



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**



**Evaluación de la actividad antimicrobiana de diferentes marcas de gel de alcohol etílico comparadas con una de referencia del Instituto Nacional de Pediatría.**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTAN:

**González Benítez Alejandra  
López Flores Carlos**

Director de tesis: M. en C. Elizabeth Guadalupe Sánchez González

Asesor de tesis: Dr. José Luis Alfredo Mora Guevara

México, D.F. Mayo 2011



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.

## **DEDICATORIAS**

A lo largo de todo este tiempo hemos contado con personas talentosas, dedicadas y profesionales que no nos dejaron caer, sí no que nos impulsaron a continuar.

### **ALEJANDRA**

#### **A MIS PADRES**

*Por apoyarme en todo cuanto hizo falta para que me sintiera tranquila y con animos para seguir adelante al respetar mis decisiones y escucharme siempre. Su fuerza, valor, cariño, optimismo, comprensión y apoyo constante han sido cimientos fundamentales para que pudiera llegar hasta aquí. Me han demostrado que con esfuerzo y perseverancia todo es posible.*

#### **A MI CARLÍN**

*Carlitos. Para mi pequeño dragón Aiko; por estar siempre a mi lado y ser una continua luz y guía, al apoyarme con sus enseñanzas, por su comprensión, y mostrar que la vida es fantástica y maravillosa, tan mágica como lo desee.*

#### **A MIS FAMILIARES**

*Que me han apoyado y comprendido en todo momento. En este periodo tan largo, han logrado que siguiera avanzado hacia mi objetivo. En especial a mi abuelita.*

## **CARLOS**

### **A MI PADRE**

*Por el apoyo que me brinda, confianza, palabras de aliento y cariño; demostrando que con esfuerzo y tesón todo es posible. Por enseñarme a que me impulsen, la voluntad de luchar, el ansia de la victoria, la sed insaciable de saborear el triunfo y paladear la gloria. Que la constancia y el trabajo nos mejora y por decir que el mundo no debe estar lleno de mediocres sino de triunfadores.*

### **A MI AMOR CHIQUITO**

*Alejandra, por animarme cada día con su sonrisa, optimismo, cariño y amor. Por estar a mi lado y apoyarme siempre.*

### **A MIS FAMILIARES**

*Por el cariño, amor y protección que me dan cada día de mi vida, a toda la familia sin excepción: tíos, tías, primos, cuñados, sobrinitos y Mamá Grande en especial por su apoyo e inspiración.*

### **A MI MADRE**

*Por su amor, apoyo y amistad; por sus desvelos constantes. Por ser quien es. Su ejemplo de lucha, honestidad, superación, tenacidad, su paciencia, inteligencia, cariño y generosidad me enseña todo lo que es realmente importante en la vida. Por levantarme y darme el valor, la fuerza para continuar y hacerme feliz. Por ella la disciplina es mi norma, el valor mi gran anhelo y el honor mi firme causa.*

### **A MIS HERMANOS**

*Gracias por conformar la familia con quien cuento siempre, porque con ustedes comparto una infancia feliz, y por ser capaces de brindar cariño a todos aquellos que les rodean. Su paciencia, sinceridad y objetividad en todo sentido. Por hacerme mejor persona, aprendiendo a decir las cosas de forma clara, sencilla y como las siento, su calor humano y sus deseos de que todo me salga bien. En especial a Elena que ha colaborado con todo su cariño en este trabajo. Por no exigirme más del tiempo que pude darles y por estar, cada uno a su manera respaldandome para alcanzar mis objetivos. Por ellos y para ellos.*

### **FAMILIA GONZÁLEZ BENÍTEZ**

*Por todo el apoyo, confianza, cuidados y cariño que me brindan siempre.*

## AGRADECIMIENTOS

Al finalizar un trabajo tan arduo como el desarrollo de una tesis es inevitable invadirse por un sentimiento de orgullo y satisfacción, sin embargo, hubiese sido imposible sin la participación de personas e instituciones para que este trabajo llegue a un feliz término.

Ahora en una labor no menos ardua; deseamos manifestar en pocas líneas lo que sentimos por todos los que han colaborado a que este proyecto fructifique, haciéndonos crecer a nivel personal y profesional. Por ello es un placer utilizar este espacio para expresar nuestro agradecimiento.

Primero, dar gracias a Dios, por estar en cada paso, en cada momento, por fortalecer nuestros corazones y engrandecer nuestro conocimiento, colocando en el camino a aquellas personas que han sido soporte y compañía durante todo este trayecto.

A nuestros sinodales y maestros:

Sin duda alguna, llegar hasta aquí sin la iniciativa y responsabilidad de nuestra directora de tesis M en C Elizabeth Guadalupe Sánchez González, hubiera sido imposible, su tesón y dedicación son de gran importancia para la culminación de esta meta, todo el tiempo dedicado, los importantes aportes y sugerencias que contribuyeron al desarrollo de esta tesis. Su apoyo, no solo intelectual, hizo que el paso por la universidad haya sido mucho más grato y amable.

Dr. José Luis Alfredo Mora Guevara, sus siempre atentas y rápidas respuestas a las diferentes inquietudes surgidas, que se reflejan en el logro obtenido; cada resultado sorprendente era motivo para una desorbitada emoción que impregnaba el ambiente de optimismo e inquietud para continuar. Por la formación que nos proporcionó, su orientación siempre impecable, dedicada y pedagógica; su tiempo invertido en la dirección y corrección de la investigación, por todos sus consejos desde el inicio hasta el final, creyendo, cuidando de nosotros, construyendo la confianza y sencillez con sus palabras de animo en todo momento, compartiendo su visión, escuchándonos y haciéndonos reír, por ser la sonrisa que se necesitaba, formando juntos un gran equipo. Por su estímulo constante, su música, alegría, generosidad, experiencias y amplio conocimiento, al compartir tantas cosas con nosotros y ser el gran amigo que tenemos; su disponibilidad y paciencia hizo que nuestra estancia redundara benéficamente tanto a nivel científico como personal. Por su especial apoyo, su ayuda en muchas ocasiones, por todos los momentos que pasamos, las conversaciones y los buenos momentos de amistad y compañerismo. No solo nos ayudó a enriquecer intelectualmente sí no que además nos llevamos sus grandes cualidades como ser humano y profesor.

Dr. Rubén Marroquín Segura por recibirnos bajo su dirección. Su apoyo y confianza en el trabajo, su capacidad para guiar ideas han sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en nuestra formación como profesionales, el haber facilitado siempre los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades propuestas. Las ideas propias, siempre enmarcadas en su orientación y rigurosidad, han sido la clave del buen trabajo que hemos realizado juntos, el cual no se puede concebir sin su siempre oportuna participación. Por ser el amigo que comparte todo, mostrando su sencillez y preocupación por nosotros.

M. en F. María Martha Ugalde Hernández por la colaboración, paciencia, apoyo brindados desde siempre y sobre todo por esa gran amistad que nos brindó y nos brinda, por escuchar, buscar soluciones y aconsejarnos siempre.

A nuestro sinodal Q.F.B. Gabriel Alejandro Romero Díaz quien aportó ideas para la elaboración y redacción del trabajo, quien no solo es maestro sino un amigo.

Un agradecimiento especial a la Mtra. Yolanda Flores Cabrera. Al haber revisado la tesis en profundidad y dar importantes sugerencias para mejorar su contenido, su constante asesoramiento a lo largo de toda la tesis y la completa disponibilidad que siempre mostro, fue de inestimable valor, por darnos su amistad, sus conocimientos, su cuidado y enorme dedicación.

Dr. Vicente J. Hernández Abad por permitir que esta tesis se desarrollara en el marco de colaboración entre LIF y UMIEZ; también su amabilidad y disponibilidad para alcanzar los objetivos perseguidos, por hacer amena nuestra estancia y siempre pedir que preguntemos.

Maestra y tutora Q.F.B. Francisca Robles López, excelente persona, entusiasta en su trabajo y firme en sus convicciones, quien nos brindó la oportunidad de llevar a cabo una formación profesional y enseñar que con trabajo se logra todo.

Q.F.B. Armando Ramírez González, por brindar su ayuda cuando más se necesita, por ser una persona con que podemos contar siempre, por los ánimos y el cariño que nos brinda.

M. en C. José Luis Trejo Miranda, por su importante aporte, sus pláticas, el tener siempre una sonrisa y sus comentarios en el desarrollo de esta tesis.

M.C. Ricardo Calvillo Esparza, por los momentos en los que más que un profesor se comportó como un amigo y estar pendiente de nosotros.

M.C. Maurilio Flores Pimentel, al ser una gran persona y sobre todo un gran amigo, con la que sabemos se podrá contar siempre.

Q. A. Juan Carlos Rojas Ruiz, por creer siempre en nosotros, ser el amigo y compañero. Por escucharnos siempre.

Mtro. Arturo Salvadores Baledón, que nos permitió conocer la expresión del espíritu y la alegría que emana al compartirlo con los que más se quiere ó con quienes lo necesitan.

A todos los profesores que nos formaron, el más sincero agradecimiento por todo cuanto nos enseñaron y tantas otras cosas que descubrimos gracias a ellos.

A las instituciones que permitieron el desarrollo de este proyecto:

La Universidad Nacional Autónoma de México por cuanto hemos recibido de ella.  
La Facultad de Estudios Superiores Zaragoza que nos alojo para formarnos como químicos e investigadores del mañana.

Hemos de resaltar que la realización de esta tesis ha sido posible gracias al apoyo técnico y proporción de materiales del Instituto Nacional de Pediatría, el Laboratorio de Investigación Farmacéutica y la Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza, que sin lugar a dudas contribuyeron y fueron parte clave de esta tesis.

A todos los compañeros y amigos del laboratorio de investigación inmunológica, por su apoyo, ánimo, cariño, por compartir muchos momentos alegres, por su amistad desde que nos conocimos.

A todos nuestros amigos por hacernos reír, por brindar su ayuda y amistad, por todos los momentos compartidos, por los ánimos, apoyo y cariño, por brindar su colaboración cuando más se necesitaba; por confiar y creer en nosotros. Por ser nuestros hermanos: Samara, Jang Geum, Samantha, Jessica, Pedro, Marcelo, Daniel, Fox, Yu-gi, Ramón, Víctor, Camarillo, Emmanuel, Toño, Jacobillo, Fredys, Oswaldo y José. Gracias a todos y cada uno de nuestros amigos, a aquellos de quien no vienen sus nombres a nuestra mente en estos momentos pero que saben los llevamos en el corazón porque siempre han prestado un gran apoyo moral y humano. Un recuerdo cariñoso y emotivo para los viejos y nuevos amigos, compañeros que hemos reunido en todo este tiempo.

Finalmente también a todo el personal de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Secretaría General, Dirección, Administración, Biblioteca, Mantenimiento, Limpieza y Seguridad, ya que dentro de los ámbitos que a cada uno le competen nos han colaborado brindando siempre una sonrisa y su amistad. Durante estos años, hemos conocido y compartido momentos con muchas personas que nos han apoyado, no solo en lo académico y en lo científico, si no también en lo personal, a todas ellas, sin dejar a nadie en el olvido; gracias.

La culminación de esta investigación no sólo representa lo que aprendimos en la universidad, representa también todo lo que aprendimos fuera de ella y debemos recordar a todas las personas que hicieron posible este momento; porque la vida continua, porque el futuro no para y mañana iremos a la conquista de nuevas tierras, de nuevos eventos y todos estarán ahí, otra vez soñaremos, nos ilusionaremos y nuestro corazón palpitará con fuerza, ya que conocemos nuestra obligación, el ser mejores; iremos juntos como siempre, pueden estar seguros, lo prometemos.

