

16
29/04



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO COMPARATIVO DE GERMICIDAS
PARA LA DESINFECCION DE AGUA
Y VEGETALES: USO DOMESTICO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

P R E S E N T A

MARIA ALTAGRACIA CAMPOS GUTIERREZ

MEXICO, D. F.

1985



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 está 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	INTRODUCCION Y OBJETIVO
II	GENERALIDADES
III	MATERIALES Y METODO
IV	RESULTADOS Y COMENTARIOS
V	CONCLUSIONES
VI	BIBLIOGRAFIA

CAPÍTULO I

INTRODUCCION Y OBJETIVO

El agua y algunos vegetales representan una de las fuentes de transmisión de infecciones gastrointestinales más importantes por su relativamente fácil contaminación con microorganismos patógenos, de aquí la importancia de contar con un buen agente desinfectante que proporcione seguridad durante el consumo tanto del agua (en condiciones especiales), como de los vegetales que no son sometidos a ebullición para su ingestión.

La preocupación para obtener agua de la calidad bacteriológica adecuada para ser ingerida se remonta a muchos años atrás, haciendo notar que es necesario hervir el agua antes de beberla y protegerla de la contaminación fecal. Este sigue siendo un punto muy importante en nuestros días y es por ésto, que se utiliza a los coliformes, grupo representativo de las enterobacterias, como indicadores de la calidad bacteriológica del agua, y por lo tanto su ausencia es indicativa de una adecuada desinfección (22,23)

El objetivo de este trabajo ha sido comparar la efectividad bacteriológica de seis compuestos empleados comúnmente como germicidas para agua y vegetales para su uso doméstico, determinar sus ventajas y desventajas y comprobar su actividad bacteriológica con los microorganismos de prueba.

CAPÍTULO II

GENERALIDADES

II - I BACTERIAS PATÓGENAS

La patogenicidad es la capacidad de los microorganismos -- para producir enfermedad o provocar lesiones progresivas. Existen dos -- mecanismos básicos mediante los cuales las bacterias causan enfermedad:

- 1.- La invasión de los tejidos.
- 2.- La producción de toxinas: exotoxinas o endotoxinas (1).

Las bacterias que causan las enfermedades naturales son patógenas y relativamente transmisibles. Esta última propiedad indica la facilidad con la que una infección se transmite de un individuo a otro. Las bacterias pueden transmitirse de una persona a otra ya directamente o a través de un agente intermediario. La transmisión directa es generalmente consecuencia del contacto con las secreciones producidas por una persona infectada; la transmisión indirecta puede realizarse, entre otras formas, a través de los alimentos infectados leche o agua, o por medio de gotitas transmitidas a través del aire a partir de sus residuos secos o partículas de polvo resuspendidas (1,3,10,11,12,26).

Existe otro tipo de microorganismos denominados "oportunistas", éstos normalmente son saprófitos pero pueden causar efectos pató-

lógicos severos cuando tienen acceso a tejidos con defensas antimicrobianas bajas. En este tipo de bacterias tenemos a *Pseudomonas aeruginosa* importante por su habilidad para crecer como un saprófito en agua -- con una mínima cantidad de nutrientes (1,11,12,18)

II - 2 ENFERMEDADES GASTROINTESTINALES OCASIONADAS POR - INGESTIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS

En la República Mexicana la fiebre tifoidea es la más representativa de las infecciones entéricas, como indicador de una deficiente higiene ambiental, especialmente en lo referente al saneamiento básico del agua potable. Según información obtenida en el Instituto Mexicano del Seguro Social sobre los casos reportados de enfermedades gastrointestinales, entre los padecimientos más frecuentes en 1980 y 1981 se encuentran: enteritis y otras enfermedades diarreicas, fiebre tifoidea y otras salmonelosis con cantidades más elevadas en algunas delegaciones del Valle de México, Chiapas, Guanajuato y Puebla. Como datos estadísticos hasta julio de 1980 se reportaron 64,938 en el Valle de México y 51,029 casos estatales de fiebre tifoidea y otras salmonelosis. Enteritis y otras enfermedades diarreicas en el Valle de México se reportaron 1,296,463 casos y 955,501 casos estatales. Para mayo de 1981 se -- habían reportado 30,870 casos en el Valle de México y 23,774 casos estatales de fiebre tifoidea y otras salmonelosis. Enteritis y otras enfer

medades diarréicas 696,345 casos en el Valle de México y 507,207 casos estatales (3). La gastroenteritis o diarrea infecciosa aguda, es un síndrome cuya etiología puede ser bacteriana, viral o parasitaria. Los organismos invasores fundamentalmente son *Shigella* y *Salmonella*, existe además un gran predominio de bacterias productoras de enterotoxinas especialmente *E. coli* y *Pseudomonas*. Es importante señalar que algunas cepas de *S. aureus* producen una toxina que es causa de diarrea aguda. (1, 11, 12, 18)

II - 3 MICROORGANISMOS DE ELECCIÓN PARA ESTUDIO

Los microorganismos utilizados en el presente trabajo son: *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, como un grupo de microorganismos que pueden ser transmitidos por el agua o algunos alimentos.

II - 3.1 *Escherichia coli*:

Bacilos Gramnegativos con diámetro de 1.1 - 1.5 μ m y de 2.0 - 6.0 μ m de largo, son microorganismos móviles por flagelos peritricos, anaerobios facultativos, unicelulares, no esporulados. Crecen fácilmente en medios nutritivos simples, en agar nutritivo las colonias pueden ser lisas (S), brillantes, húmedas, convexas, incoloras o ligeramente grises y forman fácilmente emulsión con solución salina; o bien pueden ser rugosas (R), estas colonias son mate y granulosa y no forman fácilmente --

emulsión con solución salina. Generalmente fermentan la lactosa, producen ácido y gas con una gran variedad de carbohidratos, característicamente *E. coli* produce indol en medios que contienen triptófano. Puede utilizar acetato pero no citrato como única fuente de carbono. Muchas especies son saprófitas, mientras que otras especies habitan en el intestino como parte de la flora normal bacteriana, por lo cual su presencia en el agua de consumo indica contaminación fecal. Puede causar gastroenteritis, cistitis, peritonitis cuando llega a la vejiga y peritoneo -- respectivamente (1,11,12,15,21)

II - 3.2 *Salmonella* sp.:

Bacilos Gramnegativos, unicelulares y en forma de bastones, - no esporulados, con diámetro menor de dos micras y de 2.0 - 4.0 μm de longitud, usualmente son móviles por flagelos peritricos, aún cuando se llegan a presentar formas sin movilidad, son anaerobios facultativos, -- heterótrofos, no fermentan la lactosa ni la sacarosa, muchas cepas son aerógenas, pero *S. typhi* es una importante excepción, nunca produce gas al fermentar la glucosa o cualquier otra azúcar. La importancia del género *Salmonella* es obvia, ya que son agentes etiológicos de determinados estados patológicos tales como gastroenteritis, fiebre tifoidea y paratifoidea. Aún cuando son parásitos principalmente del intestino se han reportado varios casos de infecciones extraintestinales. Su presencia nos indica contaminación con heces, o por medios de portadores asin - -

tomáticos (1,11,12,15,22)

II - 3.3 *Pseudomonas aeruginosa*:

Bacilos Gramnegativos, unicelulares, no esporulados, rectos - o ligeramente curvos de 0.5 - 0.8 μm de diámetro por 1.5 - 3 μm de longitud, son microorganismos móviles por flagelos polares. en casos muy raros son inmóviles, son obligatoriamente aerobios excepto en medios que contienen nitrato, ya que pueden utilizar el nitrato como aceptor de electrones. Catalasa y oxidasa positivos, crece a 41°C pero no a 4°C. Hidrolizan la gelatina. Un gran número de especies producen pigmentos solubles en agua y otros que son fluorescentes como la piocianina y la fluoresceína, que se difunden en el medio produciendo colonias blanco difusas. *Pseudomonas aeruginosa* puede producir gran variedad de efectos patológicos en el hombre presentando lesiones características entre ellas infecciones en el tracto gastrointestinal durante el curso de una infección generalizada causando úlceras, las cuales pueden aparecer en el estómago o en la pared del intestino, la gastroenteritis es un ejemplo clásico de estas infecciones principalmente en infantes (1,11,12,19,21)

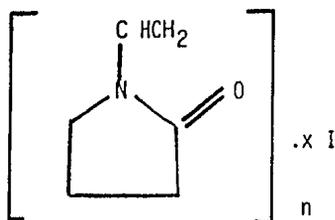
II 3.4 *Staphylococcus aureus*:

Son microorganismos Grampositivos, unicelulares, esféricos, - no esporulados, inmóviles, su diámetro es de 0.8 - 1.0 μm . Son anaerobios facultativos. Se encuentran en su forma característica de raci-

mos. Las colonias son lisas, ópacas, convexas; pueden producir pigmentación que varía desde blanco a naranja o del amarillo al dorado, metabolismo respiratorio y fermentativo, producen gas aerobia y anaerobiamente a partir de la glucosa, lactosa, maltosa y manitol. Las cepas patogénicas son capaces de coagular el plasma sanguíneo, aproximadamente el 97% de los estafilococos asociados con procesos patológicos en el hombre son capaces de elaborar esta enzima (coagulasa) pueden ser hemolíticos en gelosa sangre. Causan gran variedad de procesos supurados en el hombre, es muy frecuente la infección de la piel y del tracto gastrointestinal (1,11,12,15,21)

II - 4 COMPUESTOS EN ESTUDIO

II - 4.1 . Yodo-polivinil-pirrolidona.



La combinación de yodo y un agente solubilizante o portador - en el cual el complejo resultante contiene y libera lentamente yodo cuando es diluído con agua, es conocido como yodóforo. Iodo PVP es un compuesto estable, en el cual el material polimérico PVP es usado como agente solubilizante para el yodo y actúa como portador. El compuesto resultante es un complejo de composición indefinida y cuando se disuelve en agua (en la cual es fácilmente soluble) libera yodo activo. La yodo-PVP es más efectiva y menos tóxica que las soluciones de yodo libre. La efectividad microbicida del yodo ha sido ampliamente aprovechada con el desarrollo de este yodóforo, en el cual los efectos no deseables del yodo pudieron ser eliminados principalmente irritación y difícil solubilidad. El yodo se combina en forma irreversible con las proteínas citoplasmáticas y de la pared celular. Es también un fuerte oxidante. (1, 2, 15, 22, 23, 26)

II - 4.1.1 Toxicidad:

Con el desarrollo de los yodóforos se ha disminuído notablemente los efectos tóxicos en el tubo gastrointestinal producido por el yodo elemental. Los casos de hipersensibilidad son raros.

