

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



ESTUDIO TOXICOLOGICO DEL HEXACLOROFENO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A:

Carlos Jorge Velasco Castrojón

México, D. F.

1977



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO DE QUÍMICA

Tesis 1977

DE _____
FECHA _____
PROC. _____
2401



QUÍMICA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
GRUPO DE INVESTIGACIÓN
P. R. E. N. T. A.
Cuba José Velasco C. López

PRESIDENTE IGNACIO DIEZ DE URDANIVIA

VOCAL EHELVINA MEDRANO DE JAIMES

SECRETARIO ENRIQUE CALDERON GARCIA

1er. SUPLENTE CESAR A. DOMINGUEZ CAMACHO

2do. SUPLENTE ANA MA. MENDEZ CHAVEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: LABORATORIO NACIONAL DE SALUBRIDAD

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUSTENTANTE: CARLOS JORGE VELASCO CASTREJON

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL ASESOR DEL TEMA: ENRIQUE CALDERON GARCIA

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUPERVISOR TECNICO: OFELIA FIGUEROA CASTREJON

A MIS PADRES:

Es algo indescriptible el saber que gracias al amor de dos seres maravillosos estoy aquí, siempre acompañado de su fuerza, amor, confianza, -- lealtad, nobleza, dones sin los cuales no hubiera sido capaz de luchar en esta vida y que con su ejemplo me han impulsado y guiado a la realización de una de las metas de mi vida y para los cuales no tengo palabras de agradecimiento.

A MIS HERMANOS:

Cariñosamente a mis hermanos (Alfonso, Jesús, Felipe, Fátima, Isidro y Guadalupe) quienes han compartido grandes momentos de mi vida y que me han apoyado para lograr esta meta.

A LAURA:

Quiero dejar testimonio de gratitud -- por su paciencia y comprensión, así como por la ayuda proporcionada en la -- realización de este trabajo. Dedicarse lo a ella sería una forma inadecuada -- de expresar el gran amor que siento -- por ella.

A MIS MAESTROS:

Agradezco la colaboración de las autoridades del Laboratorio Nacional de Salubridad (Control Biológico) por habernos permitido desarrollar esta investigación en sus instalaciones.

Particularmente deseo expresar mi agradecimiento a las siguientes personas:

A los señores profesores integrantes del jurado,

Q.B.P. Rosario Sánchez de Manitas,

Q.B.P. Ofelia Figueroa Castrejón,

Q.F.B. Ma. Luisa García Padilla,

Dra. Alicia Benitez de Altamirano.

También, deseo agradecer a todas aquellas personas - que con su valiosa cooperación ayudaron a la elaboración de este trabajo, aún cuando no han sido mencionados no por eso dejan de ser importantes.

A MIS AMIGOS:

A todos y cada uno de ellos ofrezco aquí mi gratitud permanente por su cooperación ilimitada y su tolerancia amistosa, que ha sido una de las experiencias -- más inolvidables de mi carrera.

INDICE

	PAGINA	
INTRODUCCION	1	
CAPITULO 1	Fagocitosis	2
	Tipos de células fagocíticas	3
	Etapas de la fagocitosis	4
	Factores que afectan la fagocitosis	5
	Indice opsono-citofágico	11
CAPITULO 2	Antisépticos	12
	Historia de los antisépticos	12
	Definición y nomenclatura	15
	Mecanismo de acción	16
	Condiciones que deben de reunir los antisépticos	18
	Clasificación química de los antisépticos	21
	Propiedades físicas y químicas del hexaclorofeno	26
CAPITULO 3	Material y métodos	31
	Medio de cultivo usado	32
	Desarrollo de la parte experimental	37
	Método para determinar la irritación primaria	39
CAPITULO 4	Resultados y Conclusiones	43
CAPITULO 5	Bibliografía	51

INTRODUCCION

A medida que la profesión de Químico Farmacéutico Biólogo ha evolucionado como consecuencia del desarrollo tecnológico, es necesario perfeccionar y desarrollar nuevos métodos para obtener una mejor calidad en la variedad de productos químicos que se elaboran (productos para la --- higiene) y así colaborar a mantener la salud.

Actualmente, es conocida la importancia de los antisépticos y desinfectantes para prevenir y/o tratar infecciones.

Ahora bien, en los últimos años se publicaron en nuestro país algunos trabajos realizados en el extranjero y que se refieren a un cierto tipo de jabones de tocador que contienen un antiséptico bastante potente (hexaclorofeno). En dichos trabajos (Federal Register of April 4, 1972 y Jean D. Lockhart: How toxic is hexachlorophene. Pediatrics, Vol. 50, No. 2, August 1972), se afirma que estos productos químicos o sea los jabones de tocador eran tóxicos para la piel.

En base a esto, se prohibió la venta de todos los productos químicos de tocador que contuvieran hexaclorofeno en su formulación.

Es por eso, que el principal objetivo de este trabajo, es verificar la toxicidad del hexaclorofeno por medio del índice opsono-citofágico.

CAPITULO I

FAGOCITOSIS.

La fagocitosis, es la forma más primitiva de inmunidad, que constituye un mecanismo defensivo y que se manifiesta por los fenómenos de atrapar y digerir por los fagocitos las partículas extrañas, incluidas las bacterias y los detritus celulares.

El fenómeno de la fagocitosis, tiene una gran importancia en las reacciones de defensa de la inmunidad innata y adquirida.

I. Mechnikov demostró que las células amiboides del mesodermo de los animales marinos transparentes son capaces de ingerir y digerir diversas sustancias.

En el desarrollo embrionario inicial, entre las capas epiteliales se forman células amiboides (mesenquimales), pero no toman parte en la estructura de los órganos, de los cuales se forman todos los tipos de células móviles. Estas células, están contenidas en el timo, la médula ósea, el bazo, los ganglios linfáticos, las amígdalas, el apéndice y los tejidos intersticiales de los órganos perenquimatosos.

Durante más de un cuarto de siglo, I. Mechnikov y sus discípulos, acumularon hechos que demostraban el papel defensivo de la fagocitosis en

la infección en los vertebrados con microorganismos. Esto hizo posible - determinar las relaciones existentes entre la digestión y la fagocitosis en la evolución y la filogénesis de las células.

Hay dos variedades principales de células fagocíticas en el cuerpo del mamífero: macrófagos y micrófagos.

Los macrófagos, incluyen las células del sistema retículo endotelial, pudiendo ser fijos o migratorios. Los macrófagos fijos, revisten el endotelio de los capilares y de los senos de órganos como bazo, médula ósea y ganglios linfáticos. Células reticulares o células de sostén de diversos órganos especialmente del hígado, también poseen propiedades fagocíticas. Los macrófagos fijos, parecen participar normalmente en la supresión de los glóbulos rojos fragmentados. Los macrófagos migratorios, viajan por los tejidos y ayudan a reparar las lesiones destruyendo y absorbiendo los materiales muertos y ayudando a suprimir los eritrocitos que han salido de los vasos sanguíneos. Los micrófagos, incluyen los leucocitos polimorfonucleares de la sangre. De ellos, los neutrófilos -- son los que poseen mayor actividad fagocítica; eosinófilos y basófilos -- la tienen mucho menor.

La presencia de bacterias dentro de los leucocitos ya se observó en 1870, pero tal observación no se asociaba con la resistencia a la enfermedad. Mechnikov, supuso que estas células fagocíticas, como él las llamó, constituyen una defensa del animal contra la infección mortal.

El proceso fagocitario se compone de cuatro fases:

La primera fase, consiste en la aproximación del fagocito a la partícula o bacteria, que está condicionada por la quimiotaxis positiva. Bajo la acción de los productos de la actividad vital de los microorganismos - tienen lugar el estímulo de los fagocitos, que conduce a la modificación de la tensión superficial de su citoplasma y al desplazamiento de los fagocitos, merced a sus movimientos amiboides.

En la segunda fase, se realiza la adsorción del microorganismo a la superficie del fagocito, proceso que se verifica bajo la influencia de un electrólito, que cambia el potencial eléctrico del objeto que se fagocita (microorganismo).

La tercera fase, se caracteriza por la introducción del microorganismo en el espesor del citoplasma del fagocito, el cual atrapa con bastante rapidez los objetos de reducido tamaño, mientras que otros más grandes -- (algunos protozoos, actinomicetos), los engulle solo por partes.

En la cuarta fase, tiene lugar la digestión intracelular de los microbios engullidos por los fagocitos.

Durante el proceso de la fagocitosis, se observan diferentes modificaciones en los microorganismos, por ejemplo, hinchazón de las bacterias. Ulteriormente, tiene lugar la destrucción completa de los microorganismos

fagocitados.

Los factores que afectan estas etapas in vivo solo pueden deducirse, en parte, de estudios in vitro. Además, la fagocitosis por leucocitos suspendidos libremente en líquidos, difiere de la fagocitosis por leucocitos unidos a una superficie.

