

126 Zujarr

# Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



## USO DE LAS PLACAS DE CONTACTO PARA EVALUAR LA EFICIENCIA DEL LAVADO Y DESINFECCION DE EQUIPO PARA BIOTERIO

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A

**JOSE ANDRES HERRAN GUDIÑO**

ASESORES: M.V.Z. CIRO LOMELI FLORES  
M.V.Z. EDUARDO TELLEZ Y REYES RETANA

MEXICO, D. F.

1981



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## I N D I C E

	Pag.
I RESUMEN .....	1
II INTRODUCCION.....	2
III MATERIAL Y METODOS.....	3
IV y V RESULTADOS Y DISCUSION.....	9
VI CONCLUSIONES .....	21
VII BIBLIOGRAFIA .....	33

INDICE DE CUADROS Y GRAFICAS.

CUADRO 1:	PLACAS DE CONTACTO CON MAS DE 200 COLONIAS DESPUES DE 24 HRS. DE IN CUBARLAS A 37°C.	PAG. 10
CUADRO 2:	RESUMEN: PORCENTAJE DE PLACAS DE CONTACTO CON MAS DE 200 COLONIAS Y EL NUMERO PROMEDIO DE COLONIAS POR PLACA, EN LAS DIFERENTES ESPECIES INMEDIATAMENTE DESPUES DEL LAVADO A LAS 12 HRS. Y 24 HRS. DESPUES DEL MISMO, EN EL EQUIPO PARA RATAS.	" 11
CUADRO 3:	RESULTADO DEL ANALISIS DE VARIANZA DE 1 RUTA, DE LAS DIFERENCIAS EN EL NUMERO DE COLONIAS POR PLACA, INMEDIATAMENTE DESPUES DEL LAVADO, EN EL EQUIPO CORRESPONDIENTE A RATON, RATA Y CUYO DE LA PRUEBA DE SCHEFFE APLICADA A LAS MISMAS DIFERENCIAS.	" 16
CUADRO 4:	TIEMPO DE APLICACION DEL CHORRO DE VAPOR POR UNIDAD DE SUPERFICIE, EN LAS JAULAS DE RATON, RATA Y COBAYO.	" 17
CUADRO 5:	RESULTADO DEL ANALISIS DE VARIANZA DE 1 RUTA, DE LAS DIFERENCIAS EN EL NUMERO DE COLONIAS POR PLACA, INMEDIATAMENTE, 12 Y 24 HRS. DESPUES DEL LAVADO Y DE LA PRUEBA DE SCHEFFE, APLICADA A LAS MISMAS DIFERENCIAS, EN EL EQUIPO PARA RATA.	" 18
GRAFICA 1:	APLICACION DEL PROCEDIMIENTO "A" PARA VERIFICAR EL NUMERO DE COLONIAS POR PLACA ANTES Y DESPUES DE ESTE, EN EL EQUIPO PARA RATON, RATA Y CUYO.	" 23
GRAFICA 2:	APLICACION DEL PROCEDIMIENTO "B" PARA VERIFICAR EL NUMERO DE COLONIAS POR PLACA ANTES Y DESPUES DE ESTE, EN EL EQUIPO PARA RATON, RATA Y CUYO.	" 24
GRAFICA 3:	APLICACION DEL PROCEDIMIENTO "C" PARA VERIFICAR EL NUMERO DE COLONIAS POR PLACA ANTES Y DESPUES DE ESTE, EN EL EQUIPO PARA RATON, RATA Y CUYO.	" 25

GRAFICA 4:	NUMERO DE COLONIAS POR PLACA, EN ELEQUIPO PARA RATON, UTILIZANDO LOS PROCEDIMIENTOS "A", "B" Y "C" ANTES Y DESPUES DE APLICADOS LOS MISMOS.	PAG. 26
GRAFICA 5:	NUMERO DE COLONIAS POR PLACA, EN ELEQUIPO PARA RATA, UTILIZANDO - LOS PROCEDIMIENTOS "A", "B" Y "C" ANTES Y DESPUES DE APLICADOS LOS MISMOS.	" 27
GRAFICA 6:	NUMERO DE COLONIAS POR PLACA, EN EL EQUIPO PARA CUYO, UTILIZANDO LOS PROCEDIMIENTOS "A", "B" Y "C" ANTES Y DESPUES DE APLICADOS LOS MISMOS.	" 28
GRAFICA 7:	NUMERO DE COLONIAS POR PLACA, APLICANDO EL PROCEDIMIENTO "A" EN EL EQUIPO PARA RATA, ANTES, INMEDIATAMENTE DESPUES, A LAS 12 HRS., 24 HRS. Y 48 HRS. DE REALIZADO EL MISMO.	" 29
GRAFICA 8:	NUMERO DE COLONIAS POR PLACA, APLICANDO EL PROCEDIMIENTO "B" EN EL EQUIPO PARA RATA, ANTES, INMEDIATAMENTE DESPUES, A LAS 12 HRS., 24 HRS. Y 48 HRS. DE REALIZADO EL MISMO.	" 30
GRAFICA 9:	NUMERO DE COLONIAS POR PLACA, APLICANDO EL PROCEDIMIENTO "C" EN EL EQUIPO PARA RATA, ANTES, INMEDIATAMENTE DESPUES, A LAS 12 HRS., 24 HRS. Y 48 HRS. DE REALIZADO EL MISMO.	" 31
GRAFICA 10:	GRAFICA QUE MUESTRA EL NUMERO DE COLONIAS POR PLACA, UTILIZANDO LOS PROCEDIMIENTOS "A", "B" Y "C" EN EL EQUIPO PARA RATA, ANTES, INMEDIATAMENTE DESPUES, A LAS 12 HRS., 24 HRS. Y 48 HRS. DE REALIZADOS LOS MISMOS.	" 32

USO DE LAS PLACAS DE CONTACTO  
PARA EVALUAR LA EFICIENCIA  
DEL LAVADO Y DESINFECCION  
DE EQUIPO PARA BIOTERIO.

JOSE ANDRES HERRAN GUDINO.

ASESORES: M.V.Z. CIRO LOMELI FLORES.  
M.V.Z. EDUARDO TELLEZ Y REYES RETANA.

En el presente trabajo experimental se evalúa la eficiencia de 3 procedimientos de lavado y desinfección de jaulas para ratones, ratas y cobayos de laboratorio.

El método bacteriológico seleccionado para medir la carga biológica presente en las superficies muestreadas, es el de las Placas de Contacto, que es una adaptación del sistema de Placas RODAC, que se implementó ante la imposibilidad de conseguir en México las placas antes mencionadas.

Los procedimientos de lavado y desinfección que se evalúan, consisten en una combinación de temperatura y desinfección química para lograr la destrucción de las formas vegetativas de los microorganismos patogénicos y la reducción de la carta microbiológica.

Los resultados obtenidos indican que ninguno de los 3 procedimientos analizados fueron capaces de reducir el número de colonias por placa inmediatamente después del lavado, hasta los valores que generalmente se consideran como adecuados. Las diferencias en el número promedio de colonias por placa en las jaulas de las diferentes especies tratadas con un mismo procedimiento, nos indican una pérdida de eficiencia en relación al tamaño de la jaula, además de las diferencias obvias que significan las diferentes especies animales.

En ninguno de los 3 procedimientos se obtienen los resultados deseados; sin embargo se puede considerar que el procedimiento "C" es el mejor, porque el número promedio de colonias por placa inmediatamente después del lavado es menor que con el procedimiento "B", la velocidad de repoblación bacteriana es menor que con el procedimiento "A", además de que no se introduce ningún compuesto químico en el micro ambiente del animal que pudiera interferir con los resultados de su uso en investigación.

De la experiencia obtenida en este trabajo se deduce la importancia de evaluar experimentalmente los métodos de lavado y desinfección en el Bioterio para que en base a los resultados, se seleccione el procedimiento más adecuado, de acuerdo con los recursos disponibles y las necesidades particulares de cada lugar.