Se reportan estudios con dosis diarias de 12 a 19 mg. por 5 años para observar el efecto crónico de la ingestión de yodo sin que se hayan presentado efectos sobre peso, visión, función cardiovascular, actividad tiroidea y función renal (4, 22, 25)

II - 4.1.2 Usos:

La eficacia germicida de las soluciones de yodo ha sido evaluada para determinar al yodo como un desinfectante de emergencia para el agua de bebida y más comúnmente se ha empleado para la desinfección del agua de albercas. Al eliminar la irritabilidad del tracto gastrointestinal con el uso de los yodóforos, la I-PVP puede ser empleada tanto para la desinfección de agua como de frutas y legumbres, en concentraciones de aproximadamente 8 ppm de yodo libre (20, 22, 25, 26)

II - 5 PLATA COLOIDAL

VEHÍCULO DE SUSPENSIÓN DE LA PLATA: MEZCLA DE GRENE TINAS

Las preparaciones de plata ionizada soluble en agua son generalmente corrosivas, astringentes e irritantes, la mejor forma de minimizar tales propiedades ha sido el uso de sales coloidales, tales como el cloruro, yoduro y óxidos complejos con proteínas y más recientemente con una variedad de purinas, pirimidinas y otros complejantes. La actividad antimicrobiana parece ser debida a la liberación gradual de los iones de plata los cuales actúan sobre la pared celular, enzimas y ácidos nucleicos, por lo cual las aplicaciones son similares a las de sales solubles, pero menos dañinas a los tejidos (1, 20, 26)

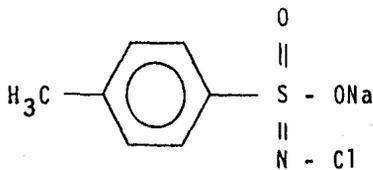
II - 5.1 Toxicidad:

Se recomienda un límite de 50 µg/litro de plata por cada litro de agua, basado en la observación de que la exposición prolongada a la plata puede ocasionar argiria (pigmentación de la piel) (4,6,7,)

II - 5.2 Usos:

Las suspensiones de plata coloidal se han empleado como desinfectantes en concentración de 0.8 a 2 µg/litro del agua en la cual se sumergen las frutas y legumbres, presenta la ventaja de no impartir sabor ni color al agua, como una desventaja está su alto costo (1, 7, 20, 26)

II - 6 SAL DE SODIO DE LA P-SULFOCLORAMINA DEL TOLUENO



Contiene alrededor del 25% de cloro activo, tiene un olor característico y es soluble en agua a 25°C alrededor del 12%. Es un N-cloro derivado del grupo de las sulfonamidas conocido comúnmente como clora

mina-T, fue aplicado prácticamente por Darkin durante la segunda guerra mundial. Es menos corrosivo que el hipoclorito, más estable al calor y a la luz y menos irritante. Menos activo bacteriológicamente que el hipoclorito y su efectividad es afectada significativamente por el pH, -- concentración y temperatura. Su uso es práctico a pHs bajos y a períodos largos de exposición (26). El mecanismo de su actividad no ha sido claramente establecido, existen numerosas teorías, varios autores sugieren que la inhibición de las reacciones metabólicas citoplasmáticas esenciales es la responsable de la destrucción de los microorganismos. La cloramina-T se hidroliza a la forma ácido hipocloroso que es el responsable de la actividad germicida (1, 20, 26)

II - 6.1 Toxicidad:

Usualmente no es tóxico, ocasionalmente hay hipersensibilidad (6, 7)

II - 6.2 Usos

Las cloraminas han sido utilizadas ampliamente para el saneamiento de aguas en concentraciones que van de 250 a 1000 ppm (1, 6, 7, 20, 26)

II - 7 COMPUESTOS DE CLORO

Los compuestos de cloro son los más extensamente usados para

la desinfección de agua para beber.

El cloro y sus compuestos son agentes fuertemente oxidantes y su reactividad puede ser fácilmente dispersada en reacciones con materiales orgánicos e inorgánicos en el agua antes de que pueda ocurrir una -- eficiente desinfección. El cloro es menos reactivo conforme se incrementa el pH y aumenta con la elevación de la temperatura.

La acción germicida de los compuestos de cloro parece estar -- asociada con la formación del ácido hipocloroso. La disociación del ácido hipocloroso depende del pH y el equilibrio entre HOCl y OCl^- se mantienen aún cuando el ácido hipocloroso es consumido constantemente a través de su función germicida. Parece ser que la eficiencia de la desinfección del cloro decrece con el incremento del pH y viceversa, y es paralela a la concentración de ácido hipocloroso no disociado. Esto indica que el HOCl debe tener acción bactericida mayor que la OCl^- , aunque -- el hecho de que soluciones alcalinas de compuestos de cloro con muy pequeñas cantidades de HOCl y grandes cantidades de OCl^- sugieren que el -- ión OCl^- puede ser un factor que contribuye a la desinfección ya que posee cloro activo. El efecto bactericida se ha sugerido que se lleva a -- cabo en dos fases sucesivas: 1) La penetración de un ingrediente activo germicida a la célula y 2) La reacción química de este ingrediente con -- el protoplasma de la célula para formar complejos tóxicos (compuestos -- N-cloro) lo cual destruye el organismo (1, 7, 20, 26)

II - 7.1 Toxicidad:

Usualmente los compuestos empleados para sanitización de agua de bebida no son tóxicos aunque en algunos casos puede presentarse hipersensibilidad a los mismos (6,7)

II - 7.2 Usos:

Se han empleado compuestos de cloro, tanto inorgánicos como orgánicos en concentraciones promedio de cloro libre de aproximadamente 20 - 25% (1, 6, 7, 20, 26)

II - 8 PERÓXIDO DE HIDROGENO, H_2O_2

El peróxido de hidrógeno ha sido reconocido como un germicida por más de un siglo.

Muchos autores sugieren que la actividad germicida del peróxido de hidrógeno es debida a la producción del oxígeno nascente, poderoso oxidante que ejerce su efecto en el protoplasma celular (1, 20)

II - 8.1 Toxicidad:

No se reportan datos de toxicidad por ingestión en soluciones de 0.1% (6, 8, 13, 17, 21)

II - 8.2 Usos:

Las soluciones en concentraciones de 3% a 6% constituyen un agente germicida para la desinfección de una gran variedad de materiales, y a bajas concentraciones (0.1%) es usado para desinfección de agua para beber (13,17)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

III - 1 MATERIALES:

1.1 Equipo

- Autoclave
- Baño maría
- Cajas de Petri
- Cuenta Colonias
- Incubadora
- Matraces Erlenmeyer
- Microscopio
- Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 ml,
- Refrigerador
- Tubos de ensaye

1.2 Medios de Cultivo

- Agar Cetrimida, Bioxón 221
- Agar eosina azul de metileno, Bioxón 106
- Agar Flo, Bioxón 286

- Agar Mac Conkey. Bioxón 109
- Agar Nutritivo. Bioxón
- Agar de soya tripticaseína. Bioxón 108
- Agar sulfito bismuto. Bioxón 212
- Agar Tech. Bioxón 265
- Agar de Hierro y triple azúcar. Bioxón 114
- Agar de bilis verde-brillante. Bioxón 145
- Agar vogel - Johnson. Bioxón 217
- Agar xilosa-lisina-desoxicolato. Bioxón 211
- Agar 110.Difco - 0297.01
- Caldo de Selenito-Cistina. Bioxón 266
- Caldo de tetrionato. Bioxón 120
- Solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 (solución amortiguadora).
- Tiosulfato de sodio 0.1N (solución neutralizante)

NOTA:

Preparar los medios de cultivo según las indicaciones del fabricante.

Solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 :

Preparar según lo indica la U.S.P. XX - 874

Tiosulfato de sodio 0.1N :

Preparar según lo indica la U.S.P. XX - 1113

III - 2 MÉTODO :

El trabajo consistió en determinar la eficiencia bacteriológica de los germicidas en estudio en las siguientes muestras:

2.1 Muestras de agua:

Se empleó agua destilada estéril con un pH de 6 - 7 para preparar las suspensiones de *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* conteniendo de 100,000 a 1,000,000 de células viables por ml. Se trabajó cada uno de los microorganismos en forma individual para obtener la efectividad de los germicidas con cada microorganismo.

* Nota: Lo correcto es utilizar agua potable estéril para este tipo de prueba.

Se empleó agua para preparar las suspensiones con los microorganismos y que en esta forma estuvieran en contacto con el germicida, ya que los germicidas en estudio son recomendados por los fabricantes para desinfección de agua. Las diluciones para la cuenta de células viables se realizaron con solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2

Las muestras se mantuvieron a una temperatura de $24^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante el período de contacto con el germicida por medio de un baño de agua. Se efectuaron las pruebas a esta temperatura por considerarla como promedio de la temperatura ambiente.

2.2 Muestra de lechuga:

Se emplearon lechugas de hojas largas (orejonas), sin lavar, para determinar la eficiencia bacteriológica de los germicidas en estudio. Se dividieron las hojas de la lechuga en tres secciones: hojas de la parte externa, hojas de la parte media y hojas de la parte interna. Para esta división se consideraron las hojas de color verde mas intenso aproximadamente las 3 capas más superficiales como las hojas de la parte externa, las siguientes capas de hojas de tamaño regular y de color verde claro como la parte media y las capas de hojas pequeñas de color verde-amarillento como la parte interna. Aproximadamente un tercio en peso para cada sección de hojas.

Las hojas fueron licuadas con solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 para formar la muestra de trabajo.

Se mantuvieron las muestras durante el período de contacto con el germicida en baño maría a una temperatura de $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$

En todas las muestras se utilizaron 5 lotes diferentes de cada germicida y para las concentraciones se siguieron las indicaciones dadas por los fabricantes.

Se realizaron cinco pruebas en el agua con cada microorganismo y diez pruebas con las muestras de lechuga.

Los compuestos en estudio ejercen un efecto letal sobre los microorganismos al estar en contacto y la cuenta de células viables varía con el paso del tiempo de contacto. A continuación se describen -- los métodos empleados para cada muestra en los cuales se sigue el procedimiento de cuenta en placa.

2.1 Muestras de agua:

Comparar la acción bactericida de cada uno de los germicidas en estudio, obteniendo el porciento de reducción de células viables con cada uno de los microorganismos seleccionados para la prueba.

2.1.1 Empleando *Escherichia coli*:

2.1.1.a) Mantener un cultivo patrón en tubos conteniendo agar nutritivo inclinado, por medio de transferencias quincenales.

2.1.1.b) Del cultivo patrón tomar una asada y resembrar en estría en un tubo de agar nutritivo inclinado. Incubar de 30° - 35°C por 24 - 26 horas.

2.1.1.c) Recoger el desarrollo presente adicionando 3 ml. de solución salina estéril y agitar suavemente.

2.1.1.d) Transferir 1 ml. de esta suspensión a 10 ml. de solución salina estéril. Agitar para homogeneizar la suspensión.

2.1.1.e) Preparar una serie de 6 matraces Erlenmeyer conteniendo ---- 1000 ml. de agua destilada estéril cada uno, marcar un matraz por cada germicida en estudio.

2.1.1.f) Adicionar a cada matraz 1 ml. de la suspensión obtenida en el paso 2.1.1.d. y homogeneizar. Esta suspensión corresponde a la muestra de trabajo. Ver esquema No. 1

2.1.1.g) Obtener la cuenta inicial de células viables presentes en cada uno de los matraces:

g.1) Tomar 10 ml. de la muestra de trabajo y adicionarlos a 90 ml. de solución amortiguadora. Dilución 10^{-1} , preparar diluciones -- hasta 10^{-6}

g.2) De cada una de las diluciones anteriores transferir -- 1 ml. a cada una de 2 cajas de petri, Adicionar a cada caja aproximadamente 20 ml. de medio de agar de soya tripticasefna a 45°C y homogeneizar para distribuir las células en todo el medio.

g.3) Incubar las placas de 30°C - 35°C por 72 horas.

g.4) Una vez transcurrido el período de incubación, contar -- las colonias existentes en cada serie de placas. Contar aquellas placas en las cuales se encuentran de 30 a 300 colonias.

g.5) Anotar la cuenta obtenida, ésta corresponde a la Cuenta Inicial. Ver esquema No. 2

2.1.1.h) Obtener la Cuenta Control con la solución neutralizante,

h.1) Transferir 10 ml. de la mezcla de trabajo a 85 ml. de solución amortiguadora y mezclar. Adicionar 5 ml. de la solución neutralizante (Tiosulfato de sodio 0,1N estéril) y mezclar: Dilución 10^{-1} . Realizar diluciones hasta 10^{-6}

h.2) De cada una de las diluciones anteriores transferir -- 1 ml. a cada una de 2 cajas de petri. Adicionar a cada caja aproximadamente 20 ml. de medio de agar de soya tripticasefna a 45°C y homogeneizar para distribuir las células en todo el medio.

h.3) Incubar las placas de 30° - 35°C por 72 horas.

h.4) Una vez transcurrido el período de incubación contar las colonias existentes en cada serie de placas. Contar aquellas placas en las cuales se encuentran de 30 a 300 colonias. Ver esquema No. 3

h.5) Anotar la cuenta obtenida, esta cuenta corresponde a un control con el agente neutralizante, esta cuenta no debe variar sen ----

siblemente de la Cuenta Inicial.