Se llegó entonces a la conclusión de que la intensidad de la fagocitosis depende, en condiciones ideales, de las probabilidades de colisión entre fagocitos y partículas. Las probabilidades de colisión, dependerán del volumen y densidad de las partículas en relación con el volumen y densidad de las células fagocíticas. Las partículas densas, sedimentan en forma más rápida en un campo gravitacional y alcanzan los fagocitos más rápidamente. Además, las partículas voluminosas y los acúmulos de células tienen mayor oportunidad de establecer colisión con fagocitos que las partículas pequeñas y las células dispersas. También, se comprobó que la intensidad de la fagocitosis varía en proporción directa de la rapidez de la mezcla durante la incubación.

La eficacia del sistema global, aumentaba cuando se mezclaban más leucocitos con un número constante de bacterias, pero eran menos las bacterias ingeridas por cada leucocito y menor el porcentaje de leucocitos que ingerían las bacterias.

Ahora bien, la migración amiboide de células fagocíticas hacia bac-

terias y otros materiales formes, probablemente resulte de quimiotaxis. - La quimiotaxis positiva, se ejerce sobre los leucocitos por bacterias vivas o muertas, extractos bacterianos y proteosas, peptonas y dextrinas -- procedentes de descomposición parcial de proteínas y polisacáridos de origen bacteriano y tisular. Los polisacáridos específicos de estafilococos y otras bacterias Gram positivas, son netamente quimiotácticos en el cuerpo del animal, algunos polisacáridos no bacterianos, como almidón soluble, goma arábiga, glucoproteínas de la mucina gástrica y del humor vítreo también son netamente quimiotácticos.

Las endotoxinas de las bacterias Gram negativas, inhiben intensamente la diapédesis de los leucocitos in vivo y ejercen un efecto negatáctico. Otros investigadores, suponen que en alguna forma estos agentes modifican el endotelio vascular a través del cual emigran los leucocitos.

El mecanismo de producción de migración quimiotáctica no está aclarado. Se han puesto como causas de emigración los efectos osmóticos y diferencias de potencial de superficie entre el leucocito y la célula bacteriana o la partícula.

Hay consideraciones físicas, que indican que el hecho de que después de establecido el contacto se produzca o no se produzca ingestión depende de las fuerzas de energía de superficie entre la partícula y el medio líquido suspensor, el fagocito y el líquido y el fagocito y la partícula. - La ingestión, es favorecida por los siguientes factores: aumento de ener-

gía de superficie entre la partícula y el líquido suspensor, disminución de energía de superficie entre el fagocito y el medio suspensor, disminución de energía de la interfase entre partícula y fagocito; es por esto, que se llegó a la conclusión de que la fagocitosis aumenta cuando disminuye la tensión superficial o la energía de superficie del leucocito, pero disminuye cuando se reduce la tensión superficial de la bacteria.

La fagocitosis, puede ser afectada por varios iones. Los yoduros, el fluoruro, el sulfito y el citrato de sodio disminuyen la fagocitosis. El cloruro cálcico, aumenta netamente la intensidad de la fagocitosis, tanto si las pruebas se llevan a cabo en solución salina como en suero, pero no modifican el porcentaje final de células que ingieren partículas. El cloruro cálcico, en ausencia de suero provoca aglomeración de leucocitos, -- por lo tanto, aumenta sus probabilidades de colisión con partículas.

Otros investigadores, observaron que todas las sales probadas con excepción del cloruro sódico, inhibían la fagocitosis si se añadían a mezclas de sangre desfibrinada y bacterias. Un tratamiento previo de las bacterias o de los leucocitos con las mismas sales no disminuye la fagocitosis. Llegaron a la conclusión, de que las sales que inhiben la fagocitosis interfieren con la opsonización de las bacterias.

Ahora bien, la fagocitosis se ha observado en temperaturas desde 0° hasta 60°C.. La mayor parte de investigadores, están de acuerdo en que la intensidad de la fagocitosis aumenta al elevarse la temperatura. Además,

comprobaron que de 38° a 40°C. era la temperatura óptima para la fagocitosis de estafilococos en la sangre humana, concluyéndose que el efecto térmico se asociaba con la viscosidad de los leucocitos, que era menor a temperatura más elevadas.

El efecto de la viscosidad sobre la intensidad de la fagocitosis, se demuestra también por observaciones según las cuales los leucocitos polimorfonucleares son menos viscosos que los macrófagos y fagocitan partículas con mayor rapidez e intensidad.

Es evidente, que los diversos factores que afectan la ingestión fagocítica modifican las propiedades de superficie del fagocito, de la partícula o de ambos, o alteran la consistencia del fagocito.

La ingestión, parece ser un fenómeno de difusión de superficie. No ocurría fagocitosis en ausencia de componentes séricos sobre superficies lisas como vidrio, parafina, celofán o moco sobre vidrio, es por eso que la naturaleza de la superficie disponible era factor importante de la fagocitosis en ausencia de suero. Por lo tanto, los fagocitos dentro del cuerpo operan en condiciones muy diferentes de las que existen *in vitro*.

Ahora bien, el contacto entre células fagocíticas y partículas suspendidas en un medio líquido, depende del azar y se modifica por la agitación. El contacto sobre un substrato sólido se establece por migración -- amiboide del fagocito, que puede ser al azar o dirigida por atracción qui

miotáctica hacia sustancias que difunden desde la partícula.

La ingestión de bacterias por fagocitos muchas veces va seguida de muerte y destrucción de las primeras. La mayor parte de cocos Gram positivos son ingeridos y digeridos intracelularmente.

Ahora bien, se han descubierto formas ásperas (rough) susceptibles de digestión; las formas lisas (smooth). Son más resistentes.

El tiempo que transcurre entre la ingestión de las bacterias y su destrucción puede proteger los gérmenes contra la lisis por una reacción antígeno anticuerpo-complemento y así permitir su multiplicación y eventual difusión por el cuerpo.

La digestión intracelular, se acelera cuando al producirse la ingestión se halla presente suero inmune.

No se conoce con seguridad cual sea el mecanismo de la digestión intracelular. Algunos extratos de exudados leucocíticos contienen sustancias llamadas leucinas, bactericidas para ciertos microorganismos. Estas enzimas y otras proteolíticas, lipolíticas y de otros tipos probablemente intervengan en la muerte y desintegración de las bacterias.

Se ha comprobado, que los estafilococos coagulasa-positivos eran ingeridos menos fácilmente que las cepas coagulasa negativas en presencia -

de plasma coagulable. Sugieren que la formación de un revestimiento de fibrina alrededor de los microorganismos evitaba su combinación con el anticuerpo o anulaba los cambios de superficie producidos por el anticuerpo.

Se ha observado la importancia de componentes hemáticos no celulares en la ingestión fagocítica. Se ha visto, que el suero inmune estimula la fagocitosis mucho más eficaz que el suero normal. I. Mechnikov, aseguró - que ello indicaba la presencia en el suero inmune de una sustancia, que - aumentaba la actividad fagocítica de los leucocitos. La hipótesis de di--cha substancia se consideró equivocada cuando Wright y Douglas demostra--ron, que el aumento de la fagocitosis causado por el suero resulta de la acción de un componente de este sobre las bacterias. Wright llamó a este - componente opsonina.

Esto, se demuestra dejando el suero en contacto con los leucocitos y luego lavando estos para despojarlos de todo vestigio de suero; al agre--gar las bacterias, la fagocitosis no se produce, si en cambio, ponemos el suero en contacto con las bacterias y luego ponemos los leucocitos, la fagocitosis se produce activamente.

Las opsoninas, favorecen el contacto adhesivo de la bacteria y el fagocito, pero también su destrucción después del englobamiento.

En cuanto a su naturaleza, las opsoninas son verdaderos anticuerpos cuya concentración se incrementa con el proceso inmunitario con el que ad

quieren el carácter de especificidad.

Las investigaciones más precisas sobre fagocitosis se han efectuado in vitro, generalmente empleando como células fagocíticas a los neutrófilos.

Resulta difícil valorar muchos de los trabajos publicados sobre opsonización, porque diversos investigadores no señalan si utilizaron sueros normales o inmunes, nativos o inactivados por el calor o si son usados -- leucocitos lavados o sangre completa.

INDICE OPSONO-CITOFAGICO.

Es un método para determinar la eficiencia o habilidad de los neutrófilos polimorfonucleares para fagocitar bacterias con la participación de las opsoninas que favorecen el contacto entre la bacteria y el neutrófilo, en presencia de un antiséptico.

Este método, está basado sobre una comparación, del poder tóxico del antiséptico para la bacteria con su acción tóxica hacia tejido vivo, además está basado sobre la completa inhibición por antisépticos de la fagocitosis de cierto tipo de bacterias como lo son: Brucella y Estafilococos.

Este método, abrió un nuevo campo de estudio, que es de gran importancia en la evaluación de antisépticos y derivados.

CAPITULO 2

ANTISEPTICOS.

Historia de los Antisépticos.

No están muy lejanos los días en que la operación quirúrgica más simple estaba amenazada de enormes peligros. Aun cuando la operación quirúrgicamente fuese un éxito, el paciente moría de lo que llamaban envenenamiento de la sangre. Pero en 1863, Luis Pasteur, el gran químico francés, como resultado de sus investigaciones, publicó un trabajo demostrando que la llamada putrefacción de animales y plantas se originaba por los microbios. Aquel escrito, no llamó la atención de los médicos hasta que, en -- 1865, fué conocido por José Lister, cirujano inglés que trabajaba en Edimburgo.