Alejandra y Carlos

Primavera de 2011



# CONTENIDO

	Página
<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	2
<b>Capítulo I. ANTECEDENTES TEÓRICOS</b> .....	3
1.1 Influenza AH1N1.....	4
1.1.1 Medidas de contención.....	4
1.1.2 Gel antiséptico de alcohol etílico.....	5
1.2 La piel.....	6
1.2.1 Composición.....	6
1.2.1.1 Epidermis.....	6
1.2.1.2 Dermis.....	6
1.2.1.3 Hipodermis.....	7
1.2.2 Absorción.....	7
1.2.2.1 Factores en la absorción cutánea.....	7
1.2.3 Piel de las manos.....	8
1.2.3.1 Microorganismos característicos.....	8
1.2.3.1.1 Residentes.....	8
1.2.3.1.2 Transitorios.....	9
1.2.3.1.3 Propagación de los microorganismos.....	9
1.2.4 Limpieza.....	10
1.3 Alcohol.....	12
1.3.1 Descripción.....	12
1.3.2 Propiedades.....	12
1.3.3 Incompatibilidades.....	12
1.3.4 Precauciones.....	12
1.3.5 Usos.....	13
1.3.6 Actividad como antiséptico y desinfectante.....	14
1.3.6.1 Antiséptico.....	14
1.3.6.2 Desinfección.....	15
1.3.7 Microorganismos que inhibe.....	16
1.4 Gel como forma farmacéutica.....	18
1.4.1 Definición.....	18
1.4.2 Composición.....	18
1.4.3 Clasificación.....	18
1.4.3.1 Geles bifásicos.....	19
1.4.3.2 Geles monofásicos.....	19
1.4.4 Elaboración.....	19
1.4.5 Evaluación.....	20
1.5 Microorganismos de prueba para la evaluación de actividad antimicrobiana.....	23
1.5.1 <i>Escherichia coli</i> .....	23
1.5.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	26

<b>Capítulo II MÉTODO</b> .....	27
2.1 Planteamiento del problema.....	28
2.2 Objetivos.....	29
2.2.1 Objetivo general.....	29
2.2.2 Objetivos particulares.....	29
2.3 Hipótesis.....	29
2.4 Tipo de estudio.....	29
2.5 Población de estudio.....	29
2.6 Criterios de inclusión.....	30
2.7 Criterios de exclusión.....	30
2.8 Variables.....	30
2.9 Desarrollo.....	31
2.9.1 Diagrama de flujo.....	31
2.9.2 Material y reactivos.....	31
2.9.3 Gel de referencia de alcohol etílico.....	33
2.9.4 Elección de los geles de alcohol etílico a evaluar.....	33
2.9.5 Determinación de la actividad antimicrobiana.....	33
2.9.5.1 Preparación y acondicionamiento de la muestra.....	34
2.9.5.2 Determinación de la cuenta viable inicial.....	34
2.9.5.3 Determinación de las células sobrevivientes.....	35
2.9.6 Evaluación del gel de alcohol etílico.....	35
2.9.6.1 Transparencia.....	35
2.9.6.2 Penetrabilidad.....	36
2.9.6.3 Diámetro de dispersión.....	37
2.9.6.4 Densidad relativa.....	37
<b>Capítulo III. RESULTADOS Y SU INTERPRETACIÓN</b> .....	38
3.1 Transparencia.....	39
3.2 Penetrabilidad.....	40
3.3 Diámetro de dispersión.....	42
3.4 Densidad relativa.....	44
3.5 Actividad antimicrobiana.....	45
3.6 Estudio de mercado.....	58
<b>CONCLUSIONES</b> .....	59
<b>GLOSARIO</b> .....	60
<b>REFERENCIAS</b> .....	61
<b>ANEXO I PREPARACIÓN DE MEDIOS Y REACTIVOS</b> .....	64
<b>ANEXO II ESCALA DE Mc FARLAND</b> .....	66

## **RESUMEN**

El empleo de alcohol en gel como antiséptico tiene amplia demanda, debido a los casos de influenza tipo A H1N1 que se han registrado en México a partir del 2009.

La marca, presentación y precio de este producto han sido factores para la elección de compra, sin embargo, no se ha evaluado su eficacia antimicrobiana.

El objetivo del estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana de seis marcas de gel de alcohol etílico de la zona metropolitana con el de referencia del Instituto Nacional de Pediatría (INP), conforme la norma SCFI NMX-BB-040-SCFI-1999 de métodos generales de análisis-determinación de la actividad antimicrobiana en productos germicidas.

Obtener estos datos permitió saber que los geles evaluados cumplen el porcentaje de reducción en la cuenta viable de 99.999% en 30 segundos de contacto con la concentración de uso recomendada.<sup>1</sup>

Se logró desarrollar la técnica para evaluar la actividad antimicrobiana, en los seis geles y el de referencia, los resultados mostraron que cuatro de ellos cumplen con la actividad antimicrobiana, por lo que el gel utilizado por el INP puede ser igual y mejor que algunos geles que se venden en el mercado. Respecto del costo comercial este no es un indicativo de una efectiva actividad antimicrobiana.

## INTRODUCCIÓN

Aún cuando el alcohol se ha empleado como antiséptico frente a heridas menores desde hace varios años, pocas veces era empleado en la presentación de gel. Pero a partir de la aparición y aumento de los casos de influenza A H1N1 que causaron alerta en el mes de abril de 2009 en México, la Secretaria de Salud y varios médicos del ámbito nacional hicieron la recomendación de usar gel antiséptico de alcohol etílico, ya que la propagación del virus es por contacto, provocando que este producto se agotara rápidamente en farmacias y supermercados; incluso a elaborarse de forma casera, sin considerar que la concentración o el tipo de alcohol empleados fueran los correctos.

Se elevaron los precios del alcohol en gel y pocas personas tomaron en cuenta las concentraciones del alcohol empleado, dejando que el precio o la marca del producto hablaran por su actividad antimicrobiana; cuando sólo deberían ser una alternativa.

Es de hacerse notar que su empleo era más común en hospitales y su venta al público en general no era tan común. Hoy en día su uso se ha ampliado haciéndose una práctica casi habitual, aunque no todas las personas lo han integrado a sus hábitos higiénicos.

Aun cuando no sustituye un adecuado lavado de manos, se ha encontrado que su uso individual (aun sin lavarse las manos) reduce significativamente la cantidad de bacterias que se encuentran en las mismas como medida precautoria para evitar el contagio de enfermedades transmisibles por contacto de las manos con otras superficies; recomendándose en sitios donde no existe acceso a agua corriente y jabón o para realizar una desinfección más profunda.

Es por ello que al evaluarse la actividad antimicrobiana de alcohol en gel, se busca demostrar que cumpla con las especificaciones, eliminando en su mayoría a los microorganismos más comunes. Para lograr esto, se adaptó la norma SCFI NMX-BB-040-SCFI-1999 de métodos generales de análisis-determinación de la actividad antimicrobiana en productos germicidas, para evaluar la actividad antimicrobiana de seis marcas de gel de alcohol etílico que se comercializan en la zona metropolitana, las cuales fueron elegidas después de realizar un estudio de mercado. La evaluación de la actividad antimicrobiana se realizó con las cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, realizando una cuenta viable inicial de UFC que fue comparada con las de células sobrevivientes de la cepa al estar en contacto 30 segundos con el gel de prueba a una concentración de 75 y 125 X 10<sup>8</sup> UFC / mL. Además se les realizó una evaluación de parámetros físicos como aspecto, diámetro de dispersión, penetrabilidad y densidad relativa para conocer la integridad física de esta formulación.

**CAPÍTULO I**  
**ANTECEDENTES TEÓRICOS**

## **1.1 Influenza A H1N1**

La influenza A H1N1, es una enfermedad aguda de las vías respiratorias, el virus causante se llama virus de influenza tipo A H1N1; se transmite de persona a persona, cuando un individuo enfermo estornuda o tose frente a otro sin cubrirse la boca y la nariz, o comparte utensilios y alimentos, al saludar de mano o de beso a una persona enferma. Esta enfermedad es curable con los medicamentos adecuados para su tratamiento, de igual forma se puede prevenir su contagio el cual se da por contacto.<sup>2</sup>

En México, el Sistema de Vigilancia en Salud para una Rápida Detección, Inmediata Acción y Prevención Específica, estableció una serie de medidas preventivas las cuales aún son vigentes debido a una alerta de posibles brotes de influenza; aunque la mayoría de estas medidas no se llevan a cabo como en los primeros días en que se dio a conocer la enfermedad, el uso de gel de alcohol etílico es indispensable y casi cotidiano en todos los lugares de afluencia de personas, donde es posible encontrar gel sanitizante en baños, escritorios y entradas.<sup>2,3</sup>

### **1.1.1 Medidas de contención**

Comportamientos:

- Lavarse las manos frecuentemente con agua y jabón, preferentemente líquido o bien, usar gel antiséptico con base de alcohol.
- Si no tiene jabón líquido, utilice jabón de pasta en trozos pequeños.
- Mantenerse alejado de personas que tengan infección respiratoria aguda.
- Debido a que el virus se transmite por la saliva, cuando platique con otras personas, procure mantener una sana distancia de 2 a 3 brazos.
- No saludar de beso, mano o abrazo.
- No asistir a lugares concurridos.
- No compartir alimentos, bebidas, platos, vasos o cubiertos.
- Al toser o estornudar ejecutar la técnica correcta, cubrirse nariz y boca con un pañuelo desechable o con el ángulo interno del codo. Tirar el pañuelo desechable en una bolsa de plástico y amarrarla.<sup>2</sup>

Se recomienda lavar las manos:

- Después de toser o estornudar.
- Después de tocar manijas, barandales y transportes públicos.
- Antes de tocarse los ojos, la nariz o la boca.<sup>3</sup>

### 1.1.2 Gel antiséptico de alcohol etílico

El gel antiséptico de alcohol etílico desde el 25 de abril de 2009 es considerado un insumo para la salud, que requiere de autorización por parte de la Secretaría de Salud a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios .<sup>4</sup>

Se utiliza como antiséptico, antibacterial, germicida, sanitizante y desinfectante.<sup>5</sup>

De acuerdo a las directrices de la Organización Mundial de la Salud sobre la higiene de manos en la atención sanitaria OMS 2009, se recomienda la siguiente técnica de aplicación para el gel de alcohol etílico Figura 1.1.<sup>6</sup>



**Figura 1.1.** Técnica de higiene de las manos con gel de alcohol etílico.<sup>6</sup>

## **1.2 La piel**

La piel es el mayor órgano del cuerpo humano, ocupa aproximadamente dos metros cuadrados, y su espesor varía entre los 0,5 mm (en los párpados) a los cuatro milímetros (en el talón). Su peso aproximado es de cinco kilogramos. Sus funciones incluyen la sensación, control de la temperatura, protección contra la pérdida y penetración de agua, síntesis de vitamina D y la protección contra microorganismos e irritantes.

### **1.2.1 Composición**

La piel a su vez se clasifica en dos tipos:

- Piel blanda. Es aquella que se encuentra principalmente en los párpados y zonas genitales.
- Piel gruesa. Se localiza en la piel labial, plantar y palmar, además se caracteriza por tener un estrato corneo muy desarrollado, a comparación del resto de la piel.

La piel presenta tres capas fundamentales: Epidermis, dermis e hipodermis.<sup>7</sup>

#### **1.2.1.1 Epidermis**

La epidermis es la parte más externa de la piel que se compone en su mayoría por queratinocitos, que se encuentran segmentados en el estrato corneo, además de un factor importante que son los melanocitos o también llamados pigmentocitos, que dan la pigmentación a la piel y que se encuentran justamente sobre el estrato germinativo.

En la piel se pueden apreciar, bajo cortes histológicos células de Langerhans y linfocitos, que se encargan de dar protección inmunológica.

#### **1.2.1.2 Dermis**

La dermis es una capa profunda de tejido conjuntivo en la cual se tienen la peculiaridad de la abundancia de fibras de colágeno y elásticas que se disponen de forma paralela y que le dan a la piel la consistencia y elasticidad característica del órgano. Histológicamente se divide en 2 capas:

- Estrato papilar. Compuesto por tejido conectivo laxo, fibras de colágeno tipo III, y asas capilares.
- Estrato reticular: Compuesto por tejido conectivo denso, fibras de colágeno tipo I, fibras elásticas, en donde se encuentran microscópicamente mastocitos, reticulocitos y macrófagos, en su porción inferior se observa una capa de músculo liso que conforma al músculo piloerector.



La dermis es 20-30 veces más gruesa que la epidermis. En ella se encuentran los anexos cutáneos, que son de dos tipos: córneos (pelos y uñas), glandulares (glándulas sebáceas y sudoríparas).<sup>7</sup>

### **1.2.1.3 Hipodermis**

Es un estrato de la piel que está compuesto de tejido conjuntivo laxo y adiposo, lo cual le da funciones a la piel de regulación térmica y de movimiento a través del cuerpo como el que se ve cuando estiramos la piel de nuestro antebrazo hacia arriba, si no se tuviera estos tipos de tejidos sería imposible el movimiento. Los componentes propios que integran al tejido subcutáneo son:

- Ligamentos cutáneos
- Nervios cutáneos
- Grasa
- Vasos sanguíneos y linfáticos

### **1.2.2 Absorción**

La piel es la interfase principal del cuerpo con el ambiente, además de funcionar como barrera también es la vía para que penetren medicamentos u otras sustancias químicas a la circulación. La absorción percutánea es el proceso por el cual una sustancia pasa de la superficie de la piel a su sitio de acción o a la circulación sistémica, la sustancia puede ser un fármaco o un químico con fines terapéuticos o algún material extraño nocivo que entra en contacto con la piel.

#### **1.2.2.1 Factores en la absorción cutánea**

La absorción cutánea se afecta por muchos factores.

- La absorción ocurre por difusión alrededor y a través de las células que constituyen la piel; hay cierta absorción a lo largo de los folículos pilosos o de los conductos sudoríparos. La colocación de un fármaco en la piel no significa automáticamente que llegue al sitio pretendido de acción terapéutica.
- Las sustancias como solventes orgánicos pueden dañar el extracto corneo y permitir la penetración fácil por dichas sustancias químicas.
- El grosor de la piel y la permeabilidad de barreras son diferentes en distintas áreas.
- Al aplicar más cantidad de una sustancia se aumenta la cantidad absorbida; sin embargo, el incremento se detiene cuando se satura la piel. La absorción sistémica también se incrementa si la concentración de una sustancia es más elevada y si se expone un área mayor del cuerpo.
- La piel enferma es más permeable que la de lactante a término y adultos.
- La piel enferma no necesariamente es más permeable que la normal.
- La piel ocluida o bien hidratada es más permeable que la piel no ocluida o seca.
- El vehículo puede afectar la absorción del fármaco de hecho se han desarrollado muchos medicamentos para absorberse de manera óptima con vehículos específicos.