2.1.1.i) Obtener el porciento de reducción de células viables por el efecto de los germicidas en estudio.

i.1) Adicionar a cada matraz conteniendo la muestra de trabajo la cantidad de germicida correspondiente, recomendada en la tabla No. III.1 El germicida se adiciona después de tomar la muestra para la Cuenta Inicial y la Cuenta Control con el neutralizante.

i.2) 10 minutos después de la adición de los germicidas, tomar 10 ml. de la muestra de trabajo y adicionarlos a 85 ml. de solución amortiguadora, adicionar 5 ml. de solución neutralizante y agitar: Dilución 10^{-1} . Realizar diluciones hasta 10^{-6}

i.3) De cada una de las diluciones anteriores transferir -- 1 ml. a cada una de 2 cajas de petri. Adicionar a cada caja aproximadamente 20 ml. de medio de agar de soya tripticaseína a 45°C y homogeneizar para distribuir las células en todo el medio.

i.4) Incubar las placas de 30°- 35°C por 72 horas.

i.5) Una vez transcurrido el período de incubación, contar las colonias existentes en cada serie de placas. Contar en aquellas -- placas en las cuales se encuentren de 30 a 300 colonias.

i.6) Anotar la cuenta obtenida, esta cuenta corresponde --- a la cuenta de células viables presentes después de 10 minutos de contacto con el germicida . Ver esquema No. 4

i.7) Calcular el porcentaje de reducción de células viables con respecto a la Cuenta Inicial obtenida en el paso 2.1.1.g.

i.8) Repetir las operaciones marcadas a partir del paso -- i.2 a los 20, 30, 40, 50, 60, 120 y 180 minutos después de la adición de los germicidas. En el paso i.6 obtendremos en cada caso el por--- ciento de reducción de células o porcentaje de muerte a los 10, 20, 30, 40, 50, 60, 120 y 180 minutos, para cada germicida en estudio, con *Escherichia coli* como microorganismos de prueba.

2.1.2 Empleando *Salmonella typhi*:

2.1.2.a) Mantener un cultivo patrón en tubos conteniendo agar nutritivo inclinado por medio de transferencias quincenales.

2.1.2.b) Del cultivo patrón tomar una asada y resembrar en estria en un tubo de agar nutritivo inclinado. Incubar de 30°- 35°C por 24 - 26 horas.

2.1.2.c) Recoger el desarrollo presente con 3 ml. de solución salina y agitar nuevamente.

2.1.2.d) Transferir 1 ml. de esta suspensión a 10 ml. de solución salina estéril y agitar suavemente para homogeneizar la suspensión.

2.1.2.e) Continuar como en la prueba con *Escherichia coli* a partir -- del paso 2.1.1.e , hasta el paso i.8 inclusive.

2.1.3 Empleando *Pseudomonas aeruginosa*:

2.1.3.a) Mantener un cultivo patrón en tubos conteniendo agar nutritivo inclinado por medio de transferencias quincenales.

2.1.3.b) Del cultivo patrón tomar una asada y resembrar en estriá en un tubo de agar nutritivo inclinado, incubar de 30°- 35°C por 48 horas.

2.1.3.c) Recoger el desarrollo presente adicionando 3 ml. de solución salina estéril

2.1.3.d) Transferir 1 ml. de esta suspensión a 10 ml. de solución salina estéril, agitar suavemente para homogeneizar la suspensión.

2.1.3.e) Continuar como en la sección 2.1.1. a partir del paso ---- 2.1.1.e hasta el paso i.8

2.1.4. Empleando *Staphylococcus aureus*:

2.1.4.a) Seguir el procedimiento mencionado en la sección 2.1.1. excepto que el microorganismo de prueba será *Staphylococcus aureus*. Iniciar desde el paso 2.1.1.a. hasta el paso i.8

2.2 Muestras de Lechuga:

Comparar la acción bactericida de cada uno de los germicidas en estudio, obteniendo el porciento de reducción de células viables, o - porciento de muerte, de los microorganismos presentes en las muestras de lechuga. Realizar esta prueba por separado en las hojas de la parte ex-

terna, hojas de la parte media y hojas de la parte interna de la lechuga

2.2.1 Empleando las hojas de la parte externa de la lechuga:

2.2.1.a) Separar las hojas de la parte externa de 5 lechugas (separar las 3 capas externas de hojas).

2.2.1.b) Pesar 100 g. de hojas y transferirlas a un vaso de licuadora estéril, agregar 1000 ml. de solución amortiguadora y licuar por 1 minuto: Dilución 10^{-1} .

2.2.1.c) Transferir la mezcla a un matraz Erlenmeyer de 2 litros previamente esterilizado. Dejar reposar por 10 minutos. Esta mezcla corresponde a la muestra de trabajo.

2.2.1.d) Preparar de la misma forma seis muestras y marcar los matraces del 1 al 6. Estos números corresponden a cada uno de los germicidas en estudio.

2.2.1.e) Obtener la Cuenta Inicial de células viables presentes en cada una de las muestras:

e.1) Transferir 1 ml. de la muestra de trabajo a 99 ml. de solución amortiguadora y mezclar: Dilución 10^{-3} , realizar diluciones hasta 10^{-7}

e.2) De cada una de las diluciones anteriores, transferir - 1 ml. a cada una de dos cajas de petri, adicionar aproximadamente 20 ml. de medio de agar de soya tripticaseína a 45°C y homogeneizar para distribuir las células en todo el medio.

e.3) Incubar las placas de 30°- 35°C por 72 horas.

e.4) Transcurrido el período de incubación, contar las colonias existentes en cada serie de placas. Contar en aquellas placas en las cuales se encuentran de 30 a 300 colonias.

e.5) Anotar la cuenta obtenida, ésta corresponde a la Cuenta Inicial. Ver esquema No. 5

2.2.1.f) Obtener la Cuenta Control con la solución neutralizante.

f.1) Transferir 1 ml. de la muestra de trabajo a 94 ml. de solución amortiguadora, adicionar 5 ml. de solución neutralizante (Tio-sulfato de sodio 0.1N estéril) y mezclar: Dilución 10^{-3} . Realizar diluciones hasta 10^{-7}

f.2) De cada una de las diluciones anteriores, transferir - 1 ml. a cada una de dos cajas de petri. Adicionar aproximadamente 20 ml. de medio de agar de soya tripticaseína a 45°C y homogeneizar para dis--tribuir las células en todo el medio.

f.3) Incubar las placas de 30°- 35°C por 72 horas.

f.4) Una vez transcurrido el período de incubación, contar las colonias existentes en cada serie de placas. Contar en aquellas ---placas en las cuales se encuentran de 30 a 300 colonias.

f.5) Anotar la cuenta obtenida, esta cuenta corresponde a un control con la solución neutralizante, esta cuenta no debe variar ---sensiblemente de la Cuenta Inicial. Ver esquema No. 6

2.2.1.g) Obtener el porciento de reducción de células viables por el efecto de los germicidas en estudio:

g.1) Adicionar a cada matraz conteniendo la muestra de trabajo la cantidad de germicidas correspondientes, recomendada en la tabla No. III 1. El germicida se adiciona después de tomar la muestra para la Cuenta Inicial y la Cuenta Control con el neutralizante.

g.2) Diez minutos después de la adición de los germicidas en estudio, tomar 10 ml. de la muestra de trabajo y transferirlo a --- 85 ml. de solución amortiguadora, adicionar 5 ml. de la solución neutralizante y agitar: Dilución 10^{-2} . Realizar diluciones hasta 10^{-7}

g.3) De cada una de las diluciones anteriores transferir -- 1 ml. a cada una de dos cajas de petri. Adicionar aproximadamente -- 20 ml. de medio de agar de soya tripticaseína a 45°C y homogeneizar para distribuir las células en todo el medio.

g.4) Incubar las placas de 30°- 35°C por 72 horas.

g.5) Una vez transcurrido el período de incubación, contar las colonias existentes en cada serie de placas. Contar en aquellas - placas en las cuales se encuentren de 30 a 300 colonias.

g.6) Anotar la cuenta obtenida, esta cuenta corresponde a la cuenta de células viables presentes después de 10 minutos de contacto con el germicida. Ver esquema No. 7

g.7) Calcular el porciento de reducción de células viables con respecto a la Cuenta Inicial obtenida en el paso 2.2.1.e

g.8) Repetir las operaciones anotadas a partir del paso g.3 a los 20, 30, 40, 50, 60, 120 y 180 minutos después de adicionar el germicida en cada matraz. En el paso g.7 obtendremos en cada caso el porcentaje de reducción de células viables o porcentaje de muerte a los 10, 20, 30, 40, 50, 60, 120 y 180 minutos, para cada germicida en estudio.

2.2.2 Empleando las hojas de la parte media de la lechuga:

2.2.2.a) Separar las hojas de la parte media de 5 lechugas (las capas con hojas verde claro).

2.2.2.b) Pesar 100 g. de hojas y transferirlas a un vaso de licuadora estéril, agregar 1000 ml. de solución amortiguadora y licuar por 1 minuto.

2.2.2.c) Continuar como en la sección 2.2.1. a partir del paso 2.2.1.c

2.2.2.d) Obtener la Cuenta Inicial de células viables siguiendo los pasos de la sección 2.2.1. a partir del paso 2.2.1.e

2.2.2.e) Obtener la Cuenta Control con la solución neutralizante como lo marca la sección 2.2.1. a partir del paso 2.2.1.f

2.2.2.f) Obtener el porcentaje de reducción de células viables por efecto de los germicidas en estudio siguiendo los pasos de la sección 2.2.1 a partir del paso 2.2.1.g

2.2.3 Empleando las hojas de la parte interna de la lechuga:

2.2.3.a) Separar las hojas de la parte interna de 5 lechugas.

2.2.3.b) Pesar 100 g. de las hojas y transferirlas a un vaso de licuadora estéril, agregar 1000 ml. de solución amortiguadora y licuar por 1 minuto.

2.2.3.c) Continuar como en la sección 2.2.1 a partir del paso 2.2.1.c.

2.2.3.d) Obtener la cuenta inicial de células viables siguiendo los pasos de la sección 2.2.1. a partir del paso 2.2.1.e.

2.2.3.e) Obtener la cuenta Control con la solución neutralizante como lo marca la sección 2.2.1 a partir del paso 2.2.1.f.

2.2.3.f) Obtener el porcentaje de reducción de células viables por efecto de los germicidas en estudio siguiendo los pasos de la sección 2.2.1 a partir del paso 2.2.1.g.

2.2.4 Examen bacteriológico de las muestras de lechuga.

2.2.4.a) Utilizando las muestras de trabajo obtenidas en los pasos --- 2.2.1.c., 2.2.2.b y 2.2.3.b. seguir los pasos del esquema No. 8 para investigar la presencia de *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* en las lechugas utilizadas para la -- prueba.

T A B L A No. III.1

Germicida =====	Cantidad recomendada en gotas *		Composición =====	Concentración en - 1000 ml. de agua. =====	
	Agua (por litro)	Vegetales (por litro de agua en la cual se sumergen)		A g u a	Vegetales
1	1	5	Plata coloidal	0.160 μ g	0.80 μ g
2	1	10	Plata coloidal	0.160 μ g	1.6 μ g
3	5	10	** Oxidos de cloro estabilizados Cl ₂ O ₇	0.25 ml/l	0.5 ml/l
4	5	5	Clorato de sodio	20 mg	20 mg
			Sulfato de sodio	22.5 mg	22.5 mg
			Peróxido de hidrógeno	20 mg	20 mg
			Cloruro de sodio	25 mg	25 mg
			Clorito de sodio	37.5 mg	37.5 mg
5	1	1	Iodo Polivinilpirrolidona	1 mg	1 mg
6	1 tableta	1 tableta	Cloramina T	250 mg	250 mg

* Se considera que una gota equivale a aproximadamente 0.05 ml.