Durante años, Lister habfa buscado la causa del envenenamiento de la sangre en los enfermos que sufrían una operación.

En el descubrimiento de Pasteur, encontró la respuesta a su problema: el envenenamiento de la sangre era debido a gérmenes que penetraban -- por las heridas. Por eso, comenzó a tratarlas con ácido fénico y otros -- productos químicos que destrufan los gérmenes. De este modo, se efectuó -- uno de los progresos más importantes y que representó una de las bases de la cirugía moderna.

Más tarde, Lister convirtió sus métodos antisépticos en "Cirugía --- Aséptica". Desde entonces, los cirujanos emplean instrumental quirúrgico esterilizado. Lava sus manos durante varios minutos antes de empezar las operaciones, se pone unos guantes estériles, que son de látex, emplean ro pa esterilizada y mascarillas. El aire de los quirófanos es pasado por -- unos filtros para que este libre de gérmenes, los locales deben de estar bien iluminados y limpios para asf evitar una posible infección.

Descubierto el mecanismo de la infección, los hombres de ciencia se dedicaron a buscar sustancias químicas que produjeran el efecto deseado y no causaran daño al organismo. Roberto Koch, en 1881, ensayó el bicloruro de mercurio o sublimado corrosivo, al cual consideró como el antiséptico perfecto; pronto se demostró, sin embargo que este producto químico origina lesiones orgánicas en los tejidos que sufren su acción. Desde esa época, los científicos se han dedicado de una manera continua a buscar y ana lizar cientos de miles de sustancias, con el fin de encontrar nuevos antisé p t i c o s.

El alcohol, que seguramente fué uno de los primeros antisépticos conocidos empleado bajo la forma de vino, en la actualidad se utiliza mu--- cho. Los compuestos metálicos, como los de oro, mercurio o bismuto, que - pueden ser empleados por vía bucal o por medio de inyecciones intraveno-- sas o musculares, se preparan de tal forma, que pueden matar los gérmenes que han invadido el organismo. El mercurio, en la forma de compuestos or-- gánicos, han dado lugar al mercurocromo, sustancia que si bien no irrita,

es demasiado débil. El mercurio también dió lugar al metafeno y al mertio lato, que son extraordinariamente germicidas. Los elementos que no son metálicos, tales como los halógenos han suministrado que no son metálicos, tales como los halógenos han suministrado varios productos.

Los colorantes, han contribuído de una manera muy intensa a suministrar antisépticos. De este tipo, tenemos por ejemplo, las acridinas amarillas, derivadas de la hulla, entre las que se encuentran la acriflavina y la proflavina; otros son los compuestos azoicos escarlata, como el dima--zón y el rojo escarlata, también encontramos entre los derivados de la --anilina el conocido violeta de genciana.

La desinfección o antisepsia, se efectúa conúnmente en los casos corrientes por medio de productos químicos, como el ácido fénico, el bicloruro de mercurio o sublimado, el permanganato potásico, la disolución alcohólica de yodo o tintura de yodo, el nitrato de plata, el mercurocromo, el agua oxigenada, el alcohol y algunos otros; con agua hirviendo, el calor de un horno o el de la llama. El jabón corriente quita o mata la mayoría de los gérmenes que se encuentran en la piel normal.

Sin embargo, los antisépticos modernos no empezaron a emplearse ---- hasta el siglo XIX con la aplicación de diversas medidas concretas para -impedir la propagación de las enfermedades.

Las bacterias, pueden destruirse por agentes físicos como son: ca---

lor, luz ultravioleta, radiaciones gama, presión osmótica y por agentes químicos como los antisépticos.

Definición y nomenclatura.

Desinfectante, es una sustancia que destruye los microorganismos dañinos, impidiendo así la infección; se aplica este término generalmente a sustancias utilizadas para objetos inanimados.

Antiséptico, es la sustancia que tiene como finalidad, destruir microorganismos (seres vivos de tamaño microscópico y que a menudo solo se componen de una célula), inhibir su reproducción o actividades metabólicas; el término se usa especialmente para drogas aplicadas a tejidos vivos.

Germicida, es toda sustancia que mata los microorganismos; el término no se emplea corrientemente como sinónimo de bactericida, aunque estrictamente este último se refiere a sustancias que matan bacterias.

Bacteriostática, es una sustancia que impide el crecimiento y multiplicación de las bacterias; el mismo concepto, aplicado por ejemplo a los hongos, conduce al término fungistático.

La mayor parte de las sustancias bactericidas, a bajas concentraciones, se comportan como bacteriostáticas, siendo correcto el término anti

séptico que engloba ambas acciones.

Estas sustancias, no tienen acción específica sobre los microorganismos, pues también lesionan y destruyen los tejidos vivos con los que se ponen en contacto, así como los fagocitos con los que el huésped está combatiendo la infección. Por lo tanto, solo pueden ser utilizados salvo excepciones como antiinfecciosos locales sobre la piel y mucosas externas.

Mecanismo de Acción.

Quando no es necesario introducir el medicamento en el organismo el asunto es más sencillo, ya que los tejidos externos son resistentes y pueden emplearse sustancias de acción inespecífica, cuyos efectos se ejercen sobre el agente vivo patógeno y sobre el organismo enfermo sin que le --- trastornen localmente en grado importante; constituyen el grupo de anti--sépticos, con acción deletérea sobre bacterias, virus, espiroquetas, protozoarios y hongos.

Para el caso de los antiinfecciosos generales o sistémicos, la situación es mucho más difícil, pues es necesario que la droga lesione o destruya específicamente los agentes vivos patógenos, sin efectos tóxicos sobre el huésped; el estudio de estas sustancias de composición química definida constituye la importante rama de la farmacología denominada quimioterapia.

Los antisépticos inespecíficos, pueden dañar los gérmenes por:

- a).- Precipitación y desnaturalización de las proteínas del proto---plasma bacteriano (el fenol y algunos metales pesados).
- b).- Combinación e inhibición consiguiente de enzimas bacterianas -- con grupos sulfhidrilos (compuestos de mercurio).
- c).- Oxidación de los constituyentes bacterianos, especialmente enzi---mas (peróxido de hidrógeno).
- d).- Combinación con grupos amínicos de las proteínas bacterianas -- (el formaldehído).
- e).- Alteraciones de la permeabilidad de la membrana celular de las bacterias (los antisépticos detergentes).
- f).- Combinación con grupos ácidos y básicos del protoplasma bacte---riano, especialmente nucleoproteínas (los colorantes básicos y ácidos res---pectivamente).

Cualquiera que sea el mecanismo de acción de los antisépticos, el -- proceso de desinfección en relación al tiempo sigue los principios de la farmacocinética. Dicho proceso nunca es instantáneo sino gradual; al prin---cipio hay una caída rápida del número de gérmenes sobrevivientes que lue---go se hace lenta, y si se expresa por el método gráfico, la curva corres---pondiente es exponencial o sea logarítmica; efectivamente, si en vez de -- tomar el número de bacterias sobrevivientes se considera su logaritmo se obtiene una línea recta. Este razgo es importante e indica que cuanto ma---yor sea el número de microorganismos presentes, más tiempo requerirá su --

esterilización completa, es decir la muerte de todos los gérmenes presentes.

Condiciones que deben de reunir los antisépticos.

Los distintos grupos de antisépticos difieren entre sí según:

La potencia germicida, la velocidad de acción, la presencia de materia orgánica, la temperatura, la selectividad de acción, toxicidad y solubilidad.

a).- La potencia germicida: los que actúan en concentraciones bajas tienen ventajas sobre los que actúan sobre concentraciones altas, ya que en estos es más probable una acción tóxica sobre los tejidos.

b).- La velocidad de acción: unos actúan más rápidamente por ejemplo, los halogenados.

c).- La presencia de materia orgánica: muchos antisépticos son inactivados por combinación con proteínas, el yodo es inactivado por la sangre.

d).- La velocidad de acción de un germicida, aumenta con la temperatura, el cloruro mercurico aumenta tres veces la velocidad si la temperatura aumenta 10 grados mientras el fenol aumenta 7 veces.

e).- Muchos antisépticos tienen acción selectiva sobre ciertos gérmenes, los colorantes básicos actúan especialmente sobre los Gram positivos, mientras que los ácidos lo hacen sobre los Gram negativos.

f).- El valor de un antiséptico depende de su toxicidad para los tejidos del huésped, el fenol no puede emplearse en heridas por lesionar las células al precipitar las proteínas.

g).- Un antiséptico debe de penetrar en el interior de un microorganismo, por lo cual ha de ser soluble en el protoplasma así como en el líquido que se aplica, el fenol en aceite es casi inerte, pues no lo abandona para poder penetrar en el germen, donde es menos soluble.

Las condiciones en las cuales se aplica un agente dado para matar o inhibir microorganismos tienen una gran importancia, por supuesto, no debe de existir en el medio, en cantidad que inactive el agente, ninguna sustancia químicamente incompatible.