## II. INTRODUCCION.-

Desde la década de los sesentas, se han llevado a cabo diversos estudios para definir la importancia del medio ambiente en las instalaciones dedicadas al cuidado de la salud humana, para evitar la transmisión de infecciones en los hospitales (1,2,3,4,5,6). Este medio ambiente favorece las infecciones, observándose que ocurre una interacción altamente compleja entre los microorganismos, las rutas de transmisión, el huésped y las infecciones adquiridas. (7)

La mayoría de los datos publicados disponibles sobre el muestreo microbiológico de instituciones médicas, se han derivado de estudios efectuados, en las instalaciones dedicadas al cuidado de la salud humana, particularmente en los hospitales. En estos sitios, los individuos hospitalizados sufren situaciones de tensión que los predisponen a adquirir ciertas enfermedades llamadas de hospital.

Debido a que los animales de laboratorio están sujetos en muchas ocasiones a las mismas formas de tensión (stress), se considera de utilidad la aplicación de programas de muestreo microbiológico ambiental en los bioterios; que permitan establecer medidas para evitar que los animales sufran este tipo de padecimientos.

Sin embargo, se ha recomendado por razones prácticas y económicas, (7, 8) que los programas de muestreo bacteriano, sean conducidos hacia metas específicas, tales como:

- a) evaluar los procedimientos de limpieza,
- b) evaluar un nuevo desinfectante,
- c) controlar los brotes de enfermedades específicas,
- d) identificar áreas problema determinadas.

Son en particular importantes la programación y definición del objetivo de los sistemas de control de la contaminación, en el caso de las instalaciones para animales de laboratorio, debido a que el grado de contaminación en estos lugares es mayor, -

comparado con las condiciones hospitalarias, resultando en ocasiones, que los muestreos son prácticamente imposibles de evaluar. ( 8 )

Considerando la utilidad práctica que puede reportar el conocer la eficiencia y las ventajas de los procedimientos de lavado y desinfección del equipo usado en los bioterios, ( 9, 10 ) en este trabajo se propone llevar a cabo, un programa para evaluar la eficiencia del procedimiento de lavado y desinfección del equipo del Bioterio de la División de Investigación de la Facultad de Medicina de la UNAM, utilizando Placas de Contacto.

### III MATERIAL Y METODOS.-

#### A MATERIAL.

##### 1. Animales:

- a ) 180 ratones, Mus musculus, descendientes de la cepa - CrL:CD-1 ( ICR ) GN; de 30 - 35 g de peso, de los cuales son 30 machos y 150 hembras.
- b ) 120 ratas, Ratus norvegicus, cepa Wistar de 250-300 g de peso, de los cuales son 30 machos y 90 hembras.
- c ) 60 cobayos, Cavia porcellus, raza inglesa, de pelo corto de 450 - 1000 g de peso, de los cuales son 10 machos y 50 hembras.

##### 2. Alojamiento:

- a ) 30 jaulas para ratón, tipo "caja de zapatos", de plástico acrílico, de piso sólido, con las siguientes dimensiones totales: 29.5 cm de largo x 19.5 cm de ancho por 15 cm de altura, con una área de piso de - - 575.2 cm<sup>2</sup>. Tienen tapa de aluminio y malla galvanizada, comedero y bebedero. Como material de cama se usará viruta de madera de pino, sin tratamiento previo.
- b ) 30 jaulas para rata, tipo "caja de zapatos", de plástico acrílico, de piso sólido, con las siguientes dimensiones totales: 40 cm de largo x 25 cm de ancho x

20 de altura, con una área de piso de  $1000 \text{ cm}^2$ . Tienen tapa de aluminio y malla de alambre galvanizado, comedero y bebedero. Como material de cama se empleó viruta de madera de pino, sin tratamiento previo.

- c) 30 jaulas para cobayos, de piso y paredes sólidas, de fibra de vidrio, que tienen las siguientes dimensiones: 88.5 cm de largo x 60.5 cm de ancho x 25 cm de altura, con una área de piso de  $5354.2 \text{ cm}^2$ , sin tapa, con comedero y 2 bebederos. Como material de cama se empleó viruta de madera de pino sin tratamiento previo.

Los animales se alojaron en instalaciones no especializadas, destinando cuartos separados para cada especie, con una área de piso de  $42 \text{ m}^2$ ,  $40 \text{ m}^2$  y  $12 \text{ m}^2$ , para ratones, ratas y cobayos respectivamente. Se dispone de iluminación artificial con una periodicidad de 12:12 - hs. luz-obscuridad y la ventilación se realiza por medio de la regulación manual de las ventilas.

### 3 Equipo:

- a) Máquina lavadora marca Clayton \* "el Diablito 100", que trabaja con vapor a presión, la cual mezcla proporciones adecuadas de agua y detergente a presión y alta temperatura. Cuenta con quemador para petróleo diáfano, motor eléctrico, monofásico a prueba de goteo, para trabajo continuo y protección térmica, (115 v 60 cps), con 1/2 H.P. de potencia y con manguera para limpieza a vapor de 7.6 mm.
- b) Tanque de inmersión de concreto, con las siguientes dimensiones: 1.44 m de largo x 0.91 m de ancho x 0.62 m de profundidad, con capacidad para 815 l.

### 4 Desinfectantes:

- a) Halogenados: "Iodet", \*\* de C.V.

\* Clayton de México, S.A.

\*\* "Iodet", fabricado por Dubois Mexicana, S.A. de C.V.

Compuesto Yodóforo soluble en agua, con ligero olor a yodo y gran estabilidad. PH = 2.7 ( solución conteniendo 2 g por litro ). Ingrediente activo: complejo de yodo nonilfenoxipolietoxietanol.

b) Detergente Catiónico:

"Kermeed" \*

Contiene: sustancias alcalinas, ( entre ellas sosa ), carbonatos y sales de sodio, un agente tensioactivo y un ablandador de agua ( fosfato ).

5 Reactivos:

a) Medio de cultivo: "Microbial Content Test Agar" \*\*

Contiene agar con caseína, soya, peptona, polisorbato 80 y lecitina, que hidratado sin previo calentamiento, tiene un ph de 7.3 a 25°C.

6 Equipo de Laboratorio:

- a) Autoclave.
- b) Incubadora.
- c) Contador de colonias.
- d) Campana de flujo laminar.

7 Material de Laboratorio:

- a) Cajas de Petri desechables de 100 x 15 mm.
- b) Placas de Contacto desechables de 48 x 8.5 mm

Son cajitas de Petri, en las que tanto la tapa como la contratapa se utilizan como Placas de Contacto.

- c) Equipo para llenado: en el que por uno de sus extremos tiene un adaptador para una jeringa desechable y por -

\* "Kermeed", Fabricado por Clayton de México, S.A.

\*\* "Microbial Content Test Agar" de Difco.

el otro se sumerge en el matraz que contiene el medio, ambos extremos son de metal y la manguera intermedia es de caucho.

- d) Equipo diverso: una jeringa desechable de 20 ml, un matraz Erlenmeyer de 1800 ml, 2 mecheros Bunsen, 1 - crayón marcador, un plumón y un cepillo de cerda suave.

8 Equipo de Computación.

B METODO:

El método experimental propuesto para la evaluación de la efectividad del procedimiento de lavado de jaulas para roedores, se muestra en la figura 1, en donde las letras corresponden a los procedimientos de lavado y desinfección y los números a las jaulas de las especies por evaluar, como se indica:

		PROCEDIMIENTO DE LAVADO / DESINFECCIÓN			
		A	B	C	
JAU- LAS PARA:	Ratón. Rn.	1	A1	B1	C1
	Ratón. Rt.	2	A2	B2	C2
	Coyote. Cy.	3	A3	B3	C3

FIGURA 1.-

1. Procedimiento de lavado y desinfección:

- a) El procedimiento designado con la letra "A", consistió en:

Lavar las jaulas con la máquina de vapor a presión - Clayton y con el detergente "Kermeed", que tiene acción bactericida.

