y debe cambiarse a menudo, este agente pierde su eficacia por acción del jabón y de los materiales de algodón. Los instrumentos que se lavan con jabón deben lavarse concienzudamente antes de colocarse en esta solución, no se recomienda friccionar el equipo con una tela o una gasa saturada de cloruro de benzalconio por su carácter irritante para la piel, se recomienda el uso de pinzas para rescatar los instrumentos de la solución. El cloruro de benzalconio tiene un pésimo historial como desinfectante ya que diversas bacterias Gram- negativas pueden desarrollarse en cloruro de benzalconio lo que se ha asociado a infecciones nosocomiales, algunas fatales con instrumental inmerso en cloruro de benzalconio. En 1978 la Asociación Dental Americana (ADA) eliminó a los

compuestos cuaternarios de amonio, incluso al cloruro de benzalconio de su programa de aceptación. Sin embargo, el cloruro de benzalconio es ampliamente empleado en América Latina para la desinfección de material médico, quirúrgico y odontológico (Aguñaga A. y col., 2005).

La acción bactericida del cloruro de benzalconio es atribuida a la inactivación de enzimas, desnaturalización de proteínas esenciales y rotura de la membrana celular (Anónimo, 2005).

2.9.4 Fenol

Es una sustancia cristalizada, incolora, con olor característico. Se funde aproximadamente a 40 °C. Las soluciones acuosas se oscurecen gradualmente por exposición al aire y la luz, y es el principal constituyente del ácido carbónico, es poco afectado por la materia orgánica y por consiguiente útil para desinfectar heces y secreciones, igual que otros desinfectantes derivados del alquitrán no son particularmente efectivos contra las esporas. Actúan precipitando las proteínas, tiene alto poder de preparación y se debe tener cuidado cuando se use en desinfección de utensilios destinados al manejo de alimentos por su alta toxicidad. Para objetos se utiliza al 3% y para locales al 5%. Son más efectivos al aumentar la temperatura y también sin más activos en soluciones salinas que simplemente en agua. La actividad se puede aumentar considerablemente con la adición de una mezcla de cloruro férrico y ferroso para fenol, cresol y hexilsorcinol, esta actividad puede ser aumentada hasta en 45 veces (<http://www.oirsa.org/Publicaciones>).

2.10 Microorganismos indicadores de contaminación

2.10.1 Mesófilos aerobios

Al grupo de organismos mesofílicos aerobios pertenece una gran variedad de microorganismos capaces de desarrollarse entre los 20 y 37° C, que son los extremos de las temperaturas a las cuales suele realizarse este recuento, en

condiciones de aerobiosis. Dentro de la flora mesófila aerobia tenemos bacilos, cocos, grampositivos y gramnegativos, aislados o agrupados en todas las variedades. Desde el punto de vista fisiológico y de su patogenicidad encontramos: cromógenos, proteolíticos, lipolíticos, sacarolíticos, saprofitos, patógenos, etc. (Amador, 1993).

La utilidad de las bacterias mesofilicas aerobias en la microbiología sanitaria se ha recomendado para los siguientes objetivos:

- Como indicador de la posible presencia de microorganismos patógenos.
- Como indicador del valor comercial de un alimento.
- Como indicador de las condiciones higiénicas en que ha sido manejado el producto.
- Como indicador de la idoneidad de un ingrediente cuando se va a incorporar a un alimento.
- Para seguir la eficiencia de un proceso germicida o de preservación.
- Para predecir la vida de anaquel de un alimento.

(Amador, 1993).

2.10.2 Organismos coliformes

Los organismos coliformes constituyen un grupo heterogéneo con hábitat primordialmente intestinal para la mayoría de las especies que involucra. La definición del grupo coliforme los describe como bacilos gramnegativos no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos que fermentan la lactosa con producción de gas, dentro de las 48 horas de incubación de 33 a 37° C (Amador, 1993).

El uso de coliformes como indicador sanitario significativo, debe restringirse al agua y hielo potable, a los alimentos sometidos a procesos térmicos y a la evaluación de la eficiencia de las prácticas sanitarias e higienización del equipo. La situación de los organismos coliformes, considerando su definición, es mas que suficiente para evaluar la calidad sanitaria de algunos productos por las

característica del grupo en donde encontramos microorganismos que no sean estrictamente de asiento intestinal, por lo que se llega a tener la necesidad de diferenciar a los organismos coliformes (Amador, 1993).

El método permite determinar el número de microorganismos coliformes presentes en una muestra, utilizando un medio selectivo (agar rojo violeta bilis) en el que se desarrollan bacterias a 35°C en aproximadamente 24 hrs., dando como resultado la producción de gas y ácidos orgánicos, los cuales viran el indicador de pH y precipitan las sales biliares (www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/113ssa14.html).

