



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN**

**“EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA EFICACIA DE UN
DESINFECTANTE USADO EN UNA MESA DE DESPIECE DE UNA
PLANTA EMPACADORA DE CARNES FRÍAS, DE LA CIUDAD DE
MÉXICO, POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

JUAN FRANCISCO SÁNCHEZ TÉLLEZ

Asesor: M.V.Z. Jorge López Pérez

Cooasesor: M.V.Z. Susana Elvira García Vázquez.

CUAUTILAN IZCALLI, EDO. DE MÉX.

2005

m. 340582



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

“Evaluación *in vitro* de la eficacia de un desinfectante usado en una mesa de
despiece de una planta empacadora de carnes frías, de la Ciudad de México,
por el método de difusión en disco”

que presenta el pasante: Juan Francisco Sánchez Téllez
con número de cuenta: 9410364-9 para obtener el título de :
Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 21 de Septiembre de 2004

PRESIDENTE	MVZ. Jorge López Pérez	
VOCAL	M.C. José Gabriel Ruiz Cervantes	
SECRETARIO	MVZ. Miguel Ángel Pérez Ortega	
PRIMER SUPLENTE	M.A. Antonio Gómez Alcántara	
SEGUNDO SUPLENTE	MVZ. Esperanza García López	

AGRADECIMIENTOS.

A la UNAM como el *alma mater*

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por todos los conocimientos adquiridos a través de su cuerpo docente.

A mi asesor M.V.Z. Jorge López Pérez por su paciencia, conocimientos y dedicación brindados en este trabajo y por su gran amistad.

A la coasesora M.V.Z. Susana Elvira García Vázquez por sus consejos que sirvieron para enriquecer este trabajo.

A la empacadora de carnes frías Peñaranda por la ayuda y confianza brindada, espero haber cumplido las expectativas.

Al Ing. Juan Garibay por su ayuda en la realización del análisis estadístico de los resultados.

Al personal docente del Área de Medicina Preventiva y Disciplinas de Apoyo por las facilidades prestadas.

Al personal docente del Área de Microbiología por los materiales y la ayuda que me otorgaron.

Al honorable jurado, por el tiempo aplicado en la revisión y sus observaciones para mejorar lo realizado.

DEDICATORIAS

Primero a Dios por darme el privilegio de vivir y las fuerzas para lograr las metas que me impongo.

A mi Papa en donde quiera que se encuentre, se que siempre esta conmigo y me impulsa a seguir adelante, además de ser mi gran apoyo y con su ejemplo me enseñó a no rendirme.

A mi Mama como parte de mi vida, ayuda incondicional, inspiración de lucha y todas las bendiciones que diariamente recibí de ella.

A mi esposa, Gracias Flaquita por tu fuerza, tus regaños en el momento necesario, así como por los jalones de oreja y tu inagotable paciencia.

A mis Hermanos gracias por ser una fuente de inspiración y fuerza, antes, durante toda mi vida.

A mis Tíos y familiares por sus consejos y enseñanzas sobre la vida y el saber que siempre estarán cuando los necesite.

A mis amigos:

M.V.Z. Martha Elizabeth Pérez Arias por el apoyo, impulso y palabras de aliento en el momento adecuado.

A los M.V.Z's Jesús, Magdalena, Oscar, Dora Luz, Juanita y Jorge por su amistad, enseñanzas y ayuda durante mi preparación académica.

Eva, Pachaca, Sra. Escobedo, Chuy, Flor y la Michi por permitirme ser parte de sus vidas y brindarme su amistad.

A todos los que faltan, ustedes saben quienes son y siempre los considero como parte de mi.

INDICE

Resumen.	1
Introducción.	2
Objetivos.	14
Hipótesis.	15
Material y Método.	16
Resultados.	20
Discusión.	28
Conclusiones.	30
Bibliografía.	31

RESUMEN.

El uso de los diferentes desinfectantes en la industria alimentaria, obedece a las contaminaciones microbiológicas que suceden comúnmente durante el proceso para obtener los productos alimenticios y para garantizar que los desinfectantes cumplen con la función esperada se realizan evaluaciones *in vitro* de los diversos desinfectantes, como se describe a continuación.

En el presente trabajo se realizó la evaluación *in vitro* de la eficacia de un desinfectante comercial con base de cuaternarios de amonio, usado en una mesa de despiece en una planta empacadora de carnes frías de la ciudad de México, por el método de difusión en disco, en dos concentraciones del desinfectante, las cuales fueron de 450 ppm (concentración de uso) y de 75,000 ppm (7.5%, concentración comercial), contra dos bacterias de referencia: *Staphylococcus aureus* como Gram positivo y *Echerichia coli* como Gram negativo, realizando las pruebas en siembras de estas bacterias por separado y en combinación, y trabajando un grupo control negativo en el que no se empleó desinfectante. Los halos de inhibición se midieron con un calibrador Vernier y se expresaron en mm.

Para este trabajo se realizaron 36 repeticiones del procedimiento en cada una de las pruebas, con la finalidad de que los valores obtenidos tuvieran significación estadística ($n \geq 30$), formando de este modo 6 grupos de prueba, 3 por cada concentración del desinfectante y uno control como negativo.

Los resultados obtenidos fueron que el desinfectante en una concentración de 450 ppm produjo un halo de inhibición promedio de 11.14 mm en el caso de *S. aureus*; de 0 mm en el caso de *E. coli* y, en el caso de las cepas combinadas, el halo de inhibición fue de 18.83 mm, obteniéndose un promedio de los tres grupos en esta concentración de 9.99 mm de inhibición.

Al probar el desinfectante en una concentración de 75,000 ppm el *S. aureus* presentó una sensibilidad promedio manifestada en un halo de inhibición de 24.72 mm, en tanto que *E. coli* presentó en promedio un halo de 18.08 mm de inhibición; en el caso de las cepas combinadas, el diámetro del halo de inhibición fue de 24.47 mm, con un valor promedio de 22.413 mm de inhibición.

Al conjuntar los resultados de ambas concentraciones se obtuvo un promedio de sensibilidad para *S. aureus* de 17.93mm, para *E. coli* de 9.04 mm y combinadas de 21.64 mm, con una media general de 16.20 mm.

Para comprobar la diferencia estadística entre las medias obtenidas en el presente estudio, se realizó un análisis de varianza de medias independientes, con el cual se concluyó que existe una diferencia significativa en todas las medias obtenidas en los 6 grupos que se analizaron, dado que en todos los análisis se encontró una diferencia significativa ($P < 0.000$).

A partir de estos resultados se puede concluir que el desinfectante a una concentración de 450 ppm es efectivo *in vitro* contra *S. aureus* y la combinación de *S. aureus* y *E. coli*; pero no así contra el cultivo purificado de *E. coli*. Considerando que las contaminaciones de los alimentos de forma natural no pueden ser puras se considera que este desinfectante fue efectivo contra las contaminaciones comunes en las superficies de la mesa que entran en contacto con a carne en esta planta.

En los grupos de prueba donde se uso la concentración de 75,000 ppm se presento una inhibición importante, pero el uso del desinfectante a esta concentración puede producir una contaminación química del(los) producto(s).

INTRODUCCIÓN.

Uno de los factores que puede contribuir a la mala o buena conservación de los alimentos es su alto, bajo, incluso nulo contenido de microorganismos, esta última propiedad se conoce como asepsia (ausencia de microorganismos); esta característica se presenta en el caso de las partes internas de los tejidos sanos de plantas y animales, los cuales no contienen microorganismos o casi no tienen, siendo poco probable que inicien las alteraciones por ellos mismos. En adición a lo antes dicho los tejidos sanos en los organismos vivos referidos se encuentran cubiertos con membranas protectoras como es el caso de la piel en carne y pescado y sólo cuando ésta es dañada los tejidos se encuentran expuestos a la acción de los microorganismos. La llegada de nuevos microorganismos a los alimentos esencialmente ocurre a lo largo de las diferentes etapas por las que pasa la carne para su obtención, adquiriendo contaminantes en cada fase. Por estas razones en la industria alimentaria cada vez se presta mayor atención a la prevención de la contaminación agregada (11, 12, 24).

La insensibilización de los animales con pistola de perno cautivo (las aves y los cerdos ordinariamente sufren el aturdimiento eléctrico que no implica contaminación microbiana) y las operaciones subsiguientes, como degollado, desollado, evisceración y despiece, comunes a todos los animales originan la contaminación de los tejidos subyacentes que antes eran estériles. Obviamente será la parte del corte del músculo recién hecho la que albergará la mayoría de los microorganismos contaminantes, pero el tejido profundo con el tiempo se contaminará por el contacto estrecho que tiene con los tejidos contaminados y por la difusión de los microorganismos (11, 12, 18, 19, 20, 24).

Los microorganismos de las superficies de los músculos determinados por recuentos bacterianos totales proceden principalmente de la luz de los intestinos del animal, de las superficies expuestas al medio (desprovistas de piel) y también de los cuchillos, mesas de carnización y otros utensilios utilizados durante el proceso, así como del personal, por lo que a menudo la variación de los recuentos refleja las condiciones higiénicas del lugar de sacrificio o procesamiento del alimento (13, 18, 19, 20, 24, 28).

La contaminación puede ser de origen o natural en los alimentos, es decir, la que los alimentos contienen desde antes de ser obtenidos (contaminación de origen). También puede haber una contaminación adicional o agregada durante el proceso de obtención del alimento, procedente del equipo empleado, de los materiales de empaque y del personal (contaminación secundaria o agregada) (11, 12, 24).

Por esta razón los procesadores intentan limpiar y desinfectar el equipo y las instalaciones, así como capacitar al personal para reducir dicha contaminación, empleando además materiales de empaquetado que la reduzcan al mínimo (11, 12, 24).

Es importante el conocer la carga bacteriana desde el punto de vista de género y número. El género, especie o ambas, es importante porque puede incluir algunos microorganismos causantes de alteraciones, otros útiles para procesos posteriores e incluso patógenos. Esta misma información resulta útil para poder determinar las medidas de prevención y control que es factible

aplicar, ya que pueden sugerir la (s) posible(s) fuente(s) de donde proviene esta contaminación (11, 12, 24).