** No se reporta concentración en la fórmula del producto.

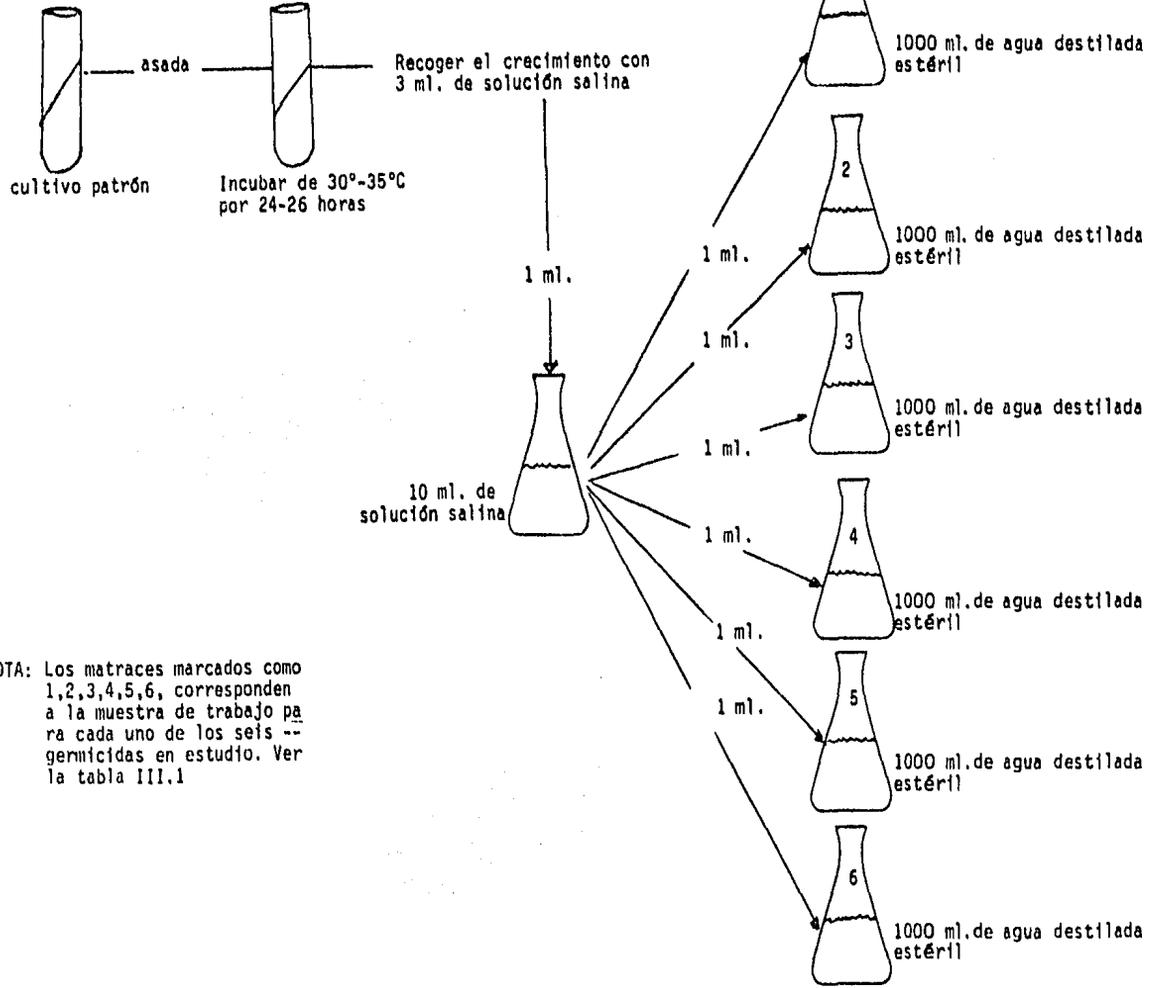
T A B L A III 2

RECOMENDACIONES DE LOS FABRICANTES PARA USO DE LOS GERMICIDAS

GERMICIDA	CANTIDAD RECOMENDADA EN GOTAS		TIEMPO DE EXPOSICION RECOMENDADO EN MINUTOS	
	AGUA (POR LITRO)	VEGETALES (POR LITRO DE - AGUA EN LA CUAL SE SUMERGEN)	AGUA	VEGETALES
1	1	5	20" ó 180"*	60"
2	1	10	20" ó 180"*	60"
3	5	10	20"	60"
4	5	5	30"	30"
5	1	1	40"	40"
6	1 tableta	1 tableta	90"	90"

* PARA AGUA ALTAMENTE CONTAMINADA.

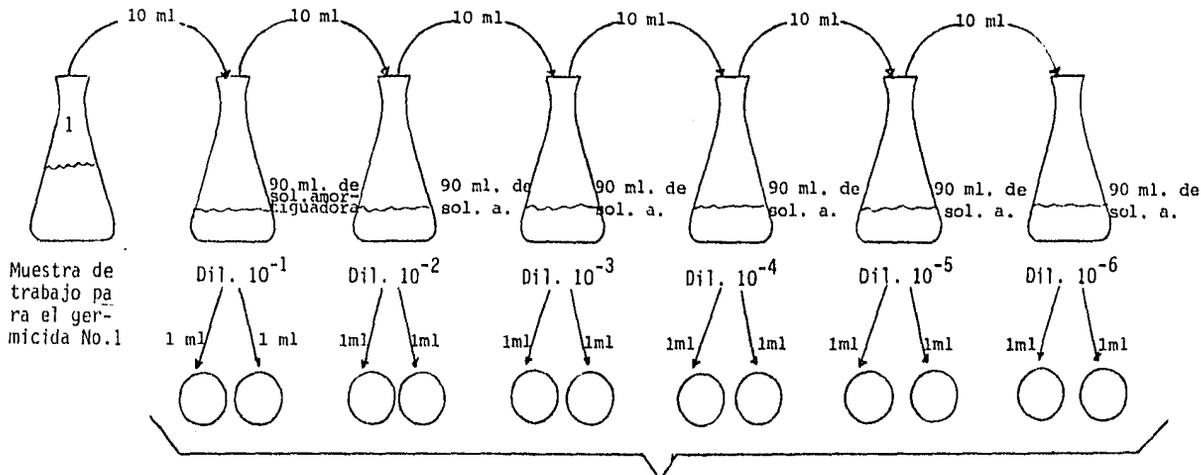
PREPARACION DE MUESTRA DE TRABAJO: MUESTRAS DE AGUA



NOTA: Los matraces marcados como 1,2,3,4,5,6, corresponden a la muestra de trabajo para cada uno de los seis -- gemicidas en estudio. Ver la tabla III.1

CUENTA INICIAL (MUESTRAS DE AGUA)

s.a. = solución amortiguadora



Adicionar a cada caja de petri aproximadamente 20 ml. de medio, fundido a 45° C de agar de soya tripticasefina

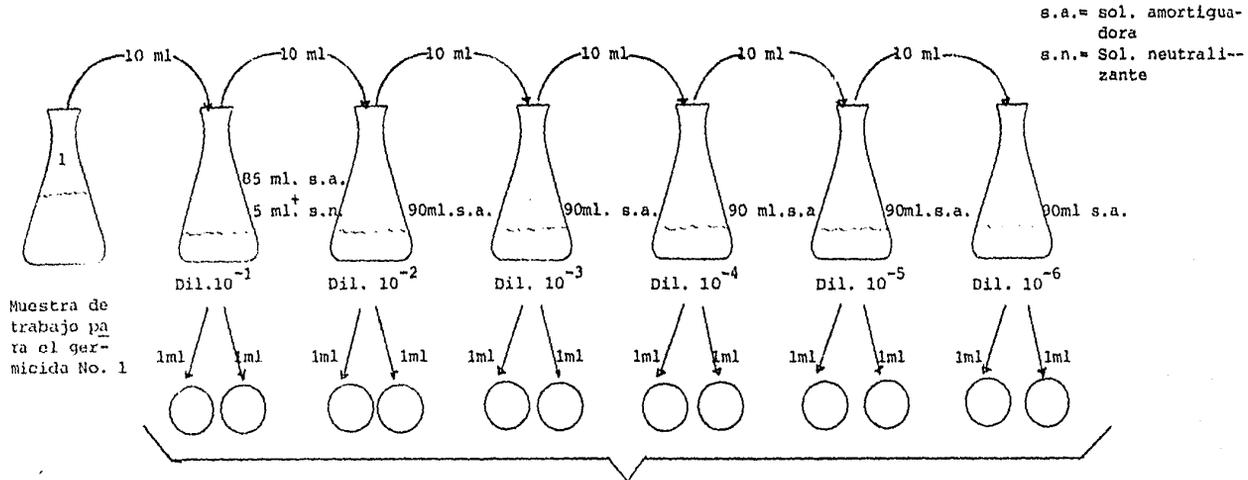
Incubar de 30° - 35°C por 72 horas

Contar las colonias existentes en aquellas cajas en las cuales se encuentran de 30 - 300 colonias

Anotar la Cuenta Inicial

NOTA: Para los seis germicidas seguir este esquema

CUENTA CONTROL CON LA SOLUCION NEUTRALIZANTE (MUESTRAS DE AGUA)



Adicionar a cada caja de petri aproximadamente 20 ml. de medio, fundido a 45° C de agar de soya tripticaseína.

Incubar de 30° - 35°C por 72 horas

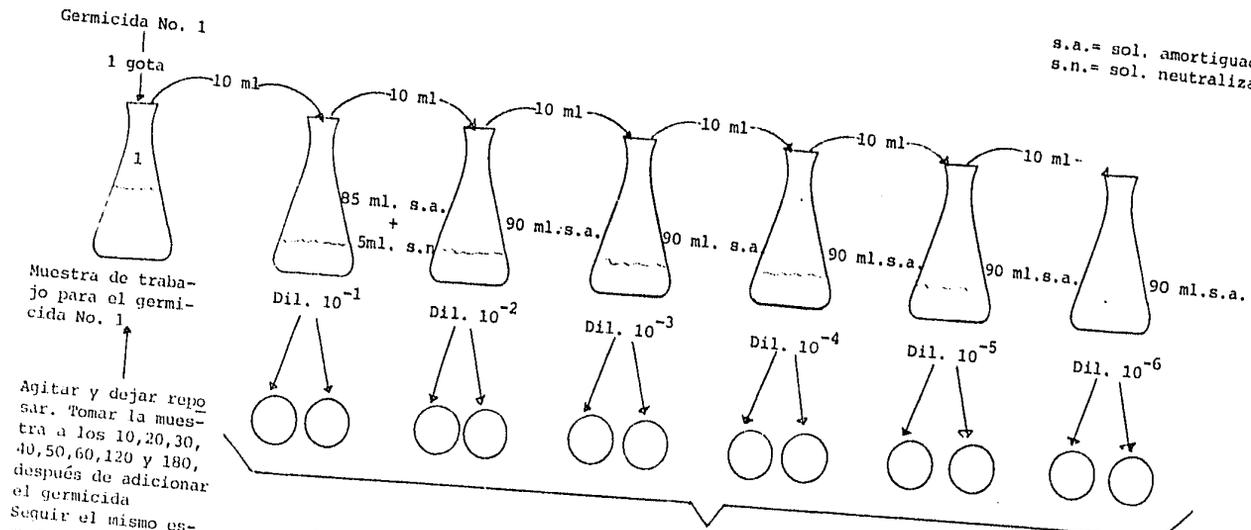
Contar las colonias existentes en aquellas cajas en las cuales se encuentran de 30 - 300 colonias

Anotar la Cuenta Control

NOTA: Para los 6 germicidas seguir este esquema

PORCIENTO DE REDUCCION DE CELULAS VIABLES POR EFECTO DE LOS
GERMICIDAS: MUESTRAS DE AGUA

s.a.= sol. amortiguadora
s.n.= sol. neutralizante



Adicionar a cada Caja de Petri aproximadamente 20 ml. de medio, fundido a 45°C de agar de soya tripticaseína.

Incubar de 30° - 35° C por 72 horas

Contar las colonias existentes en aquellas cajas en la cuales se encuentran de 30 - 300 colonias

Anotar la cuenta obtenida.

NOTA: Seguir el mismo esquema para los seis germicidas.

CUENTA INICIAL: MUESTRAS DE LECHUGA

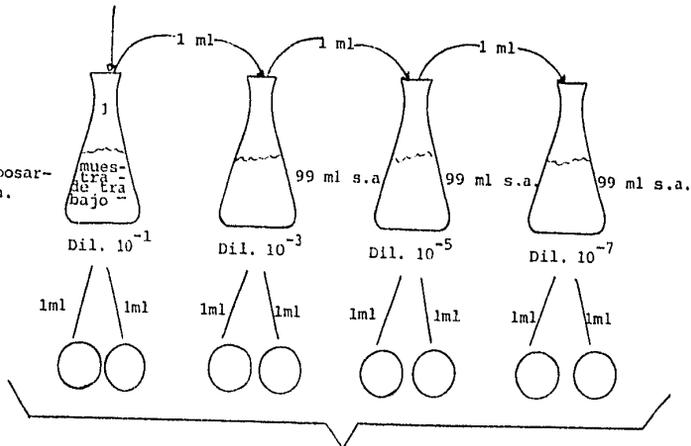


100 g, de hojas de lechuga
+
1000 ml. de sol. amortiguadora

s.a. = solución amortiguadora

Licuar 1 minuto
Vaciar la mezcla

Dejar reposar-
lo 10 min.