2.11 Resistencia o adaptación microbiana

Desde el punto de vista científico, el concepto de resistencia no debería ser usado en referencia al uso de desinfectantes. La resistencia microbiana se encuentra mediada por la existencia de material genético que codifica unos mecanismos de defensa contra acciones antimicrobianas. Esto quiere decir que ante la presencia de una sustancia antimicrobiana se activan regiones del genoma bacteriano, o de plásmidos que se encuentren en el citoplasma celular, que inducen mecanismos bioquímicos accesorios o que producen proteínas que actúan específicamente en contra de las sustancias letales (www.consumaseguridad.com).

Esta característica es evidente en el caso de los antibióticos, donde el principal problema es que esta característica de resistencia se trasmite al resto de los clones microbianos, y además, se intercambia con otros microorganismos, lo que hace que la sustancia cada vez sea menos eficaz (www.consumaseguridad.com).

Por este motivo, es mucho más correcto el término adaptación que no el de resistencia, si bien es cierto que algunos microorganismos pueden llegar a manifestar mecanismos de este tipo a baja concentración en presencia de algún desinfectante. Pero por norma general, más que de forma específica, se trata de

sistemas de defensa antioxidativo, de protección de membrana o de control de la acidificación intracelular. Sin embargo, cuando se somete al microorganismo a las concentraciones habituales de trabajo se evidencia que se consigue una eliminación de varias unidades logarítmicas de recuento (www.consumaseguridad.com).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización y sitio de muestreo

Los análisis se llevaron a cabo en el laboratorio de investigación en microbiología del Instituto Tecnológico de Sonora ubicado en la unidad Obregón centro. Las muestras fueron recolectadas de las mesas de siembra 1 y 2 así como de la campana de flujo laminar de este laboratorio (Figura 1).

3.2 Selección del sitio de muestreo

La selección del sitio de muestreo de cada mesa se realizó mediante la observación previa a personal que labora en el laboratorio. En estas observaciones se pudo confirmar que existen lugares de cada mesa en los que el personal suele realizar análisis con mayor frecuencia, por lo que se puede decir que existe mayor probabilidad de contaminación, por lo tanto se decidió muestrear estos lugares los cuales se pueden observar en la Figura 1.

