

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.
FACULTAD DE ESTUDIOS PROFESIONALES CUAUTITLAN.



EVALUACION DE GERMICIDAS UTILIZADOS EN UN
LABORATORIO DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS Y
COSMETICOS A TRAVES DEL COEFICIENTE FENOLICO.

T E S I S

para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO.

que presenta:

PATRICIA PINEDA CARDENAS.

Director de la Tesis: Q.F.B. Valerio Hernández A.

México, 1982.



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.

C O N T E N I D O

- I.- INTRODUCCION
- II.- PARTE EXPERIMENTAL
- III.- RESULTADOS
- IV.- CONCLUSIONES
- V.- RESUMEN

I.- INTRODUCCION.

El uso de Germicidas en hospitales, clínicas, industrias comercios, oficinas y en el hogar, tiene como finalidad primordial eliminar problemas de contaminación.

La mayoría de ellos indican en el marbete qué tipo de -- microorganismos destruyen, asegurando así su acción eficaz en -- las áreas sobre las que se apliquen. Dicha seguridad puede ofrecerse después que se comprueba su -- acción, lo cual se logra probando el producto.

En el año de 1881, se publicaron una serie de trabajos -- dedicados a la desinfección proceso que, entre otros, estuvo -- estudiando durante mucho tiempo el médico alemán Robert Koch -- (10) ya que eran las infecciones la causa de la muerte de muchos pacientes.

Con los descubrimientos adquiridos, al paso del tiempo -- se supo que el daño producido por la infección se debía a mi-- croorganismos que se habían introducido en el organismo, y que la enfermedad era debida a sus toxinas (27); y que solamente -- cuando el hospedante se hace inmune, la enfermedad no puede -- desarrollarse.

Las complicaciones que una infección traen a un enfermo solo pueden ser evitadas en la medida en la que se destruyan -- los microorganismos invasores, sean éstos bacterias (14), - - - virus (26) u hongos (5), (15). Esta destrucción puede ser llevada a cabo por muchos métodos, según convenga más a cada caso; pueden por ejemplo ser aplicados métodos térmicos (19) o no térmicos por medios mecánicos, quí-- micos y radiaciones (9).

Los germicidas, son los agentes químicos de destrucción, varían en su acción según sean higienizantes (22), antisépticos o desinfectantes.

Existen en la actualidad una amplia gama de dichos agen-- tes que pueden ser utilizados según sea la necesidad. La diferente estructura química de cada uno es responsable de -- un mecanismo de acción específico sobre los microorganismos: ta

les como lesiones en pared celular, alteración de permeabilidad alteración de la naturaleza coloidal del protoplasma, interferencia de la actividad enzimática e interferencia de procesos sintéticos (9); otros actúan sobre una superficie definida, dado - que su acción se debe a mecanismos de tensión superficial (7), - (8),(20),(21); los hay que son convenientes para ser aplicados en habitaciones y superficies inanimadas; otros son especiales para ser aplicados sobre piel, o ingeridos por humanos y animales.

Tal es la diversidad conocida, que se ha visto la necesidad de una clasificación (12), en donde cada parte incluye - todavía más compuestos específicos de cada grupo, a saber:

1.- Fenol y derivados.

El fenol, ácido fénico o carbólico, es el desinfectante patrón en las evaluaciones, que desnaturaliza proteínas celulares y lesiona membrana. Son ya muy conocidos algunos de sus derivados: Cresol, xilenol, hexaclorofeno, ácido pícrico y los diferentes números de Santophen. (6),(9),(12).

2.- Halógenos.

Están representados por los compuestos del yodo: los yodoformos, que son antisépticos y también se usan para desinfectar alimentos, como los vegetales; y por los compuestos del -- cloro, que son hipocloritos y las cloraminas, generalmente usados para desinfección de agua y ropas (12), (14),(19),(25).

3.- Metales pesados.

Son sales de mercurio, plata y cobre que precipitan proteínas y actúan contra bacterias y hongos. Son los más conocidos el merthiolate, el mercurocromo y soluciones de nitrato de plata. (12),(14),(25).

4.- Jabones.

Son sales de sodio o potasio de ácidos grasos de cadena larga, cuya acción es tensoactiva, o sea que favorecen la desinfección por su acción emulsificante o espumante, además de que son comerciales si van adicionados de un perfume que les -

dé un aroma agradable (20),(21),(28).

5.- Detergentes.

Son agentes tensoactivos cuya acción se basa en su poder emulsificante, al poder combinarse con agua y grasas (8), (20),(21).

6.- Oxidantes.

Colaboran en la acción de limpieza y curación. Hay un gran número de sustancias que liberan oxígeno y que por ello, pueden ser usadas como desodorizantes, pero las más usuales -- son el agua oxigenada o peróxido de hidrógeno y el permanganato de potasio.(12),(25).

7.- Reductores.

El grupo está representado por el formaldehído, que es esporocida, y retiene además las propiedades antigénicas, porque transforma las toxinas a toxoides. Coagula proteínas, y debe ser usado con suma precaución porque se absorbe por todas -- las vías y puede causar hasta muerte (12).

8.- Ácidos y álcalis.

Su aplicación depende del pH final que desee obtenerse para conseguir destrucción de microorganismos, ya que a unos -- les favorece para crecer un pH ácido, y a otros, básico. Son -- de mencionarse: Sosa, lejía, ácido bórico, ácido salicílico, -- ácido benzoico y ácido mandélico. (12).

9.- Aerosoles desinfectantes.

Estas suspensiones de partículas sólidas o líquidas en el seno de un gas, se ponen en contacto con el exterior por el propulsor que contienen. Por su forma de propagación, además -- de desinfectar una zona amplia, aromatizan y sanean el aire. Se utilizan sales de amonio cuaternario y derivados fenólicos. (8),(28).

10.- Gases desinfectantes.

Se ocupan para aquéllos materiales que por una u otra -- razón, no pueden someterse a calor seco o húmedo, como es el -- caso de los antibióticos. Los más empleados son el óxido de --

etileno (con su equipo correspondiente) y la beta-propionolactona (19),(24),(25).

11.- Alcoholes.

Varían en su acción según el tamaño de su cadena, los más usados son el etílico y el isopropílico en soluciones acuosas al 70%, ya que el hacerlo así favorece la coagulación de proteínas y además, se evita la evaporización (12),(16),(19).

12.- Compuestos de Amonio Cuaternario.