El número de microorganismos es importante porque cuanto mayor sea la cantidad de los mismos, más fácil y rápida es la alteración de los alimentos, más difícil su conservación y existen más posibilidades de la presencia de patógenos en el alimento. (11, 12, 24)

Con base en lo anterior se han desarrollado diversas técnicas tanto para eliminar o controlar a los microorganismos como para evitar la contaminación de éstos a los alimentos. Entre estas técnicas se encuentra la conservación de los alimentos con aporte de frío o calor, éstas constituyen las formas más eficientes de reducir o controlar la contaminación en las industrias alimentarias. No obstante, se dan situaciones en las que es preferible eliminar o destruir los microorganismos tanto por razones técnicas y sanitarias como de tipo económico (7, 8, 9, 11, 12, 18, 19, 20, 24, 28).

Por lo tanto, el uso de desinfectantes en la industria de la elaboración de productos de origen animal es una práctica muy difundida y muy bien justificada, dado que existen demasiadas formas de contaminación de los productos siendo éstos muy frágiles y sensibles a la descomposición o a la acción bacteriana (10, 11, 12, 23).

La importancia de los desinfectantes radica en la acción que éstos ejercen sobre las bacterias, pudiendo eliminar, si son bien empleados, hasta el 100 % de las bacterias patógenas y el 99 % de las bacterias saprófitas que se encuentran sobre las superficies que contactarán con los productos (sean éstas de instalaciones, personal o del equipo) ya sea que se encuentren en proceso o terminados (3, 10, 16, 17, 21, 29).

El uso de estos productos se justifica, dado que los procesos de conservación que causan menos cambios en el producto y la materia prima no abaten el conteo de colonias bacterianas que se encuentran en ellos, sino que funcionan controlando la reproducción de las mismas (dado que las técnicas de conservación más usadas son la refrigeración y la congelación), además de que ningún proceso que se realice sobre la carne puede mejorar su calidad sanitaria, sin modificar sus características generales, si se usa una materia prima de mala calidad (16, 24).

El término desinfección indica "Un proceso por el cual se inactivan o eliminan parcialmente los microorganismos que se encuentran sobre una superficie inerte", algunos otros autores consideran a este término como "un proceso por el cual se eliminan el 100 % de los microorganismos patógenos y el 99,9 % de los microorganismos saprofitos de una superficie inerte" y por último la definición oficial según la normatividad vigente en nuestro país la define como "Un proceso por medio del cual se eliminan o inactivan los microorganismos presentes en una superficie inerte hasta un nivel aceptable" y el desinfectante "Es el agente físico o químico utilizado para este fin", es decir la desinfección (3, 10, 16, 17, 18, 19, 20, 28, 29, 32, 44).

De manera comercial existen infinidad de productos desinfectantes, que vienen acompañados de información referente a las recomendaciones de uso, especialmente en lo tocante a la concentración apropiada.

No obstante, existe la posibilidad de que los productos empelados por una industria en particular, no cumplan con las expectativas que ofrecen. Por esta razón, entre los elementos que deben evaluarse dentro de los programas de calidad, se encuentra justamente, la potencia germicida de los productos que se emplearán. Con este fin se pueden emplear diversos métodos que incluyen la toma de muestras y la determinación cuantitativa y en algunos casos también la tipificación de los microorganismos contaminantes, así como la actividad del desinfectante, siendo estas las pruebas más objetivas de todas las disponibles. Sin embargo, el encontrar cuentas bacterianas altas por este procedimiento no implica necesariamente falla del producto, pues tal error puede deberse a otros factores, como una mala realización de los procedimientos de limpieza previos a la desinfección (10, 28, 45).

Otra alternativa está representada por la evaluación *in vitro* del producto. La evaluación *in vitro* abarca diferentes aspectos de gran importancia para poder obtener resultados satisfactorios y verdaderos.

BACTERIAS

Las bacterias y los hongos son causa principal de la descomposición de los alimentos, junto con las enzimas autolíticas. Sin embargo los microorganismos son la causa principal de que se realice la limpieza y desinfección de las instalaciones y equipo que se utilizan en la planta procesadora de alimentos, así como la capacitación del personal, para evitar que este funcione como una fuente de contaminación o como un vector de los contaminantes (11, 12, 16, 24).

Las bacterias tienen diferente hábitat, algunas son saprofitas (no causan enfermedad) y otras que causan enfermedades, las cuales pueden ser de vida libre y otras viven en los diferentes sistemas de los organismos vivos, con la condición de que estos sistemas se encuentran expuestos al medio ambiente, como es el aparato digestivo (*Enterobacter spp*, *Escherichia coli*, etc.), aparato respiratorio (*Streptococcus spp*, *Staphylococcus aureus*, etc.), o ambos en este último caso piel (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis*, etc.), la mayoría de las bacterias son dañinas para el producto, dado que producen alteraciones que finalmente llegaran hasta la putrefacción del mismo (11, 12, 16, 29).

Por estas razones al evaluar un desinfectante *in vitro* por lo regular se usan diversas bacterias que tengan cierta relación con las bacterias a las que se va a enfrentar en sus usos posteriores en la industria. Éstas por lo regular son las más resistentes, conocidas, o las más comunes; en este estudio se usaron las siguientes bacterias: *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, usando, de este modo una bacteria Gram. (+) y una Gram. (-) respectivamente y de diferente hábitat.

DESINFECTANTES.

Bajo esta denominación se encuentran una gran cantidad de sustancias encargadas de la eliminación o inactivación de microorganismos de superficies inertes (11, 12, 16, 17, 24).

Existen ciertas condiciones que afectan la eficacia de un desinfectante y su actividad en los lugares donde se aplican, entre estas características podemos considerar las siguientes (3, 10, 11, 12, 16, 17, 44).

Concentración del agente desinfectante y tiempo de acción: estos dos factores tienen una relación muy estrecha dado que en la mayoría de los desinfectantes la concentración determina cuanto tiempo tardará el desinfectante en eliminar una cierta cantidad de la población bacteriana que se encuentra en la superficie que se pretende desinfectar, es decir cuando se utiliza un desinfectante a concentraciones mas bajas tardará mas tiempo en eliminar a la población bacteriana, que si se utilizara una concentración mas elevada, la concentración depende del desinfectante que se emplee, dado que una concentración baja para un desinfectante, para otro se podría considerar una concentración alta. Cabe mencionar que todos los desinfectantes conocidos, tienen un rango de efectividad en cuanto a la concentración se refiere, es decir, cuando un desinfectante se encuentra a una concentración demasiado baja, no será capaz de eliminar a las bacterias que se encuentran sobre esta superficie, a pesar de que este desinfectante se encuentre mucho tiempo sobre la superficie mencionada (3, 10, 17, 44, 48, 50).

pH: al afectar la carga superficial neta de una bacteria, se modifica la permeabilidad de la pared celular de la bacteria, esto repercute en el paso de los agentes desinfectantes a través de las mismas, además de que también esta carga eléctrica del micro ambiente es capaz de inactivar a los desinfectantes al neutralizar o invertir la carga eléctrica de los mismos (3, 10, 17, 44, 48, 50).

Temperatura: por lo regular los desinfectantes actúan mejor a mayor temperatura, es decir, la mayoría de los desinfectantes duplican su actividad antimicrobiana al aumentar 10° C su temperatura, en el caso del fenol este aumento de temperatura indica el aumento de 5 a 8 veces su potencia (3, 10, 17, 44, 48, 50).

Naturaleza de los microorganismos y otros factores asociados a la población bacteriana: dependiendo de la especie bacteriana algunas presentan una mayor resistencia a cierto tipo de agentes antibacterianos, por ejemplo; el bacilo tuberculoso resiste mejor la acción de los hipocloritos que la mayoría de las bacterias; según la fase de cultivo de éstas, algunas pueden encontrarse en forma de esporas o haber formado cápsula, lo cual les confiere una mayor resistencia. El número de bacterias inicial tiene también importancia (3, 10, 17, 44, 48, 50).

Presencia de materiales extraños: la materia orgánica (como sangre, suero, pus, etc.) merece atención especial en este apartado, dado que afecta de forma negativa la potencia de un desinfectante, principalmente en los desinfectantes de tipo oxidante (como los hipocloritos) y los desnaturalizadores de proteínas, hasta el punto de poder hacerlos inactivos en cuanto a su poder desinfectante; esta acción la pueden realizar de dos formas, una por adsorción del desinfectantes a coloides de proteínas, con formación de complejos inertes o poco activos y por la unión de grupos activos del desinfectante a proteínas extrañas. Por ejemplo: los agentes mercuriales se inhiben por sustancias que lleven grupos sulfhidrilo (-SH), y las sales cuaternarias de amonio se inhiben en presencia de jabones y lípidos (3, 10, 17, 44, 48, 50)

CARACTERÍSTICAS QUE DEBE REUNIR UN DESINFECTANTE IDEAL.

Considerando lo antes mencionado un desinfectante ideal debe de tener las siguientes características:

Poseer una actividad potente contra una gran variedad de microorganismos.

Actuar con rapidez.

Tener poca toxicidad sobre los tejidos.

Ser eficaz aun en presencia de materia orgánica.

- Poseer buen poder de penetración.
- Ser soluble en agua.
- Disponer de buena estabilidad.
- Ser químicamente compatible con otras sustancias con las que pueda aplicarse.
- Carecer de olor desagradable.
- Ser económico.
- Tener efecto residual.

Es de importancia mencionar que no hay un desinfectante que las reúna todas. (2, 3, 4, 8, 17, 44, 49)

TIPOS DE DESINFECTANTES

Existen diversos métodos para clasificar a los desinfectantes, uno de ellos es en cuanto a su mecanismo de acción, pero algunos desinfectantes puede actuar de una o varias formas, por ejemplo los cuaternarios de amonio actúan inicialmente por adsorción celular y después al entrar al citoplasma interfieren los procesos metabólicos esenciales (2, 3, 4, 10, 17, 44):

1. **Agentes que dañan la membrana celular:** los solventes orgánicos (fenoles, alcoholes) y los desinfectantes tenso activos (detergentes) dañan la integridad estructural de la membrana (es decir la disposición ordenada de lípidos y proteínas), de modo que interfieren con su función, ejerciendo un efecto neto de interferencia con procesos de transporte y metabolismo energético y la salida de pequeñas moléculas de la célula (2, 3, 4, 18, 44, 48, 49,50, 51).