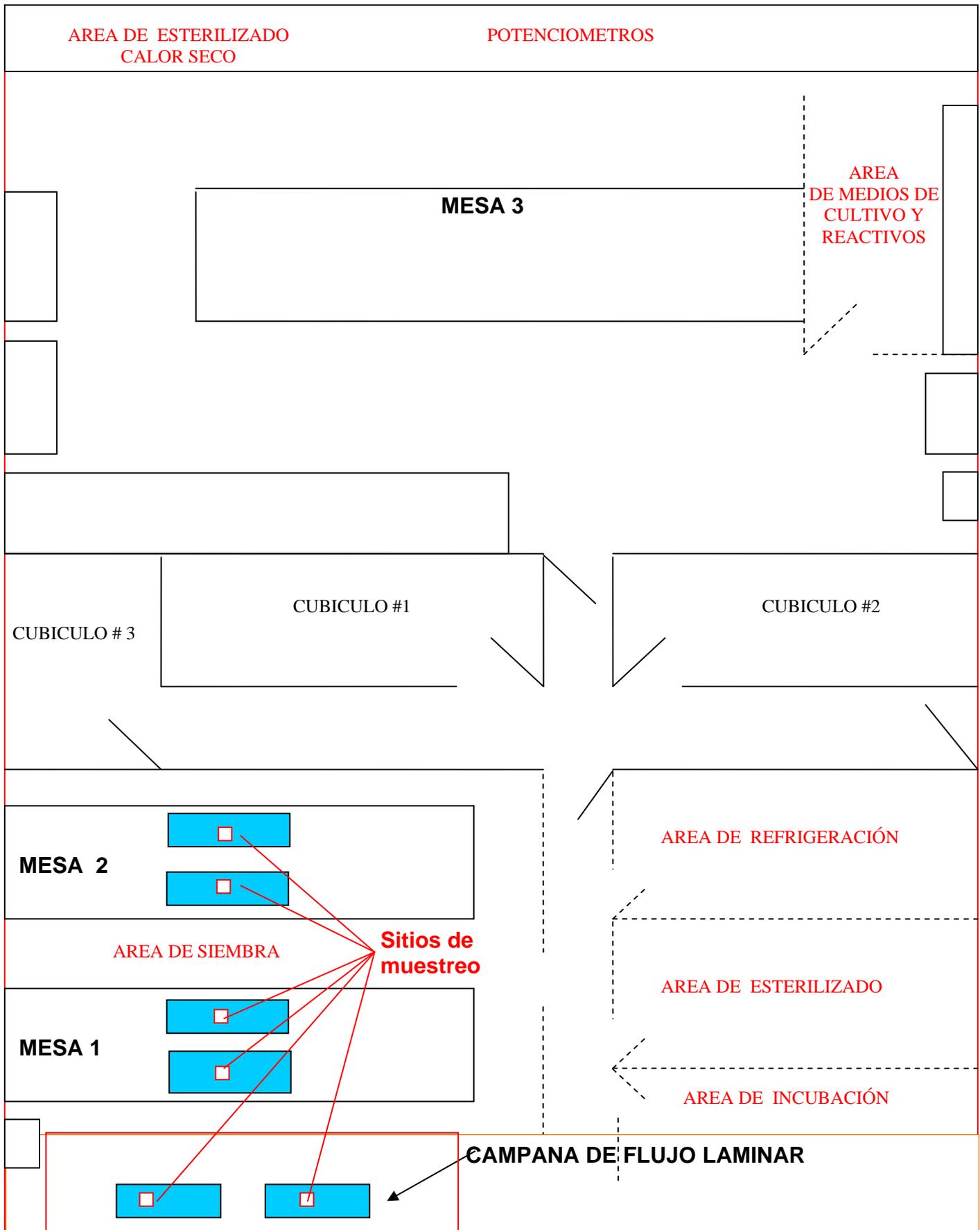


Figura 1. Croquis del laboratorio de microbiología

3.3 Evaluación de los desinfectantes

3.3.1 Preparación de los desinfectantes

Para evaluar cada desinfectante se procedió primeramente a su preparación la cual se realizó de la siguiente manera:

Fenol al 5%. Se pesaron 5 g del producto y se diluyeron en 100 mililitros de agua de tal manera que se obtuvo una concentración del 5%.

Etanol al 70%. Se tomaron 70 ml de una preparación comercial y se aforaron a 100 ml de agua obteniéndose una concentración del 70%.

Cloro 2%. Se tomaron 2 ml de una preparación comercial los cuales se aforaron a 100 ml de agua de la llave.

Cloruro de benzalconio 2%. Se tomaron 20 ml de una marca comercial y se aforaron a 100 ml de agua.

3.3.2 Aplicación de los desinfectantes

Una vez preparado el desinfectante se procedió a su aplicación la cual se realizó con una piceta, humedeciendo la totalidad de la superficie a desinfectar.

3.3.3 Muestreo

Se realizaron 2 muestreos semanales hasta completar un total de cuatro con cada desinfectante. Se muestreo antes de la desinfección de cada mesa y la campana de flujo laminar, esto con la finalidad de conocer la carga microbiana existente, para después tomar este recuento como base en el cálculo del % de reducción, posteriormente se realizó la desinfección y se monitoreo a los 5,10 y 15 minutos.

3.4 Recolección de la muestra

Para recolectar la muestra se usaron pinzas, plantillas de aluminio, torundas de algodón así como también matraces Erlen Meyer de 125 ml que contenían 50 ml de solución buffer de fosfatos, con lo cual se aplicó la técnica de muestreo para superficies vivas e inertes que se describe a continuación:

- Se tomó una torunda estéril, se humedeció con solución buffer de fosfatos y se exprimio oprimiéndola contra las paredes de matraz.
- En la toma de muestra de la mesa, se realizó un muestreo de una superficie de 100 cm² colocando una placa de aluminio estéril.
- Se colocó la placa de aluminio sobre la superficie y se limpió el área de 100 cm² con la torunda.
- Se sumergió la torunda dentro de la solución buffer.
- Se tapo y agitó.

3.5 Análisis microbiológicos

A las muestras obtenidas se les realizaron los siguientes análisis microbiológicos:

- Recuento de microorganismos mesófilos aeróbicos por la técnica de vaciado en placa.
- Recuento de microorganismos coliformes totales por la técnica de vaciado en placa.

3.5.1 Recuento de organismos mesófilos aeróbicos y coliformes totales por la técnica de vaciado en placa

La cuenta total viable se realizó por el método de vaciado en placa el cual consta de los siguientes pasos (Figura 2):

Una vez que se tenían las torundas dentro de los matraces con la solución buffer se agitaron con 25 movimientos de arriba hacia abajo con un arco de 30 cm en un tiempo no mayor de 7 segundos todo esto para homogeneizar la muestra, una vez realizado esto se procedió a:

1. La preparación de la dilución 10^{-1} se realizó tomando con una pipeta estéril 10 mililitro de la muestra y pasándola a una botella de dilución con 90 mililitros de solución buffer.
2. De la muestra original y de la dilución 10^{-1} se tomó 2 mililitros, y se pasaron a cajas petri previamente esterilizadas a las cuales se les agregó de 15- 20 ml., de agar estándar métodos para el conteo de mesófilos aeróbicos y agar bilis rojo violeta para coliformes totales.
3. Se homogeneizó la placa con el agar y la muestra con movimientos circulares de 6 a la derecha y 6 a la izquierda, seguidos de movimiento de arriba hacia abajo.
4. Se dejó solidificar el medio.
5. Se incubó las cajas colocándolas invertidas de 35 –37 °C durante 24 –48 horas.
6. El reporte de resultados de bacterias mesófilas aerobias se reportaron como Unidades Formadoras de Colonia por 100 cm² (UFC/100 cm²).
7. Para el caso de bacterias coliformes los resultados se reportaron de la misma forma y se tomaron en cuenta solamente aquellas colonias que

presenten una coloración de roja a rosada en un tiempo de incubación de 18-24 hrs.