En el pasillo de lavado de equipo se colocan las jaulas en hilera, para aplicarles por aspersión con la máquina Clayton el detergente mezclado con el vapor a presión, de modo escrupuloso y uniforme en cada jaula, dejándolo por un lapso de 2 minutos, después se enjuaga con vapor - a presión solamente y se colocan de tal forma que se permita el escurrimiento de agua y el secado.

- b) El procedimiento designado con la letra "B" consistió en: Lavar las jaulas sólo con el vapor que produce la máquina Clayton y después de esto sumergirlas en el compuesto Yodóforo en solución 1:500 durante 2 minutos, al cabo -- de los cuales, se enjuagan y se colocan para permitir el escurrimiento y el secado.

- c) El procedimiento designado con la letra "C" consistió - en:

Lavar las jaulas únicamente con el vapor a presión que - produce la máquina Clayton y después permitir el secado de las mismas.

Cada uno de los procedimientos descritos se llevaron a - cabo en los grupos designados con los números 1, 2, 3, - que corresponden al alojamiento de los ratones, ratas y cobayos, respectivamente.

2. Preparación de Placas de Contacto, (11).

Se toman 45.7 g del medio de cultivo y se mezclan en - 1 litro de agua destilada o deionizada, se deja reposar por 10 - 15 minutos y para disolverlo se calienta por - 1 - 2 minutos, después se esteriliza en el autoclave por

30 minutos a una temperatura de 121°C. Con el medio preparado se llenan en condiciones estériles, las placas de contacto necesarias.

El medio de cultivo queda en la superficie de las mismas en forma convexa, debido al efecto de la tensión superficial, lo que permite que haya contacto con las áreas de muestreo. Las Placas de Contacto se colocan también en condiciones estériles, dentro de las cajas de Petri y se incuban a 37°C por 48 hrs. para efectuar el "control negativo".

### 3.- Muestreo:

Se consideró que una placa por jaula, es suficiente para evaluar el grado de contaminación microbiana de la superficie de la jaula, ( 12 ), a través del conteo del número total de colonias, después de 24 hrs. de incubación a 37°C.

El procedimiento a seguir fue el siguiente, ( 13 ):

En las cajas de Petri, identificadas previamente, se removió la tapa, teniendo cuidado de evitar la contaminación ambiental, se sacó la placa y se tomó con los dedos, pulgar y medio, se aplicó en la superficie elegida, confiriéndole cierta presión con el dedo índice, durante 5 segundos, inmediatamente después, estas placas se volvieron a meter en sus propias cajas, y se colocaron en la incubadora a 32-35°C durante 24 horas, después de lo cual se procedió a hacer la lectura del número de colonias presentes.

Este procedimiento se realizó con los siguientes grupos:

- a) 30 jaulas para ratón, que alojaban cada una a 5 individuos de 25-35 g de peso, durante 4 días. La primera muestra se tomó en una misma jaula antes de lavarla, ( cepillando la superficie a muestrear ligeramente, para retirar las partículas gruesas del material de cama ) y la segunda inmediatamente después del proceso de lavado, ya

estando seca la jaula y próxima a ser utilizada.

- b) 30 jaulas para rata que alojaban en cada una a 4 individuos de 250 - 350 g de peso durante cuatro días. Las muestras se tomaron en las jaulas antes y después de someterlas al procedimiento de lavado y desinfección. A estas mismas jaulas se les tomaron otras muestras a las 12, 24 y 48 horas después de haber sido lavadas y de que las ratas se alojaron en ellas.
- c) 30 jaulas para cobayo, que alojaban cada una a 6 cobayos de 450 - 1000 g de peso, durante cuatro días. El muestreo se hizo antes y después del lavado y desinfección.

#### 4. Análisis Estadístico, ( 7 ).

Los resultados obtenidos, se analizaron estadísticamente. Tomando en cuenta que debido al tamaño de la placa, cantidades superiores a 200 colonias son imposibles de contar con exactitud y se consideraron incontables, pero para fines estadísticos, cuando este caso se presentó, se asignó un valor arbitrario de 200.

#### IV - V.

#### RESULTADOS Y DISCUSION.

El proceso absoluto de destrucción de todos los microorganismos es conocido como esterilización y al proceso que destruye determinados organismos se le conoce como desinfección. (9). La guía para el cuidado y uso de los Animales de Laboratorio publicado por el Departamento de Salud y Bienestar de los Estados Unidos, (4) recomienda como una práctica rutinaria la "sanidad" de las jaulas para Animales de Laboratorio, entendiéndose por ello, la destrucción de las formas vegetativas de los microorganismos patogénicos.

- \* PLACAS DE CONTACTO CON MAS DE 200 COLONIAS, DESPUES DE 24 HRS. DE INCUBARLAS A 37°C.

CUADRO 1

		J A U L A S			TOTAL DE MUESTRAS INCONTABLES
		RATON	RATA	COBAYO	
PROCEDIMIENTO		TOTAL DE MUESTRAS / MUESTRAS INCONTABLES			TOTAL DE MUESTRAS INCONTABLES
PROCEDIMIENTO.	A	10/0	10/2	10/1	30/3
	B	10/0	10/4	10/5	30/9
	C	10/0	10/2	10/4	30/6
TOTAL DE MUESTRAS INCONTABLES		30/0	30/8	30/10	T.de M.I.

J.A.H.G.  
Febrero/1981.

## RESUMEN:

PORCENTAJE DE PLACAS DE CONTACTO CON MAS DE 200 COLONIAS Y EL NUMERO PROMEDIO DE COLONIAS POR PLACA EN LAS DIFERENTES ESPECIES, INMEDIATAMENTE DESPUES DEL LAVADO, A LAS 12 HRS. Y 24 HRS. DESPUES DEL MISMO, EN EL EQUIPO PARA RATAS.

CUADRO 2

PROCEDI- MIENTO DE LAVADO	NA DE MUESTRAS	NA. DE PLACAS INCONTABLES	Nº PROMEDIO DE COLONIAS POR PLACA DESPUES DEL LAVADO			Nº PROMEDIO DE COLONIAS POR PLACA EN JAULAS DE RATA		
			JAULA DE RATON	JAULA DE RATA	JAULA DE COBAYO	DESPUES DEL LAVADO		
		POR CIENTO				INMEDIATA- MENTE	12 HRS.	24 HRS.
A	90	54/60 %	11.1	62.8	123.1	62.8	139.4	200
B	90	53/58.8%	26.4	106.8	144.5	106.8	81.2	160.9
C	90	55/60.6%	27.0	87.7	118.2	87.7	117.1	186.4

J.A.H.G.  
Febrero / 1981.

Se sugiere que este procedimiento se lleve a cabo mediante el lavado y enjuagado del equipo a una temperatura mínima de 82.2°C, por un período suficientemente largo que asegure la destrucción de las formas bacterianas antes mencionadas, considerando que solo algunas de éstas pueden soportar temperaturas superiores a los 80°C, por más de uno o pocos minutos; aunque sabemos que las esporas de algunas bacterias termofílicas requieren para su destrucción considerablemente más calor y tiempo de exposición.

En el presente trabajo se decidió emplear una combinación de temperatura y desinfección, para lograr la destrucción de las formas vegetativas de los microorganismos patogénicos y reducir hasta donde fuera posible, la carga biológica presente.

Para la aplicación del calor se utilizó una fuente de agua caliente con vapor, a una temperatura de 83°C en la superficie de aplicación, siendo constante en tiempo por unidad de superficie. La adición del desinfectante en el procedimiento "A" se hizo junto con el vapor y en el procedimiento "B", se realizó por inmersión en el desinfectante después del vapor. El procedimiento "C", se utilizó como testigo.