Adicionar a cada caja de petri aproximadamente 20 ml de medio fundido a 45°C de Agar de Soya Tripticaseína

Incubar de 30° - 35° C por 72 horas

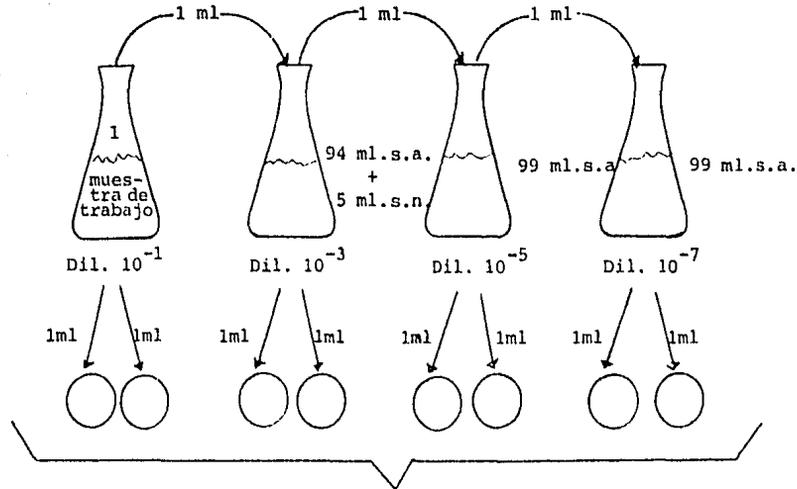
Contar las colonias existentes en aquellas cajas en las cuales se encuentran de 30 - 300 colonias

Anotar la cuenta obtenida.

CUENTA CONTROL CON LA SOLUCION NEUTRALIZANTE: MUESTRAS DE LECHUGA

s.a. = solución amortiguadora

s.n. = solución neutralizante



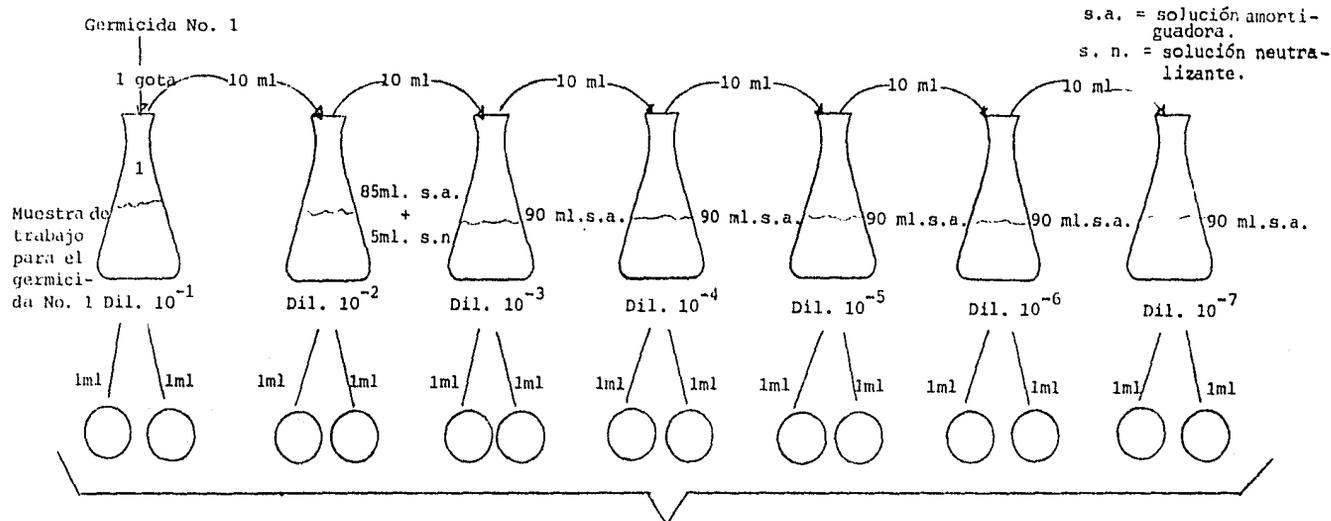
Adicionar a cada caja de petri aproximadamente 20 ml. de Medio, fundido a 45°C de agar de soya tripticaseína.

↓
Incubar de 30° - 35°C por 72 horas

↓
Contar las colonias existentes en aquellas cajas en las cuales se encuentran de 30 - 300 colonias

↓
Anotar la cuenta obtenida

REDUCCION DE CELULAS VIABLES POR EFECTO DE LOS GERMICIDAS: MUESTRAS DE LECHUGA



Agitar y dejar reposar tomar la muestra a los 10', 20', 30', 40', 50', 60', 120', 180' despues de adicionar el germicida. Seguir el mismo esquema en cada tiempo

NOTA: Seguir el mismo esquema para los 6 germicidas.

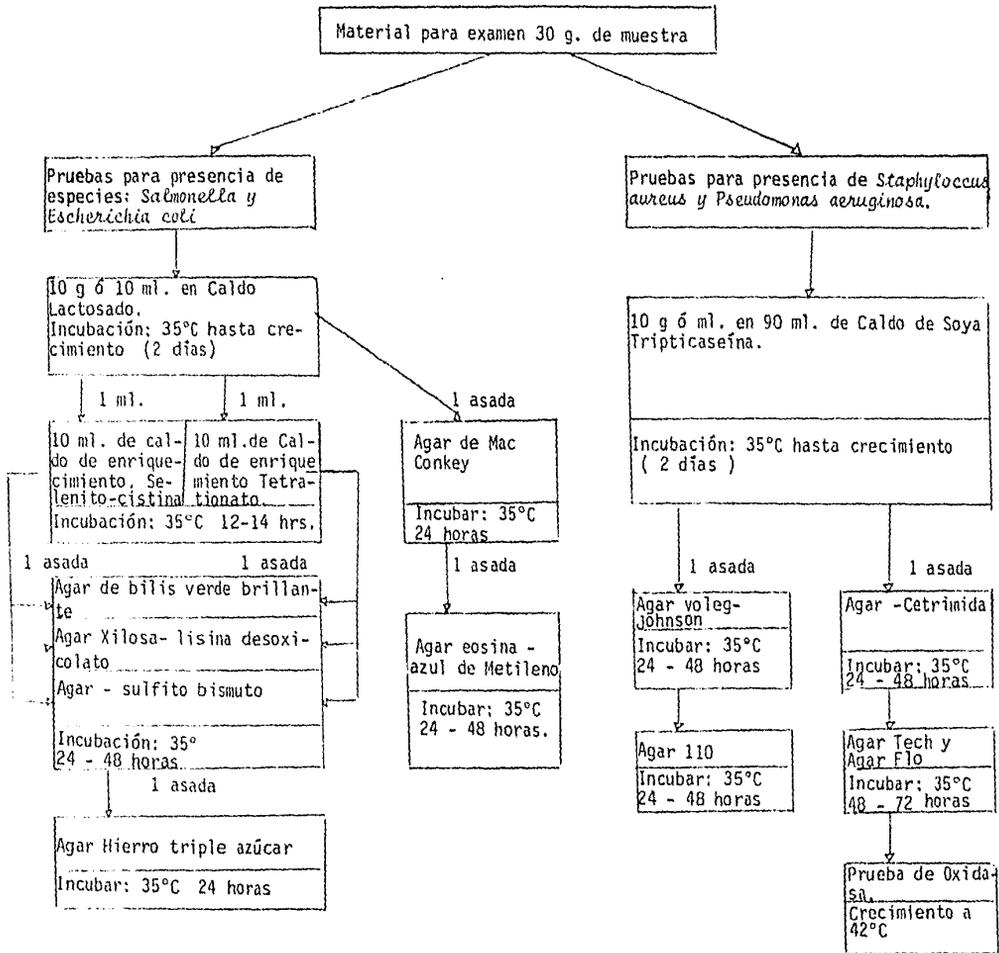
Adicionar a cada caja de petri aproximadamente 20 ml de medio fundido a 45°C de Agar de Soay tripticaseína.

Incubar de 30° - 3-5°C por 72 horas

Contar las colonias existentes en aquellas cajas en las cuales se encuentren de 30 - 300 colonias

Anotar la cuenta viable

ESQUEMA No. 8 PARA EL EXAMEN BACTERIOLOGICO DE LAS MUESTRAS DE LECHUGA



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y COMENTARIOS

LOS RESULTADOS SE PUEDEN OBSERVAR EN LAS SIGUIENTES TABLAS:

TABLA IV 1

SOLUCION DE PLATA COLOIDAL I

Muestra : Agua
 Concentración: 0.16 μ g/ml.
 Temperatura : 24° \pm 1°C
 pH : 6 - 7

CONCENTRACION DE CELULAS VIABLES/ml.

Exposición en minutos	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. aureus</i>
0	5.0×10^5	4.0×10^5	6.0×10^5	6.0×10^5
10	3.0×10^4	1.0×10^4	2.0×10^4	5.0×10^4
20	2.8×10^3	2.0×10^3	3.0×10^3	3.0×10^3
30	2.0×10^2	8.0×10^2	4.0×10^2	2.0×10^2
40	2.0×10	1.0×10^2	8.0×10	8.0×10
50	1.0×10	2.0×10	5.0×10	5.0×10
60	0.5×10	0.2×10	2.0×10	1.0×10
120	-	-	-	-
180	-	-	-	-

SOLUCION DE PLATA COLOIDAL 2

Muestra : Agua
 Concentración: 0.160 $\mu\text{g}/\text{ml}$.
 Temperatura : $24^\circ \pm 1^\circ\text{C}$
 pH : 6 - 7

CONCENTRACION DE CELULAS VIABLES/ml.

Exposición en minutos	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. aureus</i>
0	5.0×10^5	4.5×10^5	5.8×10^5	6.0×10^5
10	8.2×10^3	7.2×10^3	2.0×10^4	5.9×10^3
20	6.4×10^2	5.2×10^2	8.5×10^2	3.8×10^2
30	8.5×10	4.0×10	3.0×10^2	5.3×10
40	2.0×10	-	1.8×10	-
50	-	-	-	-
60	-	-	-	-
120	-	-	-	-
180	-	-	-	-

TABLA IV 3

SOLUCION DE OXIDOS SUPERIORES DE CLORO ESTABILIZADOS Cl₂O₇

Muestra : Agua
 Concentración: 0.25 ml/l.
 Temperatura : 24° ± 1°C
 pH : 6 - 8

CONCENTRACION DE CELULAS VIABLES/ml

Exposición en minutos	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. aureus</i>
0	5.2×10^5	4.0×10^5	6.2×10^5	6.0×10^5
10	3.8×10^5	2.9×10^5	5.1×10^5	5.0×10^5
20	1.9×10^5	9.8×10^4	4.2×10^5	9.1×10^4
30	9.0×10^4	8.5×10^4	9.1×10^4	8.5×10^4
40	4.8×10^4	7.6×10^3	6.8×10^4	9.5×10^3
50	5.2×10^3	5.3×10^3	4.0×10^4	7.6×10^3
60	3.8×10^3	3.1×10^3	3.8×10^3	4.2×10^2
120	1.1×10^2	2.0×10^2	9.1×10^2	2.6×10^2
180	3.0×10	1.5×10^2	5.0×10	1.8×10

TABLA IV 4

SOLUCION DE: CLORATO DE SODIO, SULFATO DE SODIO, PEROXIDO DE
 HIDROGENO, CLORURO DE SODIO, CLORITO DE SODIO.

Muestra : Agua
 Concentración: 20 mg, 22.5 mg, 20 mg, 25 mg, 37.5 mg.
 Temperatura : 24°C ± 1°C
 pH : 6 - 7

CONCENTRACION DE CELULAS VIABLES/ml.

Exposición en minutos	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. aureus</i>
0	5.3×10^5	4.5×10^5	6.0×10^5	6.0×10^5
10	3.9×10^5	2.8×10^5	5.2×10^5	5.3×10^5
20	2.5×10^5	1.2×10^5	4.5×10^5	2.9×10^5
30	9.4×10^4	8.5×10^4	3.8×10^5	4.2×10^4
40	7.6×10^4	7.2×10^4	4.8×10^4	3.8×10^4
50	3.4×10^4	5.6×10^4	2.6×10^4	5.6×10^3
60	2.1×10^4	3.2×10^4	1.2×10^4	3.4×10^3
120	9.9×10^2	6.3×10^2	7.5×10^2	1.8×10^2
180	8.0×10	9.5×10	8.6×10	5.0×10

TABLA IV 5

SOLUCION DE YODO-POLIVINILPIRROLIDONA

Muestra : Agua
 Concentración: 1 $\mu\text{g/ml}$.
 Temperatura : $24^\circ \pm 1^\circ\text{C}$
 pH : 6 - 7

CONCENTRACION DE CELULAS VIABLES/ml.