3.6 Cálculo del porcentaje de reducción

El cálculo del porcentaje de reducción microbiana se realizó mediante la siguiente fórmula propuesta por Geldrich, (1996), el cual propone que un desinfectante es eficaz cuando elimina 6 log de la población microbiana:

$$\% \text{ de reducción} = \frac{[]_f * 100}{[]_i} - 100$$

Donde:

[]_i= Conteo microbiano antes de la desinfección.

[]_f= Conteo microbiano después del tiempo de desinfección.

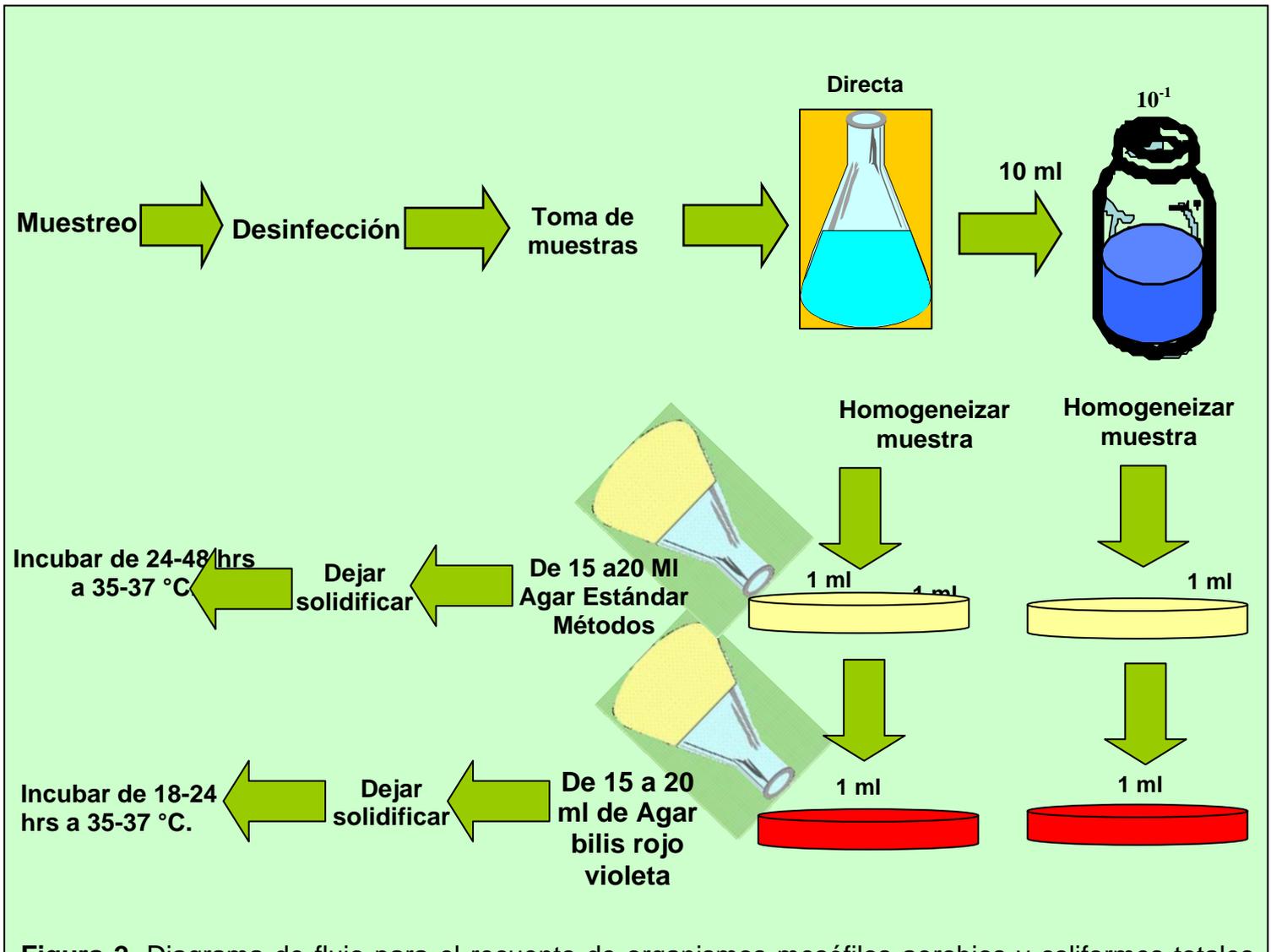


Figura 2. Diagrama de flujo para el recuento de organismos mesófilos aerobios y coliformes totales por la técnica de vaciado en placa.