A este respecto, suelen originar dificultades factores mecánicos. -- Una tensión superficial reducida favorece la acción de las sustancias antiinfecciosas, se supone que por producir un mejor contacto con las células. Por consiguiente, cada célula infecciosa estará rodeada por una película superficial en la cual la concentración del antiséptico es mayor que en el líquido en su conjunto.

Puesto que cada especie de microorganismos solo puede sobrevivir dentro de un intervalo característico de pH (que puede ser muy amplio o muy estrecho, según la especie), es muy importante un ajuste correcto de la concentración de hidrogeniones.

Se sabe, que una modificación de pH afecta mucho a la acción de los agentes antibacterianos.

En la mayoría de los casos, un pH bajo es más eficaz para aumentar la actividad de los antisépticos aunque algunos agentes son más eficaces en solución neutra o alcalina. Con los antisépticos de uso externo el pH puede modificarse también en un grado limitado, siempre que la preparación no resulte excesivamente irritante para los tejidos. El principio no es aplicable a los agentes que se administran en inyección, pues los líquidos del cuerpo como la sangre, tienen una capacidad amortiguadora considerable y tienden a mantener un pH constante. Algunos ácidos y alcalis que actúan como antisépticos ejercen una parte de su acción por la modificación que producen en el pH.

La prueba de los antisépticos, debe de realizarse en presencia de líquidos biológicos como el suero o en tejidos animales vivos para obtener un cuadro real de la eficacia probable del agente en condiciones propias del uso en la práctica.

De acuerdo con esos conceptos, se han establecido las malas propiedades de un antiséptico, que tomadas en un sentido contrario llevan a las 10 condiciones de un antiséptico ideal, que son:

- a).- Poseer una actividad potente contra todos los microorganismos.
- b).- Ser de acción rápida.

- c).- Tener poca toxicidad para los tejidos.
- d).- Ser eficaz en presencia de materia orgánica.
- e).- Tener un poder de penetración conveniente en las grietas de los tejidos.
- f).- Ser soluble.
- g).- Tener una estabilidad conveniente.
- h).- No poseer olor desagradable.
- i).- Ser compatible desde el punto de vista químico con las otras -- sustancias que se aplican localmente.
- j).- Ser económico.

Desde luego, este antiséptico ideal no existe y la búsqueda de otros nuevos, tiende a acercársele sin conseguirlo.

Investigaciones posteriores, han conducido a la introducción de centenares de antisépticos y desinfectantes y hoy ningún grupo de medicamentos es más extensamente empleado.

Clasificación química de los antisépticos.

Los antisépticos propiamente dichos, comprenden el grupo más extenso de los agentes antiinfecciosos locales, que prácticamente pueden considerarse como sinónimos de aquéllos.

Los antisépticos, se clasifican por su estructura química, como si--

gue:

1).- Antisépticos inorgánicos: a).- halogenados: iodo, cloro y derivados; b).- antisépticos oxidantes; c).- metales pesados: compuestos de plata, compuestos de zinc y de cobre; d).- ácidos inorgánicos: ácido bórico. (tabla 1).

2).- Antisépticos orgánicos: a).- alcoholes: alcohol etílico; b).- aldehídos: formaldehído y derivados; c).- fenoles; d).- ácidos orgánicos: ácido mandélico y derivados; e).- detergentes catiónicos: compuestos de amonio cuaternario; f).- detergentes aniónicos: los jabones; --- g).- aceites esenciales y derivados: el mentol; h).- colorantes antisépticos; i).- los nitrofuranos: nitrofurazona. (tabla 2).

TABLA 1

Antisépticos inorgánicos

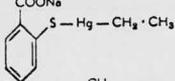
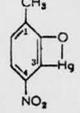
CLASE	GRUPO	SUBGRUPO	DROGA	ESTRUCTURA QUÍMICA	CONTENIDO ELEMENTAL	REACCIONES QUÍMICAS FUNDAMENTALES
Halogena- dos	Cloro y derivados	Iodo elemental	Iodo	I_2	I 100 por ciento	$I_2 + K^{+}I^{-} \rightleftharpoons K^{+}I_3^{-}$ Iodo + Ioduro de potasio \rightleftharpoons Triioduro de potasio (soluble en agua)
		Cloro elemental	Cloro	Cl_2	Cl 100 por ciento	$Cl_2 + H_2O \rightarrow HCl + HOCl$ Cloro + Agua \rightarrow HCl + Ácido hipocloroso
		Hipocloritos	Hipoclorito de calcio o cloruro de cal	$Ca^{2+}[OCl]_2$	Cl 30 por ciento	$HOCl + H_2O \rightleftharpoons H^+ + OCl^{-}$ Ácido hipocloroso \rightleftharpoons H ⁺ + Cloruro clorhídrico
Anti- sépticos oxi- dantes	—	—	Peróxido de hidrógeno o agua oxigenada	$HO-OH$	—	$H_2O_2 \rightarrow H_2O + O$ Peróxido de hidrógeno \rightarrow Agua + Oxígeno
			Permanganato de potasio	$K^{+}MnO_4^{-}$	—	$4K^{+}MnO_4^{-} + 2H_2O \rightarrow 4MnO_2 + 4K^{+}OH^{-} + 3O_2$ Permanganato de potasio + Agua \rightarrow Dióxido de manganeso + Hidróxido de potasio + Oxígeno
Me- ta- les pe- so- dos	Com- pues- tos de mercurio	Sales inorgánicas solubles	Cloruro mercúrico o bicloruro de mercurio	$Hg^{2+} + Cl_2^{2-}$	Hg 74 por ciento	$HgCl_2 + H_2S \rightarrow HgS + 2HCl$ (en agua) Cloruro mercúrico + Sulfuro de hidrógeno \rightarrow Sulfuro de mercurio (insoluble) + Ácido clorhídrico
		Compuestos inorgánicos insolubles	Óxido mercúrico amarillo y rojo Mercurio-amoniacal Cloruro aminomercúrico	HgO $H_2N-Hg-Cl$	Hg 93 por ciento Hg 80 por ciento	$Enzima-SH + HgS \rightarrow Enzima-S-Hg + H_2A$ Enzima-SH (bacteriana) + Sulfhidrido \rightarrow Compuesto enzima-mercurial + Resto
		Compuestos mercuriales orgánicos	Timersal o fimerisal (Merthiolate) Etilmercuritiosal-licilato sódico Nitromersal (Metaphen) Anhídrido de 4-nitro-3-hidroximercurio-cresol	 	Hg 50 por ciento Hg 57 por ciento	$Enzima-S-Hg + \begin{matrix} CH_2OH \\ CH-SH \\ CH_2-SH \end{matrix} \rightarrow Enzima \begin{matrix} SH \\ SH \\ CH_2-S \end{matrix} + \begin{matrix} CH_2OH \\ CH-S \\ CH_2-S \end{matrix} Hg$ Complejo enzima-mercurio + 2,3-Dimercaptopropanol o dimercaprol \rightarrow Enzima activa + Complejo dimercaptopropanol-mercurio
	Compuestos de plata	Sales de plata	Nitrato de plata	$Ag^{+}NO_3^{-}$	Ag 64 por ciento	$Ag^{+}NO_3^{-} + Na^{+}Cl^{-} \rightarrow Ag^{+}Cl^{-} + Ag^{+}NO_3^{-}$ Nitrato de plata (soluble) + Cloruro de sodio \rightarrow Cloruro de plata (insoluble) + Nitrato de sodio
	Compuestos de zinc	Sales de zinc	Sulfato de zinc	$Zn^{2+}SO_4^{2-} \cdot 7H_2O$	Zn 23 por ciento	—
	Compuestos de cobre	Sales de cobre	Sulfato de cobre o sulfato cúprico	$Cu^{2+}SO_4^{2-} \cdot 5H_2O$	Cu 25 por ciento	—
Ácidos inorgánicos	—	—	Ácido bórico Ácido ortobórico		—	—

TABLA 2
Antisépticos orgánicos.