Son detergentes catiónicos sintéticos que por ser antisépticos, fungicidas, higienizantes y desinfectantes, han merecido en la clasificación, un grupo aparte. Los más conocidos son el Roccal o Zephiran, el cetavlon, el ceepryn y el parofenol. Se aplican en desinfección de campo operatorio, heridas, exco-- rriaciones cutáneas, procesos infecciosos cutáneos, lavados vagi-- nales, lavados vesicales y oculares, instrumental quirúrgico, superficies estériles, zonas de preparación de alimentos, zonas de producción de inyectables y rotación de desinfección en plan-- tas industriales. (17),(18),(19).

13.- Aceites esenciales.

Estos líquidos oleosos, son mezclas de terpenos y de alcanfores, que pueden ser antisépticos, refrescantes, antipruri-- ginosos y expectorantes. Se puede mencionar entre ellos: esen-- cia de menta, esencia de trementina, timol del tomillo, mentol de la mentha piperita (12).

14.- Nitrofuranos.

Son bactericidas usados como drogas quimioterapéuticos, empleadas muchas veces en pomadas que se aconsejan aplicar en -- quemaduras, ulceraciones, inflamaciones. En el mercado, la más conocida es la nitrofurazona.(13),(17).

15.- Microbiostáticos.

son los colorantes: violeta de genciana, violeta de meti-- lo, verde de malaquita entre otros; y las sulfonamidas cuyo -- principal mecanismo de acción es el antagonismo metabólico o -- bloqueo enzimático (12),(13).

16.- Antibióticos.

Dada la gran cantidad de antibióticos existentes, generalmente, antes de aplicar ninguno, se practica antibiograma - pues puede así prescribirse uno de amplio espectro o uno específico, según el caso a tratar (12),(13),(17),(27).

.

Con lo anteriormente expuesto, es importante saber aplicar correctamente un producto que asegure la destrucción de los microorganismos en la zona donde se requiera, por tal motivo, los objetivos de la presente tesis son los siguientes:

- 1.- Evaluar al producto terminado como tal, para saber si el principio activo dentro de la presentación al público, rinde la eficacia que se asegura.
- 2.- Establecer las condiciones de los métodos analíticos usados.
- 3.- Lograr determinar cuales son los métodos más convenientes para cada producto.
- 4.- Ya que los métodos oficiales del A.O.A.C., recomiendan el uso de varios microorganismos, comparar como son los resultados contra uno y otro.
- 5.- Poder dar la información acerca de la dilución adecuada que se debe tener para cada producto desinfectante que se probó.
- 6.- Comparar los resultados con las indicaciones dadas por el fabricante, a fin de mejorarlas, de ser necesario.

II.- PARTE EXPERIMENTAL.

1.- DIAGRAMA DEL PLAN DE INVESTIGACION.

EVALUACION DE GERMICIDAS UTILIZADOS EN INDUSTRIA FARMACEUTICA Y COSMETICA.

Investigación Bibliográfica

Desarrollo Experimental

Coeficiente Fenólico

Método de Dilución de Uso

Productos Germicidas Aerosoles

- I. Medios
- II. Microorganismo
- III. Suspensión
- IV. Fenol
- V. Material
- VI. Técnica
- VII. Cálculos

- I. Medios
- II. Microorganismo
- III. Suspensión
- IV. Solución
- V. Material
- VI. Técnica

- I. Medios
- II. Microorganismo
- III. Suspensión
- IV. Soluciones
- V. Material
- VI. Técnica de Curva
- VII. Técnica

- I. Medios
- II. Microorganismo
- III. Material de Suspensión
- IV. Método de Suspensión
- V. Estimación Conidial
- VI. Soluciones
- VII. Material
- VIII. Técnica de Curva
- IX. Técnica

S. typhi

S. aureus

P. aeruginosa

- 1. Medios
- 2. Cultivo
- 3. Suspensión
- 4. Diluciones
- 5. Método

- 1. Medios
- 2. Cultivo
- 3. Suspensión
- 4. Diluciones
- 5. Método

- 1. Medios
- 2. Cultivo
- 3. Suspensión
- 4. Diluciones
- 5. Método

S. aureus

S. choleraesuis

- 1. Medios
- 2. Cultivo
- 3. Suspensión
- 4. Soluciones
- 5. Método de Curva
- 6. Método

- 1. Medios
- 2. Cultivo
- 3. Suspensión
- 4. Soluciones
- 5. Método de Curva
- 6. Método

S. choleraesuis

S. aureu.

P. aeruginosa

- 1. Medios
- 2. Cultivo
- 3. Suspensión
- 4. Diluciones
- 5. Dilución de uso
- 6. Método

- 1. Medios
- 2. Cultivo
- 3. Suspensión
- 4. Diluciones
- 5. Dilución de uso
- 6. Método

- 1. Medios
- 2. Cultivo
- 3. Suspensión
- 4. Diluciones
- 5. Dilución de uso
- 6. Método

T. interdigitale

- i) Cloruro de Benzalconio
- ii) O-Fenil Fenol
- iii) P-Cloro Fenol

iv) O-Fenil Fenol

2.- MATERIAL Y EQUIPO.

Sustancias, Medios, Reactivos:

Solución Salina Isotónica 0.35%

Agar antibiótico # 1

Caldo nutritivo

Caldo infusión cerebro-corazón

Agar saboreaud

Caldo saboreaud

Fenol USP

Solución de Hidróxido de Sodio 1 N.

Solución de ácido Clorhídrico 1 N.

Solución de Asparagina 0.1 %

Fenoftaleína

Isopropanol 70%

Etanol 70%

Tween 80

Agua estéril

Reactivos necesarios para la valoración del Fenol 5% p/v.

Equipo:

Autoclave

Incubador

Cronómetro

Horno

Refrigerador

Vórtex

Balanza y báscula

Atomizador

Hematocitómetro con cámara de Neubauer.

Material:

Asa de Platino para siembra de bacterias y hongos.

Tubos Pyrex: 18 x 150 y 25 x 200

Cilindros de acero inoxidable
pipetas capilares de 0.1 ml.
Portaobjetos de 1 x 1 pulgadas.
Material de vidrio y accesorios necesarios.

MÉTODOS.

A.- Método para la determinación del Coeficiente Fenólico.
Se siguió la técnica oficial descrita por el A.O.A.C.
(1),(2).