1.1. **Detergentes (desinfectantes tenso activos o surfactantes):** los detergentes sintéticos, al igual que los jabones, contienen una porción hidrofóbica (normalmente una larga cadena lipófila) y una porción hidrófila (un grupo polar), lo cual les permite formar micelas en solución acuosa, así como formar capas que cubren y solubilizan moléculas hidrófobas y su actividad aumenta con temperatura. Según sea la porción hidrófila los detergentes se pueden clasificar en (2, 3, 4, 18, 44, 48, 49,50, 51):

1.1.1. **Detergentes iónicos.**

1.1.1.1. **Detergentes catiónicos:** son los detergentes más potentes en cuanto a su actividad desinfectante, siendo activos contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, pero estas últimas son sensibles solo a concentraciones altas, no tienen poder viricida, esporicida o fungicida y no son recomendables para desinfectar locales con residuos orgánicos, dado que tiende a neutralizarse; los principales son los llamados compuestos de amonio cuaternario: sobre todo aquellos que van como cloruros o bromuros, las sales de amonio cuaternario mas activas son aquellas que tienen tres grupos alquílicos cortos y un grupo alquílico largo, por ejemplo: cloruro de cetil piridinio, cloruro de benzalconio (2, 3, 4, 18, 44, 48, 49,50, 51)..

Estos desinfectantes actúan cuando la porción hidrófoba penetra en las membranas, mientras que el grupo polar catiónico se asocia con los fosfatos de los fosfolípidos, provocando alteraciones en dichas membranas, reflejadas en la pérdida de su semipermeabilidad, con salida de metabolitos de Nitrógeno (N) y Fósforo (P) desde el citosol. Es entonces cuando el detergente puede entrar al interior celular, con un efecto secundario de desnaturalización de proteínas. Su actividad se mejora a pH alcalino; son bactericidas a concentraciones muy bajas (del orden de 1 parte por

millón -1 ppm) siempre que en el material a tratar no exista materia orgánica (2, 3, 4, 18, 44, 48, 49,50, 51)..

Estos desinfectantes tienen una muy baja toxicidad, por lo que se pueden emplear como antisépticos de piel; se emplean también en la desinfección de material de industrias alimentarias. Su actividad se neutraliza por jabones y fosfolípidos, precipitando en su presencia (2, 3, 4, 18, 44, 48, 49,50, 51).

1.1.1.2.Detergentes aniónicos: hay dos grupos principales.

Los que tienen grupos carboxilo como porción hidrófila como:

Jabones.

Saponinas.

Sales biliares y ácidos grasos disociables.

Y los que tienen grupos sulfato como porción hidrófila:

Dodecilsulfato de sodio, también llamado lauril sulfato sódico.

Sulfonato de alquilbenceno.

Estos desinfectantes producen en las bacterias una gran disrupción de membranas con efecto de lisis, son activos sobre todo a pH ácido, preferentemente sobre bacterias Gram. (+), pero poco sobre Gram. (-) ya que éstas quedan más protegidas por la barrera de lipopolisacáridos de la membrana externa. Cuando los detergentes aniónicos se combinan con álcalis, se logran desinfectantes sanitarios muy potentes (debido al efecto sinérgico de ambos componentes) y de rápida acción (unos 30 segundos) (2, 3, 4, 10, 17, 44).

1.1.1.3.Detergentes no iónicos: estos detergentes no tienen actividad antimicrobiana, y algunos se emplean en otros campos de la microbiología; los ésteres del ácido oleico (bajo nombres comerciales como Carbowax J, Tween - 80 J) pueden adicionarse a medios de cultivo para evitar la formación de grumos y favorecer el crecimiento disperso de ciertas bacterias (como *Mycobacterium tuberculosis*); además el oleico puede estimular el crecimiento (2, 3, 4, 10, 17, 44).

1.2. Fenoles: estos desinfectantes son bactericidas a bajas concentraciones, causando daños en la membrana con pérdida de constituyentes citoplasmáticos, inactivación irreversible de oxidasas y deshidrogenasas de membrana y desnaturalización de proteínas. Tienen baja solubilidad en agua, por lo que se emplean en formulas que incluyan agentes emulsificantes (jabones) que además aumentan su actividad (2, 3, 4, 10, 17, 44).

1.2.1. Fenol: el fenol o ácido carbólico, históricamente es uno de los primeros desinfectantes que se uso, en la actualidad solo se emplea como patrón para ensayar el poder desinfectante de otros compuestos. A partir del fenol se pueden lograr desinfectantes con mayor actividad antibacteriana y con menor toxicidad sustituyendo hidrógenos del anillo bencénico, por radicales alquílicos o por halógenos (2, 3, 4, 10, 17, 44).

1.2.2. Cresoles: son alquil-fenoles. El radical alquílico puede estar en posición *orto*, *meta* o *para*, dando respectivamente el *orto*-cresol, el *meta*-cresol y el *para*-cresol. Normalmente se emplea la mezcla de los tres, denominada "trícresol". Se obtienen por destilación del alquitrán de carbón, y se emplean como emulsiones de jabón verde bajo los nombres comerciales de "Lysolj" y "creolínj". Se utilizan como

desinfectantes de material de desecho microbiológico y como desinfectante de piel (2, 3, 4, 10, 17, 44).

- 1.2.3. Difenilos halogenados: el hexaclorofeno (hexacloro-*orto*-difenilmetano) es bacteriostático a bajas concentraciones (sobre todo contra cocos Gram. positivos), incluso incorporado en jabones, pasta de dientes y cosméticos. Algunas marcas comerciales incluían hace unos años este compuesto, hasta que se comprobó que su absorción por la piel, sobre todo inflamada, puede causar neurotoxicidad e incluso toxicidad sistémica, por lo que en la actualidad ha dejado de usarse (2, 3, 4, 10, 17, 44).
- 1.2.4. Alquilésteres de *para*-hidroxibenzoico: actúan de forma similar a los alquilfenoles, pero no son tóxicos, debido a que al ser ingeridos se hidrolizan rápidamente, dando el inocuo *para*-hidroxibenzoato. Se emplean como conservadores de alimentos y productos farmacéuticos (2, 3, 4, 10, 17, 44).
- 1.2.5. Ciertos aceites esenciales de origen vegetal: desde la antigüedad y de modo empírico, se vienen usando algunos aceites esenciales de plantas aromáticas como conservadores y antisépticos, ya que como se ha podido comprobar, contienen varios compuestos fenólicos, por ejemplo; el timol (de *thymus*, los tomillos) y el eugenol que se emplea en odontología como antiséptico (2, 3, 4, 10, 17, 44).

1.3. Alcoholes: los alcoholes desorganizan las bicapas lipídicas penetrando en la región hidrocarbonada de los lípidos. No afectan a las endosporas, por lo que no son esterilizantes. Su acción desinfectante mejora conforme aumenta la longitud de la cadena alifática de los alcoholes, hasta aquellos con 8 o 10 átomos de carbono (C_8 o C_{10}), ya que los alcoholes de cadenas más largas de C_{10} tienen una baja solubilidad en agua (2, 3, 4, 10, 17, 44).

- 1.3.1. Etanol ($CH_3 - CH_2OH$): se emplea en desinfección de la piel antes de las inyecciones cutáneas, así como en desinfección de termómetros clínicos, siempre que se deje el tiempo suficiente de contacto. Es más efectivo en soluciones acuosas entre el 50 y el 70%, ya que para su mejor acción se implica la intervención del agua. A 100% de pureza es poco efectivo (2, 3, 4, 10, 17, 44).
- 1.3.2. Isopropanol: es menos volátil y más efectivo que el etanol. Se emplea igualmente en desinfección de termómetros. Sin embargo, su efecto tóxico necrótico es mayor y más duradero que el anterior (2, 3, 4, 10, 17, 44).

2. Agentes desnaturalizantes de proteínas:

2.1. Ácidos y álcalis fuertes: son activamente bactericidas debido a sus grupos H^+ y OH^- disociados, respectivamente. En principio su actividad es proporcional al grado de disociación, pero algunos hidrógenos son más potentes de lo sugerido por su mero grado de disociación, debido a la acción tóxica directa que puede ejercer el catión metálico. Existen ciertas especies bacterianas que resisten relativamente bien la acción de bases fuertes, como por ejemplo el bacilo tuberculoso (2, 3, 4, 10, 17, 44).

2.2. Ácidos orgánicos: los ácidos orgánicos que son pocos disociables, ejercen su efecto en cuanto a moléculas intactas (sin disociar), que penetran a la célula. El ácido benzoico y el ácido sórbico se usan ampliamente como conservadores alimentarios. Ciertos ácidos

(como el acético, el láctico y el propiónico) aparecen en alimentos fermentados, actuando como conservadores naturales; éstos mismos, así como el cítrico se pueden añadir a otros tipos de alimentos, para prolongar el periodo posible de almacenamiento; el uso de estos productos depende de la normatividad vigente en cada país (2, 3, 4, 10, 17, 44).

2.3. Ácido bórico: se ha usado como conservador (a veces ilegal), de alimentos, así como en oftalmología (2, 3, 4, 10, 17, 44).

3. Agentes que modifican los grupos funcionales de proteínas y de ácidos nucleicos. Esta amplia clase de agentes se caracteriza, en general, por los siguientes efectos:
Alteran grupos que forman parte de los centros activos de enzimas y otras proteínas.
Alteran grupos funcionales de ácidos nucleicos, componentes de pared y membrana.
Se clasifican como sigue (2, 3, 4, 10, 17, 44):

3.1. Metales pesados.

Las sales solubles de Mercurio (Hg), arsénico (As), Plata (Ag), Cobre (Cu), etc., "envenenan" la actividad enzimática formando mercáptidos con los grupos -SH de la cisteína. También interaccionan con NH_2 , -COOH y radicales fosfato. Los más efectivos son los derivados del mercurio y de la plata, los cuales actúan a menos de 1 ppm (2, 3, 4, 10, 17, 44).