Mezclando un fármaco extemporaneamente con diversas cremas o lociones puede disminuir la absorción percutánea a pesar de una concentración aparentemente igual y es posible que los equivalentes genéricos no sean realmente equivalentes.<sup>7</sup>

### **1.2.3 Piel de las manos**

La piel varía en su anatomía y funciones fisiológicas de un área a otra; por ejemplo, hay diferencias en el grosor de la epidermis o la dermis de ciertas regiones. El estrato corneo es muy grueso en las palmas de las manos.

Las callosidades se forman en áreas de aumento de fricción o presión, se observan bordes lineales prominentes (huellas digitales) en las superficies volares de los dedos de las manos. Éstas aunadas a glándulas sudoríparas, cuyos orificios están dispuestos en forma regular a lo largo de los vértices en los rebordes, ayudan a aumentar la fricción y estimulan la función de los dedos en la presión y giro.<sup>8</sup>

#### **1.2.3.1 Microorganismos característicos**

El pH de la piel es usualmente de 5.6, este factor es por sí sólo responsable de la inhibición del establecimiento de muchas especies bacterianas particularmente en las manos, en un brazo el número de bacterias en cuatro días es de 1000-10 millones por centímetro cuadrado.<sup>9</sup>

Las bacterias que se pueden encontrar en las manos se pueden dividir en dos categorías: residentes y transitorias.

##### **1.2.3.1.1 Residentes**

Son microorganismos relativamente fijos, presentes con regularidad, viven bajo las células superficiales de la capa córnea y también se pueden encontrar en la superficie de la piel.<sup>9</sup>

El *Staphylococcus epidermidis* es la bacteria dominante, aunque también se incluyen *S. hominis* y otros *Staphylococos* coagulasa negativos seguido por bacterias corineformes (*propionibacteria*, *corynebacteria*, *dermobacteria*, y *micrococos*). Entre los hongos, los más comunes, son *Pityrosporum (Malassezia) spp.*<sup>10</sup>

En general, los microorganismos residentes son menos probables de estar asociados con infecciones, pero puede causar infecciones en las cavidades corporales estériles, como los ojos, o en la piel lastimada o si la piel es violentada por algún dispositivo invasivo.<sup>11</sup>

### 1.2.3.1.2 Transitorios

La flora transitoria, consiste en microorganismo no patógenos, o potencialmente patógenos, que habitan la piel o las mucosas durante horas, días o semanas; se deriva del ambiente y no produce enfermedad, tampoco se establece por si misma de manera permanente sobre la superficie. En general, los miembros de la flora transitoria tienen poco significado, mientras la flora residente normal permanezca intacta; sin embargo si la flora resistente se altera, los microorganismos transitorios pueden colonizar, proliferar, producir enfermedad comportándose como oportunistas y pueden convertirse en patógenos.

Los microorganismos transitorios, que colonizan las capas superficiales de la piel, son más susceptibles de expulsión por la higiene rutinaria de las manos, generalmente no se multiplican en la piel pero pueden hacerlo. A menudo son adquiridos por el contacto directo con fómites o el medio ambiente, pudiendo ser los más comunes *Staphylococcus aureus*, y bacterias Gram-negativas como *Acinetobacter spp* y Enterococos.<sup>11</sup>

### 1.2.3.1.3 Propagación de los microorganismos

El contacto directo por las manos es la vía más frecuente de transmisión de microorganismos entre las personas. El número de microorganismos en áreas intactas de la piel en la misma persona puede variar de  $10^2$ - $10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>. El rango de microorganismos puede cambiar de persona a persona y los trabajadores de la salud pueden presentar variaciones en comparación a las demás personas.<sup>10</sup>

El recuento total de bacterias en las manos, oscila de  $3,9 \times 10^4$  a  $4,6 \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>, en la punta de los dedos, la contaminación varía desde 0 hasta 300 UFC, aunque se debe tomar en cuenta de que el número de microorganismos pasajeros y residentes varía considerablemente de acuerdo a hábitos y el medio en que se desenvuelva.<sup>10</sup>

Usualmente la propagación de los microorganismos suele realizarse por tres vías: por contacto, aire y a través de fómites.

La propagación por contacto describe la transmisión que ocurre cuando una persona entra en contacto con la fuente, y puede ocurrir mediante contacto directo, contacto indirecto o por microgotas.

Su transmisión a través del aire se refiere a los microorganismos cuya diseminación tienen un paso a través del aire y pueden ser inhalados dentro de la misma habitación o a una distancia larga en el ambiente circundante.

Los organismos se propagan por este medio dentro de núcleos en microgotas, partículas de polvo o escamas de piel.

En la transmisión a través de fómites, se trata de un vehículo inanimado contaminado como los alimentos el agua o la medicación actúa como vector para la transmisión de microorganismos.

Su papel como agentes causales de infecciones dependen de las características del microorganismo, así como de los factores del huésped como mecanismos de defensa, susceptibilidad, resistencia, inmunidad y otros factores como edad, sexo, raza estado nutricional, fatiga, traumas, nivel socioeconómico, etc.

Los microorganismos presentes en la superficie del cuerpo son comensales. Su proliferación en un determinado lugar depende de factores fisiológicos como temperatura, humedad y ciertas sustancias nutrientes e inhibidoras.<sup>12</sup>

#### **1.2.4 Limpieza**

El lavado de las manos se debe realizar toda vez que se presente alguna posibilidad de contaminación o riesgo de infección para sí mismo, como para otros y es una manera efectiva de remover la flora transitoria, en donde se encuentra la mayoría de agentes patógenos infecciosos.<sup>6</sup>

Hay dos métodos de limpieza para las manos, cada uno se debe hacer en situaciones distintas:

- Técnica de higiene de lavado de manos con agua y jabón.
- Técnica de higiene de las manos con gel de alcohol etílico.

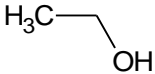
Frotarse las manos con alcohol elimina e impide que crezcan microorganismos transitorios y residentes, pero no elimina la suciedad visible, como tierra, u otras. Se puede emplear este método cuando no es posible ni práctico lavarse las manos.

Las directrices de la OMS 2009 sobre la higiene de manos en la atención sanitaria recomiendan la siguiente técnica para el lavado de manos con agua y jabón. Figura 1.2.



**Figura 1.2.** Técnica de lavado de manos con agua y jabón.<sup>6</sup>

## 1.3 Alcohol

$C_2H_6O$		46.07 g/mol
Fórmula empírica	Fórmula estructural	Peso molecular <sup>11</sup>

### 1.3.1 Descripción

El alcohol es un líquido claro, incoloro, móvil y volátil con un ligero olor característico y sabor a quemado<sup>13</sup>

### 1.3.2 Propiedades

- Punto de ebullición: 78.15° C.
- Punto de inflamación: 14° C (en vaso cerrado).
- Solubilidad: miscible con cloroformo, éter, glicerina, y agua (con aumento de la temperatura y la contracción de volumen).
- Densidad en gramos al 70% 0.888-0.883 g/mL.
- Constante de disociación pKa. 15.9 (25° C).
- Peso específico: 0.18119-0.8139 a 20° C.

Nota: Estas propiedades son típicas para el alcohol (etanol 95% o 96% v/v).<sup>14, 15, 16.</sup>

### 1.3.3 Incompatibilidades

En condiciones ácidas, el etanol reacciona vigorosamente, y puede reaccionar con materiales oxidantes; en mezclas con álcali residual puede oscurecer el color debido a la reacción con cantidades residuales de aldehído, con sales orgánicas se puede precipitar a partir de soluciones acuosas o dispersiones, las soluciones de etanol son también incompatibles con el envase de aluminio y puede que interfiera con algunos medicamentos.<sup>14</sup>

### 1.3.4 Precauciones

- Tóxico si se ingiere.
- Inflamable de acción rápida.
- Fácilmente inflamable, se quema con una llama azul, sin humo, se debe calentar con cuidado, los tanques de almacenamiento fijos deben estar conectado a tierra para evitar la ignición de las descargas electrostáticas cuando se transfiere el etanol.
- Precauciones de manipulación; el etanol puede ser irritante para los ojos y las membranas mucosas, se recomienda protección para los ojos y guantes, la piel se seca.<sup>17</sup>

### 1.3.5 Usos

Se utiliza como disolvente, antimicrobiano, antiséptico, germicida, desinfectante; penetrante de la piel.<sup>14, 18.</sup>

El etanol en solución acuosa en diferentes concentraciones, es ampliamente usado en diversas formulaciones farmacéuticas y en la cosmética, aunque el etanol es usado más como solvente se emplea en soluciones como un antimicrobiano, las soluciones de etanol tópico son empleados como potenciadores de penetración y como desinfectantes. El etanol es también usado en preparaciones transdérmicas en combinación con labrasol como un co-surfactante.<sup>14</sup>

**Cuadro 1.1**  
*Usos de alcohol por concentración (v/v).<sup>14</sup>*

Uso	Concentración % (v/v)
Conservador	Mayor o igual a 10
Desinfectante	60-90
Disolvente en los productos tópicos	60-90

- En concentraciones del 25% se usa para bañar la piel con el propósito de refrescar y reducir la fiebre. En concentraciones altas es un rubefaciente y un componente de muchos alimentos.
- En concentraciones del 50% se emplea para evitar la sudoración en lociones astringentes y anhidroticas, también para limpiar, endurecer la piel y es útil para prevenir las úlceras de decúbito en pacientes postrados en cama.
- En concentración del 60 al 90% es germicida. A una concentración óptima del 70% es un buen antiséptico para la piel (antiinfeccioso local) y también para los instrumentos.<sup>19</sup>
- El etanol del 70% a 90% se usa como un agente para limpiar la piel porque su acción surfactante, remueve aceite disolviendo lípidos, tierra y algunos microorganismos transitorios de la piel, una limitación de su efectividad es su rápida evaporación.
- En soluciones acuosas en el espectro de alcohol entre 70 y 95% desnaturalizan las proteínas y matan con rapidez a las bacterias vegetativas.

El etanol es ocasionalmente usado para desinfectar electrodos, mascarar faciales y termómetros con una rápida limpieza con un trapo empapado en alcohol por 15 o 20 minutos. El alcohol isopropilico también se emplea pero puede presentar toxicidad por lo que debe usarse con cautela en la desinfección o limpieza de la piel por que la inhalación de sus vapores puede causar efectos adversos al sistema nervioso.<sup>18</sup>

### **1.3.6 Actividad como antiséptico y desinfectante**

El alcohol puede ser utilizado como antiséptico en solución o como diluyente, el uso de desinfectantes a base de alcohol en vez de soluciones acuosas aumenta la actividad bactericida y acorta el tiempo de secado. Se usa glicerina para reducir el efecto irritante sobre la piel.<sup>20</sup>

#### **1.3.6.1 Antiséptico**

Un antiséptico es un biocida o producto que destruye o inhibe el crecimiento de microorganismos dentro o en tejidos vivos. Estos compuestos se seleccionan en función de su seguridad y su eficacia. Un agente antiséptico es cualquiera de los agentes químicos usados en el cuidado de la salud.<sup>11</sup>

Características para la elección apropiada de un agente químico microbicida:

- Rápida acción en bajas concentraciones.
- Solubilidad en agua o en alcohol.
- Que presente estabilidad.
- Que no sea tóxico a humanos ni animales.
- Que penetre objetos inanimados y tenga acción persistente.
- Que no sea corrosivo a objetos.
- Que tenga propiedades deodorizantes y sanitizantes.<sup>19</sup>

Un germicida es un agente químico capaz de destruir los microorganismos, las esporas pueden sobrevivir.

Los alcoholes presentan una actividad antiséptica excelente frente a todos los grupos de microorganismos, con excepción de las esporas, y no son tóxicos, sin embargo, tienden a resecar la piel debido a que eliminan los lípidos. Estos compuestos no poseen actividad residual y son inactivados por la materia orgánica, por esto, se debe limpiar la superficie cutánea con anterioridad a la aplicación del alcohol.<sup>5</sup>



### 1.3.6.2 Desinfección

Los microorganismos también pueden ser destruidos mediante procedimientos de desinfección, aunque los más resistentes pueden sobrevivir. Por desgracia los términos desinfección y esterilización a menudo se utilizan indistintamente, lo que genera cierta confusión ello se debe a que los procesos de desinfección se han dividido en varios grados (alto, intermedio y bajo), la desinfección de alto grado por lo general posee una eficacia semejante a la de la esterilización, mientras que las esporas pueden sobrevivir, en una desinfección de grado intermedio; asimismo numerosos microorganismos pueden seguir siendo viables después de una desinfección de bajo grado.

Incluso la clasificación de los desinfectantes por su grado de actividad ocasiona confusiones. La eficacia de estos procedimientos se ve determinada por aspectos como la naturaleza del objeto a desinfectar, el número y grado de resistencia de los microorganismos contaminantes, la cantidad de materia orgánica presente (que puede inactivar el desinfectante), el tipo de desinfectante, la concentración utilizada y la duración, así como, la temperatura de exposición.

Los desinfectantes de alto grado se utilizan para objetos empleados en procedimientos invasivos que no pueden soportar los métodos de esterilización (p. ej., ciertos tipos de endoscopios, los instrumentos quirúrgicos de plástico u otros componentes que no se pueden someter a la acción del autoclave). La desinfección de estos objetos tiene una eficacia máxima cuando el tratamiento se precede de una limpieza de su superficie con el objeto de eliminar la materia orgánica. Son ejemplos de desinfectantes de alto grado el tratamiento con calor húmedo y la utilización de líquidos como el aglutaraldehído, el peróxido de hidrógeno, el ácido paraacético y compuestos clorados.