Sólo se aumentaron los siguientes puntos:

- a) Se eligió como medio de conservación al agar antibiótico # 1, (1),(2).
- b) Se eligió como medio de cultivo y traspaso al caldo nutritivo.
- c) Para el caso del *S. aureus* se utilizó además del caldo nutritivo, el caldo cerebro-corazón para impedir crecimiento en grumos.
- d) En cuanto a la preparación de la suspensión:

Primeramente se siembra el microorganismo en medio sólido. El crecimiento en este medio se suspende adicionando 3 ml. de solución salina isotónica. De éstos 3 ml. que tienen suspendido al microorganismo, se toman: 0.2 ml. de los cultivos de *Salmonella* y *Pseudomona* y 0.15 ml. del cultivo de *Staphylococcus* para pasarlos a 10 ml. del medio líquido caldo nutritivo- cada uno. Esto se repite hasta completar 4 resiembras.

e) En el caso del *S. aureus*, la primer siembra sí fué hecha en el medio sólido de agar antibiótico # 1, pero las dos siguientes fueron a caldo infusión cerebro-corazón y la cuarta y última a caldo nutritivo.

f) Para la curva standart de fenol, se valoró éste (1), (2),(3),(4) a quedar en un rango de $5 \pm 0.5\%$ p/v y se anexó una dilución más a cada curva. Esto es: las diluciones requeridas (1),(2) son:

para *Salmonella*: 1:93 y 1:100

para *Pseudomona*: 1:89 y 1:90

para *Staphylococcus*: 1:69 y 1:70

entonces, las diluciones adicionadas fueron: 1:110, 1:100 y 1:80 para cada uno, respectivamente.

g) El tiempo determinado para inocular y traspasar entre tubo y tubo fué de 30 segundos.

h) Se buscó previamente, antes de someter a la prueba a los productos, el volumen de inóculo que reprodujera las curvas oficiales, ya que estas dictan si debe haber o no crecimiento a los 5 ó 10 minutos de cada dilución.

Se probaron un gran número de volúmenes de inóculos diferentes, pero se encontró que sólo los siguientes daban la curva requerida:

Para S. typhi: 2.5 ml.

Para S. choleraesuis: 2.5 ml.

Para P. aeruginosa: 2.5 ml.

Para S. aureus: 1.5 ml.

B.- Método para probar Dilución de Uso.

Se siguió la técnica oficial descrita en el A.O.A.C. (1),(2). De la misma forma que para el método anterior se practicaron en esta otra técnica, algunas modificaciones convenientes; mismas que se establecen a continuación, y se comprende que toda la técnica restante es la oficial. Se aplican también en ésta, las correcciones en la determinación del Coeficiente Fenólico; anteriormente expuestas.

a) Como en la técnica se necesita que la suspensión de microorganismos sea la suficiente para cubrir un cierto número de cilindros, debe de calcularse cada vez el volumen correspondiente a inocular de acuerdo a que, como ya se anotó, existe un volumen definido a tomar de la suspensión de lavado para cada microorganismo, correspondiente a 10 ml. de caldo nutritivo (Ver punto (d) del método para determinación del Coeficiente Fenólico.)

b) Los trasпасos se hicieron:

Para S. choleraesuis y P. aeruginosa, el primero al medio sólido para hacer en éste la suspensión de lavado. El se-

gundo, directo de ésta suspensión al medio líquido a usar en la prueba, con incubación, éste último de 48 hrs. a 35 grados.

Para *S. aureus*, se incluyó un cultivo intermedio de 24 hrs. en caldo infusión cerebro-corazón.

c) Se anexó para cada dilución a probar, un tubo de cultivo que recibió al cilindro a los 30 minutos. El cilindro se dejó en este medio durante la incubación.

d) Los cilindros permanecieron dentro de la suspensión del microorganismo por un tiempo siempre fijo de 15 minutos.

e) Los cilindros contaminados se secaron en cada ocasión por un tiempo fijo de 30 minutos.

C.- Método para la prueba del Producto Germicida en Aerosol.

El método se describe en el A.O.A.C. (1),(2).

En la preparación de suspensiones de *S. choleraesuis* y *S. aureus* se aplicaron las mismas condiciones ya conocidas practicadas en las dos pruebas anteriores. Para esta prueba en específico las condiciones modificadas son las siguientes:

a) Los portaobjetos se secaron por un tiempo convenido de 30 minutos.

b) La distancia de aplicación del fenol y del aerosol - fué de 20 cms.

c) El tiempo de rocíado fué de 5 segundos o el correspondiente según el tiempo de nebulización.

III.- RESULTADOS.

Los resultados se exponen en tablas, para facilitar -- una rápida visualización de lo obtenido. En todas ellas, el - signo positivo indica crecimiento, y el signo negativo ausencia de crecimiento de microorganismos, de igual forma a como se ilustra en la técnica oficial (1),(2) la que indica como - debe ser el crecimiento respecto a los 5, 10 y quince minutos para cada dilución de fenol a partir de la solución al 5% y - para cada microorganismo (Ver tabla # 1).

Como se mencionó, fué necesario corregir el volumen de inóculo, por lo que se probaron varios para cada microorganismo hasta que los resultados concordaran con el patrón de re--ferencia (1),(2). Así, se obtuvo un volumen a inocular de - - 2.5 ml. para *S. typhi* (Tabla # 2); 1.5 ml. para *S. aureus* - (Tabla # 3); y 2.5 ml. para *P. aeruginosa* (Tabla # 4).

Una vez conocido el volumen de inóculo conveniente, se pudo probar cada principio activo en el producto terminado, - comenzando con diluciones muy abiertas entre sí, fijando des--pués la atención a aquéllas donde se apreciaba el cambio de - ausencia de crecimiento (dilución baja, alta concentración) a presencia de crecimiento (dilución alta, menor concentra--ción). El comenzar con diluciones muy abiertas, permite obte--ner indicios de la zona de concentraciones (o diluciones) - donde se puede encontrar aquélla que va a ser efectiva a los 10 minutos y puede llevar al coeficiente fenólico..

Cada prueba fué siempre acompañada de una curva - - standart, desechando los resultados cuando la curva no fué sa--tisfactoria. Los rangos de dilución fueron después cerrándose hasta poder apreciar abiertamente la acción del germicida, -- y dado que se tenían infinidad de diluciones probadas, las -- tablas presentadas indican solamente los resultados finales y reproducidos.

Para el Cloruro de Benzalconio se obtuvo una dilución efectiva de 1:1000 (Tabla # 5) con una dilución de 90 para el fenol, lo que al calcular dá un coeficiente de 11.11 con - la *S. typhi*. Para el orto-fenil fenol, con el mismo microorgan

nismo, se observó que sólo actúa directamente pues el cambio de ausencia a presencia de crecimiento ocurre entre la prueba directa y la dilución 1:5. Podría ser observado el cambio, pero dado que la dilución es ya casi nula, se determina que tiene un coeficiente de cero (Tabla # 6). El para-cloro fenol con la *S. typhi* a una dilución de 1:200 no permite crecimiento, pero con una 1:300 sí lo permite aún a los 15 minutos - - (Ver tabla # 7). En este caso, según dicta la técnica (1), (2) el coeficiente puede ser deducido como la dilución 1:250 y así sacar el coeficiente fenólico, quedando permitido hacer esto siempre que los resultados sean análogos. Como comprobación, se cerraron las diluciones, y efectivamente (Ver tabla # 8) la dilución activa es la de 1:250 lo que da un coeficiente de 2.77.