Del total de 270 muestras bacteriológicas tomadas antes y después de los procedimientos, 162 resultaron demasiado numerosas para contarse ( Cuadro 1 ), es decir, el 60% de las muestras de las placas de contacto se saturaron con un número superior a 200 colonias por placa, por lo cual el método o sistema de medición no es el adecuado, ya que carece de sensibilidad para cuantificar los distintos niveles de contaminación presentes.

La saturación del medio de cultivo se debe a la ineficacia de los procedimientos empleados, que no lograron reducir a menos de 200 el número de colonias. En el caso de que se deseara cuantificar estos altos grados de contaminación, se deberán emplear otras técnicas microbiológicas ( dilución ).

En todas las muestras tomadas antes del lavado el número promedio de colonias por placa fue de 200 y el error estándar fue de 0, excepto en el caso del procedimiento "A" en el equipo para ratón. Sin embargo, esta diferencia no fue significativa; los valores promedio

del número de colonias por placa, después del lavado en los 3 tipos de procedimiento analizados a diferentes intervalos en el equipo para rata, se muestran en el Cuadro 2.

Las gráficas 1, 2 y 3 muestran el número promedio de colonias obtenidas con los procedimientos A, B y C antes y después del lavado del equipo de ratón, rata y cuyo.

Las diferencias entre los procedimientos no es aparente y para comprobarlo se realizó primero un análisis de varianza factorial de 2 factores, en un ordenamiento de 3 niveles. Los factores considerados y designados con las letras "A" y "B", respectivamente fueron:

- "A") Los procedimientos de lavado "A", "B" y "C" para ratón, rata y cuyo, resultando que la probabilidad tiene un valor de - - P 0.2704.
- "B") Son las jaulas empleadas para alojar ratones, ratas y cuyos, lavadas con los procedimientos A, B y C, resultando el valor P 0.00001.

Como se observa, no existe diferencia significativa entre los procedimientos de lavado A, B y C, en cambio las diferencias entre el número promedio de colonias por placa entre las jaulas de las diferentes especies, es significativo.

El análisis de varianza en una sola ruta de los procedimientos A, B y C, en ratón, rata y cuyo respectivamente, no mostraron una diferencia significativa, por lo cual no se hicieron análisis posteriores, concluyendo en que no existen diferencias estadísticas significativas entre los procedimientos de acuerdo al grado de confiabilidad preestablecido del 95%.

En las gráficas 4, 5 y 6 se muestra el número promedio de colonias por placa obtenidas en jaulas de ratón, rata y cuyo, antes y después de lavar con los procedimientos A, B y C. Como se sabe de antemano - por el Análisis de Varianza Factorial, existe una diferencia entre especies de animales; esta diferencia fue corroborada con un Análisis de Varianza en una sola ruta para cada procedimiento siendo estadísticamente significativa en cada uno de los casos, sin embargo el valor de la probabilidad aumenta progresivamente para los procedi

mientos A, B y C respectivamente ( Cuadro 3 ).

Para el análisis detallado de las diferencias entre especies se utilizó la Prueba de Scheffé con la cual se demostró una clara diferencia entre la eficiencia de lavado entre las jaulas de ratón y de cuyo, ordenándose los procedimientos A, B y C en ese orden de efectividad, y siendo la probabilidad de que estas diferencias sean aleatorias del orden de 4 cifras, 3 cifras y 2 cifras, respectivamente. En el caso de la efectividad en el procedimiento del lavado en las jaulas de rata y ratón sólo el procedimiento "B" demostró ser más eficaz en el caso de los ratones, sin embargo la diferencia entre ambos muestra una probabilidad muy cercana al criterio estadístico preestablecido.

Las diferencias entre la efectividad de lavado en las jaulas de rata y cuyo, no demuestra tener significancia estadística para ninguno de los procedimientos, sin embargo, se observa que el procedimiento "A" es más eficiente en las jaulas de rata, siendo el valor de la probabilidad de que exista una diferencia real muy cercana al 95%.

La rigidez de la prueba estadística empleada para analizar las diferencias ( Scheffé ) debe considerarse al juzgar los valores obtenidos y no descartarse los valores de P, superiores 6 muy cercanos a .05, ya que podrían significar una diferencia real.

Entre los factores que afectan la diferencia entre el número promedio de colonias por placa obtenidos entre las jaulas de ratón y cuyo, además de la obviamente expuesta, están el tamaño de la jaula y el material del que están contruidos.

El tamaño de las jaulas de los cuyos es 10 veces mayor en área de piso que el de las jaulas de ratón, sin embargo no existe diferencia entre los tiempos empleados para lavar cada una de ellas, considerando que el chorro de vapor libre cubre una área de aplicación de  $7 \text{ cm}^2$ , dividiendo este valor entre el área del piso de la jaula en  $\text{cm}^2$  se obtiene el número de unidades de aplicación por jaula - - ( U.A. ) que al dividirse entre el tiempo promedio empleado por el operario en el equipo de ratón y cuyo, nos da un valor de 0.06 seg. y 0.05 seg. respectivamente.

A pesar de que no existen diferencias entre el tiempo de aplicación del vapor en las diferentes jaulas se observa una sensible pérdida de eficiencia del mismo, debido probablemente a la pérdida de calor por evaporación y conducción principalmente, sin embargo el comprobar esto escapa a los objetivos del presente trabajo.

A diferencia de las jaulas de ratón que están elaboradas con plástico acrílico, las jaulas de cuyo, están construidas con fibra de vidrio, lo cual hace suponer tiempos distintos en la disipación del calor, sin embargo debe notarse que no existen diferencias en la eficacia del lavado de equipo de rata y ratón, construidas ambas con el mismo material y tampoco se observan cambios entre las jaulas de rata y cobayo.

Al considerar el factor especie, se puede clasificar las variables en cuantitativas y cualitativas, refiriéndose las primeras como la carga microbiológica generada por el animal a través de las heces principalmente y estando a su vez relacionada directamente con el tamaño del mismo. Y la segunda, a las diferencias entre los microorganismos que constituyen la flora bacteriana de cada una de las especies y de las cepas animales.

Otra diferencia fisiológica importante de mencionar al observar el alto número promedio de colonias por placa obtenidas en el equipo para cuyo, es que la orina de estos animales es altamente alcalina con un pH = 9, ( 15 ), debido a la presencia de sales minerales - resultado de su metabolismo particular, que al depositarse y deshidratarse en la superficie de la jaula forman incrustaciones difíciles de remover por medios físicos, requiriéndose el empleo de un desinfectante ácido para lograr una limpieza adecuada.

RESULTADO DEL ANALISIS DE VARIANZA DE 1 RUTA, DE LAS DIFERENCIAS EN EL NUMERO DE COLONIAS POR PLACA, INMEDIATAMENTE DESPUES DEL LAVADO, EN EL EQUIPO CORRESPONDIENTE A RATON, RATA Y CUYO Y DE LA PRUEBA DE SCHEFFE APLICADA A LAS MISMAS DIFERENCIAS.

CUADRO 3

PROCESAMIENTO	No. PROMEDIO DE COLONIAS POR PLACA EN JAULAS DE:			ANALISIS DE VARIANZA DE UNA RUTA (P < )	DIFERENCIAS ENTRE EL EQUIPO DE:		
	RATON	RATA	CUYO		RATON-RATA (P < )	RATON-COBAYO (P < )	RATA-COBAYO (P < )
A	12.1	63.8	124.1	0.000532	0.136311	0.000538	0.071043
B	27.4	107.8	145.5	0.001936	0.043533	0.002390	0.488673
C	28.0	88.7	119.2	0.018309	0.156263	0.020698	0.622663

J.A.H.G.

Febrero / 1981.

TIEMPO DE APLICACION DEL CHORRO DE VAPOR POR UNIDAD DE SUPERFICIE, EN LAS JAULAS DE RATON, RATA Y COBAYO.