1.1 JUSTIFICACIÓN

Actualmente el laboratorio de investigación en microbiología del ITSON se encuentra en proceso de acreditación bajo la NMX-1705-IMNC, esta norma establece que se debe de contar con un documento que avale la eficacia de los desinfectantes que ahí se usan. Por lo anterior se realizaron muestreos de superficies en campana de flujo laminar y mesas de siembra tratadas con diferentes desinfectantes con el fin de evaluar su eficacia.

A lo largo de la vida del laboratorio de microbiología se han realizado en el numerosas investigaciones, pero no se había realizado hasta el momento un evaluación de la eficacia de los desinfectantes que ahí son usados, por lo que la presente investigación sirvió para generar datos sobre las condiciones microbiológicas en las que se encuentran las mesas antes y después de su desinfección.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda la rotación periódica de cloro al 2%, etanol al 70% y cloruro de benzalconio al 2%. Esto debido a que el comportamiento de estos 3 desinfectantes ofrece una mayor protección en contra de los microorganismos que el fenol, además de que son productos más fáciles de adquirir.
- Cuando se utiliza cloro al 2% se puede iniciar a trabajar a 10 minutos de haberlo aplicado, en caso de etanol al 70% y cloruro de benzalconio al 2% se recomienda dejar que transcurran 15 minutos después de su aplicación.
- Es importante que se monitoree de manera periódica la afectividad de los desinfectantes usados en el laboratorio, para tener una panorámica más clara de las condiciones microbiológicas en las que se encuentran las mesas y con ello contribuir al aseguramiento de las debidas condiciones de sanidad del laboratorio.
- Se recomienda que para futuras investigaciones, controlar factores como son la entrada y salida de personal al área de siembra al momento de realizar los muestreos, esto por que pueden ser un factor muy importante de contaminación.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se muestran los resultados obtenidos para los análisis realizados con la aplicación de los diferentes desinfectantes.

4.1 Resultados para la cuenta de organismos mesófilos aerobios con la aplicación de los diferentes desinfectantes

4.1.1 Resultados para la cuenta de organismos mesófilos aerobios con la aplicación de fenol al 5%.

Los resultados para cuenta total de organismos mesófilos aerobios con la aplicación de fenol al 5% se pueden observar en la Tabla 2. En esta tabla se puede notar que antes de la desinfección el crecimiento microbiano para la campana de flujo laminar se presentó en un rango de 8 a 150 UFC/100 cm². Los porcentajes de reducción obtenidos para el primer muestreo a los 5 y 10 minutos de aplicación fueron de 100% y 40%, para el segundo muestreo fueron de 20%, 73% y para los 15 minutos del 7%. En el caso del tercer muestreo de 37%, 100% y 62%, mientras que para el cuarto muestreo de 0%, 100% y 50% respectivamente.

Cabe mencionar que en los muestreos uno, dos y tres, a los 5 y 10 minutos después de aplicada la desinfección se presentó una disminución de la carga microbiana, seguida de un aumento del número de microorganismos a los 15 minutos, inclusive en el muestreo uno se obtuvo un recuento mayor en este tiempo que en el conteo previo a la desinfección.

En el caso de la mesa 1, antes de la desinfección el rango de crecimiento se presentó de 5 a 91 UFC/100 cm². Los porcentajes de reducción obtenidos para el

muestreo uno a 5,10 y 15 minutos de aplicación fueron del 100%, para el muestreo dos de 32.96%, 100% y 100%, en el muestreo tres de 60%, 100% y 100%, y para el muestreo cuatro de 55%, 75% y 90% respectivamente.

Con respecto a la mesa 2, el rango de crecimiento previo a la desinfección se ubicó entre 28 y 210 UFC/100 cm², obteniéndose para el muestreo uno porcentajes de reducción a 5, 10 y 15 minutos de 100%, 100% y 16.66%, para el muestreo 2 de 76.19%, 4.76% y 38.09%, en el muestreo 3 de 37.5%, 100% y 62.5%, mientras que con el muestreo 4 los porcentajes obtenidos fueron de 87.5%, 87.5% y 98.75% con respecto al tiempo.

Se puede observar en la Tabla 2, que el comportamiento de la eficacia del fenol con respecto al tiempo se presentó de manera diferente entre las 3 mesas. Esto pudo ser provocado por la falta del control de variables, como lo son, la entrada y salida de personal al área de siembra que puede provocar una recontaminación del área ya desinfectada y por otro lado el desconocimiento de la naturaleza de los microorganismos que se encuentran sobre la superficie de la mesa, la cual interviene en la eficacia del desinfectante dado que algunos de ellos son más resistentes que otros al efecto de los desinfectantes. Lo anterior pudiera ser provocado por la poca actividad residual que probablemente el fenol tiene.