De la misma forma, se trabajó con los otros microorganismos; aplicando las diluciones indicadas (1),(2) para la -- referencia de fenol según la bacteria empleada. Para el *S. aureus*, el cloruro de benzalconio actúa en dilución 1:2700, - lo que le da un coeficiente fenólico de 41.53 (Tabla # 9). Siempre que la curva salga bien, puede ser calculado el coeficiente fenólico. Por ello, puede existir un cierto rango en su valor, porque este mismo germicida también tiene un coeficiente de 36 (Ver tabla # 10) cuando la dilución de la curva de fenol varía ligeramente. Cabe hacer notar que por seguridad, se prefiere el coeficiente menor. De manera similar a su resultado contra *S. typhi*, el orto-fenil fenol con *S. aureus* actúa sólo cuando no está diluido, o a una dilución pequeña de 1:5 (Como puede ser deducido de la tabla # 11) - - que al calcular, da un coeficiente de 0.08 (Tabla # 12). El para-cloro fenol dió también una ligera variación en la -- curva fenólica aunque su dilución efectiva se mantuvo constante en 800 aún al cerrar las diluciones. Por ello , al calcular contra una dilución de 65 para el fenol, su coeficiente es de 12.30 (Tabla # 13) y de 13.33 (Tabla # 14) con una

dilución de 60 en el fenol. Por último, la *Pseudomona aeruginosa* dió los siguientes coeficientes: para el cloruro de benzalconio es perfectamente visible una dilución efectiva de -- 800 (Tabla # 15) pues conforme la dilución se va haciendo -- mayor el crecimiento va aumentando poco a poco. Esta dilu- - ción, lleva a un valor de 10.00 Para el orto-fenil fenol, nue- - vamente la acción se presenta solamente en el uso del germici- - da sin diluir, lo que dá un valor de cero (Tabla # 16). El para-cloro fenol tiene una dilución de 1:250 como tentati- - vamente efectiva (Tabla # 17) que luego se comprueba dando un coeficiente de 3.12 (Tabla # 18).

Cuando en una tabla se colocan todos los resultados -- para uno de los germicidas (Tabla # 19), como el cloruro de benzalconio puede apreciarse lo siguiente: valores de coefi- - ciente fenólico para cada microorganismo y a partir de éste, el cálculo para sacar la dilución que va a recomendarse pa- - ra uso normal; que sería una parte en 720 de agua contra *S. aureus*; una en 222 contra *S. typhi* y una en 200 contra *P. aeruginosa*. Puede observarse entonces que la *Pseudomona* es la que es más resistente y requiere para destruirse, que el germicida esté más concentrado. Cuando el germicida es el orto-fenil fenol se tiene que, relativamente en los tres casos, es recomendable no hacer ninguna dilución (Tabla # 20) y uti- - lizar tal como viene el producto pues si se mezcla con agua - baja su concentración y ya no sería efectivo. El para-cloro fenol, tiene como en el caso del cloruro de benzalconio una di- - lución que es mucho mayor como efectiva contra el *S. aureus*, y se reduce notablemente contra *Pseudomona* y aún se reduce otro- - poco contra *S. typhi*. Sus valores de coeficiente permiten ob- - tener las diluciones de uso que son: 267, 75 y 55 para *S. au- - reus*, *P. aeruginosa* y *S. typhi* respectivamente (Tabla # 21)

Una vez que el coeficiente es obtenido y la dilución - de uso se ha calculado, el método para probarla (1),(2) permí- - te, si dá resultados satisfactorios, darla por segura. Cuando no existe dilución posible, no se aplica la prueba como fué -

se pretendía comprobar contra *S. choleraesuis*, *S. aureus* y *P. aeruginosa* (Tabla # 22) y de la misma forma las diluciones de uso obtenidas para cada coeficiente no permitieron crecimiento (Ver tabla # 23) en ningún caso. El hecho de que aún a los treinta minutos de acción germicida-microorganismo (Ver inciso (c) del método para probar dilución de uso), no se registre crecimiento permite aseverar que la destrucción bacteriana es total por los dos germicidas.

Los productos probados, llevan una cierta recomendación para usarse. Para el que contiene cloruro de benzalconio se dice que 60 ml. de la solución germicida en 4 litros de agua (lo que da una dilución de 1:66) desinfecta utensilios de cocina, muebles, gabinetes, utensilios de peluquería y salones de belleza; y que un litro en 50 000 lts. de agua inicial (dilución 1:50) y 250 ml. en los mismos 50 000 (dilución 1:200) semanalmente, sirven para mantener la desinfección de albercas públicas. Ahora bien, las diluciones a usar ya probadas, son: Contra salmonella 1:222, contra staphylococcus 1:720 y para pseudomona 1:200 (Tabla # 24). O sea que cualquiera de las diluciones recomendadas cubren las obtenidas y por lo tanto, destruyen esas bacterias. Se observa que la menor dilución recomendada: 1:66, es muy concentrada para las necesidades de desinfección de cualquiera de los tres microorganismos de prueba.

El producto con para-cloro fenol al 4.5%, lleva dos recomendaciones específicas: para desinfección de pisos, paredes, equipos, quirófanos, incubadoras, salas de operación, áreas estériles de laboratorios, 8 ml. se adicionan a un litro de agua (dilución 1:125), para desinfección de termómetros, instrumentos quirúrgicos, implementos de hule, equipos de anestesia y para acción esporocida, 30 ml. de germicida se adicionan a un litro de agua (Dilución 1:33). Se obtuvieron las diluciones comprobadas de 1 en 55.4, 1 en 267 y 1 en 75 para salmonella, estafilococo y pseudomona, respectivamente. Si la recomendación se--

guida fuera siempre la primera, sólo se estaría destruyendo *S. aureus* como se hace obvio (Ver tabla # 24) por la concentración. Si por el contrario, se utiliza siempre la segunda, los tres microorganismos serían destruídos.

Por último, el producto con orto-fenil fenol, se recomienda usar directamente como limpiador de habitaciones, guardarropas, cocinas, pisos, baños, sótanos, muebles, botes de basura y habitaciones de enfermos ya que destruye estafilococos y estreptococos. Los resultados fueron que los coeficientes fenólicos contra los diferentes microorganismos fueron de cero o casi cero; esto significa que no es posible hacer ninguna dilución, lo que concuerda con lo recomendado por el fabricante. (Tabla # 24).