3.1.1. Mercuriales: Estos compuestos se usan desde la medicina antigua.

Cloruro de mercurio (HgCl_2): en solución al 0.1 % fue muy usado como desinfectante potente, pero es muy tóxico, y apenas se emplea en la actualidad.

Compuestos orgánicos de mercurio (como el Mercurocromo J, la Mercromina J, el Mertiolato): no son totalmente fiables como desinfectantes y presentan cierta (aunque baja) toxicidad, pero se emplea mucho como antiséptico de la piel y de heridas.

Sales de fenilmercurio: son potentes inhibidores no solo de bacterias sino también de levaduras, hongos y algas. Se usan especialmente en el control de posibles contaminantes microbianos (por ejemplo, bacterias oportunistas del género *Pseudomonas*) en productos farmacéuticos, cosméticos y oftalmológicos (2, 3, 4, 10, 17, 44).

3.1.2. Compuestos de plata: bien sea en forma de sales solubles, o en preparaciones coloidales, los compuestos de plata se usan ampliamente como antisépticos, aunque están restringidos, al tener efectos irritantes y cáusticos.

Nitrato de plata (AgNO_3): es muy bactericida frente al gonococo (*Neisseria gonorrhoeae*), y por ello se usa habitualmente para prevenir la oftalmia gonocócica del recién nacido.

Coloides orgánicos de plata: en ellos los iones Ag^+ se van liberando lentamente. Tienen efectos bacteriostáticos, y encuentran su principal aplicación en oftalmología.

Crema de nitrato de plata y sulfodiazina de plata: usadas para el tratamiento de quemaduras, han reducido notablemente la mortalidad derivada de grandes quemaduras (2, 3, 4, 10, 17, 44).

3.1.3. Sales y compuestos de cobre: el sulfato de cobre tiene acciones astringentes, germicidas y fungicidas, y también se emplean en agricultura para el control de hongos y algas (2, 3, 4, 10, 17, 44).

3.2. Agentes oxidantes. Los efectos de los agentes oxidantes que se tratan a continuación son la inactivación de proteínas enzimáticas (convirtiendo los radicales -SH en disulfuros -S-S-). Además, los más potentes también atacan radicales amino, el grupo indol (presente en el triptofano), y la tirosina (2, 3, 4, 10, 17, 44).

3.2.1. Halógenos: son bactericidas muy útiles y muy potentes. El yodo no tiene igual como antiséptico de piel, y el cloro no tiene comparación en el tratamiento de aguas.

Yodo. Aparte de su efecto oxidante, se combina irreversiblemente con residuos de tirosina de las proteínas. Sus principales presentaciones son la tintura de Yodo y los iodóforos (2, 3, 4, 10, 17, 44, 48).

Cloro. El cloro fue uno de los primeros antisépticos en usarse (antes de conocerse su mecanismo, e incluso antes de que se supiera el auténtico papel de los microorganismos en las enfermedades infecciosas. Holmes (Boston 1835) y Semmelweiss (Viena 1847) lo introdujeron en la práctica de los médicos y las matronas para impedir la transmisión de la sepsis puerperal, que era contagiada de mujer a mujer por las manos de los doctores y de las parteras y que era una notable causa de mortalidad de las mujeres durante muchos siglos (2, 3, 4, 10, 17, 44, 48).

El cloro se presenta bajo las formas de Cl_2 (gaseoso), hipocloritos y cloraminas. El efecto desinfectante se debe a la liberación de cloro libre (Cl_2); a su vez, el Cl_2 reacciona con el agua para dar ácido hipocloroso, que a pH ácido o neutro es un oxidante fuerte; la disociación del ácido hipocloroso depende del pH (se realiza a $\text{pH} < 7$) (2, 3, 4, 10, 17, 44, 48).

3.2.2. Agua oxigenada: el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), en solución al 3% se usó en otro tiempo como desinfectante, pero está actualmente en desuso, debido a que algunas bacterias son resistentes, por la posesión de catalasas y peroxidasas. Además, como antiséptico de heridas abiertas su efecto es muy pobre, porque el agua oxigenada es descompuesta por la catalasa tisular (2, 3, 4, 10, 17, 44).

3.2.3. Permanganato de potasio (K_2MnO_4). Al 1% se usa como antiséptico uretral. Y en fumigación (2, 3, 4, 10, 17, 44).

3.2.4. Ácido paracético ($\text{CH}_3\text{-CO-O-OH}$). Es un fuerte agente oxidante. En forma de vapor se usa en la esterilización de cámaras de cría de animales libres de gérmenes (2, 3, 4, 10, 17, 44).

3.3. Tinturas de colorantes básicos. Algunos colorantes derivados de la destilación del alquitrán de carbón, sobre todos los trifenilmetanos y las acridinas, no solo tiñen las bacterias, sino también actúan como antibacterianos, incluso a bajas concentraciones. Los colorantes básicos son más efectivos. En general, su mecanismo depende de su afinidad hacia los grupos fosfatos (ácidos) presentes en las mucoproteínas. Encuentran su uso como antisépticos de lesiones dermatológicas, infecciones de la piel y pequeñas heridas. Su principal inconveniente es que muchos de ellos se activan en presencia de suero y otras proteínas (2, 3, 4, 10, 17, 44).

3.3.1. Colorantes de trifenilmetanos. Son derivados de la anilina. Entre ellos se encuentran el verde brillante, el verde de malaquita, la violeta de genciana, el cristal violeta y la fucsina básica. Son muy selectivos hacia bacterias Gram.-positivas, sobre las que son efectivos a sólo 0,2-2 ppm. En cambio, las Gram. negativas suelen ser resistentes, debido a su membrana externa. El efecto antibacteriano se debe a la

pseudobase, que es más lipófila que el respectivo catión y bajo esta forma accede al interior celular, donde se une a los grupos fosfato de los ácidos nucleicos (2, 3, 4, 10, 17, 44).

3.3.2. Colorantes derivados de la acridina (llamados flavinas, por su color amarillento-Lat. *Flavus*-). Los ejemplos típicos son acriflavina, la proflavina y la tripoflavina. Interfieren en la biosíntesis de ácidos nucleicos (intercalándose en la doble hélice del ADN) y proteínas. Son bactericidas y bacteriostáticos sobre una gran diversidad de bacterias. A diferencia de las anilinas, ejercen su acción también en presencia de materiales como suero, pus, etc. Su uso principal es la antisepsia de heridas (2, 3, 4, 10, 17, 44).

3.4. Agentes alquilantes. Son agentes esterilizantes, activos tanto sobre células vegetativas como sobre esporas, que ejercen su efecto letal por su acción alquilante de proteínas y ácidos nucleicos (2, 3, 4, 10, 17, 44).

3.4.1. Formaldehído (HCHO). La alquilación la produce reemplazando hidrógenos lábiles de ciertos grupos químicos (NH_2 , $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$ y $-\text{SH}$), produciendo:

Hidroximetilaciones

Condensaciones (entrecruzamientos)

Usos comerciales:

Como gas, en la descontaminación de habitaciones,

Como formalina (solución acuosa al 35%).

Como paraformaldehído (polímero sólido de 91-99 % de pureza)

La formalina se emplea para preservar tejidos en líquidos de embalsamiento, y al 0,2-4% en la preparación de vacunas de virus (2, 3, 4, 10, 17, 44).

3.4.2. Glutaraldehído. Es menos tóxico y más potente que el formaldehído, y no se afecta por materiales con proteínas cada vez más empleado como esterilizante en frío de instrumental quirúrgico. Es el único recomendado para esterilizar equipamiento de terapia respiratoria (2, 3, 4, 10, 17, 44).

3.4.3. Óxido de etileno. Tiene un efecto similar al del formaldehído. Sustituciones y entrecruzamientos irreversibles en grupos amino, sulfhidrilo, etc., de proteínas. También reacciona como grupo fosfato y anillos nitrogenados de los ácidos nucleicos. Es un agente empleado como esterilizante gaseoso, aunque es de acción lenta. Se emplea cuando no se puede recurrir a la esterilización por calor: Esterilización de material plástico, drogas, ciertos productos biológicos y equipamiento electrónico. La operación se realiza en cámaras parecidas al autoclave. Sin embargo, es un método caro y exhibe ciertos riesgos: presenta acción vesicante y toxicidad para el hombre (mutágeno y carcinógeno) (2, 3, 4, 10, 17, 44).

3.4.4. β - propionil-lactona. Es 25 veces más activa que el formaldehído. Actúa como gas en presencia de 80-90% de humedad relativa, aunque es poco penetrante (2, 3, 4, 10, 17, 44).

MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LOS DESINFECTANTES.

Las pruebas de evaluación de desinfectantes fueron realizadas por primera vez por Roberto Koch en 1881, usando porciones de hilos de seda que impregnaba con esporas de *Bacillus anthracis*, los

desechaba y los sumergía en una solución desinfectante, los sacaba después de cierto tiempo, eliminaba por lavado el exceso de desinfectante y posteriormente, introducía los filamentos en un tubo con medio de cultivo para observar si había crecimiento (44).

Al realizar la evaluación *in vitro* de un desinfectante se debe de tomar en consideración que no todas las bacterias mueren instantáneamente, sino que mueren a una tasa logarítmica, la cual es directamente proporcional a la concentración del desinfectante y no todos los tipos de bacterias son igualmente sensibles a los desinfectantes (44).

MICRO ENSAYO.

Tiene como base el procedimiento realizado por Koch con algunas modificaciones y adecuaciones realizadas por diversos investigadores al correr de los años. Actualmente se realiza usando muestras de diversas superficies que se inoculan con el microorganismo a estudiar y posteriormente estas superficies son expuestas al desinfectante y se colocan en el medio de cultivo líquido durante el tiempo necesario para el desarrollo de la bacteria que se pretende estudiar. Al observar el crecimiento bacteriano como un aumento en la turbidez del medio, se considera que el desinfectante no es efectivo y si no hay aumento en la turbidez se considera al desinfectante como efectivo (26, 44).