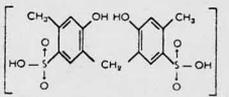
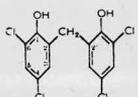
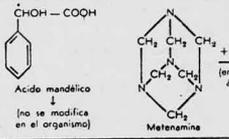
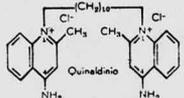
CLASE	GRUPO	DROGA	ESTRUCTURA QUIMICA	COCIFICENTE R.D.N. Salmonele typhosa	
Aldehidos	Formaldehido y derivados	Formaldehido Metanal	$\text{H}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{H}$ $\text{HOOC}-\text{R}-\text{NH}_2 + \text{H}-\text{CHO} \rightarrow \text{HOOC}-\text{R}-\text{N}=\text{CH}_2 + \text{H}_2\text{O}$ Proteína Formaldehido Complejo formaldehido-proteína	1.0	
		Paraformaldehido	$\text{HO}-\text{CH}_2-(\text{O}-\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{CH}_2\text{OH} \rightleftharpoons n\text{CH}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O}$ (n=10 a 100) Formaldehido Agua		
		Estructura fundamental	 C ₁ C ₂ C ₃ C ₄ C ₅ C ₆	—	
	Fenoles	Fenol (ácido fénico) Hidrobenceno	—OH —H —H —H —H —H	1.0	
Fenoles	Alquil-fenoles	o-Cresol 1,2-Metil-cresol m-Cresol 1,3-Metil-cresol p-Cresol 1,4-Metil-cresol	—OH —CH ₃ —H —H —H —H —OH —H —CH ₃ —H —H —H —OH —H —H —CH ₃ —H —H	2.5	
		Palidicresolato (Albocresil) Metileno dimetacresoloido látex polimerizado			
	Halo-fenoles	Clorosileno (Espartil) 4-Cloro 3,5-dimetilhidrobenceno Hexaclorofeno (Fisoxa) 2,2'-Metileno-bis(3,4,6-triclorofenol)	—OH —H —CH ₃ —Cl ₃ —CH ₃ —H 	70.0 125.0	
Ácidos orgánicos	Ácido mandélico y derivados	Mandélico de metanamina (Mandelamina) alfa-Hidroxifenilacetato de hexametilentetramina	 Ácido mandélico ↓ (no se modifica en el organismo) Metanamina	—	
		Estructura general de los detergentes anti-sépticos	$\left[\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{O} \\ \\ \text{O} \end{array} \right] \text{M}^+$ $\left[\begin{array}{c} \text{R}' \\ \\ \text{R}-\text{N}-\text{R}'' \\ \\ \text{R}''' \end{array} \right]^+$ A^- Detergentes aniónicos Detergentes catiónicos Jabones Compuestos de amonio cuaternario	R = Grupo lipofilo (cadena larga) M = Cation (metal) A = Anion (halógeno)	—
De-ter-ge-nes	Detergentes aniónicos: jabón de sodio (jabón animal) jabón de potasio (jabón verde)	Jabón de sodio (jabón animal) jabón de potasio (jabón verde)	$\text{R}-\text{COOH}$ Ácido graso (ver tabla 5) ↓ $\text{Na}^+ \text{OH}^-$ Hidróxido de sodio ↓ $\text{R}-\text{COO}^- \text{Na}^+$ Jabón de sodio $\text{K}^+ \text{OH}^-$ Hidróxido de potasio ↓ $\text{R}-\text{COO}^- \text{K}^+$ Jabón de potasio	Hidróxido de un jabón: $\text{R}-\text{COO}^- \text{Na}^+ + \text{H}-\text{OH} \rightleftharpoons$ Jabón Agua $\rightleftharpoons \text{R}-\text{COOH} + \text{Na}^+ + \text{OH}^-$ Ácido graso Cation sodio Anion hidróxido	—
Detergentes catiónicos: compuestos de amonio cuaternario	Benzalcónio, cloruro (Zephiran; Tersoly) Cloruro de alquil-dimetilbenzilamonio	Benzalcónio, cloruro (Parafenol) Cloruro de benzil-dimetil (2, 2', 2'', 1, 1', 1, 3, 3, 3-tetrametil-butilfenol) etoil-etil) amonio	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2-\text{R} \text{Cl}^-$ $\text{R} = \begin{cases} -\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{CH}_3 \\ -\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_{16}-\text{CH}_3 \end{cases}$	275.0	
			$\text{C}_6\text{H}_5-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-\text{Cl}^-$	200.0	
				400.0	

TABLA 3

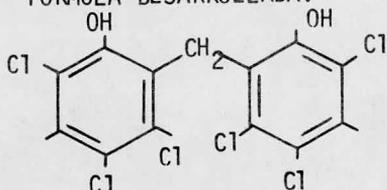
CLASE	GRUPO	DROGA	ESTRUCTURA QUIMICA	COEFICIENTE FENOL Salmonella Typhimurium
Aceites esenciales	Esencia de menta	Mentol 3- <i>p</i> -Mentol		10.0
Colorantes	Concepto de acción colorante: Ejemplo		<p>Benceno Núcleo fundamental: no coloreada</p> <p>Trinitrobenceno Cromógeno: NO₂, grupo cromóforo</p> <p>Ácido picrico Colorante: OH fenólico, grupo auxocromo</p> <p>Ion picrato (amarillo)</p> <p>Ion hidrógeno</p>	—
Colorantes anti-sépticos	Derivados del trifenilmetano	Cloruro de metilrosanilina	<p>Estructura fundamental</p> <p>Anillo quinóide (grupo cromóforo)</p> <p>Trifenilmetano</p> <p>Cloruro de pararosanilina</p> <p>R₁ R₂ R₃ R₄ R₅ R₆</p>	—
		<p>Violeta de genciana (cristal violeta) Cloruro de hexametilpararosanilina</p> <p>Violeta de metilo Cloruro de pentametilpararosanilina</p> <p>Verde de malaquita Cloruro de tetrametilpararosanilina</p>	<p>—CH₃ —CH₃ —CH₃ —CH₃ —CH₃ —CH₃</p> <p>—CH₃ —CH₃ —CH₃ —CH₃ —CH₃ —H</p> <p>—CH₃ —CH₃ —CH₃ —CH₃ —H —H</p>	—
	Derivados de la tionina	Azul de metileno o cloruro de metilitionina Cloruro de tetrametilitionina	<p>Tionina</p> <p>Azul de metileno</p> <p>Leucoderivado</p> <p>[= N — Grupo indamina (cromóforo)]</p>	—
Nitrofuranos	—	Nitrofurazona o nitrofurural (Furacil) 5-Nitro-2-furildihidosemicarbazona	<p>Nitro</p> <p>Furano</p> <p>CH = N — CONH₂</p>	—

PROPIEDADES DEL HEXACLOROFENO.

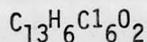
NOMBRES QUIMICOS Y SINONIMOS:

2, 2' metilenobis-(3,4,6-triclorofenol); 3,3',5,5',6,6'-hexaclorodifenil metano; bis-(3,5,6-tricloro-2-hidroxifenil)-metano; di-(hidroxi-2-tricloro-3,5,6-fenil)-metano.

FORMULA DESARROLLADA:



FORMULA CONDENSADA:



PESO MOLECULAR:

406.90

DESCRIPCION:

Es un polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo, inodoro o con olor ligeramente fenólico.

Es un compuesto bisfenolico con 6 átomos de cloro que lo coloca dentro del grupo de los halofenoles.

SOLUBILIDAD:

Muy soluble en acetona, fácilmente soluble en etanol, benceno, tolueno y propilenglicol, soluble en aceites vegetales y ácidos grasos con ayuda de calor. Prácticamente insoluble en agua, aceite mineral, glicerina, petrolato y parafina. Las soluciones de hexaclorofeno deben de protegerse de la luz solar.

TEMPERATURA DE FUSION:

161-167°C.

ABSORCION, DESTINO Y EXCRECION.

Los fenoles se absorben por todas las mucosas y la piel.

Los fenoles sufren tres procesos de biotransformación:

- a).- Son oxidados totalmente a dióxido de carbono y agua.
- b).- Son oxidados parcialmente, pasando a catecol e hidroquinona.
- c).- Se conjugan, especialmente en el hígado, con el ácido glucurónico y el ácido sulfúrico.

En la orina se excretan los fenoles y sus productos de oxidación, -- que imparten a la misma un color oscuro, libres, pero en su mayor parte - conjugados.

ACCION GENERAL:

En cuanto al mecanismo de acción, los fenoles, por su alto coeficien

te de partición penetran fácilmente a través de la membrana celular bacteriana y en altas concentraciones se combinan y coagulan las proteínas protoplasmáticas desnaturalizándolas y actuando como un tóxico protoplasmático. En concentraciones bajas la acción deletérea se debe a la inactivación de sistemas enzimáticos necesarios para el metabolismo bacteriano.

ACCION FARMACOLOGICA:

Una vez absorbidos, los fenoles pueden producir:

A nivel del sistema nervioso estimulación (temblor y convulsiones) seguida de depresión (parálisis del centro respiratorio); en el sistema cardiovascular, depresión del centro vasomotor (hipotensión) y cardíaco.

TOXICIDAD:

Los efectos tóxicos que puede producir el hexaclorofeno al ingerirse accidentalmente son los siguientes: diarrea, dolor abdominal, vértigos, dolor de cabeza, debilidad muscular y somnolencia.

Otra de las causas del hexaclorofeno cuando se utiliza sin control es que hay una marcada disminución de la flora bacteriana de las manos debido a la acumulación de hexaclorofeno en la piel.

Un estudio de toxicidad subaguda por un período de 30 días, indicó

que el hexaclorofeno cuando es administrado a las ratas es ligeramente tóxico en una concentración de 1:5000 y tóxico cuando es administrado en -- concentración de 1:2500.

La LD₅₀ en ratones es de 166-209 mg./Kg. de peso, y en cobayos es de 280 mg./Kg.

USOS:

Se usa como agente desinfectante en jabones detergentes y otras formulaciones dermatológicas.

Se usa para combatir muchas infecciones piogenicas en la piel. Este, es un ingrediente de ciertas cremas queratolíticas que se aplican en el - tratamiento de acné vulgaris, acné rosacea y foliculitis. El uso continuo de jabón y soluciones que contienen hexaclorofeno son llamados a ser efec-
tivos en la reducción de bacterias de la piel, en pacientes con impetigo y en bebes con erupciones, resultantes de la descomposición amoniaca1 de la orina por bacterias.