El producto aerosol que contiene 0.12% de orto-fenil fenol en el concentrado, presenta las siguientes indicaciones: Ser desinfectante y desodorante de ambiente que combate malos olores, moho y hongos; puede usarse en el hogar y aún en prendas de vestir y ropa de bebé. Destruye estafilococo, estreptococos, mohos, hongos y gérmenes habituales de cuartos. Cuando la aplicación del aerosol demostró por los resultados impedir crecimiento bacteriano, también impidió crecimiento de hongos (Ver tabla # 25) comparando siempre los resultados contra los obtenidos por dos concentraciones de fenol diferentes para cada microorganismo ya determinadas (1),(2) lo que permitió equiparar en acción, al aerosol con la que dá una concentración de Fenol 1.25% o mayor, contra *S. aureus*; mayor de -- fenol 0.5% contra *S. choleraesuis* y mayor de fenol 1% contra *T. interdigitale* (*O mentagrophytes*, (5) según sinonimia).

Tabla # 1

COEFICIENTE FENOLICO			
METODO DE DILUCION DE USO			
Patrones de Referencia			
Salmonella Typhi:			
Diluciones Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:90	+ 6 -	+ 6 -	-
1:100	+	+	+ 6 -
1:110	+	+	+
Staphylococcus aureus:			
Diluciones Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:60	+ 6 -	+ 6 -	-
1:70	+	+	+
1:80	+	+	+
Pseudomona aeruginosa:			
Diluciones Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:80	+ 6 -	+ 6 -	-
1:90	+	+	+
1:100	+	+	+

Tabla # 2

COEFICIENTE FENOLICO				
Microorganismo: S. typhi.				
Cantidad de Inóculo. (ml.)	Diluciones de Fenol al 5 %	5 min.	10 min.	15 min.
1.5	1:90	-	-	-
1.5	1:100	+	-	-
1.5	1:110	+	+	-
2.0	1:90	-	-	-
2.0	1:100	+	+	-
2.0	1:110	+	+	-
2.5	1:90	+	-	-
2.5	1:100	+	+	-
2.5	1:110	+	+	+
Volumen de Inóculo:		2.5 ml.		

Tabla # 3

COEFICIENTE FENOLICO				
Microorganismo: <i>S. aureus</i>				
Cantidad de Inóculo (ml.)	Diluciones de Fenol al 5 %	5 min.	10 min.	15 min.
0.5	1:60	-	-	-
0.5	1:70	-	-	-
0.5	1:80	-	-	-
1.0	1:60	-	-	-
1.0	1:70	-	-	-
1.0	1:80	+	+	+
1.5	1:60	-	-	-
1.5	1:70	+	+	+
1.5	1:80	+	+	+
Volumen de Inóculo:		1.5 ml.		

Tabla # 4

COEFICIENTE FENOLICO				
Microorganismo: P. aeruginosa.				
Cantidad de Inóculo (ml.)	Diluciones de Fenol al 5%.	5 min.	10 min.	15 min.
1.5	1:80	-	-	-
1.5	1:90	+	-	-
1.5	1:100	+	+	-
2.0	1:80	+	-	-
2.0	1:90	+	+	-
2.0	1:100	+	+	+
2.5	1:80	+	-	-
2.5	1:90	+	+	+
2.5	1:100	+	+	+
Volumen de Inóculo: _____ 2.5 ml _____				

Tabla # 5

COEFICIENTE FENOLICO			
Microorganismo:		S. typhi	
Germicida:		Cloruro de Benzalconio	
Diluciones	5 min.	10 min.	15 min.
1:800	-	-	-
1:900	-	-	-
1:1000	+	-	-
1:1100	+	+	-
1:1200	+	+	+
1:1300	+	+	+
Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:90	+	-	-
1:100	+	+	-
1:110	+	+	+

P.C. = $1000/90 = 11.11$

Tabla # 6

COEFICIENTE FENOLICO			
Microorganismo:		S. typhi	
Germicida:		O- Fenil Fenol	
Diluciones	5 min.	10 min.	15 min.
Directo	-	-	-
1:5	+	+	+
1:10	+	+	+
1:15	+	+	+
1:20	+	+	+
1:25	+	+	+
Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:90	+	-	-
1:100	+	+	-
1:110	+	+	+

P.C. = 0

COEFICIENTE FENOLICO			
Microorganismo:		S. typhi	
Germicida:		P-Cloro Fenol	
Diluciones	5 min.	10 min.	15 min.
Directo	-	-	-
1:100	-	-	-
1:200	-	-	-
1:300	+	+	+
1:400	+	+	+
1:500	+	+	+
Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:90	+	-	-
1:100	+	+	-
1:110	+	+	+

$$P.C. = 250/90 = 2.77$$

Tabla # 3

COEFICIENTE FENOLICO			
Microorganismo:		S. typhi	
Germicida:		P- Cloro Fenol	
Diluciones	5 min.	10 min.	15 min.
1:100	-	-	-
1:150	-	-	-
1:200	-	-	-
1:250	+	-	-
1:300	+	+	-
1:350	+	+	+
Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:90	+	-	-
1:100	+	+	-
1:110	+	+	+

P.C. = $250/90 = 2.77$

Tabla # 9

COEFICIENTE FENOLICO			
Microorganismo:		S. aureus	
Germicida:		Cloruro de Benzalconio	
Diluciones	5 min.	10 min.	15 min.
1:2400	-	-	-
1:2500	-	-	-
1:2600	-	-	-
1:2700	+	-	-
1:2800	+	+	-
1:2900	+	+	+
Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:60	-	-	-
1:70	+	+	+
1:80	+	+	+

P.C. = 2700/65 = 41.53

Tabla # 10

COEFICIENTE FENOLICO			
Microorganismo:		<u>S. aureus</u>	
Germicida:		<u>Cloruro de Benzalconio</u>	
Diluciones	5 min.	10 min.	15 min.
1:2550	-	-	-
1:2600	--	-	-
1:2650	-	-	-
1:2700	+	-	-
1:2750	+	+	-
1:2800	+	+	+
Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:60	-	-	-
1:70	-	-	-
1:80	+	+	+

P.C. = 2700/75 = 36

Tabla # 11

COEFICIENTE FENOLICO			
Microorganismo:		<u>S. aureus</u>	
Germicida:		<u>O- Fenil Fenol</u>	
Diluciones	5 min.	10 min.	15 min.
Directo	-	-	-
1:10	+	+	+
1:20	+	+	+
1:30	+	+	+
1:40	+	+	+
1:50	+	+	+
Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:60	-	-	-
1:70	+	+	+
1:80	+	+	+

P.C. = $5/65 = 0.07$

Tabla # 12

COEFICIENTE FENOLICO			
Microorganismo:		S. aureus	
Germicida:		O- Fenil Fenol	
Diluciones	5 min.	10 min.	15 min.
Directo	-	-	-
1:5	+	-	-
1:10	+	+	+
1:15	+	+	+
1:20	+	+	+
/	/	/	/
Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:60	-	-	-
1:70	+	+	+
1:80	+	+	+