CUADRO 4

1 JAULAS DE	2 AREA PISO /cm <sup>2</sup>	3 TIEMPO LAVADO /seg	4 UNIDAD DE APLICACION	5 UNIDADES X JAULAS 2/4	6 TIEMPO DE LAVADO X UNIDAD DE APLICACION
RATON	575.2	5.5	7 cm <sup>2</sup>	81.3	.06
RATA	967.7	7.0	7	136.9	.05
COBAYO	5354.2	39	7	757.6	.05

J.A.H.G.

Febrero / 1981.

RESULTADO DEL ANALISIS DE VARIANZA DE 1 RUTA, DE LAS DIFERENCIAS EN EL NUMERO DE COLONIAS POR PLACA, INMEDIATAMENTE, 12 Y 24 HRS. DESPUES DEL LAVADO Y DE LA PRUEBA DE SCHEFFE, APLICADA A LAS MISMAS DIFERENCIAS, EN EL EQUIPO PARA RATA.

CUADRO 5

PROCEDIMIENTO	No. PROMEDIO DE COLONIAS POR PLACA DESPUES DEL LAVADO			ANALISIS DE VARIANZA DE UNA RUTA (P < )	DIFERENCIAS EN TIEMPO DESPUES DEL LAVADO		
	INM.	12 Hrs	24 Hrs		INM-12 Hrs.(P < )	INM-24 Hrs.(P < )	12 Hrs.-24 Hrs.(P < )
A	63.8	140.4	201.0	0.000050.	0.020060	0.000052	0.076116
B	107.8	84.2	161.9	0.045105	0.746575	0.219245	0.051673
C	88.7	118.1	187.4	0.000497	0.454718	0.000673	0.016742

J.A.H.G.

Febrero / 1981.

Todas estas consideraciones podrían parecer ociosas tomando en cuenta que para que una superficie se considere limpia el número promedio de colonias por Placa RODAC debe ser de 10, ( 9, 11 ). Aún -- cuando las interpretaciones son relativas y en cada medio ambiente se deben establecer sus propias valores basales para lo que constituye una superficie limpia, es posible seguir la guía para la interpretación de resultados publicada por BBL, División de Bekton - - Dickinson and Company, para el Sistema RODAC (2) que considera:

BUENO	0 a 25 colonias por placa.
ACEPTABLE	26 a 50 colonias por placa.
POBRE	más de 50 colonias por placa.

Los niveles de contaminación son inaceptables para los tres procedimientos en las tres especies. Se empleó el sistema de Placas de Contacto que es una versión modificada del Sistema RODAC; este método de medición resultó menos confiable que el sistema RODAC debido a que no presenta una superficie apropiada y uniforme para el contacto directo, aún en superficies planas y de que en muchas ocasiones es imposible recuperar el medio de cultivo que se adhiere con mayor firmeza a la superficie muestreada que a la caja de petri.

Con el objeto de analizar la velocidad de repoblación bacteriana de la jaula, se tomaron muestras: inmediatamente, 12, 24 y 48 horas después del lavado de las jaulas de rata, los resultados comparativos de los procedimientos A, B y C, se muestran en las gráficas 7, - 8, 9 y 10.

En el Análisis de Varianza Factorial considerando 2 factores, en un ordenamiento de 3 niveles y siendo estos factores:

- a) Los procedimientos de lavado A, B y C, inmediatamente, 12 y 24 - horas después del lavado.
- b) Las mediciones del número promedio de colonias por placa, inmediatamente, 12 y 24 horas, después del lavado, empleando los procedimientos A, B y C.

No se observa una diferencia estadísticamente significativa entre los procedimientos de lavado A, B y C, (  $P < 0.5001$  ), pero en el caso y como es lógico la diferencia entre el número promedio de colonias

por placa es significativa inmediatamente, 12 y 24 horas después del lavado existiendo una posible interacción entre ambos factores (  $P < 0.0881$  ), particularidad que podría indicar el efecto residual observado en el procedimiento B, como se verá más adelante.

El Análisis de Varianza por una sola ruta, para el procedimiento A, inmediatamente, 12 y 24 horas después del lavado, ( Cuadro 5 ) - nos muestra una diferencia significativa, que se comprueba con el Análisis de Scheffé, demostrando que este procedimiento es el más eficiente, inmediatamente después del lavado, pero que también es el que se contamina nuevamente a una velocidad constante hasta las 24 horas, en que esta curva de crecimiento alcanza prácticamente el nivel de saturación del Método de Medición.

El Análisis de Varianza en una ruta del procedimiento B, ( Cuadro 5 ), muestra una diferencia significativa que se encuentra en el número promedio de colonias por placa; entre las 12 y 24 horas después del lavado, lo que representa un aumento logarítmico del número de colonias por placa en este lapso, en contraste con la reducción entre el número promedio de colonias por placa, inmediatamente y 12 horas después del lavado, aún cuando esta última diferencia no es estadísticamente significativa.

En el Análisis del procedimiento C, se observa una diferencia en el número promedio de colonias por placa, entre las 12 y 24 horas después del lavado, sin embargo la diferencia entre este número inmediatamente y 12 horas después del lavado, no es significativa, lo cual representa un aumento moderado del número de colonias por placa, durante las primeras 12 horas después del lavado.

Al Análisis de Varianza en una ruta, inmediatamente, 12 y 24 horas después del lavado, así como el análisis detallado de las diferencias entre los procedimientos, nos demuestra que no existe una diferencia significativa entre ellos, a excepción de la diferencia observada en el NPCP 12 horas después del lavado, entre los procedimientos A y B, (  $P < 0.052040$  ), lo cual nos confirma un posible efecto residual del procedimiento B a las 12 horas, en relación al procedimiento A.

Este posible efecto residual podría atribuirse a la solución yodófora utilizada en la inmersión de las jaulas durante el procedimiento B, ya que aún cuando no se conoce con certeza la naturaleza química del desinfectante por ser considerado un "secreto comercial", estos compuestos generalmente están hechos a base de polivinilpirrolidona, como vehículo del halógeno y por lo tanto no tiene una actividad inmediata sino hasta que el Iodo es liberado de la molécula orgánica.

Si se considera que la introducción de cualquier compuesto químico en el medio ambiente de los animales de laboratorio, es indeseable por su posible efecto sobre los resultados de la investigación, el procedimiento C resulta ser el mejor, comparado con el A y el B porque además es el más rápido y el de menor costo; sin embargo la cuenta bacteriana es también alta, debido por una parte al corto radio de acción del chorro de vapor libre y por la otra al brevísimo tiempo de exposición por unidad de aplicación.

## VI CONCLUSIONES.

El Método de Medición empleado ( Placas de Contacto ) para evaluar los niveles de contaminación presentes en las superficies de las jaulas, no resultó ser el adecuado debido a que el 60% de las muestras tomadas se saturaron con un número superior a 200 colonias por placa.

Estos resultados indican la poca efectividad de los procedimientos de lavado y desinfección probados. El análisis estadístico detallado no muestra diferencias significativas entre los procedimientos siendo los valores del número promedio de colonias por placa exageradamente altos lo que refleja un muy pobre saneamiento.

Las diferencias observadas entre el número promedio de colonias por placa en las jaulas de las diferentes especies tratadas por un mismo método, indican una pérdida dramática de la eficiencia del procedimiento analizado en relación al tamaño de la jaula debido probablemente a la pérdida de calor en una superficie más extensa.