Tabla 2. Resultado de la cuenta total de organismos mesófilos aerobios y coliformes totales en UFC/100 cm² con la aplicación de fenol al 5%.

No. De muestreo	Fecha de muestreo	Tiempo de muestreo en minutos	Sitios de muestreo					
			Campana de flujo laminar		Mesa 1		Mesa 2	
			O.M.A	C.T	O.M.A	C.T	O.M.A	C.T
1	2005-05-18	0*	50	0	30	0	30	0
		5	0	0	0	0	0	0
		10	30	0	0	0	0	0
		15	60	0	0	0	25	0
2	2005-05-23	0*	150	0	91	0	210	0
		5	120	0	61	0	50	0
		10	40	0	0	0	200	0
		15	140	0	0	0	130	0
3	2005-05-25	0*	8	0	5	0	28	0
		5	5	0	2	0	7	0
		10	0	0	0	0	6	0
		15	3	0	0	0	0	0
4	2005-05-30	0*	10	0	20	0	160	0
		5	10	0	9	0	20	0
		10	0	0	5	0	20	0
		15	5	0	2	0	2	0

O.M.A: Organismos Mesófilos Aerobios. C.T: Coliformes Totales. *: Antes de desinfectar.

4.1.2 Resultados obtenidos para la cuenta de mesófilo aerobios con la aplicación de alcohol al 70%

Los resultados para la cuenta de organismos mesófilos aerobios con la aplicación de este desinfectante se muestran en la Tabla número 3. En ella se puede apreciar que en las 2 mesas y la campana de flujo laminar la eficacia del desinfectante aumenta a medida que transcurre el tiempo, este comportamiento se presenta en los 4 muestreos. En el caso de la campana de flujo laminar los porcentajes de reducción para los muestreos 1,2, 3 y 4 a los 15 minutos de la desinfección fueron de 85%, 91%, 100% y 100%. Para la mesa uno a los 15 minutos de la desinfección se logro el 100% de reducción microbiológica en los 4 muestreos, mientras que para la mesa 2 los porcentajes de reducción obtenidos a este tiempo de la desinfección fueron de 100%, 100%, 81.81% y 100% respectivamente. Estos resultados concuerdan con los reportados por Luque y col., (2005), en el que se estudió la sensibilidad *in vitro* de cepas de *Streptococcus*

suís frente a diferentes desinfectantes y antisépticos. En dicho estudio se llegó a la conclusión de que la eficacia del alcohol etílico aumenta considerablemente pasados quince minutos de exposición del microorganismo al desinfectante, esto debido a una posible actividad residual que mantiene el alcohol al evaporarse.

Tabla 3. Resultados de la cuenta total de organismos mesófilos aerobios y coliformes totales en UFC/100 cm² con la aplicación de alcohol al 70%.

No. de muestreo	Fecha de muestreo	Tiempo de muestreo en minutos	Sitios de muestreo					
			Campana de flujo laminar		Mesa 1		Mesa 2	
			O.M.A	C.T	O.M.A	CT	O.M.A	CT
1	2005-06-01	0*	20	0	72	0	86	0
		5	9	0	2	0	53	0
		10	5	0	1	0	7	0
		15	3	0	0	0	0	0
2	2005-06-06	0*	23	0	78	0	84	0
		5	8	0	5	0	63	0
		10	5	0	1	0	3	0
		15	2	0	0	0	0	0
3	2005-06-08	0*	39	0	15	0	44	0
		5	10	0	7	0	24	0
		10	7	0	5	0	20	0
		15	0	0	0	0	8	0
4	2005-06-13	0*	30	0	13	0	19	0
		5	27	0	9	0	3	0
		10	2	0	0	0	0	0
		15	0	0	0	0	0	0

O.M.A: Organismos masófilos aerobios C.T.: Coliformes Totales *: Antes de desinfectar

4.1.3 Resultados obtenidos con la aplicación de cloro al 2%

Los recuentos obtenidos con la aplicación de cloro al 2% se muestran en la Tabla 4. Para este desinfectante se encontró que en las dos mesas y la campana de flujo laminar durante los cuatro muestreos a los 10 minutos de su aplicación se obtuvo una reducción total de la carga microbiana, incluso en el caso del muestreo 3 de la mesa 2 en el que la carga inicial fue notablemente más alta en comparación con las otras mesas. Dicha efectividad coincide con la que se reporta en un estudio realizado por Luque, I. Y col., (2005), en el que se estudio

la sensibilidad *in vitro* de cepas de *Streptococcus suis* frente a diferentes desinfectantes y antisépticos. En este estudio se usaron soluciones de hipoclorito sódico al 1% y 4%, en el se encontró que las cepas de este microorganismos fueron afectadas por el compuesto tanto al tiempo de contacto como a los 15 minutos después de haber aplicado la solución. De igual forma en un estudio realizado por Galán A.,(2003) en el que se evaluó la eficacia fungicida de 20 productos comerciales de uso domestico, se en encontró que el producto con más amplio espectro fungicida fue el hipoclorito de sodio.