Exposición en minutos	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. aureus</i>
0	5.0×10^5	4.5×10^5	6.0×10^5	6.0×10^5
10	3.0×10^3	2.5×10^3	8.0×10^3	4.0×10^2
20	2.5×10^2	1.2×10^2	2.0×10^2	2.5×10
30	1.0×10	0.8×10	1.5×10	1.0×10
40	-	-	-	-
50	-	-	-	-
60	-	-	-	-
120	-	-	-	-
180	-	-	-	-

TABLA IV 6

SAL DE SODIO DE LA P-SULFOCLORAMINA DEL TOLUENO (CLORAMINA-T)

Muestra : Agua
 Concentración: 250 μ g/ml.
 Temperatura : 24°C \pm 1°C
 pH : 6 - 7

CONCENTRACION DE CELULAS VIABLES/ml.

Exposición en minutos	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. aureus</i>
0	5.0×10^5	4.0×10^5	6×10^5	6×10^5
10	3.8×10^4	5.2×10^4	2.8×10^4	4.5×10^4
20	3.9×10^3	3.3×10^4	5.2×10^3	5.0×10^4
30	3.2×10^2	2.1×10^3	9.8×10^2	4.9×10^2
40	1.8×10^2	1.7×10^3	7.2×10^2	3.0×10^2
50	1.0×10^2	1.1×10^3	9.9 x 10	8.1 x 10
60	8.0×10	9.5×10^2	5.2 x 10	5.0 x 10
120	-	3.5 x 10	1.0 x 10	3.0 x 10
180	-	-	-	-

PORCENTAJE DE MUERTE OBTENIDO CON LAS SOLUCIONES GERMICIDAS CON:

Escherichia coli

TIEMPO DE CONTACTO	1-PVP	PLATA C. 1	PLATA C. 2	CLORAMINA-T	SOLUCION DE OXIDOS SUP DE CLORO	SOLUCION DE COMPUESTOS DE CLORO
10	99.4445	97.5000	98.4000	87.0000	27.5000	27.7778
20	99.9733	99.5000	99.0847	81.7500	75.5000	73.3333
30	99.9902	99.8000	99.9911	99.4750	78.7500	81.1111
40	100.000	99.9750	100.0000	99.5750	98.1000	84.0000
50	-	99.9950	-	99.7250	98.6750	87.5556
60	-	99.9995	-	99.7625	99.2250	92.8889
120	-	100.0000	-	99.9913	99.9500	99.8600
180	-	-	-	100.0000	99.9625	99.9789

PORCENTAJE DE MUERTE OBTENIDO CON LAS SOLUCIONES GERMICIDAS CON:

Salmonella typhi

TIEMPO DE CONTACTO	1-PVP	PLATA C. 1	PLATA C. 2	CLORAMINA-T	SOLUCION DE OXIDOS SUP. DE CLORO	SOLUCION DE COMPUESTOS DE CLORO
10	98.6667	96.6667	96.5517	95.3333	17.7419	13.3333
20	99.9667	99.5000	98.5345	99.1333	32.2581	25.0000
30	99.9975	99.9333	99.9483	99.8367	85.3226	36.6667
40	100.0000	99.9867	99.9969	99.8800	89.0323	92.0000
50	-	99.9917	100.0000	99.9835	93.5484	95.6667
60	-	99.9967	-	99.9913	99.3871	98.0000
120	-	100.000	-	99.9983	99.8532	99.8750
180	-	-	-	100.000	99.9919	99.9857

PORCENTAJE DE MUERTE OBTENIDO CON LAS SOLUCIONES GERMICIDAS CON:

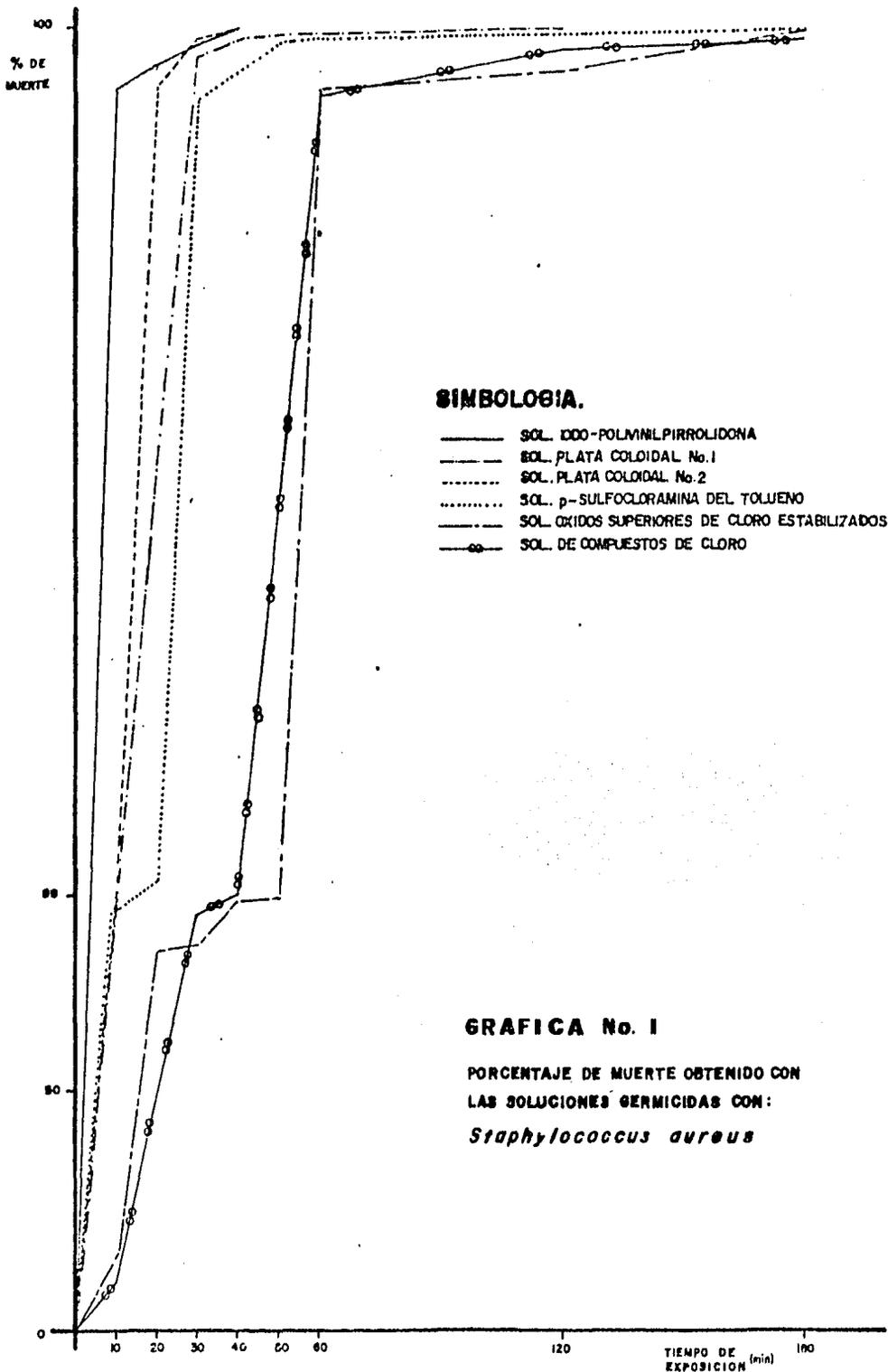
Pseudomonas aeruginosa

TIEMPO DE CONTACTO	I-PVP	PLATA C. 1	PLATA C. 2	CLORAMINA-T	SOLUCION DE OXIDOS SUP. DE CLORO	SOLUCION DE COMPUESTO DE CLORO
10	99.4000	94.0000	98.3600	92.4000	26.9231	26.4151
20	99.9500	99.4400	99.8720	99.2200	63.4615	52.8302
30	99.9980	99.9400	99.9830	99.9360	82.6923	82.2642
40	100.0000	99.9960	99.9960	99.9640	90.7692	85.6604
50	-	99.9980	100.000	99.9800	99.0000	93.5849
60	-	99.9990	-	99.9840	99.2692	96.0377
120	-	100.0000	-	100.0000	99.3789	99.8132
180	-	-	-	-	99.9942	99.9849

PORCENTAJE DE MUERTE OBTENIDO CON LAS SOLUCIONES GERMICIDAS CON:

Staphylococcus aureus

TIEMPO DE CONTACTO	I-PVP	PLATA C. 1	PLATA C. 2	CLORAMINA-T	SOLUCION DE OXIDOS SUP. DE CLORO	SOLUCION DE COMPUESTOS DE CLORO
10	99.9333	91.6667	99.0167	92.5000	16.6667	11.6667
20	99.9958	99.5000	99.9367	99.1667	84.8333	51.6667
30	99.9983	99.9667	99.9912	99.9183	85.8333	93.0000
40	100.000	99.9867	100.000	99.9500	98.4167	93.6667
50	-	99.9917	-	99.9865	98.7333	99.0667
60	-	99.9983	-	99.9917	99.9300	99.4333
120	-	100.000	-	99.9950	99.9567	99.9700
180	-	-	-	100.0000	99.9970	99



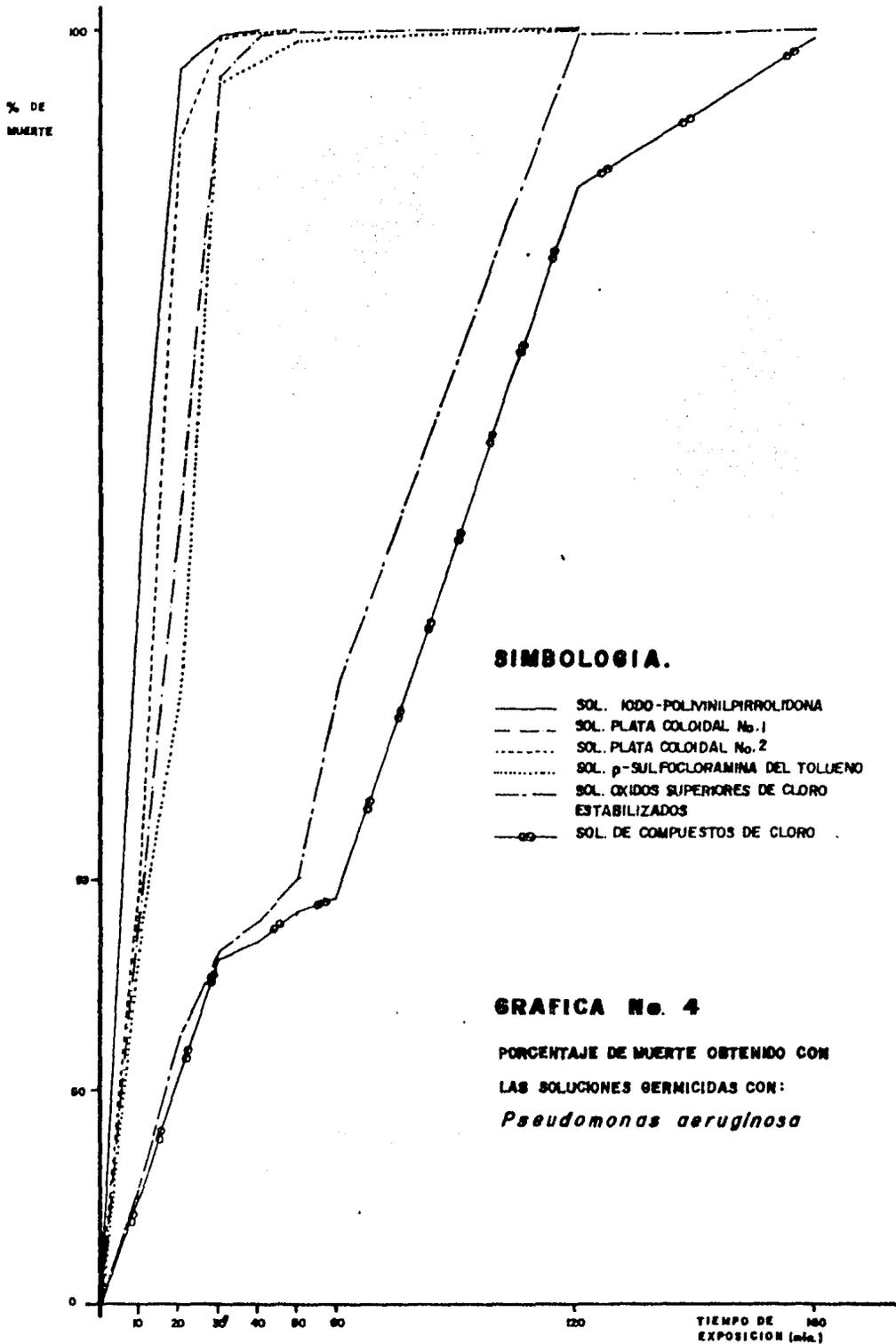


TABLA IV 11

SOLUCION DE PLATA COLOIDAL I

Muestra : Lechuga
 Concentración: 0.8 $\mu\text{g/ml}$.
 Temperatura : $24^\circ \pm 1^\circ\text{C}$
 pH : 6 - 7