Desinfectantes de alto grado. Son germicidas que matan todos los patógenos microbianos, con excepción de gran número de esporas bacterianas.

Los desinfectantes de grado medio (p. ej. alcoholes compuestos yodados, compuestos fenólicos) se utilizan para la limpieza de superficies o instrumentos en los que es poco probable la contaminación por esporas bacterianas y microorganismos con un alto grado de resistencia. Son germicidas que erradican todos los patógenos microbianos, con excepción de las endosporas bacterianas.

La desinfección de grado bajo (p. ej., compuestos de amonio cuaternario) se utilizan para tratar instrumentos dispositivos que no revisten gran importancia. Son germicidas que matan la mayoría de bacterias en estado vegetativo y virus de tamaño intermedio o dotado de una envoltura lipídica.

El grado de eficacia de los desinfectantes empleados en las superficies ambientales se encuentra determinado por el riesgo relativo que suponen dichas superficies como reservorio de microorganismos patógenos.

La actividad antimicrobiana de los alcoholes es mayor conforme aumenta la longitud de la cadena (con un máximo de 5-8 átomos de carbono). Los dos alcoholes utilizados más a menudo son el etanol y el isopropanol. Estos alcoholes ejercen una rápida acción bactericida frente a las bacterias en fase vegetativa, las microbacterias, algunos hongos y los virus lipídicos, no obstante, los alcoholes no son activos contra las esporas bacterianas y así mismo, su actividad es débil frente a algunos hongos y virus lipídicos. Por el contrario, la actividad de los alcoholes es mayor en presencia de agua. Por tanto un alcohol al 70% es más activo que un alcohol al 95% las concentraciones más elevadas son menos potentes porque las proteínas no son fácilmente desnaturalizables en ausencia de agua. El alcohol es la excepción a la regla de que altas concentraciones presenten gran actividad antimicrobiana; la causa es que el agua es necesaria para coagular las proteínas y el alcohol presenta una acción antimicrobiana a 70% de concentración (esto es 30% de agua).<sup>5</sup>

#### Desnaturalización de las proteínas

Las proteínas existen plegadas en un estado tridimensional determinado por los enlaces disulfuro covalentes como los hidrófobos, los iónicos y los de hidrógeno, este estado se denomina estructura terciaria de la proteína, la cual se fragmenta con facilidad por diversos agentes físicos o químicos, que provocan que la proteína deje de funcionar. La fragmentación de la estructura terciaria de una proteína se denomina desnaturalización de la proteína.<sup>11</sup>

El mecanismo de acción del alcohol depende en parte de su concentración. Concentraciones de 50% en adelante disuelven membranas lipídicas, rompen la tensión superficial de la célula y comprometen íntegramente la membrana, el alcohol que ha entrado en el protoplasma desnaturaliza las proteínas de coagulación pero únicamente en soluciones de alcohol agua de 50 a 95%.

### **1.3.7 Microorganismos que inhibe**

Ataca la mayoría de las bacterias, virus y hongos. Su nivel de actividad es intermedio.

El alcohol no destruye esporas bacterianas a temperatura ambiente, en cambio puede destruir formas vegetativas incluyendo la bacteria de la tuberculosis y esporas de hongos si se tiene un tiempo de exposición adecuado. El alcohol generalmente es más efectivo en la inactivación de virus con envoltura que de los virus sin envoltura como es el virus de la poliomielitis y la hepatitis tipo A.

**Cuadro 1.2***Propiedades germicidas del alcohol etílico como desinfectante y antiséptico.*<sup>5</sup>

Alcohol etílico	Microorganismos				
	Bacteria	Microbacterias	Esporas bacterianas	Hongos	Virus
Desinfectante	+	+	-	+	±
Antiséptico	+	+	-	+	+

(+) Existente, (-) Nula, (±) Variable.

**Cuadro 1.3***Concentración requerida y los tiempos para la destrucción química de los microorganismos seleccionados.*<sup>18</sup>

Agente (alcohol etílico)	Concentración	Tiempo
<i>Staphylococcus aureus</i>	70%	10 min.
<i>Escherichia coli</i>	70%	2 min.
Poliovirus	70%	10 min.

**Cuadro 1.4***Actividad antimicrobiana.*<sup>10</sup>

Antiséptico	Bacteria Gram +	Bacteria Gram -	Virus envuelto	Virus sin envoltura	Micobacterias	Hongos	Esporas
Alcoholes	+++	+++	+++	++	+++	+++	-

(+++) Buena, (++) Moderada, (-) Nula.

**Cuadro 1.5***Propiedades antisépticas utilizadas en la higiene de las manos.*<sup>10</sup>

Antiséptico	concentración	Velocidad de acción	Actividad residual
Alcoholes	60-70%	Rápido	No

## **1.4 Gel como forma farmacéutica**

### **1.4.1 Definición**

Preparación semisólida que contiene él o los fármacos y aditivos, constituido por lo general por macromoléculas dispersas en un líquido que puede ser agua, alcohol o aceite, que forman una red que atrapa líquido y que le restringe su movimiento, por lo tanto son preparaciones viscosas.<sup>13</sup>

Los geles (a veces, denominados jaleas) son sistemas semisólidos compuestos de suspensiones de partículas inorgánicas pequeñas o de moléculas orgánicas grandes penetradas por un líquido.<sup>21</sup>

### **1.4.2 Composición**

La masa de gel consiste en una red de partículas pequeñas, el gel se clasifica como un sistema de dos fases (por ejemplo gel de hidróxido de aluminio). En los sistemas de dos fases si el tamaño de la partícula de la fase dispersa es relativamente grande la masa de gel a veces se denomina magma (por ejemplo magma de bentonita). Tanto los geles como los magmas suelen ser tixotrópicos, formando semisólidos en reposo y convirtiéndose en líquidos al agitarlos. Para garantizar la homogeneidad, deben agitarse antes de su uso y así debe indicarse en la etiqueta. Los geles de una sola fase constan de macromoléculas orgánicas distribuidas uniformemente en todo el líquido de tal manera que no existe ningún límite evidente entre las moléculas dispersas y el líquido los geles de una sola fase pueden prepararse con macromoléculas sintéticas (carbomero) o con gomas naturales (por ejemplo tragacanto). A estos últimos también se los conoce como mucílago. Aunque estos geles por lo común son acuosos se pueden emplear alcoholes y aceites como fase continua por ejemplo se pueden combinar un aceite natural con resina de polietileno, para obtener una base oleosa para ungüentos. Los geles se pueden emplear para administrar fármacos en forma tópica o en cavidades del cuerpo (por ejemplo gel nasal de clorhidrato de fenilefrina).

### **1.4.3 Clasificación**

Los geles consisten en líquidos gelificados mediante agentes gelificantes adecuados e indica que existen dos clases a saber:

Geles hidrófobos. Las bases de los geles hidrófobos (oleogeles) por lo general consisten en parafina líquida con polietileno o aceites grasos gelificados con silica coloidal o jabones de aluminio o zinc.

Geles hidrófilos. Las bases de los geles hidrófilos (hidrogeles) por lo general consisten en agua, glicerol o propilenglicol gelificados con agentes gelificantes como tragacanto, almidón, derivados de la celulosa, polímeros de carboxivinilo y silicatos de magnesio y aluminio.

#### **1.4.3.1 Geles bifásicos**

En presencia de concentraciones apropiadas de soluto y solvente se forman geles bifásicos, como la bentonita debido a la atracción entre los bordes cargados positivamente y las caras cargadas negativamente lo que determina la formación de una red tridimensional penetrada por la fase líquida.

Las propiedades físicas y químicas del gel serán afectadas por el orden de adición de los reactivos, el pH de precipitación, la temperatura de precipitación, la concentración de los reactivos, los reactivos utilizados y las condiciones de envejecimiento del gel precipitado.

#### **1.4.3.2 Geles monofásicos**

En el caso de un sistema monofásico los geles se forman como resultado de fuerzas de valencia secundarias entre las moléculas de polímeros multifuncionales o cuando ocurren uniones cruzadas de moléculas de polímeros disueltos mediante uniones con valencias primarias. Estos geles permanentes se utilizan como matrices para preparaciones de liberación prolongada utilizándose con mayor frecuencia en farmacia y en cosméticos por varias propiedades importantes como su estado semisólido, su elevado grado de claridad, facilidad de aplicación, remisión y uso. Los geles a menudo proveen una liberación más rápida del principio activo independientemente de la hidrosolubilidad de este en comparación con algunas cremas o pomadas.

Los geles pueden usarse como lubricantes para catéteres, bases para pruebas con parches cutáneos o geles de cloruro de sodio para electrocardiografía.<sup>18</sup>

#### **1.4.4 Elaboración**

Los geles pueden prepararse con una cantidad de agentes farmacéuticos como tragacanto al 2-5%, alginato de sodio al 2-10%, gelatina al 2-15%, metilcelulosa 450 al 3-5%, carboximetilcelulosa sódica al 2-5% carbomero al 0.3-5% o alcoholes polivinílicos al 10-20%. Otros agentes gelificantes son la metil hidroxietilcelulosa, el polioxietileno-polioxipropileno, la hidroximetilcelulosa y la gelatina. Se están investigando geles preparados con materiales no polares, como el hidrocarburo de jabón magnésico y los hidrocarburos los porcentajes mencionados antes indican los rangos de concentración del agente gelificante.

Para preparar geles uniformes es necesario dispersar el agente gelificante de tal manera que no forme conglomerados con el agregado de agua. Algunas técnicas consisten en agregar una pequeña cantidad de agente dispersante como alcohol o glicerina y triturar, otra técnica consiste en rociar el agente gelificante en un agitador de agua revuelta.

Si existen otros polvos en la preparación el agente gelificante puede triturarse en primer término con estos polvos para luego agregar el agua. También puede agitarse el material en un frasco, mezclando en un mortero con pilón o usar un agitador mecánico, la información específica acerca de los agentes gelificantes es útil para la preparación de geles. Deben

incorporarse conservadores a los geles en especial los preparados a partir de fuentes naturales, los conservadores apropiados, según el uso y el agente gelificante, incluyen los parabenos en un 0.2%, el ácido benzoico al 0.2% (si el producto es ácido) y el clorocresol al 0.1%.

Los geles pueden contraerse durante el reposo y expulsar una parte del solvente. Este proceso se conoce con el nombre de sinéresis y representa un problema en lo que respecta a la estabilidad de los geles a largo plazo el agregado de una cantidad relativamente importante de sales puede provocar el salting-out de los polímeros sobre todo los de tipo iónico. El aumento de la temperatura puede provocar la fusión de los geles rígidos una excepción a este fenómeno es la gelificación de la metilcelulosa, la cual gelifica cuando la temperatura supera los 50° C, este fenómeno se denomina gelificación térmica. Para minimizar la pérdida de agua de los geles monofásicos se agregan humectantes, como el propilenglicol, la glicerina o el sorbitol.<sup>18</sup>

#### **1.4.5 Evaluación**

La preocupación por la integridad física y química de los semisólidos no es diferente al de otras formas de dosificación. Sin embargo, hay algunas consideraciones únicas relacionadas con los sistemas semisólidos. Una breve lista de algunos de los factores químicos, físicos y biológicos a evaluar para las formas farmacéuticas semisólidas son los siguientes:<sup>22</sup>

- Estabilidad del principio activo (s)
- La estabilidad de los adyuvantes
- Apariencia visual
- Color
- Olor (desarrollo de olor acre y pérdidas de perfume)
- Viscosidad, extrusión
- La pérdida de agua y otros componentes del vehículo volátil
- Fase de distribución de fases dispersas
- pH
- Textura, sensación, previa solicitud (rigidez, untuosidad, adherencia)
- Partículas de contaminación
- La contaminación microbiana / esterilidad (en el embalaje original y en condiciones de uso)
- Liberación / biodisponibilidad

Todos los factores deben ser aceptables inicialmente (dentro de las especificaciones prescritas) y todos deben permanecer así durante toda la vida del producto (vida útil).