Tiene como desventaja que solo se obtienen resultados cualitativos en cuanto a efectividad (26, 44).

PROCEDIMIENTO "RODAC"

Este procedimiento se realiza para el muestreo microbiológico de superficies; es un método rápido y relativamente exacto para evaluar la desinfección de cualquier superficie.

Se usan cajas de plástico transparente desechables, con un disco especial; el fondo cuadrado de la caja se llena con el medio semisólido de cultivo adecuado al propósito que se desea obtener para bacterias, hongos, géneros bacterianos, etc. La superficie del medio de cultivo es ligeramente convexa y para el muestreo se aplica suavemente a la superficie, se tapa y se incuba en las condiciones adecuadas, realizándose posteriormente la observación y cuantificación de las colonias. Si el crecimiento es confluyente y tiene más de 300 colonias, el área está muy contaminada y el desinfectante no es el adecuado o la desinfección no es correcta (44).

EVALUACIÓN DE LA DESINFECCIÓN MEDIANTE MUESTREO MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES.

Una de las técnicas más sencillas para el muestreo microbiológico de superficies, después de la aplicación de un desinfectante es la del método del hisopo. Consiste en aplicar repetidamente un hisopo de algodón estéril, ligeramente humedecido en caldo sobre la superficie de muestreo, y después sembrar con el hisopo un semisólido o líquido adecuado a los propósitos que se pretenden obtener (35, 36, 37, 38, 39, 40, 44).

El muestreo se realiza por lo general 30 minutos o más después de la aplicación del desinfectante

EVALUACIÓN DE DESINFECTANTES POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO.

No existe demasiada información sobre este método de evaluación de desinfectantes, pero es considerado un método de evaluación efectivo utilizado en las condiciones adecuadas y contra las

bacterias adecuadas, y es un método cuantitativo que puede ofrecer resultados considerablemente importantes, su inconveniente es que el desinfectante y los microorganismos son manipulados en las condiciones ideales para ambos, lo cual puede limitar su aplicación en la práctica (5, 43).

EVALUACIÓN DE LA DESINFECCIÓN EN ATMÓSFERAS DE LOCALES

Además del muestreo de superficies, es conveniente realizar el muestreo de las atmósferas de locales cerrados donde se ha practicado la desinfección. Para el muestreo se han desarrollado varios métodos, uno de ellos, el más simple se relaciona con la técnica millipore, el cual consiste en lo siguiente:

El aire es aspirado dentro de un tubo colector de cristal, estéril, que contiene un medio enriquecido y amortiguado de colección con antiespumante. La aspiración se realiza durante 23 min. (12.5 L/min).

Por medio de filtración se captan los microorganismos y se mezclan con el líquido colector. Posteriormente se incuba el filtro en las condiciones adecuadas y se procede a la identificación y cuantificación de los microorganismos presentes en su superficie, que reaccionan con los viables presentes en la muestra de aire (44).

ÍNDICE FENÓLICO.

El método primario que se ha empleado desde hace muchos años, es comparar la potencia del compuesto a ensayar con la de un desinfectante - tipo o estándar, que por motivos históricos es el fenol.

Este método consiste en comparar la capacidad de eliminar a las bacterias de referencia establecidas, con un desinfectante a prueba (desinfectante problema) y el fenol (desinfectante patrón, en un determinado tiempo (indicado en la fórmula que aparece posteriormente), y establecido este parámetro se recomienda usar concentraciones 5 veces mayor a la obtenida.

$$IF = \frac{\text{Máxima dilución del desinfectante problema que mata a un microorganismo en } 10', \text{ pero no en } 5'}{\text{Máxima dilución del fenol problema que mata a ese mismo microorganismo en } 10', \text{ pero no en } 5'}$$

IF= Índice Fenolico

Las limitaciones de este método son las siguientes:

El coeficiente de fenol solo es indicativo cuantitativamente en desinfectantes químicamente similares al fenol, y que tengan coeficientes de dilución (n) parecidos.

Aun cuando se conozca el coeficiente fenol de un compuesto su valor indicativo se limita a las diluciones que se hayan empleado en la determinación.

Hay que atender a las condiciones de valoración, ya que como se dijo antes, la presencia de materia orgánica supone una merma de poder real de desinfección (2, 3, 4, 10, 17, 44).

OBJETIVOS.

Objetivo general.

Evaluar *in vitro* la eficacia de un desinfectante elaborado con base en cuaternarios de amonio en la concentración de uso (450 ppm) y en su concentración comercial (75,000 ppm); usado en una mesa de despiece de una industria empacadora de carnes frías, de la ciudad de México.

Objetivo particular.

Evaluar *in vitro* la eficacia de un desinfectante a base de cuaternarios de amonio en la concentración de uso (450 ppm) y en la concentración comercial (75,000 ppm); contra las bacterias proporcionadas del cepario del laboratorio de microbiología de la FES Cuautitlán Campo 4, de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* y la combinación de las mismas.

HIPÓTESIS.

El desinfectante elaborado con base en cuaternarios de amonio usado en la mesa de despiece es eficaz para garantizar una buena desinfección.

El desinfectante elaborado con base en cuaternarios de amonio usado es eficaz contra las bacterias proporcionadas del cepario del laboratorio de microbiología de la FES Cuautitlán Campo 4, de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* y una combinación de las mismas.

MATERIAL Y METODO.

Para el cumplimiento de los objetivos propuestos se usaron los siguientes materiales y equipos.

Equipo.

- Microscopio óptico.
- Autoclave.
- Estufa de incubación.
- Refrigerador
- Balanza analítica.

Material de cristalería.

- Cajas de petri.
- Tubos de ensaye.
- Pipetas graduadas de 1ml/10, 5 ml, 10 ml.
- Probeta graduada de 500 ml.
- Matraz graduado de 1 l.

Material biológico.

Bacteria Gram positiva: *Staphylococcus aureus*, del cepario del laboratorio de Microbiología de la FES Cuautitlán.

Bacteria Gram negativa: *Escherichia coli*, del cepario del laboratorio de Microbiología de la FES Cuautitlán.

Medios de cultivo

- Caldo nutritivo.
- Placas de agar Müller y Hilton.

Reactivos,

Muestra del desinfectante a base de cuaternarios de amonio con una concentración del 7.5% (75,000 ppm, concentración comercial) usado en la mesa de despiece de la planta empacadora de carnes frías

Muestra del desinfectante a base de cuaternarios de amonio a una concentración de 450 ppm (concentración de uso).

- Solución de Cl al 1%.
- Agua destilada.
- Agua destilada estéril.

Material misceláneo.

- Asa de inoculación.
- Gradilla.
- Mechero Bunsen.
- Hisopos de algodón estériles.
- Discos de papel filtro.
- Toallas desechables.
- Vernier.
- Nefelómetro de Macfarland.

MÉTODO.

Para cumplir con los objetivos propuestos se realizaron las siguientes actividades como parte del método de investigación.

- A. Estandarización del método de evaluación de desinfectantes por difusión en disco.
- B. Recolección y procesamiento de la muestra
- C. Elaboración de los medios de cultivo
- D. Cultivo de las cepas para su uso en la prueba.
- E. Realización de la prueba de difusión en disco.

A. Estandarización del método de evaluación de desinfectantes por difusión en disco.

La estandarización del procedimiento se llevó a cabo mediante una serie de pruebas preliminares de difusión en disco, empleando tres diferentes desinfectantes, contenidas en una caja de petri, en la que se colocaron 6 discos impregnados de los diferentes desinfectantes y un control en el centro de la caja, este control no estaba impregnado de desinfectante, después de 24 horas de incubación a 37 °C se realizó la medición de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano, los cuales son zonas que rodean a los discos, donde no hubo crecimiento de bacterias por causa del desinfectante con el que se impregnaron los discos y se expresó en milímetros, en el caso del disco control no hubo halo de inhibición y el crecimiento bacteriano se presentó alrededor de el disco.

B. Recolección y procesamiento de la muestra.

La muestra del desinfectante fue tomada directamente del envase en el que es comercializado este producto y colocada en un recipiente que fue previamente limpiado y desinfectado para transportación del mismo; la muestra fue de 500 ml, y se encontraba en una concentración de 7.5% (equivalente a 7,5000 ppm), que fue una de las concentraciones con la que se trabajó y la otra dilución fue la que se describe en el siguiente párrafo.

Para obtener la otra concentración usada en el presente estudio se requirió diluir la muestra de desinfectante para alcanzar una concentración de 450 ppm, la cual se logró al diluir 6 ml del desinfectante en su presentación comercial antes mencionada (concentración del 7.5 % o 75,000 ppm) en un litro de agua destilada estéril.

C. Elaboración de los medios de cultivo.

Los medios de cultivo utilizados son de dos tipos, el **medio de cultivo líquido** y el **medio semisólido**.

Como medio de cultivo líquido se usó el caldo nutritivo dado el tipo de microorganismos que se usaron para la prueba. Éste se compró elaborado y contenido en tubos de ensayo.

El medio semisólido fue el Agar MÜLLER y HILTON (MH) dado que es el medio recomendado para pruebas de difusión. Este medio se preparó como lo recomienda el fabricante, es decir realizando los siguientes pasos:

- 1.- Disolver 38g del medio de cultivo deshidratado en un litro de agua destilada.
- 2.- Calentar hasta ebullición durante 4 minutos esta disolución.
- 3.- Esterilizar en autoclave a 115 °C, 15 Lb de presión, 15 minutos.
- 4.- Verter en cajas de Petri y permitir que solidifiquen (34).
- 5.- Realizar prueba de esterilidad, la cual consiste en colocar las cajas de petri que contienen el medio de cultivo semisólido en la estufa de incubación a 38 °C durante 24 horas, si la

prueba resulta negativa al crecimiento bacteriano (indica que no hay contaminación) las cajas con medio de cultivo pueden ser utilizadas, en caso de que alguna de las cajas resulte positiva al crecimiento bacteriano se debe de desechar el lote completo de cajas de petri con medio (26).