CONCENTRACION DE CELULAS VIABLES/g. DE MUESTRA

Tiempo de contacto en minutos	Hojas de la parte externa	Hojas de la parte media	Hojas de la parte interna
0	1.9×10^7	6.5×10^6	7.3×10^5
10	1.3×10^6	6.6×10^5	6.4×10^4
20	1.9×10^5	1.3×10^5	2.2×10^4
30	1.1×10^4	3.4×10^4	6.7×10^3
40	1.6×10^3	1.4×10^4	2.3×10^3
50	2.7×10^2	2.5×10^3	4.8×10^2
60	2.6×10	4.7×10^2	8.0×10
120	-	1.4×10^2	1.3×10
180	-	-	-

SOLUCION DE PLATA COLOIDAL' 2

Muestra : Lechuga
 Concentración: 1.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$.
 Temperatura : 24° \pm 1°C
 pH : 6 - 7

CONCENTRACION DE CELULAS VIABLES/g. DE MUESTRA

Tiempo de contacto en minutos	Hojas de la parte externa	Hojas de la parte media	Hojas de la parte interna
0	2.4×10^7	6.9×10^6	6.9×10^5
10	3.1×10^5	4.5×10^5	7.8×10^4
20	1.4×10^4	2.4×10^4	6.1×10^3
30	1.4×10^3	2.4×10^3	1.2×10^3
40	1.6×10^2	2.0×10^2	2.1×10^2
50	1.5×10	2.6×10	2.6×10
60	-	-	-
120	-	-	-
180	-	-	-

TABLA IV 13

SOLUCION DE OXIDOS SUPERIORES DE CLORO ESTABILIZADOS Cl₂O₇

Muestra : Lechuga
 Concentración: 0.5 ml/l
 Temperatura : 24° ± 1°C
 pH : 6 - 8

CONCENTRACION DE CELULAS VIABLES/g. DE MUESTRA

Tiempo de contacto en minutos	Hojas de la parte externa	Hojas de la parte media	Hojas de la parte interna
0	2.0×10^7	6.2×10^6	6.7×10^5
10	3.1×10^6	7.5×10^5	7.6×10^4
20	3.9×10^5	2.9×10^5	4.2×10^4
30	1.1×10^5	6.1×10^4	7.2×10^3
40	1.8×10^4	2.1×10^4	3.9×10^3
50	3.5×10^3	5.1×10^3	7.3×10^2
60	1.2×10^3	1.0×10^3	3.5×10^2
120	1.8×10^2	1.7×10^2	7.3×10
180	3.1×10	3.5×10	-

TABLA IV 14

SOLUCION DE: CLORATO DE SODIO, SULFATO DE SODIO, PEROXIDO DE
 HIDROGENO, CLORURO DE SODIO, CLORITO DE SODIO.

Muestra : Lechuga

Concentración: 20 $\mu\text{g/ml}$, 22.5 $\mu\text{g/ml}$, 20 $\mu\text{g/ml}$, 25 $\mu\text{g/ml}$, 37.5 $\mu\text{g/ml}$.

Temperatura : $24^\circ \pm 1^\circ\text{C}$

pH : 6 - 7

CONCENTRACION DE CELULAS VIABLES/g. DE MUESTRA

Tiempo de contac to en minutos	Hojas de la parte externa	Hojas de la parte media	Hojas de la parte interna
0	2.0×10^7	6.4×10^6	6.6×10^5
10	2.3×10^6	7.4×10^5	2.1×10^5
20	1.9×10^5	2.4×10^5	5.3×10^4
30	3.2×10^4	7.1×10^4	2.2×10^4
40	6.3×10^3	2.8×10^4	7.0×10^3
50	2.2×10^3	6.8×10^3	4.2×10^3
60	3.3×10^2	1.7×10^3	1.2×10^3
120	5.5×10	1.9×10^2	1.9×10^2
180	1.5×10	2.5×10	3.5×10

SOLUCION DE YODO-POLIVINILPIRROLIDONA

Muestra : Lechuga
 Concentración: 1 $\mu\text{g/ml}$.
 Temperatura : $24^\circ \pm 1^\circ\text{C}$
 pH : 6 - 7

CONCENTRACION DE CELULAS VIABLES/g. DE MUESTRA

Tiempo de contacto en minutos	Hojas de la parte externa	Hojas de la parte media	Hojas de la parte interna
0	2.3×10^7	7.1×10^6	6.3×10^5
10	1.0×10^5	6.2×10^4	5.9×10^3
20	6.5×10^3	4.9×10^3	5.4×10^2
30	6.8×10^2	3.9×10^2	7.3×10
40	2.5×10^2	4.7×10	2.3×10
50	-	-	-
60	-	-	-
120	-	-	-
180	-	-	-

TABLA IV 16

SAL DE SODIO DE LA P-SULFOCLORAMINA DEL TOLUENO (CLORAMINA-T)

Muestra : Lechuga
 Concentración: 250 μ g/ml.
 Temperatura : 24° \pm 1°C
 pH : 6 - 7

CONCENTRACION DE CELULAS VIABLES/g. DE MUESTRA

Tiempo de contacto en minutos	Hojas de la parte externa	Hojas de la parte media	Hojas de la parte interna
0	1.9×10^7	6.6×10^6	7.2×10^5
10	3.9×10^6	6.9×10^5	6.8×10^4
20	2.7×10^5	1.3×10^5	2.6×10^4
30	4.1×10^4	2.6×10^4	5.7×10^3
40	8.5×10^3	4.5×10^3	1.9×10^3
50	8.8×10^2	1.3×10^3	4.8×10^2
60	2.2×10^2	4.0×10^2	1.3×10^2
120	3.4×10	4.3×10	2.7×10
180	-	-	-

T A B L A IV 17

PORCENTAJE DE MUERTE OBTENIDO CON LAS SOLUCIONES GERMICIDAS
EN LAS MUESTRAS DE LECHUGA: HOJAS DE LA PARTE EXTERNA.

TIEMPO DE CONTACTO	I-PVP	PLATA COLOIDAL No. 1	PLATA COLOIDAL No. 2	CLORANINA-T	SOLUCION DE OXIDOS SUPERIORES DE CLORO	SOLUCION DE COMPUESTO DE CLORO
10	99.5652	93.1579	98.7083	79.4737	84.5000	88.5000
20	99.9717	99.0000	99.9417	98.5790	98.0500	99.0500
30	99.9971	99.9421	99.9942	99.7842	99.4500	99.8400
40	99.9989	99.9916	99.9993	99.9553	99.9100	99.9685
50	100.0000	99.9986	99.9999	99.9954	99.9825	99.9890
60	-	99.9999	100.0000	99.9989	99.9940	99.9984
120	-	100.0000	-	99.9998	99.9991	99.9997
180	-	-	-	100.0000	99.9998	99.9999

T A B L A IV 18

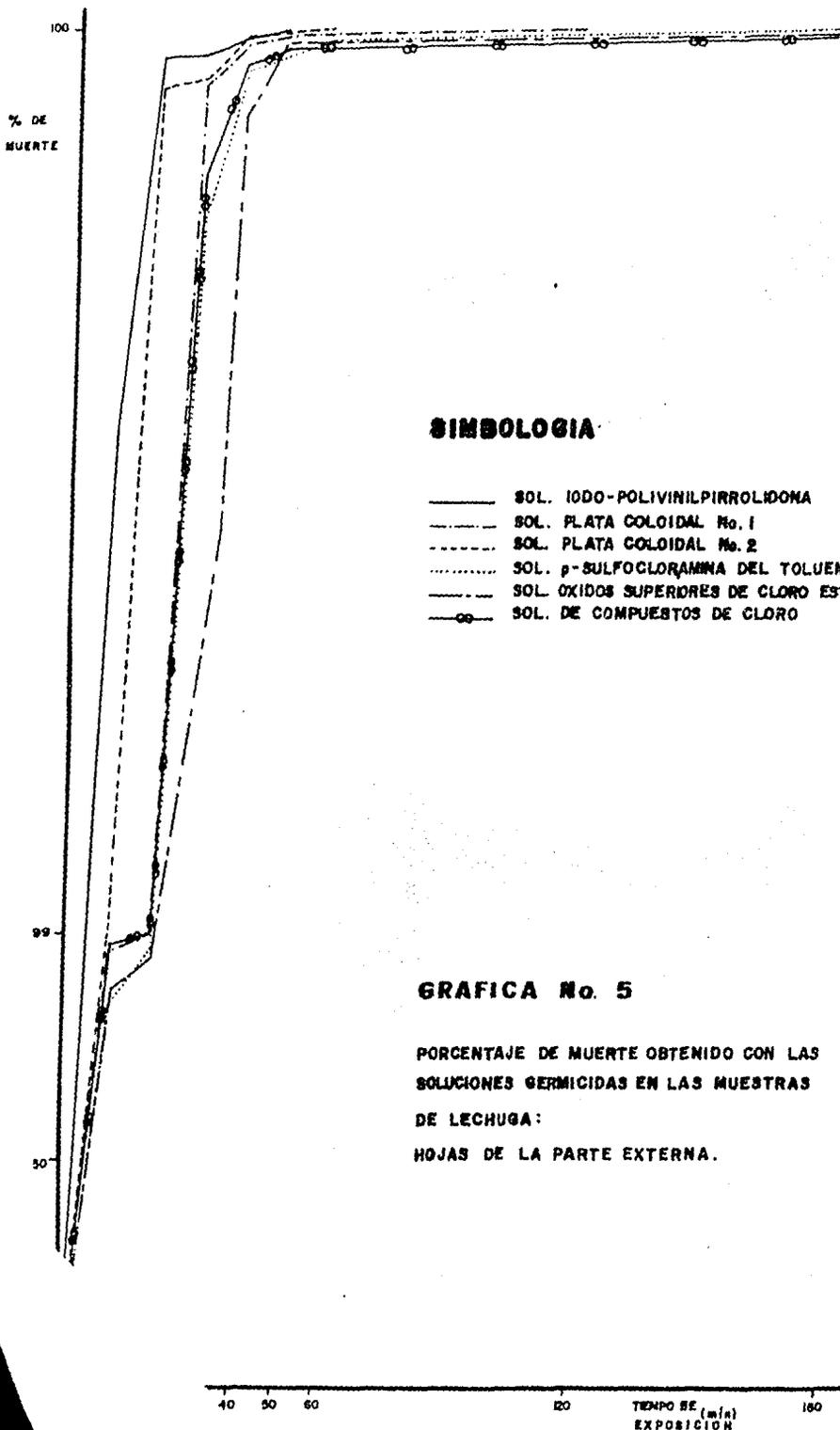
PORCENTAJE DE MUERTE OBTENIDO CON LAS SOLUCIONES GERMICIDAS
EN LAS MUESTRAS DE LECHUGA: HOJAS DE LA PARTE MEDIA.