La integridad química del principio activo, los conservantes y otros posibles adyuvantes orgánicos puros deben ser evaluados en función del tiempo para establecer la vida útil en productos químicos. Existen dos problemas especiales relacionados con los sistemas semisólidos. En primer lugar, estos sistemas son químicamente complejos y con frecuencia

es difícil separar el principio activo y adyuvante de los componentes del vehículo. Muchos de los componentes del vehículo interfieren en las pruebas estándar, y una etapa de separación compleja suele ser un requisito previo a la evaluación analítica. Algunos indicadores cualitativos de la degradación química son el desarrollo de color (o un cambio de color) y el desarrollo de un olor desagradable. A menudo, los productos de color amarillo o marrón con la edad, lo que indica cambios oxidativos en los componentes de la base. Decoloraciones de este tipo se encuentran en lanolinas y otras grasas y aceites naturales se utilizan. Amplia la oxidación de materiales naturales grasos (enranciamiento) está acompañada por el desarrollo de un olor desagradable y la fase posible y cambios de la textura del producto. Se debe tener en cuenta cualquier apariencia inusual de los productos tópicos que dispensan y retirar de la circulación cualquier producto que cambia de color y olor. Los cambios en el pH de un producto pueden indicar descomposiciones químicas de carácter hidrolítica y si se detectan, son razones para devolver un producto.<sup>22</sup>

El comportamiento reológico en función del tiempo de una formulación es también un buen indicador de los cambios físicos y químicos. Aquí las medidas subjetivas como la extensibilidad sobre el uso no son confiables, y una medida geológica más cuantitativa es necesaria. Hay una serie de herramientas analíticas que evalúan tal efecto. Viscosímetros, la placa y el cono se pueden utilizar, como pueden también los reómetros de extrusión, que sacan al semisólido a una presión constante a través de un orificio estrecho. En este último caso la cantidad extruida en un tiempo fijo se relaciona con la viscosidad, también se puede utilizar un penetrómetro, que miden la viscosidad a través de la tasa de penetración de un cono ponderado en la formulación. La detección de cambios en la viscosidad utilizando cualquiera de estos dispositivos de medición indica cambios en la estructura de los semisólidos. Los cambios observados en la viscosidad tienen que ser sustanciales antes de que un sistema se descarte como físicamente inestables. Es importante controlar la temperatura durante la evaluación de la viscosidad de semisólidos, debido a que la reología de semisólidos es extremadamente sensible a la temperatura.

Los cambios de fase en una formulación son un problema serio, y siempre que dichos cambios se encuentran en el producto, debe ser considerado como inestable e inutilizable. Estos aparecen como la separación de fases o como un cambio en las características físicas de una fase de sólidos en suspensión. La separación de fases puede ser el resultado de la rotura de la emulsión, una inestabilidad aguda. Más a menudo aparece como la formación de gotitas de líquido limpio de fase interna en el continuo de la emulsión semisólida. El problema es el resultado de la reordenación de los elementos estructurales del sistema. El almacenamiento a temperatura elevada puede producir o acelerar el problema. Desde que el semisólido no pueda ser reconstituido a una distribución homogénea por agitación, las formulaciones que visiblemente exhiben tales características deben ser consideradas deterioradas. Del mismo modo, los cambios en el tamaño de partícula o la naturaleza de partículas de una fase de suspensión deben ser vistos como alteraciones físicas muy graves. Son la consecuencia del crecimiento de cristales, los cambios en el hábito cristalino, o la reversión de los materiales cristalinos con una forma polimórfica más estable. Cualquier alteración cristalina puede dar lugar a una marcada reducción en las capacidades de administración de fármacos y la utilidad terapéutica de una formulación.

Otro cambio frecuente es la pérdida por evaporación de agua o de otras fases volátiles durante el almacenamiento a largo plazo ya sea por una elección inadecuada del empaque (algunos materiales plásticos), que permite la pérdida difusa de las moléculas de bajo peso molecular a través de las paredes del recipiente, o por un inadecuado sellado de los cierres de los contenedores, permitiendo fugas difusiva alrededor de las costuras de los tubos o las tapas de los tubos y frascos. Este proceso hace que una formulación pueda endurecer o hinchar, cambiando notablemente la pérdida de peso. A veces todo el sistema se reducirá y se separará de la pared del recipiente, este tipo de fenómeno se ve con cremas y geles y se agrava cuando los productos se almacenan en lugares cálidos y secos.

Cambios bruscos de fase se detectan con una inspección cercana. Esto se logra fácilmente cuando la formulación se envasa en un frasco. Si un producto envasado en un tubo es sospechoso, su contenido puede ser examinado de cerca por el corte de una de las paredes del tubo desde el fondo hasta el cuello con unas tijeras y con cuidado haciendo palanca abrir el contenedor por la corte esto expondrá superficie suficiente para revelar los cambios texturales tales como granos, la formación de pequeñas gotas de agua, y otras irregularidades de fase esto, por supuesto, destruye el paquete en particular que se abre normalmente se requiere el examen microscópico para revelar cambios en el tamaño cristalino, la forma o la distribución la pérdida de peso de un producto es un claro indicio de la pérdida de los disolventes de vehículos, si algunos de los cambios más evidentes se observan por el farmacéutico en el curso de manipulación de los productos, los productos deben ser retirados de la circulación y el fabricante informa del problema, se determinará si la retirada del producto está garantizada.<sup>22</sup>



## 1.5 Microorganismos de prueba para la evaluación de actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana es la propiedad que tiene una sustancia de inhibir o matar a los microorganismos. Para su determinación, se estableció un método que se basa en determinar el porcentaje de reducción de un número determinado de microorganismos, cuando se ponen en contacto con un germicida, bajo condiciones de prueba específicas.

Los microorganismos de prueba que se utilizan son *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

### 1.5.1 *Escherichia coli*

A menudo se considera que las enterobacterias aprovechan su abundante presencia en el ambiente y la flora normal para producir enfermedades en cuanto logran acceso a los sitios del cuerpo estériles en condiciones normales.<sup>23</sup>

Las enterobacterias son escasas en las vías respiratorias de los individuos sanos; sin embargo, su población puede aumentar en pacientes hospitalizados que sufren enfermedades debilitantes crónicas. *Escherichia coli* es la especie de las enterobacterias que frecuentemente se encuentra en la flora autóctona con más frecuencia produce más de 90% de los más de siete millones de casos de cistitis y 2500 000 de pielonefritis que se estima ocurre en individuos por lo demás sanos cada año en Estados Unidos.<sup>23</sup>

Es una bacteria que figura como especie predominante entre la flora anaeróbica facultativa del intestino del hombre y animales, donde juega un rol importante en su fisiología. Originalmente fue descrita y nombrada por el bacteriólogo alemán Theodore Escherich, en 1885, en heces de un niño sano al cual denominó *Bacterium coli commune*, en 1895 cambió por *Escherichia coli*.

Sin embargo, dentro de la especie se encuentran cepas patógenas que causan distintos síndromes diarreicos en la que el intestino no trabaja en forma normal, absorbe menos agua y sales hacia la sangre, elimina más agua y sales desde la sangre hacia el intestino, es por esto que se pierden en las heces más agua y sales de lo normal. Esta mayor pérdida de agua y sales del cuerpo resulta, en deshidratación, la cual también puede estar causada por vómitos, que con frecuencia acompañan a la diarrea y sucede más rápidamente en infantes (menores de un año) y niños pequeños, en climas calientes y cuando hay fiebre. Se les ha clasificado en cinco categorías, de acuerdo a sus propiedades de virulencia, interacción con la mucosa intestinal, cuadro clínico, epidemiología y serotipos O y H:

- *E. coli* entero toxigénica (ECET)
- *E. coli* entero patogénica (ECEP)
- *E. coli* entero hemorrágica (ECEH)
- *E. coli* entero invasiva (ECEI)
- *E. coli* entero agregativa (ECEA)<sup>27</sup>

Es la bacteria más encontrada en las materias fecales del hombre y especies animales. Se establece en el intestino delgado y grueso, forma parte de la biota intestinal y se encuentra en calidad de saprobio sin causar daño, producen sustancias que son útiles al hospedero, como son las colicinas, que tienen efectos inhibitorios sobre otras cepas potencialmente patógenas por lo que la colonización del intestino es benéfica para el hospedero.<sup>24</sup>

*Escherichia coli* es la especie que más predomina de la flora anaeróbica facultativa del colon humano. Las infecciones producidas por cepas de *E.coli* patógenas pueden estar limitadas a mucosas o bien diseminarse provocando cuatro síndromes clínicos: infección de vías urinarias, sepsis, meningitis y enfermedad diarreica.<sup>24</sup>

Es un bacilo Gram negativo, pequeños, oblongos, finos; con dimensiones de 0.5 X 1.0 a 3.0 micras y se mueve por medio de flagelos peritricos, con una sola cadena espiral de ADN, móvil, aerobio y anaerobio facultativo, además posee apéndices filamentosos de naturaleza proteica frecuentemente portadoras de adhesinas, que presentan la propiedad de combinarse con receptores de naturaleza polisacárida localizados en la superficie de las células epiteliales llamados pilis o fimbrias, muchas cepas producen una pequeña microcapsula, muy pocas elaboran macrocapsulas y no fabrican esporas; en las pruebas bioquímicas es positiva al indol, decarboxilasa de lisina, fermentación de manitol y gas a partir de la glucosa; además es lactosa positiva en el 90% de las cepas con citrato negativo. Tiene información genética en los plásmidos, que son responsables por la producción de toxinas y la resistencia a los antimicrobianos. El genoma de *Escherichia coli* contiene un total de 5000 genes.<sup>24</sup>

Al colonizar tejidos extraintestinales, *Escherichia coli* produce procesos inflamatorios piógenos similares a otras bacterias y, en ocasiones, de mayor intensidad por los factores propios de esta bacterias. Es la bacteria que produce más infecciones en los hospitales. Puede infectar las vías respiratorias y las meninges, como consecuencia de una invasión a circulación sanguínea. Las septicemias por *E.coli* son muy preocupantes por la gravedad de su pronóstico. Se pueden instalar en el hígado, vías respiratorias u otros órganos cuando hay una perforación intestinal, siendo responsable de la peritonitis consecutiva a dicha lesión. Las infecciones urinarias son producidas por *E. coli* en más del 70% de los casos, según algunas estadísticas, y puede ser el agente etiológico de la enteritis y la enterocolitis (diarreas del turista).<sup>24</sup>

Es poco exigente en sus necesidades nutritivas y relativamente resistentes a los agentes externos, algunas cepas pueden tener cápsulas y dar colonias mucoides, la mayoría son fermentadoras de lactosa y de la glucosa, con producción de ácido y desprendimiento de gas, es anaerobio facultativo crece a temperatura desde 2.5-45° C y puede sobrevivir a temperaturas de refrigeración y congelación. El pH óptimo para su crecimiento es de 7.0; crece en medios de cultivos simples y sintéticos, donde se puede utilizar glicerol o glucosa como única fuente de carbono y energía.<sup>28</sup>

En medios sólidos las colonias son circulares y lisas, con bordes bien definidos y en algunos medios diferenciales como EMB presentan brillo metálico característico, ciertas cepas al crecer en un medio de gelosa sangre producen  $\alpha$  o  $\beta$  hemólisis. En medio líquido

las cepas lisas producen una turbidez uniforme, mientras que las cepas rugosas se asientan en el fondo formando un depósito granular.

### *Escherichia coli* O111

Es una ECTS que provoca fuertes calambres abdominales (a veces confundidos con apendicitis), diarrea sanguinolenta. *E. coli* O111 fue el segundo microorganismo más aislado (después de *E. coli* O26) de muestras presentadas a los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) durante 1983–1998. Con un estimado de 110.000 enfermedades al año en los Estados Unidos, de los cuales 30% pueden atribuirse a los serotipos O111.<sup>29</sup>

La CDC dice que *E. coli* O111 puede ser mortal y está ganando la atención de la salud pública. De 1990 a 2007, O111 estaba vinculada a los brotes en EE.UU, de diez muestras, cuatro estaban relacionados a la alimentación, el brote más grande ocurrió en Nueva York en 2004, cuando la sidra de manzana sin pasteurizar enfermó a 212 personas.<sup>29</sup>

La *Escherichia coli* O111 se ha aislado de heces fecales de terneros y ganado adulto, y es semejante a otros *E.coli*, enterobacterias o *Salmonella* ya que ninguno de estos organismos crece a una temperatura menor de 7° C. Su crecimiento puede ser detenido si se cultiva a un pH por debajo de 3.8 y por arriba de 9.5 y a una concentración de sal del 5-8%, son sensibles al calor y su conducta contaminante es muy similar, aunque no idéntica. Sin embargo, existe evidencia de que sobrevive más que otros en alimentos ácidos.<sup>29</sup>

Varias cepas de *E. coli* pueden estar presentes en el organismo sin provocar efectos perjudiciales, sin embargo *E. coli* O111 produce la toxina de Shiga (STX) causando estragos en el sistema digestivo y los riñones; la atención médica inmediata, es fundamental, así como mantener al paciente hidratado y tratar de aliviar el intenso dolor que acompaña a la enfermedad, *E. coli* O111 causa daño al humano al instalarse en el intestino, una vez ahí produce la toxina.<sup>29</sup>

Modo de transmisión:

- Zoonosis (de animales infectados como son: vacas y borregos al humano).
- Por ingestión de alimentos o bebidas contaminados (carne cruda o mal cocida; leche bronca o agua)
- De persona a persona (por vía oral-fecal) debido a los manipuladores de alimentos.<sup>28</sup>

### 1.5.2 *Staphylococcus aureus*

Los miembros del género *Staphylococcus* son cocos Gram positivos que tienden a agruparse en estructuras como racimos de uvas. En todo el mundo *Staphylococcus aureus* es una de las causas más frecuentes y virulentas de infecciones purulentas agudas.<sup>23</sup>

Reconocidos por primera vez por Koch en 1878, descritos y cultivados por Pasteur en 1880, son bacterias en forma de grano que se agrupan en racimos, de lo cual deriva su nombre, aunque tienden a formar racimos también se encuentran aislados, en parejas y en cadenas cortas; la estructura de su pared celular Gram positiva es típica, carecen de flagelos, no tienen movilidad y no forman esporas. La pared celular de *Staphylococcus aureus* está constituida por n-peptidoglucano, intercalado con moléculas de un ácido ribitol-teicoico, no forman esporas, pilis ni flagelos; algunas cepas pueden formar cápsulas en condiciones especiales y son aerobios y anaerobios. El género *Staphylococcus* comprende actualmente 32 especies y 15 subespecies; las especies de importancia son: *S. aureus*, *S. epidermis*, y *S. saprophyticus*. Desde el punto de vista de la medicina, *Staphylococcus aureus* es la bacteria más importante de este género que a diferencia de las otras especies, produce coagulasa (que hace que la fibrina se aglomere y forme un coágulo). Las otras especies son coagulasa negativas, la coagulasa es una proteína capaz de coagular al plasma citratado u oxalatado, con factores presentes en el suero. Es el agente etiológico de un gran número de infecciones en el hombre. Pueden producir procesos inflamatorios supurativos en casi cualquier tejido, los cuales son desde muy leves, hasta de elevada gravedad y muerte. Además son fabricantes de toxinas que provocan cuadros clínicos de muy diversas manifestaciones. Otro aspecto muy importante es que con gran facilidad puede desarrollar resistencia a gran variedad de antimicrobianos, lo que significa que la colonización en el hombre es un gran peligro. Sobre todo en enfermos hospitalizados e infectados por cepas hospitalarias, altamente resistentes, *S. aureus* puede colonizar la mucosa de las fosas nasales y faringe, y dar origen a un portador asintomático.<sup>23, 24</sup>

# **CAPÍTULO II**

## **MÉTODO**

## 2.1 Planteamiento del problema

Aunque el alcohol en gel ya ha sido empleado como agente antiséptico en sitios relacionados con la salud; en fechas recientes ha tenido una demanda general muy amplia debido especialmente a la propagación de la influenza AH1N1, que se padece desde abril de 2009, sin embargo no se ha evaluado que tan eficaces son los productos que se comercializan en la zona metropolitana.