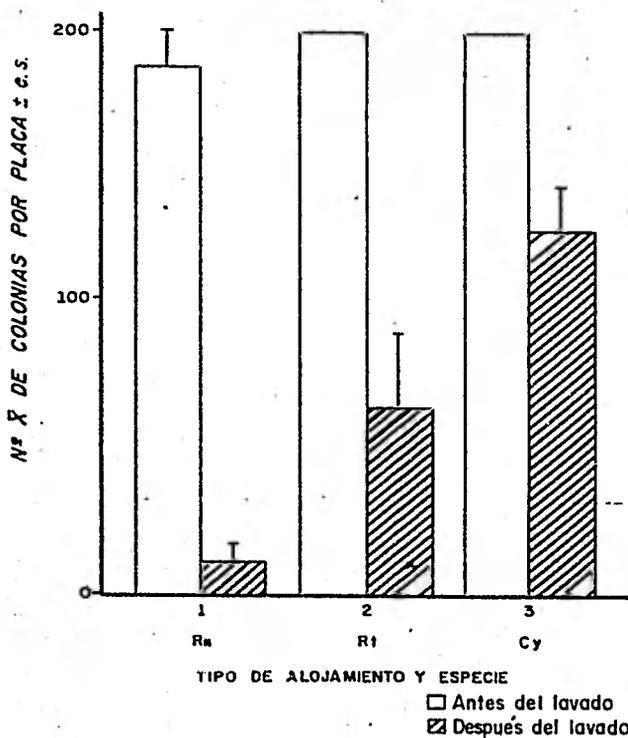
Además de que el tiempo de exposición al vapor por unidad de aplicación fue tan breve que no produjo la destrucción de las formas vegetativas de los microorganismos patogénicos, ni tampoco se logró reducir a niveles razonables la carga biológica presente en ese medio ambiente.

Si se trata de establecer cual de los 3 procedimientos fue el mejor, el denominado "C" sería el de elección, debido a que es el más rápido y económico, además de que no introduce ningún compuesto químico en el medio ambiente del animal.

El procedimiento "B" muestra un efecto residual a las 12 horas después de lavado; y con el procedimiento "A" se obtienen los mejores resultados inmediatamente después del mismo.

Resulta muy interesante observar como se comportan los métodos de lavado y desinfección estudiados ya que en cierta forma reflejan los procedimientos más comunes en nuestro medio. La importancia de la evaluación de estos procedimientos resulta evidente aún cuando los resultados son negativos, lo cual conduce a continuar con este tipo de evaluaciones hasta encontrar un procedimiento de saneamiento adecuado a los recursos y necesidades del Bioterio de la División de Investigación de la Facultad de Medicina de la U.N.A.M.

GRAFICA 1  
PROCEDIMIENTO A

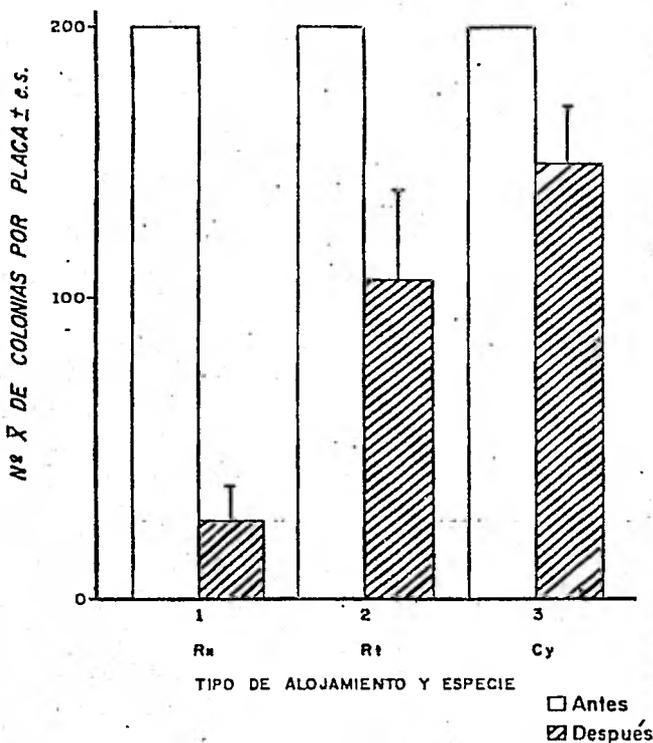


JAULAS	ANTES DEL PROCEDIMIENTO		DESPUES DEL PROCEDIMIENTO	
	N	$\bar{x} \pm E.S.$	N	$\bar{x} \pm E.S.$
Rn	10	188.1 ± 11.9	10	11.1 ± 5.9
Rf	9	200 ± 0	10	62.8 ± 25.4
Cy	10	200 ± 0	10	123.1 ± 15.9

J.A.H.G.

Febrero / 1981.

GRAFICA 2  
PROCEDIMIENTO B

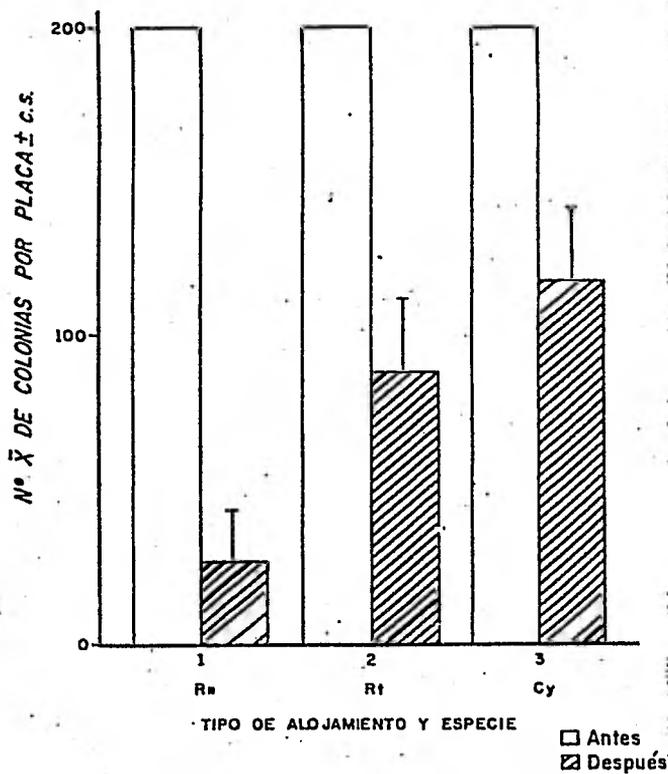


JAULAS	ANTES DEL PROCEDIMIENTO		DESPUES DEL PROCEDIMIENTO	
	N	$\bar{x} \pm E. S.$	N	$\bar{x} \pm E. S.$
RH	10	200 ± 0	10	26.4 ± 11.0
RI	10	200 ± 0	10	106.8 ± 29.7
Cy	10	200 ± 0	10	144.5 ± 19.2

J.A.H.G.

Febrero / 1981.

GRAFICA 3  
PROCEDIMIENTO C

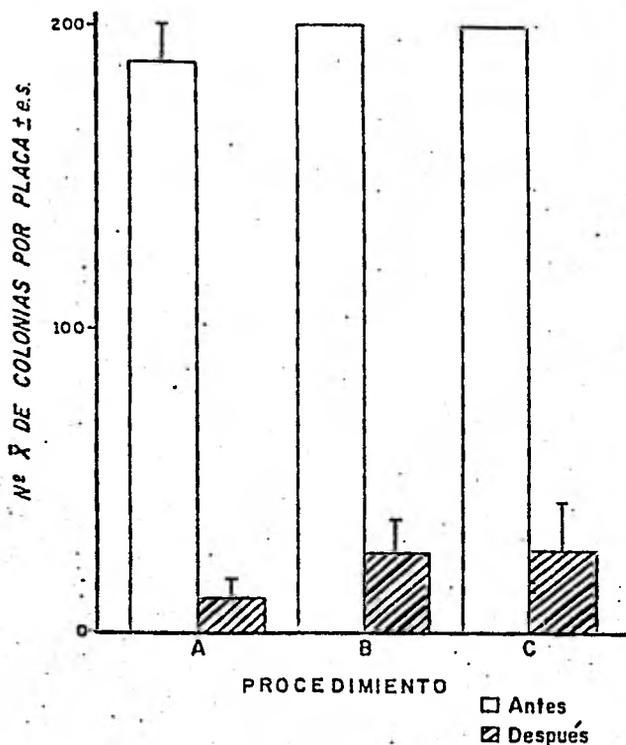


JAULAS	ANTES DEL PROCEOIMIENTO		DESPUES DEL PROCEDIMIENTO	
	N	$\bar{x} \pm E.S.$	N	$\bar{x} \pm E.S.$
RH	10	200 $\pm$ 0	10	27.0 $\pm$ 16.0
Rf	10	200 $\pm$ 0	10	87.7 $\pm$ 23.8
Cv	10	200 $\pm$ 0	10	118.2 $\pm$ 23.7

J.A.H.G.