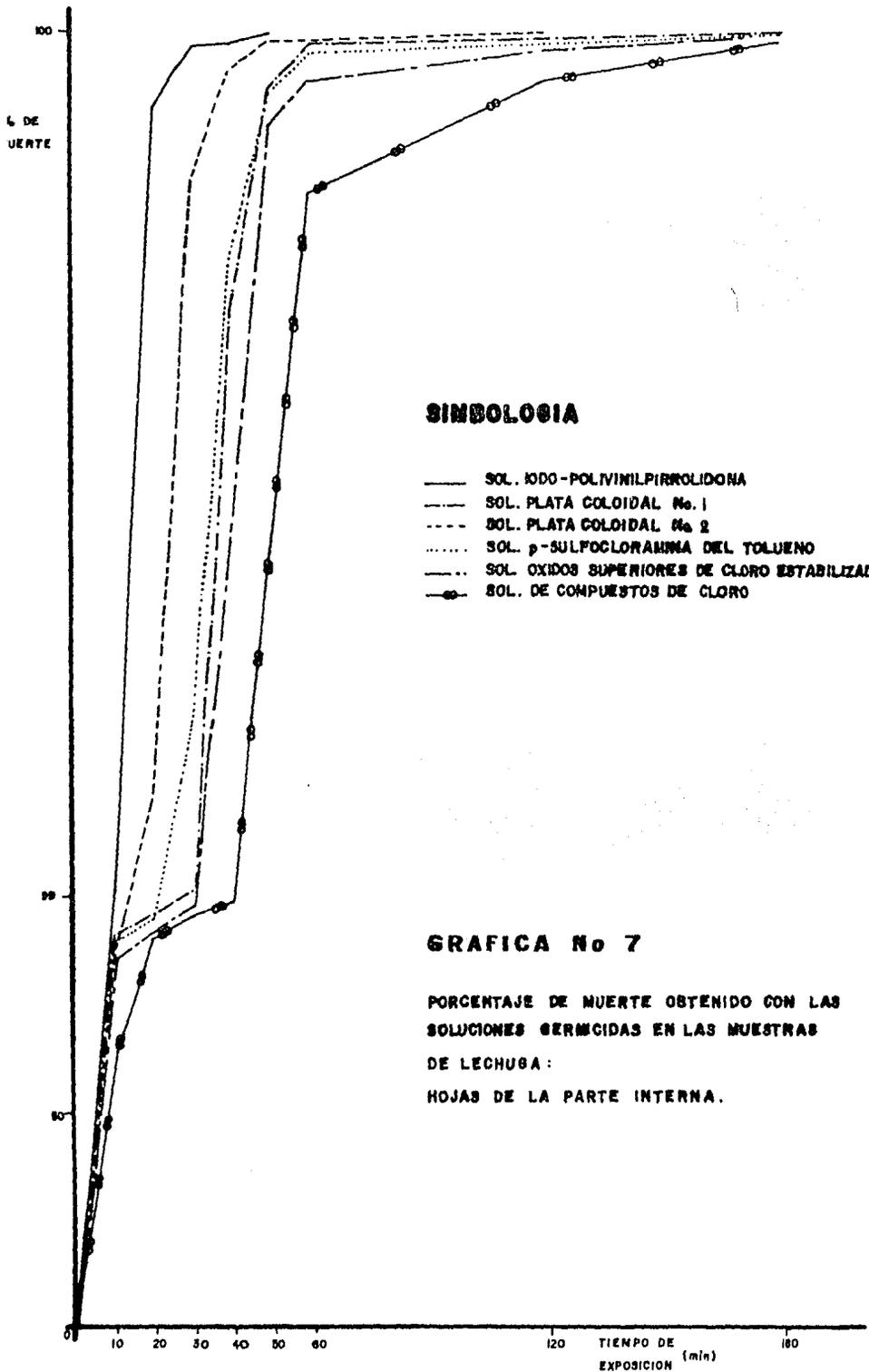
TIEMPO DE CONTACTO	I-PVP	PLATA COLOIDAL No. 1	PLATA COLOIDAL No. 2	CLORAMINA-T	SOLUCION DE OXIDOS SUPERIORES DE CLORO	SOLUCION DE COMPUESTOS DE CLORO
10	99.1268	89.8462	93.4783	89.5455	87.9032	88.4375
20	99.9310	98.0000	99.6522	98.0303	95.3226	96.2500
30	99.9945	99.4769	99.9652	99.6061	99.0161	98.8906
40	99.9993	99.7846	99.9971	99.9318	99.6613	99.5625
50	100.0000	99.9615	99.9996	99.9803	99.9178	99.8938
60	-	99.9928	100.0000	99.9939	99.9839	99.9734
120	-	99.9979	-	99.9994	99.9973	99.9970
180	-	100.0000	-	100.0000	99.9994	99.9996

PORCENTAJE DE MUERTE OBTENIDO CON LAS SOLUCIONES GERMICIDAS

EN LAS MUESTRAS DE LECHUGA: HOJAS DE LA PARTE INTERNA

TIEMPO DE CONTACTO	I-PVP	PLATA COLOIDAL No.1	PLATA COLOIDAL	CLORAMINA-T	SOLUCION DE OXIDOS SUPERIORES DE CLORO	SOLUCION DE COMPUESTOS DE CLORO
10	99.0635	91.2329	88.6957	90.5556	88.6567	68.1818
20	99.9143	96.9863	99.1160	96.3889	93.7314	91.9697
30	99.9884	99.0822	99.8261	99.2083	98.9254	96.6667
40	99.9964	99.6849	99.9696	99.7361	99.4179	98.9394
50	100.0000	99.9343	99.9962	99.9333	99.8911	99.3636
60	-	99.9891	100.0000	99.9820	99.9478	99.8182
120	-	99.9982	-	99.9963	99.9891	99.9712
180	-	100.0000	-	100.0000	100.0000	99.9947





RESULTADO DEL EXAMEN BACTERIOLOGICO REALIZADO EN
 LAS MUESTRAS DE LECHUGA.

PRESENCIA DE:

<i>Staphylococcus aureus</i> :	En el 50% de las muestras
<i>Salmonella sp.</i> :	En el 50% de las muestras
<i>Escherichia coli</i> :	En el 70% de las muestras
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> :	En el 40% de las muestras

CAPITULO V

CONCLUSIONES

Siguiendo las indicaciones dadas por los fabricantes nuestro interés fue conocer los resultados que los usuarios obtienen en las condiciones de empleo doméstico de los productos, observamos que en ningún caso se obtiene un 100% de muerte de los microorganismos que se emplearon como referencia antes de 40 minutos, según muestra la tabla No. IV - 20; pudimos observar que estos microorganismos se encuentran presentes en muestras de las lechugas que empleamos.

Pudimos observar la diferencia en los resultados obtenidos con dos productos que contienen el mismo principio activo que es la plata coloidal para la desinfección de agua a la misma concentración, obteniendo en una de las -- muestras un 100% de muerte de los microorganismos en un mínimo de 40 - 50 -- minutos y con la otra presentación se requieren como mínimo 120 minutos para alcanzar el 100% de muerte bacteriana.

De las preparaciones que contienen compuestos de cloro como ingrediente activo del que obtuvimos un mejor comportamiento fue la Cloramina-T no obstante se requirieron como mínimo 120 minutos para obtener un 100% de muerte, --- siendo esta actividad menor a la que se presentó con la solución de plata coloidal y con la solución de I-PVP de esta última con un mínimo de 50 minutos, alcanzamos aún en las muestras de lechuga un 100% de muerte bacteriana.

Sí observamos la tabla No. III - 2; podemos ver la recomendación de los fabricantes para uso de germicidas en cuanto a tiempo de exposición a estas concentraciones son menores a los tiempos necesarios para alcanzar niveles seguros al uso de agua e ingestión de los vegetales, ya que el número de microorganismos necesarios para provocar una infección clínica depende de la virulencia del microorganismo, de la edad y del estado general del individuo entre otros factores, podemos considerar que mientras más nos acerquemos al cien por ciento de muerte de los microorganismos por el efecto de los germicidas estos podrán ser considerados como más adecuados para la desinfección de agua y vegetales para uso doméstico.

Hacemos también la observación que las indicaciones de uso de los germicidas dadas por los fabricantes no son muy claras en todos los casos y se pueden obtener diferentes resultados según la interpretación que se les de.

De acuerdo a los resultados que obtuvimos podemos considerar que de las preparaciones utilizadas en el presente trabajo quedan como germicidas de -- elección para agua y vegetales de uso doméstico la solución de I-PVP y la solución de plata coloidal.

Debemos hacer la observación que la solución de I-PVP no se encuentra en el mercado, es una preparación que aún se encuentra en estudio.

Dadas las condiciones de Contaminación Ambiental existentes sobre todo en las ciudades se hace indispensable el estudio de compuestos y su preparación que nos puedan garantizar agua potable de calidad adecuada para beber, que los vegetales se puedan consumir crudos sin presentar un alto riesgo de ingestión de microorganismos patógenos, y que las preparaciones germicidas ya existentes en el mercado para este fin cumplan realmente con el propósito para el cual son expeditas y empleadas.

C A P I T U L O V I

BIBLIOGRAFIA

1. B.D. Davis - R. Dulbecco
H.N. Eisen - H.S. Ginsberg
W.B. Wood
Microbiology
Harper S Row
Hagerstown, Maryland 1973

2. B.A. Sagers and G.T. Stewart
J. HYG. Camb. (1961) 62, 509
Polivinil-Pirrolidone-Iodine: An Assesment
of Antibacterial Activity

3. Boletín Epidemiológico Semanal de los Estados
del Valle de México
29 Vol. 3 semana 29
Julio 1980
Vol. 2 semana 2
Mayo 1981

4. Conor Reilly
B.Sc. B.Phil., Ph.D
Head of Department of Public Health and Nutri-
tion, Queensland Institute of Technology, Bris-
bane Australia
Metal contamination of Food
1981

5. Enciclopedia de tecnologia Quimica
Tomos IV, XIII

6. Gleason, Gosselin, Hodge, Smith
Clinical Toxicology of Comercial Products
Acute Poisoning
Third Edition
1969

7. Goodman Louis S., Gilman Alfred
Bases Farmacológicas de la terapéutica
Nueva Editorial Interamericana
México 1974

8. G. Wiss
Hazardous Chemicals
Date Book
1980

9. Jean F. Mac Faddin
Biochemical Test for Identification of
Medical Bacteria
Williams S Wilins
Baltimore Myrland
1980

10. J.Dony Et M.J. Devileeschower
J. Pharm Belg. 133 [2] 20-125 (1978)

11. J.C. Truelove y P.C. Raynell
Enfermedades del aparato digestivo
Ed. Científico - Médico Dossat Mexicana
México 1977

12. J. Kumate - G. Gutiérrez
Manual de Infectología
Ediciones Médicas del Hospital Infantil de México
México 1978

13. Marshal Sitting
Hazardous and Toxic effects of Industrial Chemicals
1979
14. Marshal Sitting
Priority Toxic-Pollutants
Health Impacts and Allowable limits
1980
15. Michael J. Pelezar, Roger D. Reid
Microbiology
Mc Graw-Hill Publishing Co. LTD
New Delhi 1978
16. Organización Mundial de la Salud
Aspectos microbiológicos de la higiene
de los alimentos
Ginebra 1976
17. The Pharmaceutical Codex
Eleventh Edition
1979
18. P.H. Clarck and M.H. Richmond
Genetics and Biochemistry of Pseudomonas
John Wiley Sons
Great Britain 1975
19. S.T. Cowan y K.J. Steel
Manual para la identificación de bacterias de
Importancia Médica
C.E.C. S.A.
México 1979

20. Seymour S. Block
Desinfection, Sterilization and Preservation
Lea S. Febiger
Philadelphia 1977

21. R.E. Buchanan & N.E. Gibbons
Bergey's Manual of Determinative Bacteriology
Ed. Board
United States of America 1974

22. Shih Lu Chang and J. Carrel Morris
Elemental Iodine as a Disinfectant
Drinking Water
Industrial and Engineering Chemistry
45 [5] (May 1953)

23. Standar Methods for the Examination of
Water and Wastewater
2da. Edition 1975
APHA, AWWA

24. W.C. Frazier
Food Microbiology
Mc.Graw-Hill Publishing Co.
New Delhi 1978

25. William C. Thomas, Jr. MD:
A. Percy Black PA.D.
Arch. Environ Health 19 (July 1969)
Iodine Disinfection of Water

26. W.S. Holden B. Sc. F.R.I.C.
Water Treatment and Examination
1970.