La marca, presentación y el precio son factores que influyen en la elección de compra de estos productos, sin embargo, no se ha hecho una inclusión a su actividad antimicrobiana.

El propósito de este estudio es evaluar y comparar la actividad antimicrobiana de seis marcas de gel de alcohol etílico que se comercializan en la zona metropolitana con uno de referencia que es elaborado y utilizado de rutina por el Instituto Nacional de Pediatría, a fin de obtener evidencia experimental que avale la actividad antimicrobiana del producto conforme a lo dictado por la norma de SCFI NMX-BB-040-SCFI-1999.

Al demostrar que estos geles comercializados en el mercado nacional son iguales o mejores al de referencia que es elaborado y utilizado de rutina por el INP y sabiendo que en su mayoría suponemos han pasado exámenes de calidad, implica que el gel que es utilizado de rutina dentro del INP puede competir con los de venta comercial y no hay necesidad de adquirir ningún gel en el exterior debido a que el del IPN cumple con los requisitos de los demás e inclusive puede ser mejor. Es por esta razón que aún cuando se tomo este gel como referencia también se le practicaron las pruebas, y se le han evaluado tanto sus parámetros físicos como microbiológicos, cumpliendo con ambos satisfactoriamente, específicamente con su actividad antimicrobiana la cual ya ha sido evaluada por el propio INP.

Se espera una disminución del 99.999% o eliminación total de los microorganismos de prueba *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, especificados en la norma SCFI NMX-BB-040-SCFI-1999 por ser las bacterias más comúnmente encontradas en las manos, y así comprobar que estos geles son confiables para la población que los emplea como parte de su cultura de higiene.

## **2.2 Objetivos**

### **2.2.1 Objetivo general**

Evaluar la actividad antimicrobiana de seis marcas de gel de alcohol etílico obtenidas del mercado nacional de la zona metropolitana, y compararlas con uno de referencia elaborado y utilizado de rutina por el Instituto Nacional de Pediatría.

### **2.2.2 Objetivos particulares**

1. Evaluar la actividad antimicrobiana del alcohol en gel de seis marcas por un método microbiológico de acuerdo a la norma NMX-BB-040-SCFI-1999. métodos generales de análisis-determinación de la actividad antimicrobiana en productos germicidas.
2. Determinar el porcentaje de reducción, en la cuenta viable inicial y comparar la actividad antimicrobiana de los geles de alcohol etílico obtenidos del mercado nacional de la zona metropolitana con el de referencia del Instituto Nacional de Pediatría.
3. Evaluar parámetros físicos de cada uno de los geles utilizados en el estudio y realizar una comparación con respecto al elaborado y utilizado por el Instituto Nacional de Pediatría.

## **2.3 Hipótesis**

Los geles de alcohol etílico seleccionados del mercado nacional de la zona metropolitana, que indiquen en su marbete una concentración igual ó mayor al 70% tendrán la misma o mejor efectividad en la reducción del 99.99% en la cuenta viable de microorganismos en 30 segundos de contacto, que el de referencia y utilizado de rutina por el Instituto Nacional de Pediatría.

## **2.4 Tipo de estudio**

- El presente trabajo es de tipo experimental.
- El diseño es completamente al azar.

## **2.5 Población de estudio**

Seis marcas de gel de alcohol etílico de venta en la zona metropolitana (Blumen, Dalux, Dogo, Equate, Farmacom y Libe Body) y uno elaborado en el Instituto Nacional de Pediatría.

## **2.6 Criterios de inclusión**

- Geles que estén elaborados con alcohol etílico.
- Geles de alcohol etílico que se vendan en la zona metropolitana que indiquen en su marbete un contenido de alcohol etílico igual o mayor del 70%.
- Sean transparentes.
- No contengan partículas coloridas, brillantina o Microesferas.

## **2.7 Criterios de exclusión**

- Geles de alcohol que contengan otro tipo de alcohol diferente al etílico.
- Geles que no se vendan en la zona metropolitana.
- Geles de aspecto opaco.
- Geles que contengan partículas coloridas, brillantina o microesferas.
- Geles que contengan color.

## **2.8 Variables**

### **Independientes**

- Tipo de recipiente en que se encuentre el gel de alcohol etílico.
- El lugar donde se ha fabricado.
- Lugares de su venta y distribución.

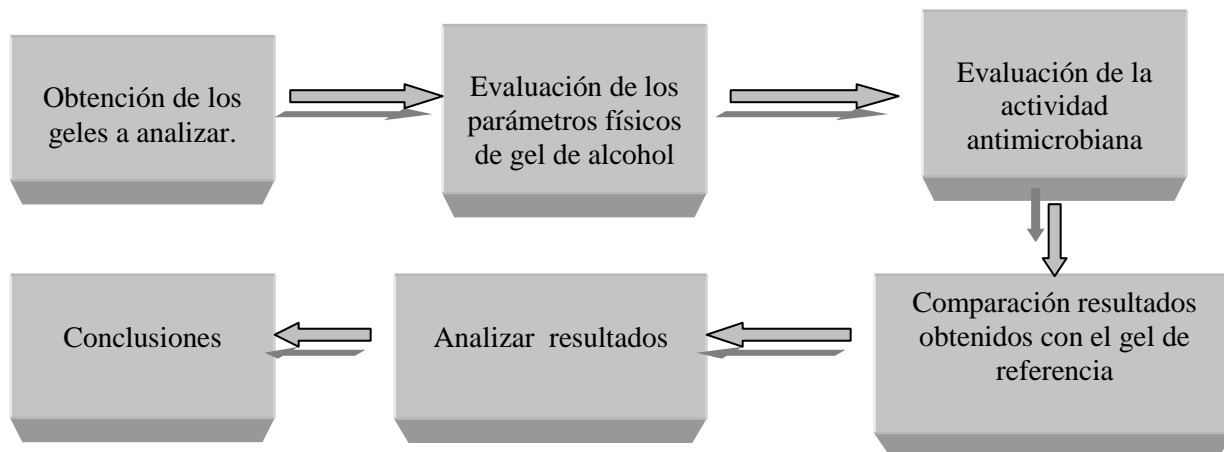
### **Dependientes**

- Aspecto.
- Concentración del alcohol presente.
- Que se vendan y distribuyan en la zona metropolitana.



## 2.9 Desarrollo

### 2.9.1 Diagrama de flujo



### 2.9.2 Materiales y reactivos

**Cuadro 2.1**

*Material y reactivos utilizados para el análisis de calidad del gel de alcohol etílico.*

Material	Reactivos
- Potenciómetro– Coleparmer	- EDTA –JT Baker
- Balanza analítica – Ohaus Explorer plus	- Carbopol
- Placa de agitación – Barnstead	
- Termómetro Brannan (-10 a 250° C)	
- Picnómetro para semisólidos – Simax de 25 mL	
- Probeta 100 mL –Pyrex	
- Vasos de precipitados 100 mL– Pyrex	
- Matraz volumétrico 250 mL – Pyrex	
- Pipeta graduada 10 mL – Pyrex	
- Agitador magnético	
- Agitador de vidrio– Pyrex	
- Matraz erlenmeyer 250 mL – Pyrex	
- Pinzas de doble presión	
- Soporte universal	
- Tubo de vidrio de 3.5 mm de diámetro y 30 cm de altura	
- Varilla de vidrio de 3 mm de diámetro y 20 cm de altura, con un peso de $3.1 \pm 0.25$ g.	

*(Continuación del cuadro 2.1)*

- Un juego de placas de vidrio de 20 X 20 cm con un espesor de 3 mm y un peso de  $157 \pm 2$  g una de las placas debe estar graduada con circunferencias concéntricas espaciadas cada 0.5 cm.
- Pesa de 500 g
- Ultra sonik – Neyo
- Espectrofotómetro (20+ )  
ThermoScientific

**Cuadro 2.2**

*Material y reactivos utilizados en la prueba de actividad antimicrobiana.*

Material	Medios y Reactivos
- Espectrofotómetro (20+ ) –ThermoScientific	- Peptona de gelatina–Bioxon
- Autoclave–Steele	- Extracto de carne–Becton Dickinson
- Incubadora–ShellLab	- Agar bacteriológico–Dibico
- Microscopio–Primostar Microscopia Zeiss	- Cloruro de sodio–Baker analysed
- Balanza analítica – Ohaus Explorer plus	- Peptona de caseína –Becton Dickinson
- Vortex–Scientific Industries Ing SA	- Dextrosa–Merck
- Pipeta automática 100 $\mu$ L– Labnet	- Extracto de levadura–Becton Dickinson
- Pipeta automática 100–1000 $\mu$ L	- Fosfato monobásico de potasio- Baker analyzed
- Pipeta automática–Power pette	- Lecitina de soya
- Biohit	- Polisorbato 80
- Cajas de petri– Pyrex	- Agua destilada–Theissier
- Matraz erlenmeyer 250 mL – Pyrex	- Hidróxido de sodio –Merck
- Tubos de ensayo con rosca de 20mm X 150mm – Pyrex	- Ácido clorhídrico–EM Science
- Vasos de precipitados 50 mL – Pyrex	- Cloruro de bario–Baker analyzed
- Pipetas graduadas 10mL – Pyrex	- Ácido sulfúrico concentrado-Grado reactivo Reasol
- Tripie–AES A	- Benzaldehido–Baker
- Mechero fischer– AESA	- Aceite de inmersión–CTR Scientific
- Termómetro (-10 a 250° C)–Brannan	

### 2.9.3 Gel de referencia de alcohol etílico

El gel empleado como referencia es elaborado y utilizado diariamente por el Instituto Nacional de Pediatría en donde ha sido sometido a evaluación cumpliendo con las siguientes características entre la que destaca principalmente la actividad antimicrobiana del 100% cuadro 2.3.

**Cuadro 2.3**

*Características del gel de alcohol de referencia elaborado y utilizado por el INP*

Parámetro evaluado	Características del gel de referencia
Apariencia (Transparencia)	Gel transparente libre de partículas extrañas. El porcentaje de transmitancia se encuentra en 100%
Dispersabilidad	Promedio 4.833 cm $\pm$ 0.133 cm
Penetrabilidad	Gel muy rígido Promedio 1.667 cm $\pm$ 0.301 cm, tipo de producto gel muy rígido.
Densidad relativa	1.712 g/mL
Actividad antimicrobiana (porcentaje de reducción)	100% para <i>Staphylococcus aureus</i> 100% para <i>Escherichia coli</i> <i>Actividad antimicrobiana de 100%</i>

### 2.9.4 Elección de los geles de alcohol etílico a evaluar

Se realizó un estudio de mercado de los productos comerciales que se venden en la zona metropolitana, y que cumplen con los criterios de inclusión.

### 2.9.5 Determinación de la actividad antimicrobiana

Para la determinación de la actividad antimicrobiana, se estableció un método, basado en la determinación del porcentaje de reducción de un número determinado de microorganismos, cuando se ponen en contacto con un germicida, bajo condiciones de prueba específicas.

Un producto etiquetado como germicida, debe tener 99,999% de reducción en la cuenta viable en 30 segundos de contacto cuando la cuenta viable inicial se encuentra entre 75 y 125 X 10<sup>8</sup> UFC/mL.

#### Microorganismos de prueba

<i>Staphylococcus aureus</i>	A T C C	6 538
<i>Escherichia coli</i>	A T C C	O111

### Selección de la muestra

Para el análisis de laboratorio y retención de muestra, seleccionar al azar una muestra representativa del producto a analizar.