Febrero / 1981.

GRAFICA 4  
EQUIPO DE RATON

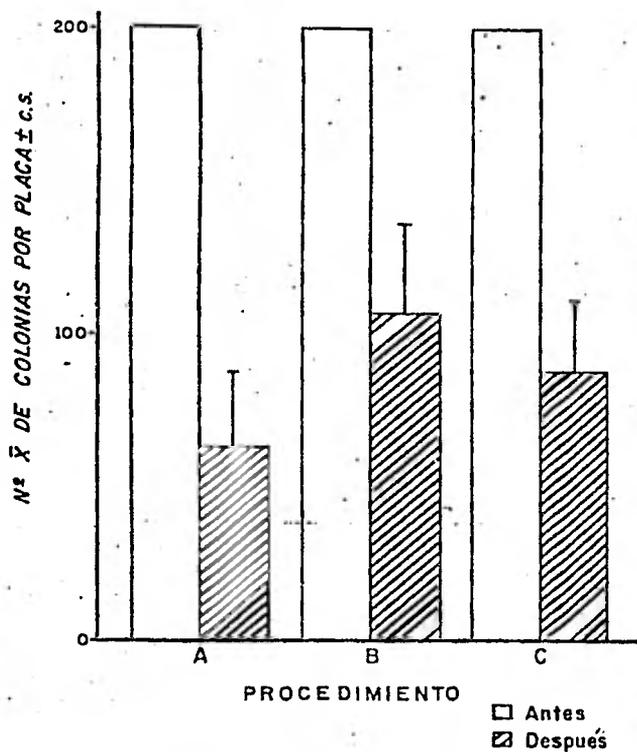


PROCEDIMIENTO	ANTES DEL PROCEDIMIENTO		DESPUES DEL PROCEDIMIENTO	
	N	$\bar{x} \pm E.S.$	N	$x \pm E.S.$
A	10	188.1 $\pm$ 11.9	10	11.1 $\pm$ 5.9
B	10	200 $\pm$ 0	10	26.4 $\pm$ 11.0
C	10	200 $\pm$ 0	10	27.0 $\pm$ 16.0

J.A.H.G.

Febrero / 1981.

GRAFICA 5  
EQUIPO DE RATA

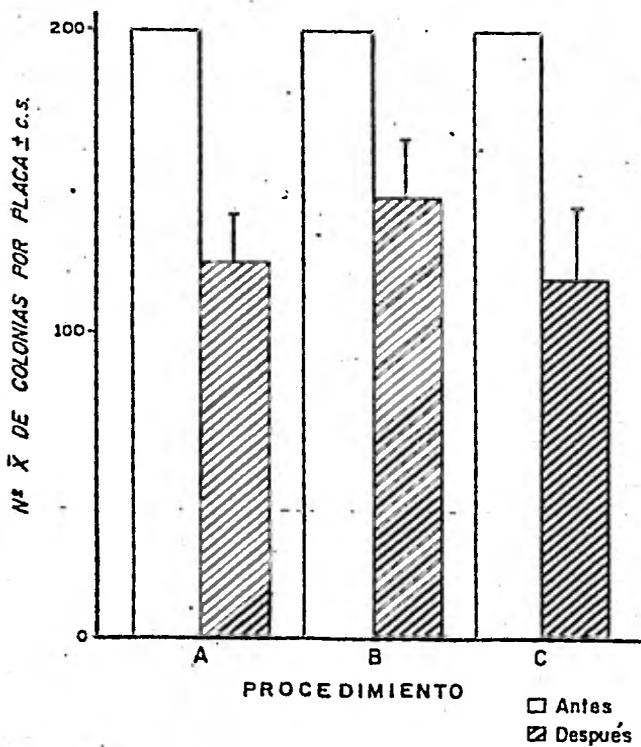


PROCEDI MIENTO	ANTES DEL PROCEDIMIENTO		DESPUES DEL PROCEDIMIENTO	
	N	$\bar{x} \pm E.S.$	N	$\bar{x} \pm E.S.$
A	9	200 $\pm$ 0	10	62.8 $\pm$ 25.4
B	10	200 $\pm$ 0	10	106.8 $\pm$ 29.7
C	10	200 $\pm$ 0	10	87.7 $\pm$ 23.8

J.A.H.G.

Febrero / 1981.

GRAFICA 6  
EQUIPO DE CUYO



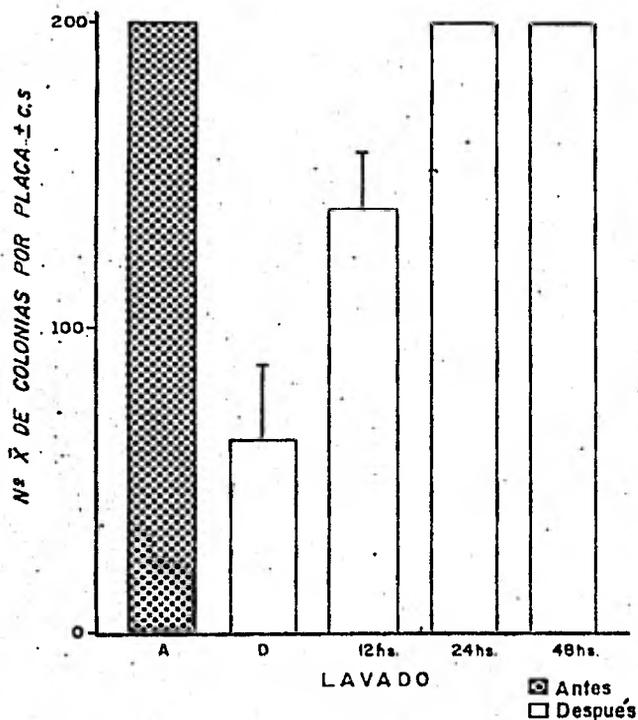
PROCEDI MIENTO	ANTES DEL PROCEDIMIENTO		DESPUES DEL PROCEDIMIENTO	
	N	$\bar{x} \pm E.S.$	N	$\bar{x} \pm E.S.$
A	10	200 $\pm$ 0	10	123.1 $\pm$ 15.9
B	10	200 $\pm$ 0	10	144.5 $\pm$ 19.2
C	10	200 $\pm$ 0	10	118.2 $\pm$ 23.7

J.A.H.G.

Febrero / 1981.

GRAFICA 7

## PROCEDIMIENTO "A", EQUIPO PARA RATA



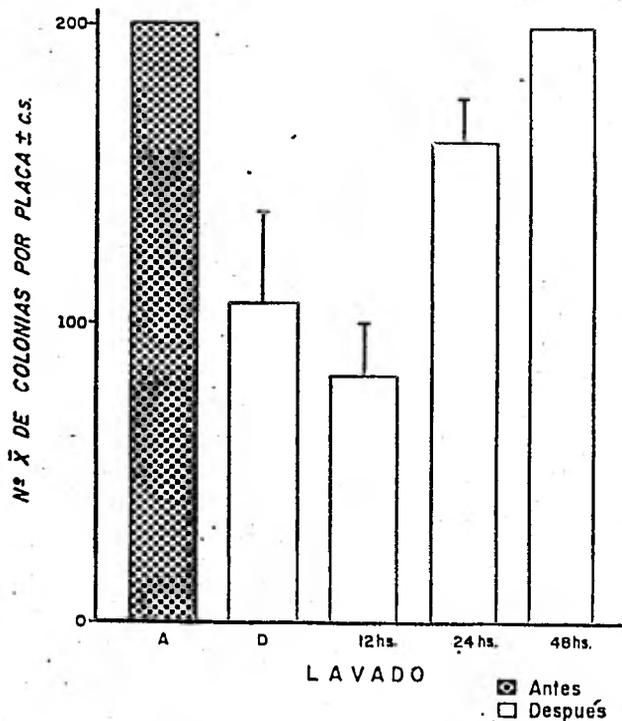
	ANTES	DESPUES	12 HORAS	24 HORAS	48 HORAS
N	9	10	10	10	10
$\bar{x}$	200	62.8	139.4	200	200
E.S.	0	25.4	18.0	0	0

J.A.H.G.