El hexaclorofeno, es activo en desodorantes hechos a base de grasas y en lociones para el pelo hechas a base de aceites vegetales.

La finalidad con que se hicieron en un principio todo este tipo de - productos, fué para ser efectivo en contra de microorganismos de la piel y del cuero cabelludo. Sin embargo, el hexaclorofeno no es tan efectivo -

en soluciones aceitosas como en soluciones de jabón y esto es quizás debido a que hay un menor contacto con las bacterias que se encuentran en la piel, a pesar de ser más soluble el hexaclorofeno en soluciones aceitosas.

Los usos que tiene el hexaclorofeno, es que tiene propiedades antibacterianas contra una gran variedad de organismos, ahora bien, este es más efectivo contra organismos Gram positivos que contra organismos Gram negativos.

Este, tiene la gran ventaja sobre otros antisépticos de retener perfectamente su actividad en forma de jabón.

DOSIS:

Usualmente, se emplean concentraciones de 1-3% en jabones líquidos o sólidos.

Se ha observado, que en cremas que contienen un 0.5% de hexaclorofeno y que se han aplicado a personas que tenían o estaban infectadas con *Stafilococcus aureus*, estas eran eliminadas en 30 minutos (no se especifica el grado de infectividad).

CAPITULO 3

MATERIAL Y METODOS

Se selecciona un cobayo y se coloca en un dispositivo el cual consiste, en una tabla cuadrada que tiene en su parte anterior una especie de argolla que sirve para inmovilizar al cobayo de la cabeza, la tabla, tiene en la parte lateral de sus cuatro esquinas unas cadenas que sirven para asegurar y fijar las cuatro extremidades del cobayo, quedando colocado el animal en decúbito dorsal. Posteriormente, se depila al animal del pecho con la mano, se desinfecta esa zona con tintura de yodo o con alcohol, ya listo el cobayo se procede a puncionar asépticamente el corazón. (Fig. 1)

La punción, se lleva a cabo con una jeringa hipodérmica esteril que tenga de volumen como mínimo 5 ml. y con una aguja hipodérmica del número 18 esteril.

Se obtienen 5 ml. de sangre y se colocan en un frasco ampula esteril que contiene 0.2ml. de solución salina citratada se mezcla cuidadosamente para evitar que la sangre se coagule y se coloca en el refrigerador con el objeto de que los polimorfonucleares no sufran lisis.

El citrato de sodio, se diluye en solución salina isotónica hasta una concentración del 20%.

Cuando se agrega la cantidad antes mencionada de citrato de sodio a la sangre, la dilución del citrato de sodio es de 0.78%.

Esta mezcla, debe de ser usada en un tiempo máximo de 5 horas después de la punción.

La bacteria que utilizamos en la técnica se preparó de la siguiente manera:

La cepa empleada fué, *Estafilococcus aureus* coagulasa positivo, el cual debe de inocularse en un medio de cultivo que permita un buen desarrollo bacteriano.

El medio de cultivo empleado fué, agar para siembra el cual tiene la siguiente fórmula:

Fórmula en gramos por litro de agua destilada.

Peptona.....	6.0 g.
Digesto pancreático de caseína.....	4.0 g.
Extracto de levadura.....	3.0 g.
Extracto de carne de res.....	1.5 g.
Dextrosa.....	1.0 g.
Agar.....	15.0 g.
pH final 6.6	

Ya inoculada la cepa, se incuba durante 48 horas a una temperatura - de 37°C.

Una vez obtenido el desarrollo bacteriano, se levanta el crecimiento con suficiente solución salina fisiológica y se agita ligeramente durante una hora; se le añade un volumen igual de solución de alumbre de cromo al 1%, esta solución de alumbre se preparó con solución salina isotónica; se incuba a 37°C. durante 2-3 horas y se centrifuga, el sobrenadante se tira y se lava 2 veces con solución salina isotónica la masa de estafilococos, por último, a los estafilococos se les pone el doble de volumen de solución salina isotónica en relación con la masa estafilococcica.

Esta suspensión bacteriana, antes de utilizarse, debe de diluirse -- hasta una concentración de quinientos millones de estafilococos por ml..

Esta suspensión bacteriana, puede ser utilizada en un tiempo máximo de 30 días.

El antiséptico, se diluye con solución salina al 0.85%, pero con el hexaclorofeno se formaba una suspensión y así fué como se usó.

Antes de usarse, se agitan los frascos que contienen las diferentes diluciones de antiséptico y se coloca con una pipeta 0.1 ml. de la suspensión del antiséptico en el fondo de un tubo de 13 x 100 mm., después se - agita el frasco ampula que contiene la sangre con el anticoagulante para

homogenizarla y se toman 0.2 ml. y por último se colocan en el mismo tubo 0.2 ml. de suspensión bacteriana, se agitan ligeramente y se colocan los tubos en una estufa a 37°C. durante 30 minutos.

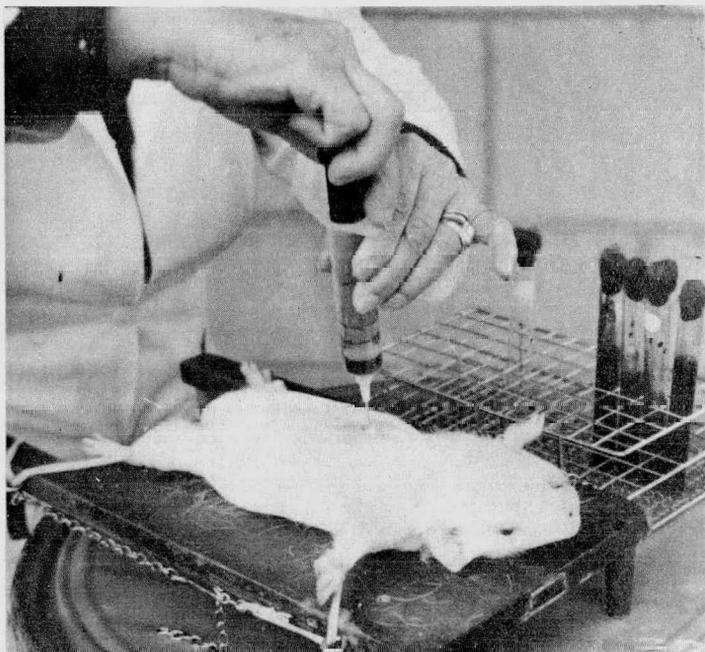
Transcurrido el tiempo de incubación, se agitan suavemente los tubos que contienen la mezcla de bacterias, sangre citratada y antiséptico, y por medio de una pipeta capilar se toma una pequeña cantidad que se deposita en un extremo de un portaobjetos limpio y desengrasado, mediante --- otro portaobjetos, colocado en un ángulo adecuado se hace un frotis, de manera que la película de sangre termine en la parte media del portaobjetos, ya que la mayoría de los leucocitos tienden a acumularse en la última porción de la película de sangre.

Los frotis, pueden ser secados con corriente de aire caliente, con un foco colocado a cierta distancia, con un mechero o con un secador de aire para pelo.

A continuación, se procede a teñir los portaobjetos con colorante de Wright, el cual se preparo de la siguiente manera: se disolvieron 100 mg. en 50 ml. de alcohol metílico y se dejo reposar el colorante ya preparado durante una semana, cada frotis se cubre con 0.5 ml. de colorante y se deja tiñiendo durante un minuto, después, se le agrega un ml. de agua destilada y se deja teñir durante 4 minutos más, esto es con el fín de completar la tinción, posteriormente los portaobjetos se lavan con agua corriente de la llave hasta que el agua que escurra ya no presente trazas de co-

lorante, se dejan secar y ya estan listos para observarse con el objetivo de inmersión.

Las pruebas de control, se hacen con solución salina en vez de anti-séptico.



(Fig. 1)

Desarrollo de la parte experimental.

Como el hexaclorofeno es practicamente insoluble en agua, en un principio disolvimos dicho antiséptico en solventes orgánicos, tales como el alcohol, propilenglicol y acetona. También se disolvió el hexaclorofeno - en mezclas de alcohol-acetona, acetona-propilenglicol y alcohol propilenglicol, estas mezclas, contenfan diferentes volúmenes de cada uno de los solventes orgánicos antes mencionados. Ahora bien, la finalidad por la --cual se hicieron todo este tipo de ensayos, fué para ver en que solvente o mezcla de las antes mencionadas, se disolvfa mejor el hexaclorofeno. Todos, fueron buenos solventes, pero también se observó que todos coagula--ban muchas proteínas de la sangre, además se observaba una baja considerable de neutrófilos polimorfonucleares.

Después de haber observado que muchas proteínas de la sangre coagulaban, cuando se ponfan en contacto con dichos solventes orgánicos, se trató de disminuir el efecto tóxico combinando o mezclando solución salina - con los solventes orgánicos, observando que disminuía la acción coagulante, pero todavía eran tóxicos los solventes orgánicos.