P.C. = $5/60 = 0.08$

Tabla # 13

COEFICIENTE FENOLICO			
Microorganismo:	S. aureus		
Germicida:	P- Cloro Fenol		
Diluciones:	5 min.	10 min.	15 min.
1:500	-	-	-
1:600	-	-	-
1:700	-	-	-
1:800	+	-	-
1:900	+	+	+
1:1000	+	+	+
Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:80	-	-	-
1:70	+	+	+
1:80	+	+	+

P.C. = $800/65 = 12.30$

Tabla # 14

COEFICIENTE FENOLICO			
Microorganismo:		S. aureus	
Germicida:		P- Cloro Fenol	
Diluciones	5 min.	10 min.	15 min.
1:700	-	-	-
1:750	-	-	-
1:800	+	-	-
1:850	+	+	-
1:900	+	+	+
1:950	+	+	+
Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:60	+	-	-
1:70	+	+	+
1:80	+	+	+

P.C. = $800/60 = 13.33$

Tabla # 15

COEFICIENTE FENOLICO			
Microorganismo:		P. aeruginosa	
Germicida:		Cloruro de Benzalconio	
Diluciones:	5 min.	10 min.	15 min.
1:600	-	-	-
1:700	-	-	-
1:800	+	-	-
1:900	+	+	-
1:1000	+	+	+
1:1100	+	+	+
Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:80	+	-	-
1:90	+	+	+
1:100	+	+	+

P.C. = 800/80 = 10.00

Tabla # 16

COEFICIENTE FENOLICO			
Microorganismo:	P. aeruginosa		
Germicida:	O- Fenil Fenol		
Diluciones	5 min.	10 min.	15 min.
Directo	-	-	-
1:5	+	+	+
1:10	+	+	+
1:15	+	+	+
1:20	+	+	+
1:25	+	+	+
Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:80	+	-	-
1:90	+	+	+
1:100	+	+	+

P.C. = 0

Tabla # 17

COEFICIENTE FENOLICO			
Microorganismo:		P. aeruginosa	
Germicida:		P - Cloro Fenol	
Diluciones	5 min.	10 min.	15 min.
Directo	-	-	-
1:100	-	-	-
1:200	-	-	-
1:300	+	+	+
1:400	+	+	+
1:500	+	+	+
Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:80	+	-	-
1:90	+	+	+
1:100	+	+	+

P.C. = $250/80 = 3.12$

Tabla # 18

COEFICIENTE FENOLICO			
Microorganismo:		P. aeruginosa	
Germicida:		P- Cloro Fenol	
Diluciones	5 min.	10 min.	15 min.
1:100	-	-	-
1:150	-	-	-
1:200	-	-	-
1:250	+	-	-
1:300	+	+	+
1:350	+	+	+
Fenol 5%	5 min.	10 min.	15 min.
1:80	+	-	-
1:90	+	+	+
1:100	+	+	+

P.C. = $250/80 = 3.12$

Tabla # 19

CLORURO DE BENZALCONIO EN SOLUCION AL 10%						
Microorganismo	Dilución	Tiempo			Coeficiente Fenólico.	Dilución de Uso.
		5'	10'	15'		
Staphylococcus aureus.	1:2700	+	-	-	$2700/75 = 36$	$36(20) = 720$
Salmonella typhi.	1:1000	+	-	-	$1000 / 90 = 11.11$	$11.11(20) = 222$
Pseudomona aeruginosa	1:800	+	-	-	$800 / 80 = 10$	$10(20) = 200$

Tabla # 20

ORTO - FENIL FENOL, SOLUCION AL 0.12%

Microorganismo	Dilución	Tiempo			Coeficiente Fenólico	Dilución de Uso
		5'	10'	15'		
Staphylococcus aureus	1:5	+	-	-	5/60 = 0.08	casi directo...
Salmonella typhi	Ninguna	-	-	-	Cero	Directo
Pseudomona aeruginosa	Ninguna	-	-	-	Cero	Directo

Tabla # 21

PARA - CLORO FENOL, SOLUCION AL 4.5%

Microorganismo	Dilución	Tiempo			Coeficiente Fenólico	Dilución de uso
		5'	10'	15'		
Stapnylococcus aureus	1:800	+	-	-	$800 / 60 = 13.33$	$13.33(20) = 267.$
Pseudomona aeruginosa	1:300	+	-	-	$300 / 80 = 3.75$	$3.75(20) = 75$
Salmonella typhi	1:250	+	-	-	$250 / 90 = 2.77$	$2.77(20) = 55.4$

Tabla # 22

METODO DE DILUCION DE USO						
Germicida: Cloruro de Benzalconio.						
Diluciones: CF=11.11 (11)(20)=222 1:122		CF=36 (36)(20)=720 1:720		CF=10 (10)(20)=200 1:200		
Tubo	S. choleraesuis		S. aureus		P. aeruginosa	
	10 min.	30 min.	10 min.	30 min.	10 min.	30 min.
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-

Tabla # 23

METODO DE DILUCION DE USO						
Germicida: P- Cloro Fenol.						
Diluciones: CF=2.77 (3)(20)=60 1:60			CF=12.30 (12)(20)=240 1:240		CF=3.12 (3)(20)=60 1:60	
Tubo	S. choleraesuis		S. aureus		P. aeruginosa	
	10 min.	30 min.	10 min.	30 min.	10 min.	30 min.
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-

Tabla # 24

Principio Activo	Recomendación del Fabricante	Salmonella typhi	Staphylococcus aureus	Pseudomona aeruginosa
Cloruro de Benzalconio (10%)	60 ml. en 4 Litros de agua (1:66)	1:222	1:720	1:200
para-Cloro Fenol al 4.5%	Para esterilizar: 8 ml. en un litro de agua. (1:125) Como esporocida: 30 ml. en un litro de agua. (1:33)	1:55.4	1:267	1:75
orto-Fenil Fenol al 0.12%	Directo, para aspersores	Directo	1:1.6	Directo

Tabla # 25

PRODUCTOS GERMICIDAS AEROSOLES									
Staphylococcus aureus			Salmonella choleraesuis				Trichophyton interdigitale.		
T u b o	Fenol		O-Fenil Fenol	Fenol		O-Fenil Fenol	Fenol		O-Fenil Fenol
	1.25%	2%		0.5%	1.5%		1%	1.5%	
1	+	-	-	+	-	-	+	-	-
2	+	-	-	+	-	-	+	-	-
3	+	-	-	+	-	-	+	-	-
4	+	-	-	+	-	-	+	-	-
5	+	-	-	+	-	-	+	-	-
6	+	-	-	+	-	-	+	-	-
7	+	-	-	+	-	-	+	-	-
8	+	-	-	+	-	-	+	-	-
9	+	-	-	+	-	-	+	-	-
10	+	-	-	+	-	-	+	-	-

IV.- CONCLUSIONES.