#### **2.9.5.1 Preparación y acondicionamiento de la muestra**

##### Conservación de los microorganismos de prueba:

Conservar las cepas de microorganismos resembrándolos cada semana en tubos de 16 mm X 125 mm con 7 mL de agar nutritivo inclinado, incubar de 20 a 24 hs a una temperatura de 35° C a 37° C y mantenerlos en refrigeración.

##### Preparación de la suspensión de los microorganismos de prueba:

1. Antes de realizar la prueba, efectuar dos resiembras de cada uno de los microorganismos de prueba e incubar de 20 a 24 hs a temperatura de 35° C a 37° C.
2. A partir de estos cultivos, efectuar cuatro resiembras de los microorganismos de prueba, en tubos de 22 X 175 mm que contengan cada uno 10 mL de agar nutritivo inclinado e incubar de 20 a 24 hs a una temperatura de 35° C a 37° C.
3. Remover el crecimiento del primer tubo con 5 mL de solución salina, con esta misma suspensión remover el crecimiento del segundo tubo , y así consecutivamente hasta llegar al cuarto tubo, transferir el sobrenadante a un tubo de ensayo estéril y continuar diluyendo con solución salina, si es necesario, hasta obtener una suspensión con la misma opacidad del tubo 8 de la escala de Mc Farland (ver anexo II), leer la suspensión a una longitud de onda de 580 nm, esta debe dar una lectura entre 3% y 5% de transmitancia. De no ser así diluir con solución salina.

#### **2.9.5.2 Determinación de la cuenta viable inicial**

1. A un tubo de ensayo que contenga 9.9 mL de la solución amortiguadora de fosfatos diluida estéril, transferir 0.1 mL de la suspensión de los microorganismos de prueba y efectuar once diluciones más, hasta llegar a la dilución decimal  $10^{-24}$ . El numero de diluciones puede variar dependiendo del microorganismo.
2. Colocar en cuatro tubos de ensayo de 22 X 175 mm, 15 mL de agar para métodos estándar a una temperatura de 45° C, agregar a cada tubo 1 mL de cada dilución, homogeneizar en un vórtex, vaciar a las placas y dejar solidificar invertir las cajas de petri e incubar durante 48 hs a 303 K - 308 K (35° C–37° C). Contar las colonias contenidas en cada una de las cajas, en un cuenta colonias y registrar el número de colonias formadas, y elegir aquella dilución en la cual el número de colonias se encuentre entre 25 y 250, para la determinación de células sobrevivientes.

### **2.9.5.3 Determinación de las células sobrevivientes**

#### **Inoculación de la muestra**

1. Para cada uno de los microorganismos de prueba, medir por duplicado 19.8 mL del gel de alcohol etílico, transferir a vasos de precipitado de 50 mL estériles.
2. Inocular en forma individual cada vaso con 0.2 mL de la suspensión de cada uno de los microorganismos de prueba, (de la dilución decimal elegida previamente en la determinación de cuenta viable inicial) en el centro de la superficie del gel, evitando tocar con la pipeta, las paredes del vaso.
3. Agitar la muestra de gel con la muestra inoculada, con una varilla de vidrio estéril, exactamente 30 segundos después de la inoculación, transferir 1 mL de la misma, a un tubo de ensayo conteniendo 9 mL de la solución neutralizante diluida, homogenizar con un vortex y transferir por duplicado alícuotas de 1 mL a tubos de ensayo que contengan 15 mL de agar para métodos estándar a 45 ° C , homogenizar con vortex y vaciar a cajas de petri estériles permitir que solidifique, invertir las placas e incubar durante 48 hs entre 303 K a 308 K (35° C–37° C). Después del período de incubación, contar el número de UFC en las placas.

### **2.9.6 Evaluación del gel de alcohol etílico**

#### **2.9.6.1 Transparencia** <sup>30</sup>

El aspecto de los geles evaluados debe estar libre de partículas extrañas, debe ser homogéneo y transparente. Para la prueba de transparencia se realizan los siguientes pasos.<sup>31</sup>

Preparación del gel de referencia.

Solución A: Se disuelve 0.2 g de EDTA en 200 mL de agua desionizada.

1. En un matraz se dispersa 0.25 g carbopol en 50 mL de solución A con agitación constante de ser necesario ajustar el pH entre 6.0 y 7.0 con trietanolamina, mantener la agitación para homogenizar el gel formado.
2. Pesar 5 g de gel y transferirlos a un matraz, adicionar 50 mL de solución A y agitar hasta que homogenice el sistema.

Preparación de la muestra de gel:

1. Pesar 5 g de gel y transferir a un matraz, adicionar 50 mL de solución A y agitar aproximadamente 5 minutos o hasta que se homogenice el gel.
2. Colocar las dos muestras y el gel de referencia en el sonicador a una temperatura de 20° C hasta que las muestras se encuentren libres burbujas.

3. Leer las muestras en el espectrofotómetro a 612 nm en % de transmitancia utilizando celdas de vidrio y el gel de carbopol como blanco de referencia.

**Cuadro 2.3**

Clasificación de los geles de acuerdo a su apariencia

% de Transmitancia	Clasificación
100-92	Gel transparente
92-87	Gel ligeramente opaco
87-26	Gel opalescente o turbio
26-13	Gel muy opalescente
13-0	Gel opaco

**2.9.6.2 Penetrabilidad** <sup>31</sup>

La prueba de penetrabilidad se realiza a los geles para ver el tipo de consistencia que tienen. La consistencia está definida como el grado de solidez o de fluidez de un material; es la resistencia a la deformación presentada por un fluido, viene determinada por el conjunto de propiedades geológicas.

La penetrabilidad se evalúa de la siguiente forma: <sup>31</sup>

1. Llenar un vaso de vidrio con capacidad de 100 mL con la muestra de gel sin burbujas.
2. Utilizar una varilla de un diámetro de 3 mm, altura de 20 cm con un peso de  $3.1 \pm 0.25$  g y un tubo de 3.5 mm de diámetro y 30 cm de altura para la prueba.
3. El tubo de vidrio se coloca de manera vertical sujetándolo con una pinza a una distancia de la superficie de la muestra de 1-2 mm.
4. Dejar caer la varilla graduada sobre la muestra desde el extremo superior del tubo para que penetre verticalmente sobre la muestra. Anotar la longitud en que penetra la varilla.
5. Realizan tres determinaciones en diferentes puntos de la misma muestra, cuidando que haya una separación de por lo menos 1 cm y lejos de las paredes del vaso.
6. Repetir el mismo procedimiento con la segunda muestra. Reportar el promedio de las seis determinaciones y la desviación estándar

### 2.9.6.3 Diámetro de dispersión <sup>31</sup>

La prueba de diámetro de dispersión evalúa la dispersabilidad de un producto, dependiendo de ella se puede clasificar de la siguiente forma:

**Cuadro 2.4**  
*Clasificación del producto de acuerdo al diámetro de dispersión*

Diámetro	Tipo de producto
Mayor de 70 mm	Fluido
De 50 mm a 70 mm	Semifluido
De 30 mm a 50 mm	Rígido
Menor de 30 mm	Muy rígido

Para esta prueba se utiliza un juego de placas de vidrio de 20 X 20 cm con un espesor de 3 mm y un peso de  $157 \pm 2$  una de las placas debe estar graduada con circunferencias concéntricas espaciadas cada 0.5 cm.

1. Colocar 1g de la muestra en el centro de la placa de vidrio graduada, poner encima la otra placa de vidrio centrándola con la de abajo enseguida.
2. Colocar en el centro una pesa de 500 g cuidando que no se mueva la placa, esperar 30 segundos y medir el diámetro que dispersa, si la muestra no dispersa de igual forma tomar la lectura más alta y la más baja, sacar un promedio con estas lecturas.
3. Realizar una repetición de tres a seis veces. y reportar la media y desviación estándar, clasificar el producto de acuerdo al cuadro 2.4.

### 2.9.6.4 Densidad relativa

Esta prueba se basa en la relación que existe, entre el peso de un volumen de una sustancia y el peso del mismo volumen de agua, a una temperatura dada. <sup>13</sup>

Para determinar la densidad relativa de una muestra se requiere los siguientes valores.

1. El peso del picnómetro vacío.
2. El peso del picnómetro con agua.
3. Peso del picnómetro con la muestra de gel libre de burbujas.
4. Calcular la densidad relativa para cada muestra.

# **CAPÍTULO III**

## **RESULTADOS Y SU INTERPRETACIÓN**



### 3.1 Transparencia

Por su transparencia, a los geles se les confiere un aspecto atrayente el cual es un punto importante al momento de comprar un producto. Los resultados de la evaluación de transparencia se encuentran en el cuadro 3.1 donde todos los geles evaluados tienen la característica de ser transparentes. Destaca Blumen quien alcanzó el nivel de transparencia del gel de referencia mientras que Dogo y Equate fueron los más cercanos con un 99% de transparencia. Live Body fue el de menor transmitancia esto puede ser debido a alguna deficiencia en su elaboración por parte del fabricante, como podría ser la velocidad de mezclado o el orden en la incorporación de sus componentes. Aunque esta característica no implica que sea mayor o menor su actividad antimicrobiana, es importante porque implica limpieza y habla de homogeneidad en su presentación. Sin embargo aun cuando la transmitancia de Live Body es menor en comparación con la de los otros geles evaluados, todos caen dentro del rango de transparencia, por lo que los geles evaluados en cuanto al aspecto se encuentran libres de partículas extrañas, no son opacos y todos son transparentes como el gel de referencia del INP.

**Cuadro 3.1**

*Resultados de la prueba de transparencia de los geles de alcohol evaluados.*

Gel de alcohol etílico	Transmitancia	Clasificación
INP	100	gel transparente
Dogo	99	gel transparente
Blumen	100	gel transparente
Equate	99	gel transparente
Farmacom	98	gel transparente
Dalux	98	gel transparente
Live Body	93	gel transparente

### 3.2 Penetrabilidad

A los geles evaluados se les realizó la prueba de penetrabilidad para determinar la consistencia de los geles en el cuadro 3.2 se muestra los resultados obtenidos, por cada gel se realiza la prueba seis veces, los promedios y la desviación estándar registradas son de las seis repeticiones, con estos valores se realizó un análisis de ANOVA y análisis de Tukey los resultados de estas pruebas se encuentran los cuadros 3.3, 3.4, 3.5 y 3.6.

**Cuadro 3.2**

*Resultados de la prueba de penetrabilidad en lo geles evaluados.*

Marca de gel de alcohol etílico	Promedio	Desviación estándar
INP	4.883	0.133
Dogo	5.217	0.248
Live Body	5.400	0.089
Dalux	5.350	0.055
Farmacom	5.550	0.084
Equate	5.517	0.098
Blumen	5.567	0.052

**Cuadro 3.3**

*ANOVA de un factor con valores descriptivos de penetrabilidad en gel de alcohol.*

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo o	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
					INP	6		
Dogo	6	5.600	0.0000	0.0000	5.600	5.600	5.6	5.6
Live Body	6	5.400	0.0894	0.0365	5.306	5.494	5.3	5.5
Dalux	6	5.350	0.0548	0.0224	5.293	5.407	5.3	5.4
Farmacom	6	5.550	0.0837	0.0342	5.462	5.638	5.4	5.6
Equate	6	5.517	0.0983	0.0401	5.413	5.620	5.4	5.6
Blumen	6	5.567	0.0516	0.0211	5.512	5.621	5.5	5.6
Total	42	5.4095	0.2457	0.0379	5.333	5.486	4.7	5.6

**Cuadro 3.4***Prueba de homogeneidad de varianzas con valores de penetrabilidad en gel de alcohol.*

Estadístico de	gl 1	gl2	Sig.
Levene			
7.462	6	35	0.000

**Cuadro 3.5***ANOVA para valores de penetrabilidad en gel de alcohol*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter.-grupos	2.236	6	0.373	54.352	0.000
Intra-grupos	0.240	35	0.007		
Total	2.476	41			

Al realizar la ANOVA correspondiente a los geles de prueba contra los valores de penetrabilidad, se obtuvo una  $p \leq 0.05$  que nos muestra la existencia de diferencia estadística entre ellos, por esta razón se realizó una prueba Posthoc de HSD de Tukey

**Cuadro 3.6***Valores de Penetrabilidad en Gel de Alcohol HSD de Tukey<sup>a</sup>*

Marca de gel de alcohol etílico	N	Subconjunto para alfa = .05			
		1	2	3	4
INP	6	4.883			
Dalux	6		5.350		
Live Body	6		5.400	5.400	
Equate	6			5.517	5.517
Farmacom	6				5.550
Blumen	6				5.567
Dogo	6				5.600
Sig.		1.000	0.939	.213	0.593

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos

<sup>a</sup>. Usa el Tamaño Muestral de la Media Armónica = 6.000

Aun cuando entre los geles evaluados existen similitudes en cuanto a los resultados en la evaluación de penetrabilidad, en el cuadro 3.6 se observan cuatro subconjuntos agrupados de los valores medios de penetrabilidad para las diferentes marcas de gel, en donde se puede observar que de todos los geles que se evaluaron de la zona metropolitana ninguno es similar o igual al de referencia, los que más se aproximan son los de las marcas Dalux y Live Body, en lo que respecta a los demás geles aun cuando son productos semisólidos su fluidez es mayor en comparación con la del gel de referencia. La diferencia en la consistencia radica principalmente en el contenido de gelificante de cada gel.