Es importante mencionar que este compuesto esta clasificado como un desinfectante de alto nivel, lo que significa que tiene la capacidad para matar bacterias, hongos, esporas, algas, levaduras y algunos virus. Tomando en cuenta esto, además de que hace mucho tiempo no se utilizaba en este laboratorio, se puede explicar los buenos resultados obtenidos.

Tabla 4. Resultado de la cuenta total de organismos mesófilos aerobios y coliformes totales en UFC/100 cm² con la aplicación de cloro 2%.

No. de muestreo	Fecha de muestreo	Tiempo de muestreo en minutos	Sitios de muestreo					
			Campana de flujo laminar		Mesa 1		Mesa 2	
			O.M.A	C.T	O.M.A	C.T	O.M.A	C.T
1	2005-06-17	0*	6	0	22	0	2	0
		5	0	0	1	0	0	0
		10	0	0	0	0	0	0
		15	0	0	0	0	0	0
2	2005-06-20	0*	8	0	122	0	140	0
		5	1	0	0	0	0	0
		10	0	0	0	0	0	0
		15	0	0	0	0	0	0
3	2005-06-22	0*	11	0	420	0	22	0
		5	2	0	0	0	2	0
		10	0	0	0	0	0	0
		15	0	0	0	0	0	0
4	2005-06-27	0*	10	0	22	0	36	0
		5	0	0	2	0	18	0
		10	0	0	0	0	0	0
		15	0	0	0	0	0	0

. O.M.A Organismos masófilos aerobios C.T.: Coliformes Totales *: Antes de desinfectar

4.1.4 Resultados obtenidos con la aplicación del cloruro de benzalconio 2%

Los resultados del recuento de organismos mesófilos aerobios con la aplicación de cloruro de benzalconio al 2% se muestran en la Tabla 5. Ahí se observa que para la campana de flujo laminar el crecimiento microbiano antes de la desinfección se presentó en un rango de 2 a 29 UFC/100 cm². Los porcentajes de reducción obtenidos en el muestreo uno a los tiempos de 5, 10 y 15 minutos de aplicado el desinfectante fueron del 100%. Para el muestreo dos de 81.48%, 85.18% y 85.18%, en el muestreo tres de 58.33%, 75% y 100% mientras que para el muestreo 4 fueron de 27.77%, 72.22% y 72.22% respectivamente.

En el caso de la mesa uno los porcentajes de reducción encontrados para el primer muestreo a 5, 10 y 15 minutos de la desinfección fueron de 79.76%, 96.53% y 99.42%, para el muestreo dos de 90%, 100% Y 100%, en cuanto al muestreo tres se obtuvieron porcentajes del 15%, 80% y 83.33%, mientras que para el cuarto muestreo fueron de 32%, 83.87 y 100%.

Se puede notar que para todos los muestreos y sitios de muestreo con la aplicación de este compuesto se obtienen mayores porcentajes de reducción a los 15 minutos pasada la desinfección.

Tabla 5. Resultado de la cuenta total de organismos mesófilos aerobios y coliformes totales en UFC/100 cm² con la aplicación de cloruro de benzalconio al 2%.

No. de muestreo	Fecha de muestreo	Tiempo de muestreo en minutos	Sitios de muestreo					
			Campana de flujo laminar		Mesa 1		Mesa 3	
			O.M.A	C.T	O.M.A	C.T	O.M.A	C.T
1	2005-06-29	0*	2	0	173	0	23	0
		5	0	0	35	0	2	0
		10	0	0	6	0	2	0
		15	0	0	1	0	1	0
2	2005-07-04	0*	27	0	30	6	19	0
		5	5	0	3	3	5	0
		10	4	0	0	0	2	0
		15	4	0	0	0	1	0
3	2005-07-06	0*	27	0	60	0	12	0
		5	5	0	51	0	3	0
		10	4	0	12	0	5	0
		15	4	0	10	0	0	0
4	2005-07-13	0*	18	0	62	0	60	0
		5	13	0	42	0	10	0
		10	5	0	10	0	0	0
		15	5	0	0	0	0	0

O.M.A: Organismos masófilos aerobios C.T.: Coliformes Totales *: Antes de desinfectar

4.2 Recuento de coliformes totales

En cuanto al conteo de coliformes totales, de 16 muestreos realizados solo se detecto su presencia en el muestreo número 2 correspondiente al cloruro de benzalconio, lográndose eliminar la totalidad de estos microbios a 10 de aplicación. La presencia de estos microorganismos se debe probablemente a una mala o nula desinfección llevada a cabo por alumnos que realizaban análisis a aguas residuales.