D. Cultivo de las cepas para su uso en la prueba.

Para esta prueba se utilizaron dos tipos de bacterias: *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, ambos de cepas purificadas en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Estos cultivos se conservaron en medio semisólido y en tubo de vidrio para evitar su contaminación, realizándose un pase a medio de cultivo en placa (caja de petri), para verificar su viabilidad y se incubaron en una estufa a 37 °C durante 24 horas, observándose el desarrollo de las colonias. Dado que se tuvo la certeza de que las cepas usadas se encontraban en forma pura solo se realizó un frotis de cada una de las cajas inoculadas observando únicamente a las bacterias desecadas, realizado este procedimiento se inocularon los cultivos, cada uno por separado en medio de cultivo líquido, y se permitió su desarrollo en una estufa de incubación a 37 °C durante 24 horas; transcurrido este tiempo en los tubos donde hubo un crecimiento de bacterias se ajustó su turbidez al tubo 0.5 del nefelómetro de McFarland (que equivale aproximadamente a 100,000,000 de células bacterianas por ml), visto a contra luz todas estas actividades se realizaron en condiciones asépticas

E. D. Realización de la prueba de difusión en disco

La técnica descrita por Sheeley (1991) fue modificada para su aplicación en este estudio, en la cual se evaluaron diversas combinaciones de variables, por ejemplo la efectividad del desinfectante en dos concentraciones distintas, así como su efectividad contra las dos bacterias por separado y en combinación, como se describe paso a paso a continuación:

- 1.- En una placa de medio de cultivo MH se inocula 1 ml de la cepa o cepas específicas para la parte de la prueba a realizar, y por medio de una técnica de barrido se distribuyó el inóculo, en toda la superficie de la placa, el Exceso de inóculo retira con un hisopo estéril.
- 2.- Con el uso de unas pinzas de disección estériles se empaparon los discos de 0.5 cm. de diámetro, con el desinfectante a la concentración especificada para cada prueba, se colocaron como máximo 6 discos en cada una de las placas de agar MH inoculadas, a una distancia similar entre cada disco, colocando un disco sin desinfectante en el centro de la placa como grupo control y se incubó a 37 °C durante 24 horas.
- 3.- Transcurrido este tiempo se realizó la medición del diámetro de los halos de inhibición producidos por el desinfectante; esta se realizó con el uso de un Vernier y se reportó en milímetros. Estas áreas de inhibición se observan como unas zonas donde no hubo crecimiento de colonias bacterianas, circundando a los discos empapados de desinfectante. (43)
- 4.- Con el fin de que esta prueba tenga valor estadístico se realizaron las repeticiones mínimas que indica Daniels (1982) para que se considere una muestra estadística normal, es decir ≤ 30 repeticiones. Por lo cual se formaron grupos de 36 repeticiones por cada procedimiento, los grupos fueron los siguientes (6):

Grupo 1. Desinfectante a concentración de 450 ppm probado contra *Staphylococcus aureus*, 36 repeticiones.

- Grupo 2. Desinfectante a concentración de 450 ppm probado contra *Echerichia coli*, 36 repeticiones.
- Grupo 3. Desinfectante a concentración de 450 ppm probado contra *Staphylococcus aureus* y *Echerichia coli*, 36 repeticiones.
- Grupo 4. Desinfectante a concentración de 75,000 ppm probado contra *Staphylococcus aureus*, 36 repeticiones.
- Grupo 5. Desinfectante a concentración de 75,000 ppm probado contra *Echerichia coli*, 36 repeticiones.
- Grupo 6. Desinfectante a concentración de 75,000 ppm probado contra *Staphylococcus aureus* y *Echerichia coli*, 36 repeticiones.

El parámetro de inhibición para considerar efectivo un desinfectante, al utilizar la prueba de difusión en disco fue tomado del trabajo realizado por Uribe (2001), quien consideró que este límite inferior fue de 8 mm de inhibición del crecimiento bacteriano (para la bacteria que él utilizó) (46).

RESULTADOS.

Los resultados obtenidos se presentan para grupos de 36 repeticiones por prueba en sus diferentes variables, obteniéndose de este modo 6 grupos, es decir 216 resultados en total. Los cuales se presentan a continuación:

En la Tabla No. 1 se muestran los resultados obtenidos al probar el desinfectante en una concentración de 450 ppm contra el *Staphylococcus aureus*; se observa una moda de 10 mm de inhibición del crecimiento bacteriano, un promedio de 11.13 mm y una mediana de 11 mm, con una desviación estándar de 1.9.

Tabla No. 1

Diámetro de inhibición del crecimiento bacteriano, expresado en mm, *Staphylococcus aureus* (Grupo 1), al emplear un desinfectante con base de cuaternarios de amonio en una concentración de 450 ppm, mediante la prueba de difusión en disco.

Numero de repetición	Diámetro de inhibición		
1.	9	19.	11
2.	9		
3.	9	21.	11
4.	9		
5.	9	23.	11
6.	9		
7.	9	25.	12
8.	9		
9.	10	27.	12
10.	10		
11.	10	29.	13
12.	10		
13.	10	31.	14
14.	10		
15.	10	33.	14
16.	10		
17.	10	35.	15
18.	11		

Sumatoria	401
Promedio (Media)	11.14
Mediana.	11.00
Moda.	10.00
Desviación estándar (S^2)	1.93

En la Tabla No. 2 se puede observar que contra *Echerichia coli*, no hubo inhibición del crecimiento de esta bacteria.

Tabla No. 2

Diámetro de inhibición del crecimiento bacteriano, expresado en mm, *Escherichia coli* (Grupo 2), al emplear un desinfectante con base de cuaternarios de amonio en una concentración de 450 ppm, mediante la prueba de difusión en disco.

Numero de repeticiones	Diámetro de inhibición	Sumatoria	Promedio
1.	0	19.	0
2.	0	21.	0
3.	0	23.	0
4.	0	25.	0
5.	0	27.	0
6.	0	29.	0
7.	0	31.	0
8.	0	33.	0
9.	0	35.	0
10.	0		
11.	0		
12.	0		
13.	0		
14.	0		
15.	0		
16.	0		
17.	0		
18.	0		

Sumatoria	0.00
Promedio (Media)	0.00
Mediana	0.00
Moda	0.00
Desviación estándar (S^2)	0.00

En la Tabla No. 3 se puede observar que se obtiene un promedio de 18,38 mm de inhibición del crecimiento bacteriano, una mediana de 19 mm y una moda de 19mm, y como límites, el mínimo de 16 mm de inhibición del crecimiento y un máximo de 23 mm de inhibición.

Tabla No. 3

Diámetro de inhibición del crecimiento bacteriano, expresado en mm, *S. aureus* + *E. coli* (Grupo 3), al emplear un desinfectante con base de cuaternarios de amonio en una concentración de 450 ppm, mediante la prueba de difusión en disco.

Numero de repetición	Diámetro (mm)	Diámetro (mm)	Diámetro (mm)
1.	16	19.	19
2.	16		
3.	16	21.	19
4.	16		
5.	16	23.	19
6.	17		
7.	17	25.	20
8.	17		
9.	17	27.	20
10.	17		
11.	17	29.	21
12.	17		
13.	18	31.	21
14.	18		
15.	18	33.	22
16.	18		
17.	19	35.	22
18.	19		

Sumatoria	678.00
Promedio (Media)	18.83
Mediana	19.00
Moda	19.00
Desviación estándar (S ²)	1.98

En la Tabla No. 4 se observa una media de 24.72 mm de inhibición del crecimiento bacteriano, una mediana de 25mm y una moda igual, y su límite inferior es de 22mm y el superior de 27mm de inhibición.

Tabla No. 4

Diámetro de inhibición del crecimiento bacteriano, expresado en mm, *S. aureus* (Grupo 4), al emplear un desinfectante con base de cuaternarios de amonio en una concentración de 75,000 ppm, mediante la prueba de difusión en disco.

Numero de repetición	Diámetro de inhibición		
1.	22	19.	25
2.	22		
3.	23	21.	25
4.	23		
5.	23	23.	25
6.	23		
7.	24	25.	25
8.	24		
9.	24	27.	25
10.	24		
11.	24	29.	26
12.	24		
13.	24	31.	26
14.	24		
15.	25	33.	27
16.	25		
17.	25	35.	27
18.	25		

Sumatoria	890.00
Promedio (Media)	24.72
Mediana.	25.00
Moda.	25.00
Desviación estándar (S ²)	1.30

En la Tabla No. 5, se puede observar que con esta concentración se obtuvo inhibición sobre la *Escherichia coli*, con una media de 18,05 mm de inhibición de crecimiento bacteriano, una moda de 18 y una mediana igual, su límite inferior es de 15 mm y su límite superior es de 21 mm de inhibición del crecimiento bacteriano, y una desviación estándar de 1.6.

Tabla No. 5

Diámetro de inhibición del crecimiento bacteriano, expresado en mm, *E. coli* (Grupo 5), al emplear un desinfectante con base de cuaternarios de amonio en una concentración de 75,000 ppm, mediante la prueba de difusión en disco.

Numero de repetición	Diámetro de inhibición (mm)		
1.	15	19.	18
2.	18		
3.	15	21.	18
4.	16		
5.	16	23.	18
6.	16		
7.	16	25.	19
8.	17		
9.	17	27.	19
10.	17		
11.	18	29.	20
12.	18		
13.	18	31.	20
14.	18		
15.	18	33.	20
16.	18		
17.	18	35.	20
18.	18		

Sumatoria	650.00
Promedio (Media)	18.08
Mediana.	18.00
Moda.	18.00
Desviación estándar (S ²)	1.57

La Tabla No. 6, muestra los resultados obtenidos al probar el desinfectante a una concentración de 75,000 ppm contra la combinación de las bacterias, con una media de 24.44 mm de inhibición, mediana de 25 mm, moda de 26 mm y por ultimo una desviación estándar de 2.48.

Tabla No. 6

Diámetro de inhibición del crecimiento bacteriano, expresado en mm, *S. aureus* + *E. coli* (Grupo 6), al emplear un desinfectante con base de cuaternarios de amonio en una concentración de 75,000 ppm, mediante la prueba de difusión en disco.