Todas estas pruebas, se hicieron con diferentes cantidades de hexa--clorofeno, pero en todas se observaba que el daño tóxico era el mismo, --por lo que nos llevó a pensar que las mezclas de sangre, bacterias y antisépticos (diferentes concentraciones) eran afectadas por el solvente y no por el antiséptico.

En base a esto, fué por lo que nos decidimos a poner el hexaclorofeno en solución salina, aunque no se disolvía el hexaclorofeno, se formaba una suspensión y así fué como se usó el hexaclorofeno en estas pruebas.

Estas suspensiones, tenían diferentes cantidades de hexaclorofeno y fué así como ya observamos el daño que causaba dicho antiséptico a las células.

De esta manera, fué como se logro determinar en que concentración era tóxico el hexaclorofeno o sea hasta que concentración el hexaclorofeno inhibía la fagocitosis.

Posteriormente, se procedio a probar la toxicidad del hexaclorofeno al aplicarlo sobre la piel de conejo.

Utilizamos la piel de conejo, porque es de las pieles más sensibles a cualquier tipo de sustancia química.

La piel de conejo se preparó de la siguiente manera:

Primero, se le corta el pelo del lomo con una máquina eléctrica, que es, especial para cortar el pelo, y se le corta casi hasta donde esta la piel o epidermis, en seguida, se coloca en la parte donde se le corto el pelo una mezcla depiladora, la cual se deja actuar durante un minuto y --

treinta segundos, inmediatamente de transcurrir este tiempo, se lava el conejo con mucha agua corriente para que no queden restos de la mezcla de piladora, se seca la piel y ya esta lista para usarse. La mezcla depiladora tiene la siguiente fórmula:

Almidón..... 15.0 g.

Oxido de zinc..... 8.7 g.

Sulfuro de bario..... 7.5 g.

Agua, la suficiente para que esta mezcla tenga un aspecto de --
pasta.

El método que se usó para determinar el poder irritante de esta solución fué el siguiente:

La irritación primaria de la piel es medida por medio de la técnica del parche sobre la piel intacta de conejo blanco, que este libre de pelo. Un mínimo de seis ejemplares son usados para estas pruebas de la piel.

Se introduce debajo de un parche cuadrado de tela ó de gaza quirúrgica 0.5 ml. (en caso de líquidos) o 0.5 g. (en caso de sólidos y semisólidos) de la sustancia prueba.

La gaza quirúrgica debe de medir aproximadamente 2.54 cm. X 2.54 cm. y debe de estar constituida por dos capas sencillas de gaza.

En caso de ser sólida la sustancia que se va a probar, debe de disolverse en un solvente apropiado y aplicar la solución como se hace con los líquidos.

Los animales son inmovilizados con cinta adhesiva que se les coloca en las patas.

La trompa del animal se envuelve con un material impermeable que puede ser de caucho, dejandosele colocado durante 24 horas de exposición.

Los parches de gaza quirúrgica ayudan a mantener las pruebas en posición y retarda la evaporación de sustancias volátiles.

Después de 24 horas de exposición, los parches son removidos y las reacciones resultantes son evaluadas en base a los valores designados en la siguiente tabla:

Evaluación de las reacciones de la piel	Valor
Eritema y formación de escaras:	
No eritema.....	0
Eritema muy ligero.....	1
Eritema bien definido.....	2
Moderado a eritema severo.....	3
Eritema severo (desde inflamación) a ligera formación de esca-	

ra (heridas graves).....	4
Formación de edema:	
No edema.....	0
Edema muy ligero (apenas perceptible).....	1
Edema ligero (bordes del área bien definidos y levantados)....	2
Edema moderado (levantamiento de la piel con una altura <u>aproximada</u> de 1 mm.).....	3
Edema severo (levantamiento de la piel por más de 1 mm. de altura y extendida más allá del área de exposición).....	4

El valor registrado de cada lectura es el valor promedio de los seis o más animales que se utilizaron en la prueba.

Las lecturas se vuelven a hacer al fin de un total de 72 horas (48 - horas después de la primera lectura).

Evaluar las reacciones de la piel a las 24 horas y a las 72 horas como se describe más abajo.

Sumar los valores para eritema y formación de escara a las 24 y 72 - horas para piel intacta a los valores de piel irritada en las 24 y 72 --- horas (cuatro valores).

Similarmente, sumar los valores para formación de edema de las 24 y 72 horas de la piel intacta e irritada (cuatro valores).

El total de los ocho valores es dividida entre cuatro para que nos -
de el resultado de la irritación primaria.

CAPITULO 4

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Se examinaron, los frotis teñidos que contenían las mezclas de anti-séptico, sangre y bacterias al microscopio con aceite de inmersión y se contaron 25 leucocitos polimorfonucleares, observandose únicamente si --- había fagocitosis.

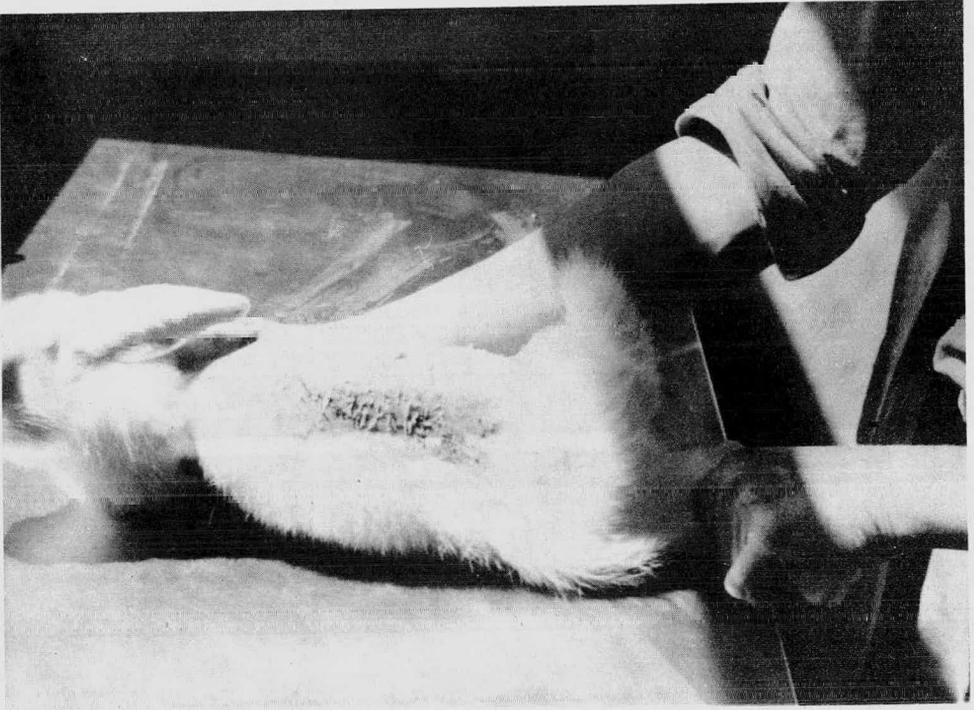
Los frotis en los que se observó, que ya no se inhibía la fagocitosis, fueron aquellos que estaban preparados con mezclas que contenían una dilución de hexaclorofeno de 1:6000, esto indica, que diluciones menores de dicho antiséptico, son tóxicas para el tejido en que se apliquen.

Después, se procedio a comprobar la toxicidad del antiséptico antes mencionado, sobre la epidermis de conejo.

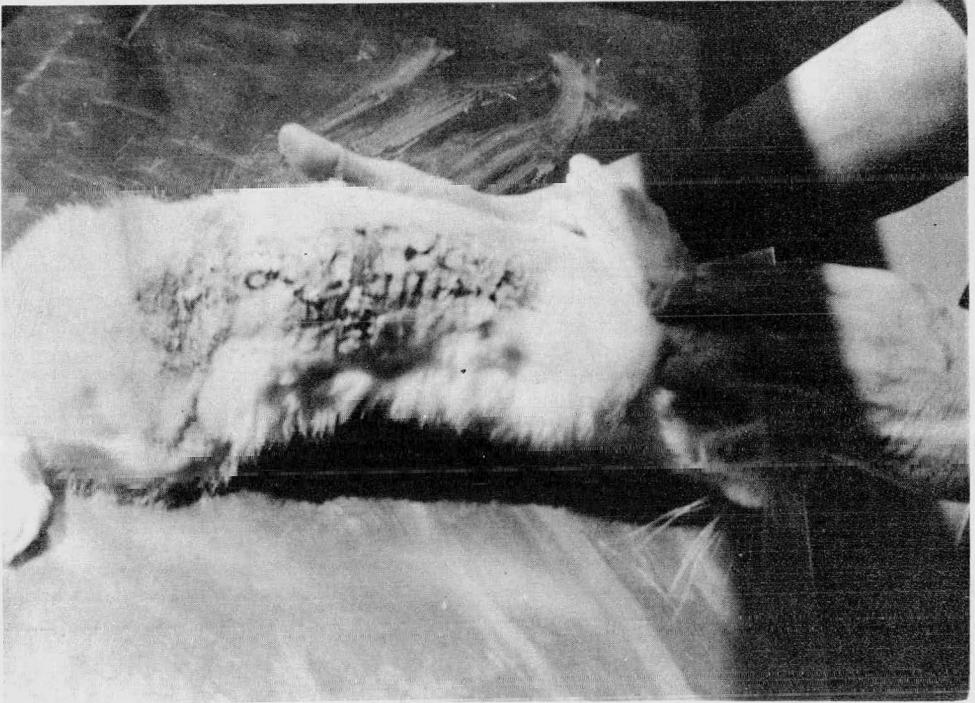
En estas pruebas, se observó que el hexaclorofeno, es tóxico cuando se aplica diariamente durante una semana en forma de solución y con una concentración al 3%.