Estos resultados difieren dela información publicada por Aguinaga y col.,(2005), en el que se afirma que este compuesto es ineficaz en contra de microorganismos gramnegativos.

CAPITULOS V

CONCLUSIONES

- El cloro al 2% fue el desinfectante que mejores resultados arrojó ya que en el 100% de las muestras eliminó la totalidad de microorganismos a 10 minutos de su aplicación.
- En el caso del alcohol al 70 % y el cloruro de benzalconio al 2% se obtuvieron mejores resultados pasados 15 minutos del tratamiento debido a que se eliminó la totalidad de los microbios en el 75% y 41.6% de las muestras respectivamente.
- Para fenol al 5% los resultados más satisfactorios se obtuvieron a 10 minutos de su aplicación ya que en el 41.6% de las muestras logró eliminar el 100% de microbios.

BIBLIOGRAFÍA

AMADOR, López Raúl (1993). Manual de laboratorio de microbiología sanitaria. Instituto Politécnico Nacional, México D.F.

Aguñaga A. M., Cerano V. M., Lascano C. N., Mendoza P. S. (2005) "Comparación del efecto esporicida de dos de las sustancias químicas mas vendidas en el mercado odontológico (benasep y gafidex) sobre instrumental odontológico" Memorias del XV Coloquio de Investigación Estudiantil del Módulo de Laboratorio II de la Carrera de Cirujano Dentista de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

Anónimo (2005) "limpieza, desinfección y esterilización. Antisépticos y desinfectantes".(http://uabgtip.uab.es/Apuntsmicro/Limpieza_desinfeccion_y_esterilizacion.pdf) 2005-03-26.

COLLINS C.H. M.P Lyne. (1989) "Métodos microbiológicos". Editorial Acribia. Zaragoza España. Páginas 46-50.

COTTRAL G.E. 1986. "Manual de métodos estandarizados en microbiología veterinaria" Editorial la prensa médica mexicana S.A. México D.F. Páginas 74-76.

DAVIS B. D., (1996). tratado de microbiología. 4^{ta} edición. Editorial Masson. Barcelona España. Páginas 58-59.

DYCHDALA G.R., (1977) "Chlorine and chlorine compounds. In: Block SS: disinfection, sterilisation and preservation". Lead and fabiger, Philadelphia, p. 319-324.

HOBBS B.C., Gilbert R.J., (1986) "Higiene y toxicología de los alimentos" 2^{ed}. Editorioal ACRIBIA, S.A. Zaragoza España.

FREEMAN B. A., (1984) "Tratado de microbiología de burrows". Editorial interamericana. México D.F. Páginas 74-76.

GALÁN A. L., (2003) "desarrollo de métodos rápidos para verificar la eficacia funguicida de sustancias desinfectantes." Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona.

INGRAHAM J,L., Ingraham C.A., Prentiss H.,(1998) "Introducción a la microbiología." Editorial REVERTÉ, S.A. Barcelona, España.

LÜCK E., Jager M., (2000) "Conservación química de los alimentos, características, usos y efectos". Editorial Acribia. Zaragoza España.

LUQUE I., López C., Tarradas C., Borge A., Arenas A., Maldonado R., Astorga R., Huerta B., Perea A." Sensibilidad en vitro de cepas de streptococcus suis frente a diferentes desinfectantes y antisépticos". www.expol.com. 2005-04-05.

LONGRÉE K., Blaker G.G.,(1984). "Técnicas sanitarias en el manejo de los alimentos" Editorial PAX-MÉXICO, LIBRERÍA CARLOS CESARMAN, S.A. México D.F.

MCDONELL, G., Rusell, AD., 1999. Antiseptics and desinfectants: activity, action, and resistance. Clinical microbiology reviews 12, 147-179.

PELCZAR M.J. 1982 "Microbiología 2^{da} edición". Editorial Mc-Graw-Hill. México D.F. Páginas 363-381.

RODRÍGUEZ E. F. 2005 “la desinfección como práctica útil en la lucha contra la infecciones animales” (ver: [Ladesinfeccióncomoprácticaútilenla luchacontralasinfeccionesanimales.htm](#)).

RUTALA W., 1996. “Selection and use of disinfectants in the health care. In Mayhall. Hospital Epidemiology and Infection control” Maryland: G. Baltimore.

TORRES Ma. R., Navarro H. V., Cruz V. Ma. (2004) “Eficiencia de 2 detergentes antimicrobianos para la reducción de *Shigela sonnei* en perejil fresco”. RESPYN. Edición especial No. 7.

TRUEMAN J.R. (1971) “Then halogens In hugo, Inhibition of the microbial cell”. Academic press, London.

- ✓ www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/113ssa14.html
- ✓ www.consumaseguridad.com
- ✓ <http://www.monografias.com>
- ✓ <http://www.oirsa.org/Publicaciones>