- 1.- Los productos probados, mantendrán sus aseveraciones de eficiencia como válidas siempre que las condiciones durante su uso, sean similares, en cuanto sea factible, a aquéllas dentro de las cuales se realizó la evaluación.
- 2.- La técnica oficial (1),(2) y todas las modificaciones y pasos anexos que han quedado determinados establecen las condiciones de un método analítico completo.
- 3.- Conviene aumentar una última dilución en los patrones de referencia para asegurar una curva definida.
- 4.- La reproducibilidad de los resultados pudo obtenerse gracias a la atención de tener siempre bajo el mayor control posible, aspectos de la técnica tales como: Medios, material y ambiente estéril; microorganismos en plena función (lo que se puede afirmar por los traspasos efectuados, uso de cepas determinadas y el comportamiento en la última dilución de la curva para coeficiente fenólico y dilución de uso, así como en la correspondiente para la prueba del aerosol); solución de fenol mantenida en una concentración de 5% \pm 0.5% p/v; temperatura de 22 grados -- (ambiental); cronometraje; material individual; programa de ejecución de pruebas; número y clase de microorganismos; cuidado en la preparación de todas las diluciones; igualdad en la preparación de suspensiones de microorganismos.
- 5.- En ciertos microorganismos, el crecimiento es de tal forma que no facilita la ejecución conveniente de la prueba. Debe ser buscada entonces la modificación correcta - que arregle los impedimentos que se presenten. Este fué el caso del Staphylococcus aureus: su crecimiento en grumos impedía efectuar la prueba. Esto se evitó al encon-

trar que su crecimiento en caldo infusión cerebro-cora-- zón, es el adecuado, por esto es que se traspasó siempre el cultivo de S. aureus a dicho medio.

Esto ayuda además a que una cepa en vez de ser desechada pueda volver a ser útil.

- 6.- El método para probar la dilución de uso puede tener muchas modificaciones y así servir para probar otros aspectos del mismo germicida (9). En este trabajo su función consistió en comprobar el valor obtenido para coeficiente fenólico, probar como tal la dilución que por éste, - puede sacarse para ser recomendada, y saber si el germicida probado tiene acción bactericida o solamente bacteriostática. Las diluciones probadas de cloruro de benzal conio y para-cloro fenol son bactericidas (Tablas 22 y 23) porque no se observó crecimiento a través del tiempo.
- 7.- Del punto anterior se desprende que a la solución de - - orto-fenil fenol que no admite dilución alguna y cuyo -- coeficiente es cero, es impropio practicarle la prueba - de coeficiente fenólico. De cualquier forma, al haberle hecho la prueba se comprobó que es eficaz siempre y cuando ya no se reduzca más su concentración. Esto es: a cada producto le corresponde un método para ser probado.
- 8.- Del producto en solución que contiene cloruro de benzal conio al 10%, y que se sabe es un potente germicida (17) (18),(19) puede afirmarse que se comprobó su poder. Se - obtuvieron sus coeficientes fenólicos: 11.11 para S. - - typhi, 10.0 para P. aeruginosa; y 36 para S. aureus - -- (Tablas 5, 10 y 15). Sus diluciones de uso: 1:222 contra salmonella, 1:200 contra pseudomona y 1:720 contra estafilococo (Tabla # 19); y el hecho de saber que puede haber un ahorro de desinfectante, pues la actual reco

mendación establece una concentración mayor de la que -
necesaria y realmente es eficaz.

- 9.- Del producto en solución que contiene orto-fenil fenol -
al 0.12% se concluye que: Es eficaz al usarse directamen-
te tal y como normalmente se recomienda usar. Por su uso
directo, carece de coeficiente fenólico lo cual no quie-
re decir que no sea activo.

- 10.- Del producto en solución que contiene para-cloro fenol -
al 4.5% se obtuvieron sus coeficientes fenólicos: 2.77
para *S. typhi*, 3.12 para *P. aeruginosa*; 13.33 para *S. --*
aureus (Tablas 8, 14 y 18); sus diluciones de uso: - -
1:55.4 contra salmonella, 1:75 contra pseudomona y 1:267
contra estafilococo (Tabla # 21) y la siguiente suge--
rencia: Si han de mantenerse las recomendaciones actua--
les, especificar hasta qué punto resulta efectiva cada -
dilución indicada; o sea, debe ser aclarado que la dilu-
ción 1 en 125 no destruye ni salmonella ni pseudomona, y
que la dilución 1 en 33 es para lograr una plena esterili-
zación (Tabla # 24). Cabe hacer notar que asegurar -
esta dilución (1:33) como esporocida es objeto de otra
prueba específica, misma que no fué comprendida en el --
presente.

- 11.- Del producto aerosol cuyo principio activo es el orto-fe-
nil fenol se afirma que es bactericida y fungicida (Ta-
bla # 25) ya que se probó bajo un método conveniente --
y específico a la presentación en aerosol.

- 12.- Todos los coeficientes fenólicos obtenidos están referi-
dos a la concentración básica del producto. Podría pensar-
se que es válido hacer una analogía para deducir el coe-
ficiente fenólico de otras concentraciones tomando como

punto de partida los obtenidos, pero dado que todos estos métodos involucran microorganismos vivos y que se obtuvo experiencia práctica sobre el tema al probar otras concentraciones iniciales a fin de conocer mejor los métodos, - permiten afirmar que tal analogía no es recomendable. Esto significa que cada vez que se requiera obtener un coeficiente fenólico de un producto de diferente concentración a la que se utilizó en este trabajo, aunque sea el mismo principio activo, debe ser efectuada la prueba completa.

13.- Otro de los objetivos marcados era comparar los resultados entre uno y otro de los microorganismos. Al respecto se concluye que en todos los casos, los coeficientes obtenidos para pseudomona y salmonella son menores que para esta filococo. Esto indica que esos dos microorganismos son -- más resistentes . La importancia de esto es grande, y radica en el hecho de que generalmente tanto teóricamente (18) como en la práctica actual, la referencia ha sido siempre el estafilococo, o sea el menos resistente. Esto es motivo de atención , en lo sucesivo debería ampliarse la información sobre la acción de cada desinfectante sobre salmonella y pseudomona y al someterse a prueba cualquier producto, realizar dicha prueba contra los tres microorganismos, puesto que así, al determinarse la dilución a ser -- usada, cabría la seguridad de que dicha dilución destruye por completo todo tipo de microorganismos.