Febrero / 1981.

GRAFICA 8

PROCEDIMIENTO 'B'; EQUIPO PARA RATA

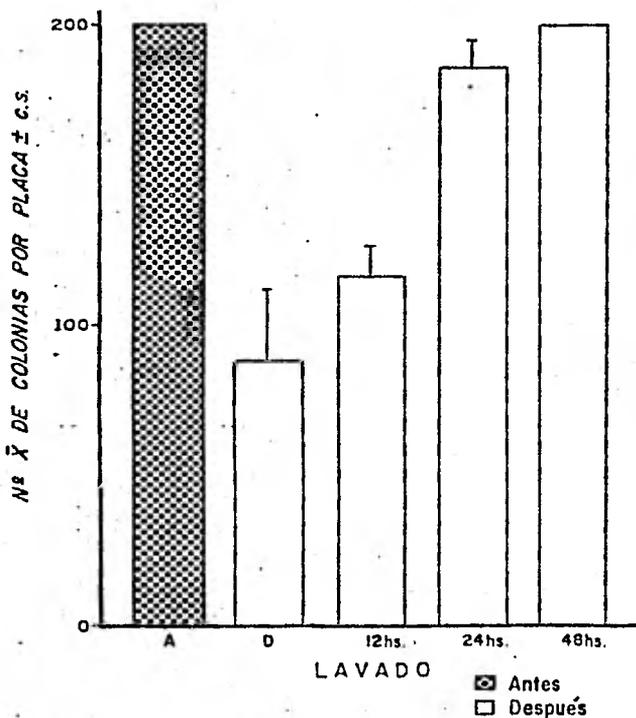


	ANTES	DESPUES	12 HORAS	24 HORAS	48 HORAS
N	10	10	10	10	10
$\bar{x}$	200	106.8	83.2	160.9	200
E.S.	0	29.7	17.1	13.9	0

J.A.H.G.

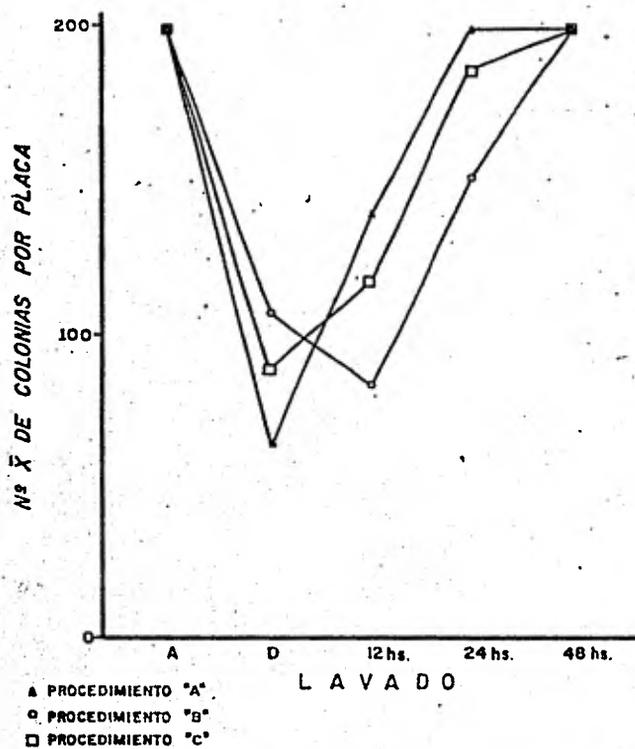
Febrero / 1981.

GRAFICA 9  
PROCEDIMIENTO "C", EQUIPO PARA RATA



	ANTES	DESPUES	12 HORAS	24 HORAS	48 HORAS
N	10	10	10	10	10
$\bar{x}$	200	87.7	117.1	186.4	200
E.S.	0	23.8	10.1	9.1	0

J.A.H.G.  
Febrero / 1981.

GRAFICA 10  
EQUIPO PARA RATA

J.A.H.G.  
Febrero / 1981.

## VII. BIBLIOGRAFIA.-

1. American Public Health Association.  
A cooperative microbial evaluation of floors cleaning procedures in hospital patient rooms.  
Health Lab. Sci. 7: 256-264, (1970).
2. B.B.L. Rodac Plates Filled.  
B.B.L. Div. of Becton Dickinson and Co.  
Catálogo 21288. Sugestiones para su uso.
3. Blackmore, D.K.: Hygiene. In the UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals, 4th Ed., p.p. 94-104.  
Williams and Wilkins, Baltimore, ( 1972 ).
4. Committee on Revision of the Guide for Laboratory Animal Facilities and Care, Institute of Laboratory Animal Resources, National Research Council: "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals ", U. S. Dept. Health, Education and Welfare, Public Health Service, Publication No. ( NIH ) 77-23, ( 1972).
5. Coriell L.L., Blakemore, S. W., Mc Garrity J. G.  
Medical Application of Dust-Free Rooms.  
II Elimination of Airborne Bacteria from an Operating Theater.  
(March 18, 1968), vol. 203, p.p. 1038-1046.  
T.Am. Med. Assc.: 203, 1038-1046.
6. Coriell L. L., Mc Garrity J. G., Hornett T.  
Medical Application of Dust-Free Rooms.  
I Elimination of Airborne Bacteria in Research Laboratory.  
Am. T. Pub. Hlth.: 57,10. Page: 1824, 1836.
7. Downie N.M. & Health R. W.  
Métodos Estadísticos Aplicados  
Harper & Row.  
Pub. Inc. 1973.  
Pag. 232-234  
Análisis de Varianza.
8. Goldstein, Avram.  
Biostatistics and Introductory Text.

- Ed. MacMillan Co., New York, (1964).
9. Home, C.W. Ed.  
The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals.  
4th. Ed. Churchill Livingstone.  
Chapter 7, (1972).
  10. Litsky B. Y.: Use of sterile mops reduce contamination.  
Hosp. Mgt. 100: 46-511,(1965).
  11. Mc Garrity J.G., Coriell L.L., Schaedler R. W., Mandle R.J.  
and Greene A. E.  
Medical Applications of Dust-Free Rooms.  
III Use in an Animal Care Laboratory.  
Appl. Microb.: 18,2, 142- 146, ( 1969 ).
  12. Pryor K.A. and McDuff R. C.  
A practical microbial surveillance system.  
The Executive Housekeeper.
  13. Q.F.B. Yolanda Reyna, comunicaci3n personal, Laboratorios  
Upjohn, ( agosto 1980).
  14. Shields P. R., Schramm A.B.,Braune E.N.  
A method for Evaluation of Room Cleaning Procedures in a  
Laboratory Animal Facility.  
From the Department of Laboratory and Wildlife Medicine, Col-  
lege of Veterinary Medicine, Univ. of Florida, Gainesville,  
Fla., 32610.  
Comunicaci3n Personal.
  15. Wagner E.J. & Manning J.P.  
The Biology of the Guinea Pig.  
Academic Press.  
(1976)  
Chapter 17. Page 255.
  16. Walter C.W. Kundsinn R. B.  
The floor as a reservoir of hospital infections.  
Surg. Gynecol. Obstet. 111: 412-422, ( 1960).

17. Wellstood S., Shields R.P.  
Environmental Monitoring in Laboratory.  
L.A.S.: 26,4. 592-599, (1976).