Los síntomas, comienzan a manifestarse al tercer día de aplicación. Estos pueden ser, enrojecimiento de la zona donde se aplica la solución, irritabilidad, resequedad y escoriación (siempre y cuando no se enjuague la zona donde se aplique el hexaclorofeno en forma de solución).

El resultado de la prueba de irritación primaria nos dio un valor de 2, esto demuestra, que el hexaclorofeno, es tóxico debido a que se acumula al aplicarse por vfa tópica como se demuestra en las fotografías siguientes (Figs. 2 y 3).



(Fig. 2)



(Fig. 3)

CONCLUSIONES

El índice opsono citofágico, es de una actividad germicida y solo proporciona información parcial para estimular el valor de los antisépticos.

Una valoración completa necesita la determinación de la concentración a la cual, la sustancia inhibe o mata a las bacterias, pero no lesiona los tejidos vivos del ser humano.

Ahora bien, esta técnica esta basada, sobre una comparación del poder bactericida del antiséptico hacia la bacteria con una acción tóxica hacia tejido vivo, esto indica que una sustancia que es tóxica para una bacteria, también lo puede ser para el tejido vivo.

La máxima dilución que inhibe completamente la actividad fagocítica, recibe el nombre de punto final tóxico del antiséptico.

El índice de toxicidad de un producto químico (antiséptico), se calcula dividiendo la máxima dilución del mismo que inhibe la fagocitosis, por la máxima dilución bactericida. Teóricamente cuanto menor sea el índice mejor es el antiséptico.

Los antisépticos, deben de ser usados solamente como ayudantes en el mecanismo protector y así aumentar las defensas naturales del huésped

infectado.

Un antiséptico, que destruye la función normal del leucocito, puede tener un efecto perjudicial sobre un mecanismo muy importante del ser humano, como lo es la fagocitosis.

Este método, depende mucho de la habilidad de la sangre de cobayo, para fagocitar *Estafilococos aureus* en presencia de concentraciones progresivas de la sustancia germicida, ya que dicha sustancia va a reaccionar con algunos componentes sanguíneos como lo son las opsoninas y los leucocitos, por lo tanto la fagocitosis disminuye, pudiendo llegar a inhibirse totalmente.

Para que este tipo de pruebas tenga validez, debe de emplearse tejido vivo que este íntimamente relacionado con los mecanismos de defensa del ser humano.

La técnica descrita, es simple en su realización, ya que no se emplean aparatos complicados o muy elaborados. Debe de tenerse cuidado en su realización, ya que las sustancias que se emplean son muy delicadas, debido a que son de origen proteico y deben de mantenerse bajo ciertas condiciones como son: la temperatura, tiempo de incubación y diluyentes que se utilizan.

La sangre normal, tiene una acción bactericida definitiva que varia

con el huésped y con el organismo involucrado.

La variación en el poder bactericida de la sangre debido al tipo de organismo, difiere grandemente con las especies, la virulencia y número de organismos involucrados.

La acción bactericida de la sangre puede variar con el huésped, condición física, historia previa del tejido, el poder opsonico de la sangre y el número y eficiencia de los leucocitos presentes.

Consideramos, que el efecto de un antiséptico sobre el tejido humano, es mucho más importante que la habilidad que tiene dicho antiséptico a destruir microorganismos vivos, de lo contrario, la aplicación de estas sustancias favorecería el desarrollo bacteriano.

En esta técnica se presentan tres zonas de actividad antiséptica y son las siguientes:

a).- Zona Indiferente, es la zona donde tenemos diluciones muy altas de antiséptico y la dilución control (sin antiséptico) aquí observamos, - que las bacterias son destruidas por la acción bactericida de la sangre.

b).- Zona antileucocítica, es aquella zona en la cual tenemos concentraciones altas de antiséptico y son tóxicas para los leucocitos pero no para las bacterias, ya que destruyen el poder bactericida de la sangre.

c).- Zona antiséptica, en esta zona, las concentraciones de antiséptico, son todavía mayores que en la zona anterior y son tóxicas tanto para la bacteria como para los leucocitos.

Finalmente, es necesario hacer la advertencia sobre el uso incorrecto de productos que contengan hexaclorofeno. La aplicación repetida y rutinaria de estos agentes al cuerpo, puede interferir en mecanismos normales de defensa de las células de los tejidos y crear finalmente una situación favorable para la invasión bacteriana.

Por consiguiente, las descripciones y afirmaciones que se hacen en - anuncios y artículos publicados en diarios y revistas populares deben de aceptarse con mucha reserva. Algunas personas que han seguido equivocadamente esos consejos han sufrido daños considerables. En la mayoría de los casos, lo mejor es seguir los consejos de un médico bien informado para - evitar reacciones y datos desfavorables para su organismo.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ADRIEN ALBERT
SELECTIVE TOXICITY AND RELATED TOPICS
PAGS. 345-346
MET HUEN AND CO. LTD. NEW FETTERLANE
LONDON.

- 2.- BURRELL ROBERT G.
EXPERIMENTAL IMMUNOLOGY
PAGS. 61-64
BURGESS PUBLISHING COMPANY
MINNEAPOLIS.

- 3.- CARPENTER PHILLIP L.
INMUNOLOGIA Y SEROLOGIA
CAPITULO 11 PAGS. 223-242
LA PRENSA MEDICA MEXICANA
MEXICO.

- 4.- COLLIER'S ENCICLOPEDIA
VOLUME 1
PAGS. 669-670
THE CROWELL-COLLIER PUBLISHING COMPANY
NEW YORK.

- 5.- DRUG EVALUATIONS
FIRST EDITION
PAGS. 483-488
AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION
CHICAGO

- 6.- ENCICLOPEDIA CULTURAL
TOMO I
PAGS. 495-496
U.T.E.H.A.
MEXICO.

- 7.- FARMACOPEA NACIONAL DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS
4a. EDICION
PAGS. 863-864
SECRETARIA DE SALUBRIDAD Y ASISTENCIA
MEXICO.

- 8.- FARMACOS 1973
COMISION TECNICO-CONSULTATIVA
PAGS. 169-170 y 171
EDITADO POR EL COMITE DE FARMACOS 1973
MEXICO.

- 9.- GLEASON, GOSSELIN, HODGE AND SMITH
CLINICAL TOXICOLOGY OF COMMERCIAL PRODUCTS
THIRD EDITION PAGS. 77-78
THE WILLIAMS AND WILKINS CO.
BALTIMORE.

- 10.- GRAINGER H.S.
DRUGS, ACTIONS, USES AND DOSAGE
PAG. 167
THE PHARMACEUTICAL PRESS.
LONDON

- 11.- JAWETZ ERNEST
MANUAL DE MICROBIOLOGIA MEDICA
CUARTA EDICION
CAP. 11 PAGS. 149-154
EL MANUAL MODERNO.

- 12.- KIKK RAYMOND E.
ENCICLOPEDIA DE TECNOLOGIA QUIMICA
TOMO 2
PAGS. 615-621
EDITORIAL HISPANO-AMERICANA
- 13.- KWAPINSKI J.B.
METHODS OF SEROLOGICAL RESEARCH
PAG. 414
JOHN WILEY AND SONS, INC
NEW YORK, 1967.
- 14.- LITTER MANUEL
COMPENDIO DE FARMACOLOGIA
TERCERA REIMPRESION
CAP. 45 PAGES. 513-525
EDITORIAL EL ATENEO.
- 15.- MERCK INDEX
EIGHTH EDITION PAGES. 526-527
- 16.- MORRIS B. JACOBS
DICTIONARY OF MICROBIOLOGY
PAGS. 113 y 187
D' VAN NOSTRAND COMPANY, INC.
PRINCETON, NEW JERSEY.
- 17.- PIATKIN K.
MICROBIOLOGIA
PAGS. 225, 228, 277 y 280
EDITORIAL MIR
MOSCU.

- 18.- ROJAS WILLIAM M.
INMUNOLOGIA
SEGUNDA EDICION
CAP III. PAGES. 31-51
EDITORIAL COLIMA.
- 19.- SOLLMAN TORALD
A MANUAL OF PHARMACOLOGY
EIGHT EDITION
PAG. 809.
W.B. SAUNDERS COMPANY.

Esta edición se imprimió en los talleres de
TESIS GUADARRAMA IMPRESORES, S. A.
Av. Cuauhtémoc 1201, Col. Vértiz Navvarte,
México 13, D. P., Tel. 559-22-77 con tres líneas

Impreso en México