1.	20	19.	25
2.	20	20.	26
3.	20	21.	26
4.	20	21.	26
5.	20	23.	26
6.	21	23.	26
7.	21	25.	26
8.	22	25.	26
9.	23	27.	26
10.	23	27.	26
11.	24	29.	26
12.	24	29.	26
13.	24	31.	27
14.	24	31.	27
15.	24	33.	27
16.	25	33.	27
17.	25	35.	28
18.	25	35.	28

Sumatoria	880
Promedio (Media)	24.44
Mediana.	25
Moda.	26
Desviación estándar (S^2)	2.48

En la Tabla No. 7 se muestran a manera de resumen, los datos numéricos obtenidos en el presente estudio, tomándose como resultados de importancia las medias y la desviación estándar de cada uno de los grupos

Tabla No. 7

Medias y desviaciones estándar obtenidas en la prueba de difusión en disco

CONCENTRACIÓN	GRUPO	BACTERIA	MEDIA	DESVIA. STD	N
450ppm	Grupo 1	<i>S. aureus</i>	11.14	1.93	36
	Grupo 2	<i>E. coli</i>	0	0	36
	Grupo3	<i>S. aureus/E coli</i>	18.83	1.98	36
		TOTAL	9.99	7.93	108
75,000 ppm	Grupo 4	<i>S. aureus</i>	24.72	1.3	36
	Grupo 5	<i>E. coli</i>	18.08	1.57	36
	Grupo 6	<i>S. aureus/E coli</i>	24.44	2.48	36
		TOTAL	22.42	3.59	108
Total		<i>S. aureus</i>	17.93	7.03	72
		<i>E. coli</i>	9.04	9.17	72
		<i>S. aureus/E coli</i>	21.64	3.6	72
		TOTAL	16.2	8.74	216

N= Numero de repeticiones.

Para analizar estos resultados y determinar si existió una diferencia significativa entre las diversas variables que se estudiaron, se aplicó el análisis de varianza de medias independientes. Los resultados de este análisis se muestran en la Tabla No. 8, en la que entre otros datos aparece la columna de la "F" calculada, la cual indica el valor numérico que tendría la variable que se está probando, y en qué lugar se ubicaría en una gráfica de distribución normal, si este valor se encuentra cercano al promedio que aparece en dicha gráfica, no existe diferencia significativa, y se verá un número cercano al uno en la columna que tiene este título de "significancia"; en contra parte si la "F" calculada se encuentra lejos del promedio de la distribución normal, la diferencia entre los grupos es más grande, y por lo tanto habrá una diferencia significativa, es decir la diferencia entre las variables estudiadas, se deberá a razones propias de cada uno de los grupos estudiados y no al error humano.

También en la Tabla No. 8 se muestra el análisis de varianza realizado sobre los resultados obtenidos, donde el "Modelo corregido" expresa los valores numéricos obtenidos de los 6 grupos, la "intersección" es donde se unen ambas variables estudiadas, la "Concentración" no requiere de explicación, al igual que las bacterias, el renglón de "Concentración por bacterias" es la multiplicación de estas, el "Error" es lo mismo que indica su nombre, al igual que el total y la corrección del total.

La interpretación de la Tabla No. 8, para fines de este estudio, consiste en averiguar si existe una diferencia significativa entre los grupos y variables analizados, para esta tarea es necesario considerar la columna de la significancia, la cual en los casos analizados fue muy baja ($P < 0.000$), lo cual permite aseverar que hubo diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes grupos estudiados y entre las diferentes variables manejadas y que tales diferencias no son atribuibles a error, sino a las diferencias reales en las variables manejadas. (6)

Tabla No. 8

Análisis de varianza al diámetro del halo de inhibición obtenido al aplicar la prueba de difusión en disco.

	Tipo III. Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	Significancia
Modelo corregido.	15808.870	5	3161.774	1057.001	0.000
Intersección.	56712.963	1	56712.963	18959.494	0.000
Concentración.	8337.796	1	8337.796	2787.377	0.000
Bacteria.	6034.898	2	3017.449	1008.752	0.000
Concentración por bacteria.	1436.176	2	718.088	240.061	0.000
Error.	628.167	210	2.991		
Total.	73150.00	216			
Corrección del total	16437.037	215			

DISCUSIÓN.

Como se indicó en los resultados, el análisis de varianza de medias independientes, muestra que todos los grupos son diferentes ya que se calculó una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.000$) entre ellos por lo cual aunque presentan similitudes, la comparación entre los mismos es limitada.

Tomando como base el valor propuesto por Uribe (2001), quien consideró que para que un desinfectante se pudiera tomar como efectivo por medio de la prueba de difusión en disco, éste debe de producir por lo menos 8 mm de inhibición en el crecimiento bacteriano; se puede señalar que este parámetro fue superado en la mayoría de los grupos de prueba, excepto en el grupo No. 2. (46)

En este grupo no se produjo inhibición (0.00 mm en promedio), habiendo trabajado con una cepa purificada de *E. coli*, y con el desinfectante a una concentración de 450 ppm, que es la recomendada por el fabricante.

Este hecho resulta congruente con lo reportado por Iañes (1998), Sumano y Ocampo (1997) e Isenberg (1988), quienes señalan que las bacterias pertenecientes al grupo Gram negativo, que es el caso, tienen en su forma estructural, una capa externa formada por lipopolisacáridos, que les confiere una importante resistencia a los factores físicos del medio ambiente y a los agentes químicos agresores. (17, 22, 44)

Asimismo, Iañes (1998) y Sumano y Ocampo (1997) mencionan que esta ineficiencia de un desinfectante se puede intentar corregir al aumentar la concentración de uso del mismo, hecho que se comprobó en este estudio, pues al aumentar la concentración a 75,000 ppm (presentación comercial), sí se produjo inhibición en el crecimiento bacteriano, en una media en milímetros superior al parámetro antes citado. (17, 44)

Sin embargo, podría haber una limitación con respecto a esta recomendación, debido a que al aumentar la concentración de uso del desinfectante se corre el riesgo de producir una contaminación del(os) producto(s) alimenticio(s) final(es). (30, 48, 53)

Como parte de este estudio se combinaron las cepas purificadas empleadas para observar el comportamiento de efectividad de este desinfectante contra contaminaciones mixtas; en este grupo, en ambas concentraciones probadas se produjo una inhibición importante con relación al parámetro establecido, en caso del grupo 3 (concentración del desinfectante: 450 ppm), se observó una inhibición de 18.83 mm Al comparar este resultado con el del grupo 2, en el que , como se señaló antes no se produjo inhibición alguna, se puede afirmar que hubo una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.00$).

Este comportamiento resulta consistente con lo señalado por Isenberg (1988), el cual menciona que una misma bacteria puede comportarse de manera distinta al encontrarse en diferente medios ambiente, es decir una bacteria que no produce enfermedad al estar presente en un sistema de cierto organismo, si se trasfiere a otro sistema del mismo organismo puede tomarse patógena, también es importante indicar que refiere que las interacciones que se generan al encontrarse dos o mas tipos de bacterias en un mismo medio ambiente, pueden modificar la expresión y el comportamiento, función, etc. de cada uno de ellos. A lo anterior se puede añadir lo señalado por Atlas (2002), quien menciona que al encontrarse dos o mas tipos bacterianos en un mismo ambiente tienden a interactuar entre ellos de diversas formas, las que pueden ser positivas (cooperación) o negativas (competencia), y el tipo de interacción que realicen, será determinado por la densidad de población presente en este medio ambiente. (1, 22)

Además, es conveniente mencionar, en relación con la posible aplicación de los resultados de este trabajo en la práctica y que ello resulte válido, es decir, que el comportamiento de este desinfectante a la concentración recomendada por el fabricante resulte verdaderamente efectivo, en especial en el caso del grupo 3, que el International Comision of Microbiology and Safety in foods (ICMSF) (1980, 2000, 2002), Isenberg (1988), Frazier (1985, 1993), Libby (1981), Hayez (1993), Reyes (2003), Quiroga (1994) y Gracey (2001, 1999) reportan que las contaminaciones de los alimentos en la realidad son de tipo mixto y la posibilidad de que de forma natural se presente una contaminación pura de un grupo específico de bacterias es muy limitada. Esto indica que a pesar de la ineficacia mostrada contra la *E. coli*, a 450 ppm (concentración de uso en la planta empacadora de carnes frías) este desinfectante puede ser de utilidad, tomando en cuenta lo antes mencionado, salvo en los casos en los que el tipo de bacterias que predominen en la contaminación agregada sean del tipo coliforme o Gram negativas. (11, 12, 18, 19, 20, 22, 14, 15, 16, 24, 27, 28)

García, Efraín¹, de manera simultánea a este trabajo, realizó un estudio de conteo de organismos coliformes totales en la superficie donde es aplicado este desinfectante encontrando una media de 35,770 UFC/ml; este número, además de sobrepasar el límite propuesto en el PROY - NOM - 093 - SSA1 - 1994, puede sugerir una predominancia de bacterias coliformes en esta superficie, lo cual sería consistente con lo encontrado en el grupo 2 de este estudio, y esto último podría estar alterando la efectividad del desinfectante en la práctica. (43)

Como parte del estudio se incluyó la formación de grupos de prueba con las cepas puras, y la combinación de ambas empleando la concentración a 75,000 ppm con la finalidad de corroborar si en este caso, como lo señalan Iañes (1998), Sumano y Ocampo (1997), Booth (1997), Baynes y col (2002), al aumentar la concentración aumenta la efectividad del producto en prueba, encontrando coincidencia en los resultados obtenidos en los tres grupos; no obstante, la literatura recomienda el uso de estos desinfectantes a concentraciones muy bajas, incluso a 1 ppm, debido a su efectividad y a que son sustancias bactericidas. Bajo estas consideraciones se puede cuestionar esta afirmación en este trabajo, dado que como muestran los resultados obtenidos el desinfectante a una concentración de 450 ppm fue inefectivo contra *E. coli*, cabe destacar que los autores no mencionan las condiciones y tipo de prueba en las que se evaluó el desinfectante. (2, 3, 17, 44)

¹ García, Efraín. Tesis de licenciatura. Evaluación de la eficacia antibacteriana del programa de limpieza y sanitización aplicado en una mesa de despiece de una planta empacadora de carnes frías de la Ciudad de México.