14.- Por lo anteriormente expuesto, y sobre todo, por la importancia que posee el último punto tratado, se reconoce que se han sentado bases para la realización de nuevas experiencias, evaluaciones más convenientes y otros estudios que impidan la contaminación.

V. - RESUMEN

RESUMEN.

El presente trabajo, muestra los resultados sobre la evaluación de cuatro productos terminados para uso industrial y comercial, fabricados por un laboratorio de farmacéuticos y cosméticos, el cual tiene el interés de conocer la eficiencia de sus productos y los métodos para evaluarlos.

Dichos productos están elaborados en base a los principios activos: Cloruro de benzalconio en solución al 10%; orto-fenil fenol en solución al 0.12% y como concentrado del aerosol al mismo porcentaje; y para-clo-ro fenol en solución al 4.5%.

La evaluación fué llevada a cabo siguiendo los métodos oficiales descritos en el A.O.A.C. (1),(2) de los que se realizan : Determinación de Coeficiente Fenólico, Dilución de uso y prueba para germicidas en Aerosol empleando como microorganismos de prueba: Staphylococcus aureus, Salmonella choleraesuis, Salmonella typhi, Pseudomona aeruginosa y Trichophyton interdigitale.

Los resultados se expresan en tablas, de las que se obtienen los datos para determinar el coeficiente fenólico por el cálculo correspondiente; dilución conveniente de uso; comprobación de la eficacia del aerosol y comparación contra las recomendaciones del fabricante.

De una forma general, se afirma que los productos terminados sometidos a prueba son eficaces y que la información que se amplió sobre ellos por éste, per

VI.- BIBLIOGRAFIA

- (1)....Official Methods of Analysis of The Association of - -
Official Analytical Chemists. A.O.A.C.
Association of Official Analytical Chemists.
Twelfth Edition.
William Horwitz, Editor.
U.S.A. , 1975.
- (2)....Official Methods of Analysis of The Association of - -
Official Analytical Chemists. A.O.A.C.
Association of Official Analytical Chemists.
Thirteenth Edition.
William Horwitz, Editor.
U.S.A., 1980.
- (3)...Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos.
Secretaría de Salubridad y Asistencia.
México, D.F. 1978.
- (4)...United States Pharmacopeia.
Twenty Edition.
U.S.A., 1980.
- (5)...Medical Mycology.
Emmons W., Chester; Benford H. Chapman; Utz P., John.
Second Edition.
LEA & FEBIGER.
Philadelphia, 1970.
- (6)...Microbiología.
Cervera Ernesto; Berron, M.N.
Cuarta Edición.
Editorial Porrúa, S.A.
México, 1959.
- (7)...Surface Active Agents.
Schwartz, A.M. & Perry, J.W.

Interscience Publishers.
New York, 1959.

(8)...Introducción a la Fisicoquímica de Superficies.

Toral, M.T.
Editorial Urmo.
México, 1974.

(9)...Microbiología.

Pelczar, M.J., Reid, R.D.;
Segunda Edición.
Mc. Graw-Hill.
México 1966.

(10)...Hombres Contra Microbios.

Von Drigalski, Wilhelm.
Trad.: Q.F.I. I. Rodrigo.
Editorial Labor, S.A.
México, 1957.

(11)...La Vida bajo el Microscopio.

Jéroveç, Otto; Boucek, Bedrich; Fiala, Jiri.
Queromon, Editores, S.A.
México, 1974.

(12)...Farmacología.

Litter, Manuel.
Tercera edición.
El Ateneo, Editorial.
México, 1964.

(13)...Diccionario de Especialidades Farmacéuticas.

Vigésima sexta edición. (1980)
Ediciones P.L.M., S.A.

- (14)...The Microbial World.
Stanier, Y., Roger, Doudoroff Michael & Adelberg A.,
Edward.
Prentice Hall, Inc.
U.S.A., 1963.
- (15)...Introducción a la Micología.
Alexopoulos, Constantine John.
Editorial Universitaria de Buenos Aires.
Argentina, 1966.
- (16)...General Microbiology.
Walter G., William & Macbee H., Richard.
D. Van Nostrand Company Inc.
U.S.A., 1965.
- (17)...The Dispensatory of United States of America.
Wood, H.C., Lawall Charles, Young Ken, H.W., Anderson
J.F., Griffith, I.
Twenty First Edition.
- (18)...Disinfection, Sterilization and Preservation.
Block I., & Seymour S.
LEA & FEBIGER.
Philadelphia, 1977.
- (19)...Farmacia práctica de Remington.
Cook E.F., Martin E.W., Evallen; Osol; Tice; Van Meter.
Segunda Edición.
Editorial UTEHA.
México, 1965.
- (20)...Fisicoquímica de Superficies y Sistemas Dispersos.
Toral, M.T.

Editorial Urmo.
México, 1973.

(21)...Introduction To Colloid & Surface Chemistry.

Shaw D.J.
Butterworths.
Second Edition.
London, 1970.

(22)...Tesis: "Buenas Prácticas de Manufactura en la Fabricación de Líquidos Inyectables en la Industria Farmacéutica".

Guillermo Carrasco Acevedo.
U.N.A.M.
Facultad de Estudios Profesionales Cuautitlán.
México, 1980.

(23)...The Merck Index.

Merck & Co., Inc.
Rahway N.J.
Eighth Edition.
U.S.A., 1968.

(24)...The Theory & Practice of Industrial Pharmacy.

Lachman, Leon, Lieberman A., Herbert., Kanig L., - - -
Joseph.
Second Edition.
LEA & FEBIGER.
Philadelphia, 1976.

(25)...Fundamentals of Microbiology.

Frobisher, Martin., Hinsdell D., Ronald., Crabtree T.,
Koby., Goodheart R., Clyde.
Ninth Edition.

W.B. Saunder Company.
Philadelphia, 1974.

- (26)...Manual de Microbiología Médica.
Jawetz, E., Melnick L., Joseph; Adelberg A., Edward.
Editorial El Manual Moderno, S.A.
México, 1977.
- (27)...Microbiology.
Davis D., Bernard; Dulbecco Renato; Eisen N. Herman; -
Ginsberg S., Harold; & Wood Jr., W., Barry.
Second Edition.
Harper International Edition, Medical Department.
Harper & Row Publishers.
New York, 1973.
- (28)...Fundamentos de Fisico-Química.
Maron Samuel H., Prutton Carl F.
Editorial Limusa, S.A.
México, 1975.
- (29)...Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas.
Volumen 12 No. 2
Asociación Farmacéutica Mexicana.
XIV Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas
T-24 p.36
Octubre 1981.