CONCLUSIONES.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos y lo señalado por los autores, se pueden concluir lo siguiente:

- Con relación a los resultados obtenidos se concluyo que el desinfectante a la concentración de uso recomendado (450 ppm), es efectivo contra el *Staphilococcus aureus* y contra la combinación de *S. aureus* y *E. coli*, no así contra la cepa purificada de *E. coli*.
- El desinfectante usado a una concentración de 75, 000 ppm (concentración comercial) es efectivo contra ambas bacteria y la combinación de las mismas. Pero el uso de esta concentración de forma práctica puede presentar un riesgo de contaminación a los productos finales.
- Dado que la mayoría de los autores reportan que lo normal en las industrias de alimentos es el tipo de contaminación mixta, se puede señalar que este desinfectante con base a cuaternarios de amonio, en una concentración de 450 ppm es efectivo para su uso en la práctica.
- Si en la realidad la contaminación de una superficie de contacto con alimentos estuviese contaminada predominantemente con organismos coliformes, la ineficacia de este desinfectante contra bacterias Gram negativas (grupo 2) se podría corregir teóricamente aumentando la concentración de uso del desinfectante; sin embargo, al realizar esta práctica se correría el riesgo de que este producto se convirtiera en un contaminante químico del(los) producto(s) final(es), alterando la composición química de los mismos, lo que a su vez podría generar daños en los consumidores finales, por lo tanto sería necesario tomar otras medidas correctivas, como pueden ser verificar si la temperatura de uso es la recomendada por el fabricante, o si el tiempo de contacto se está apegando a esta última fuente.
- Es de suma importancia recalcar que los resultados obtenidos son específicos para este desinfectante y para las condiciones de laboratorio en las que se realizaron las pruebas.
- Es necesario que quede claro que la efectividad de los desinfectantes está en función, en cualquier caso, de la limpieza previa así como de que se cumplan las condiciones de tiempo de contacto, temperaturas de aplicación y nivel de pH.

BIBLIOGRAFIA.

1. Atlas, R.M. Ecología microbiana y microbiología ambiental. Cuarta edición. Editorial Addison Wesley. España 2002.
2. Baynes, R.E., y Abdullán, A.R. Autores del capítulo 33. Antisépticos y desinfectantes en: Farmacología y terapéutica veterinaria. Botana, L. M., Landoni, F. y Martín – Jiménez, T. Primera edición. Editorial Mc. Graw – Hill. Interamericana. España 2002.
3. Booth, N. Farmacología y terapéutica veterinaria. Vol. 2, 5ª edición. Editorial Acribia – Zaragoza. España 1997.
4. Boyce, P. Applied Pharmacology for the Veterinary technician. Segunda edición. Editorial W. B. Saunders Company. E. U. A. 2000.
5. Bradshaw. Laboratory Microbiology. Cuarta edición. Editorial Saunders college publishing. E. U. A. 1992.
6. Daniels, W. Biostatística: base para el análisis de las ciencias de la salud. Editorial Limusa. E.U.M. 1982.
7. Dirección de promoción de calidad alimentaria. Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES). SAGPyA. <http://www.alimentosargentinos.gov.ar/programa-calidad/calidad/boletin/boletin.poes.pdf>. Argentina.
8. Erro, E. Programa de prerrequisitos y sistema HACCP. <http://Fepale.org/fepale/7>.
9. Feldman, P. Información sobre alimentos, http://nutrinfo.comdar/pagina/eje/eje_2001_06_doc.
10. Fleming, D. O. Biological safety principles and processes. 3ª edición. Ed: ASM. EEUU. 2000
11. Frazier, W. Microbiología de los alimentos. 3ª edición. Editorial Acribia. España 1985
12. Frazier, W. Microbiología de los alimentos. Cuarta edición. Editorial Acribia S. A. España 1993.
13. Gómez M. Programa de saneamiento e higiene. <http://ciencias.univalle.edu.co/extension/scalidad04/mgmemorias.doc>
14. Gracey, J. Mataderos industriales, tecnología y funcionamiento. Primera edición. Editorial Acribia. España 2001.
15. Gracey, J. Meat Higiene. Decima edición Editorial W. B. Saunders Company LTD. China 1999.
16. Hayes. Microbiología e higiene de los alimentos. 1ª edición. Editorial Acribia España 1993
17. Iáñez, E. Curso de microbiología general. Tema: Acción de los agentes químicos sobre las bacterias. http://www.ugr.es/~eianez/microbiologia/19_micro.htm. España 1998.
18. ICMSF. Ecología microbiana de los alimentos. Volumen 1. Editorial Acribia. España 1980.
19. ICMSF. Microorganisms in foods 6. Microbial Ecology of foods commodities. Sexta edición. Editorial An Aspen Publication. E. U. A.2000.
20. ICMSF. Microorganisms in foods 7 microbiological testing in food safety management. Séptima edición. Editorial Kluwer Academic plenum publishers. E. U. A. 2002.
21. IRASA. Sistema de iodoformas de I.R.A.S.A. <http://www.ciu.com.uy/irasa/iodoformas.html>. Uruguay 1999.
22. Isenberg, H. Pathogenicity and Virulence: Another View. Clinical Microbiology. EEUU enero de 1988.

23. Labbé, R G. y García S. Guide to food borne pathogens. Primera edición. Editorial A John wiley & Sons inc. Publication. E. U. A. 2001.
24. Libby, J. Higiene de la carne. 2a edición. Compañía Editorial Continental S. A. México. 1981.
25. Maier. Environmental Microbiology. Primera edición. Editorial Academic Press. Canada 2000.
26. Ortega L. Manual de prácticas de microbiología veterinaria. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. U. N. A. M. México 1997.
27. Quiroga, T. Manual para la instalación del pequeño matadero modular, de la FAO. Primera edición. Editorial F. A. O. Roma 1994.
28. Reyes, P. Limpieza y desinfección en la industria alimentaria. <http://www.Quiro.vab.es/curs2-3/asig.vet/tecalimen-vet-tema10.doc>. España.
29. Sánchez-Vizcaino, J.M. Bioseguridad en las explotaciones porcinas. Puntos críticos. Centro de investigación en sanidad animal España.
30. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. NOM-004-ZOO-1994. Control de residuos tóxicos en carne, grasa, hígado y riñón de bovinos, equinos, porcinos y ovinos. Diario oficial de la federación. México 1994.
31. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. NOM-008-ZOO-1994 Especificaciones zoonosológicas para la construcción y equipamiento de establecimientos para el sacrificio de animales y dedicados a la industrialización de productos cárnicos. Diario oficial de la federación. México 1994.
32. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. NOM-009-ZOO-1994. Proceso sanitario de la carne. Diario oficial de la federación. México 1994.
33. Secretaría de Salud. NOM-034-SSA1-1993 Bienes y servicios. Productos de la carne. Carne molida y carne molida moldeada. Diario oficial de la federación. México 03 de Agosto de 1995.
34. Secretaría de Salud. NOM-065-SSA1-1993 Que establece las especificaciones sanitarias de los medios de cultivo. Generalidades. Diario oficial de la federación. México 27 de Febrero de 1995.
35. Secretaría de Salud. NOM-092-SSA1-1994 Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Diario oficial de la federación. 12 de Diciembre de 1995.
36. Secretaría de Salud. PROY-NOM-093-SSA1-1994. Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. Diario oficial de la federación México 4 de octubre de 1995.
37. Secretaría de Salud. NOM-110-SSA1-1994 Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Diario oficial de la federación. México 16 de Octubre de 1995.
38. Secretaría de Salud. NOM-114-SSA1-1994 Bienes y servicios. método para la determinación de Salmonella en los alimentos. Diario oficial de la federación. México 10 de mayo de 1995.
39. Secretaría de Salud. NOM-115-SSA1-1994 Bienes y servicios. método para la determinación de Staphylococcus aureus en los alimentos. Diario oficial de la federación. México 10 de mayo de 1995.
40. Secretaría de Salud. NOM-122-SSA1-1994 Bienes y servicios. Productos de la carne, productos carnicol curados y cocidos y curados emulsionados y cocidos. Diario oficial de la federación. México 26 de Octubre de 1995.

41. Secretaria de Salud. NOM-127-SSA1-1994 Salud ambiental, agua para uso y consumo humano, límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Diario oficial de la federación. México 18 de Enero de 1995.
42. Senasica. Manual de buenas prácticas agrícolas.
http://web2.senasica.sagarpa.gob.mx/xportal/inoqd/inegriIDoc672/manual_BPA_3.pdf.
Senasica.
43. Sheeley. Microbes in action (A laboratory manual of microbiology). 4a edición . Editorial M. H. Freeman and company. EEUU. 1991.
44. Sumano L. E. y Ocampo, C. L. Farmacología veterinaria. 2ª edición, Editorial Mc Graw – Hill interamericana. México. 1997.
45. Unda C. T. Tensó activos. Fenómenos de superficie y equilibrio de interfases.
<http://depa.pquim.unam.mx/~tundo/clasificatensoa.html>. UNAM. México.
46. Uribe, Á. C. Evaluación de antisépticos y desinfectantes contra *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Utilizando la prueba de difusión en disco. Tesis profesional. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. México 2001.

CONSULTA DE HOJAS ELECTRONICAS.

47. Guía de buenas prácticas higiénicas.
<http://www.lfesaaragon.org/obj1999/hera/paginas/conceptos/02bphmunidad03.HEML>
48. <http://www.suttley.com/espanol/productos/productos.htm>
49. <http://www.rr-america.oie.int/infogeneral/semX/farmacos2004/amonos%20cuaternarios.pdf>
50. <http://www.cienciasunivalle.edu.co/extensión/scalidad04/mgamonios.doc>
51. <http://proz.co/?sp=h&ide=681271>.
52. <http://isa.gob.mx/archivos/protocolo.doc>.
53. Sanitización limpieza y desinfección eliminación de residuos.
<http://www.lfesaaragon.org/obj1999/hera/paginas/conceptos/02bphmunidad05.HEML>.