### 3.3 Diámetro de dispersión

En el cuadro 3.7 se muestran los resultados de la prueba del diámetro de dispersión por medio de la cual se determinó si es fluido o rígido. En los seis geles analizados se determinó que todos son muy rígidos al presentar un diámetro de dispersión de menor a 30 mm con estos valores se realizó un análisis de ANOVA y análisis de Tukey los resultados de estas pruebas se encuentran en los cuadros 3.8, 3.9, 3.10 y 3.11.

**Cuadro 3.7**  
*Resultados de la prueba de dispersabilidad a los diferentes geles de alcohol evaluados.*

Marca de gel de alcohol etílico	Promedio (cm)	Desviación estándar	Tipo de producto
INP	1.667	0.301	muy rígido
DOGO	2.600	0.087	muy rígido
Live Body	2.483	0.144	muy rígido
Dalux	2.467	0.029	muy rígido
Farmacom	2.117	0.144	muy rígido
Equate	1.967	0.236	muy rígido
Blumen	2.117	0.305	muy rígido

**Cuadro 3.8**  
*ANOVA de un factor con valores descriptivos de dispersabilidad en gel de alcohol.*

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
INP	3	1.6667	0.30139	0.17401	0.9180	2.4154	1.35	1.95
Dogo	3	2.6000	0.08660	0.05000	2.3849	2.8151	2.55	2.70
Live Body	3	2.4833	0.14434	0.08333	2.1248	2.8419	2.40	2.65
Dalux	3	2.4667	0.02887	0.01667	2.3950	2.5384	2.45	2.50
Farmacom	3	2.1167	0.14434	0.08333	1.7581	2.4752	1.95	2.20
Equate	3	1.9667	0.23629	0.13642	1.3797	2.5536	1.70	2.15
Blumen	3	2.1167	0.30551	0.17638	1.3578	2.8756	1.85	2.45
Total	21	2.2024	0.35863	0.07826	2.0391	2.3656	1.35	2.70

**Cuadro 3.9***Prueba de homogeneidad de varianzas con valores de dispersabilidad en gel de alcohol.*

Estadístico de	gl 1	gl 2	Sig.
Levene			
2.060	6	14	0.124

**Cuadro 3.10***ANOVA para valores de dispersabilidad en gel de alcohol*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1.992	6	0.332	8.015	0.001
Intra-grupos	0.580	14	0.041		
Total	2.572	20			

Al realizar el ANOVA entre los diferentes geles contra los valores de dispersabilidad se encontró que existen diferencias estadísticas con una  $p \leq 0.05$ , por lo que fue necesario realizar una prueba Posthoc de HSD de Tukey.

**Cuadro 3.11***Valores de dispersabilidad de gel de alcohol HSD de Tukey<sup>a</sup>*

Marca de gel de alcohol etílico	N	Subconjunto para alfa=.05		
		1	2	3
INP	3	1.6667		
Equate	3	1.9667	1.9667	
Farmacom	3	2.1167	2.1167	2.1167
Blumen	3	2.1167	2.1167	2.1167
Dalux	3		2.4667	2.4667
Live Body	3		2.4833	2.4833
Dogo	3			2.6000
Sig.		0.167	0.085	0.120

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos

<sup>a</sup> Usa el Tamaño Muestral de la Media Armónica = 3.000

De acuerdo al análisis de Tukey de los geles de alcohol etílico, a pesar de ser clasificados como muy rígidos existen pequeñas diferencias entre ellos, al revisar el cuadro 3.11 se observa que se agrupan en tres subconjuntos las medias de dispersabilidad, en donde se aprecia que sólo los geles de las marcas Equate, Farmacom y Blumen son similares al gel de referencia. En lo que respecta a los otros geles como es el caso de Dogo su dispersabilidad es mayor, en comparación con la del gel de referencia lo que implica que el gel de Dogo aun cuando se encuentra clasificado como un gel rígido como los demás geles evaluados, al compararlo con el de referencia este es más fluido. No obstante aun cuando los 7 geles han dado como resultado ser un producto muy rígido esto sólo ocurre cuando no se encuentra en contacto con la piel de las manos.

### 3.4 Densidad relativa

Se determinó la densidad relativa con un picnómetro para semisólidos a los siete geles de alcohol etílico, los resultados obtenidos se muestran el cuadro 3.12, la densidad es un dato que nos puede ser útil en dado caso de que la muestra no se pueda medir, ya que en algunas ocasiones puede ser más práctico pesar el gel.

**Cuadro 3.12**  
*Densidad relativa de los geles de alcohol utilizados.*

Gel de alcohol etílico	Densidad relativa (g/mL)
I.N.P	1.712
Dogo	1.664
Blumen	1.625
Equate	1.650
Farmacom	1.603
Dalux	1.616
Live Body	1.635

De los resultados de la densidad relativa el gel que tiene una densidad más similar al de referencia es la marca Dogo, mientras que los demás geles poseen menor densidad relativa.

Una vez realizada la evaluación de los parámetros físicos de los geles de alcohol etílico obtenidos de la zona metropolitana de la ciudad de México y después de compararlos con el gel de referencia del INP se observó que son similares en cuanto a sus características físicas en algunos casos las similitudes son mayores que en otras, pero todos están dentro de un mismo rango, al ser transparentes y muy rígidos.

La pequeña diferencia que se observa entre cada gel es debido a su composición, siendo el principal causante la cantidad de gelificante que se utiliza, así como su elaboración.

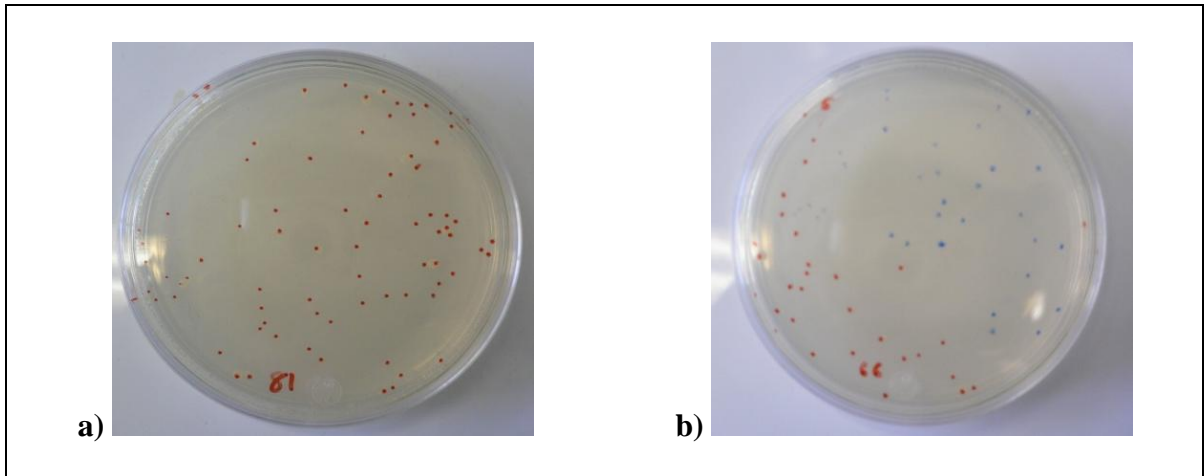
Sin embargo estas pequeñas diferencias en cuanto a su aspecto y consistencia no son un impedimento para que cumplan o no con el porcentaje de reducción de microorganismos durante la evaluación de actividad antimicrobiana.

### 3.5 Actividad antimicrobiana

Para la determinación del porcentaje de reducción, se determinó la cuenta viable inicial de la cepa de *Escherichia coli* con la que se evaluó la actividad antimicrobiana a partir de una suspensión que leída a 580 nm dio una lectura de 4% de transmitancia. En el cuadro 3.13 se encuentran las colonias en placa a diferentes diluciones, aquellas que fueron menor a  $10^{-20}$  presentaron incontables colonias, mientras que con las posteriores, se obtuvieron entre 84 y 124 colonias, por lo cual se eligió la dilución  $10^{-22}$ , con un promedio de 74 colonias, para inocular las muestra de gel y determinar las células sobrevivientes.

**Cuadro 3.13**  
**Cuenta inicial *Escherichia coli***

Dilución realizada	No. de colonias en placa
$10^{-24}$	124
$10^{-24}$	121
$10^{-22}$	81
$10^{-22}$	67
$10^{-20}$	63
$10^{-20}$	84
$10^{-2}$ a $10^{-18}$	Incontables



**Figura 3.1** Placas de dilución  $10^{-22}$  para la determinación de cuenta viable inicial con la cepa de *Escherichia coli*: **a)** Placa No.1 con  $8.1 \times 10^{23}$  UFC /mL **b)** Placa No. 2 con  $6.7 \times 10^{23}$  UFC /mL.

Se observa que en cada placa, las unidades formadoras de colonias se encuentran separadas unas de otras, en una distancia que permite su apreciación individual facilitando el conteo, obteniendo el promedio de 74 colonias.

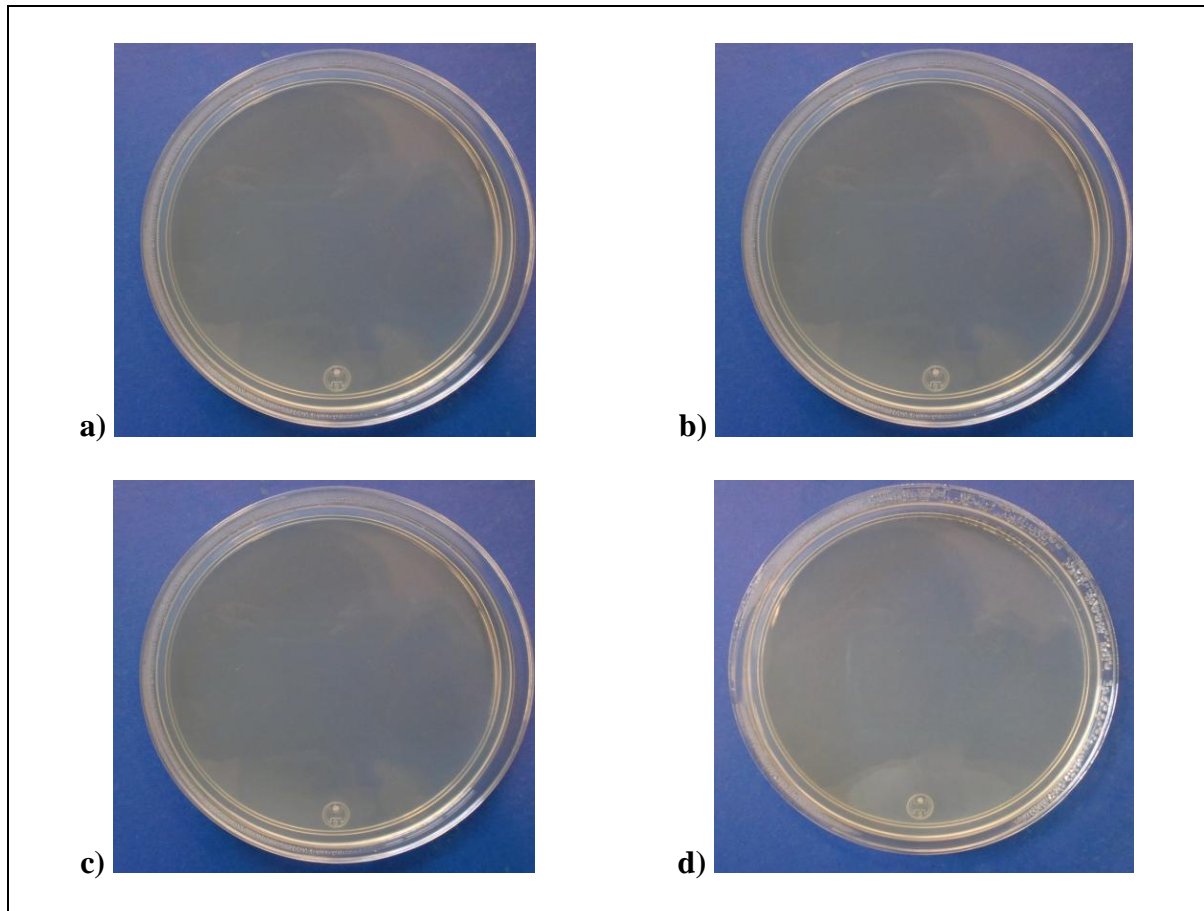
En la determinación de las células sobrevivientes de *Escherichia coli* al estar en contacto con las diferentes muestras de gel durante 30 segundos, se obtuvieron los resultados que se muestran en el cuadro 3.14. Los geles, Live Body, Dalux, Equate y Dogo, no presentaron ningún crecimiento de UFC, obteniendo de esta forma un porcentaje de reducción del 100% al igual que el de referencia. Sin embargo con las marcas Blumen y Farmacom no sucedió lo mismo ya que presentaron una actividad antimicrobiana de 87.162% y 95.946%, este porcentaje de reducción puede ser principalmente debido a la cantidad de alcohol presente en el gel el cual debe ser menor al 70% lo que impide que elimine en su totalidad al microorganismo de prueba.

**Cuadro 3.14**  
*Determinación de las células sobrevivientes de **Escherichia coli***

Gel utilizado	No. de colonias en placa	Porcentaje de reducción	Promedio de porcentaje de reducción
INP	0	100	100
	0	100	
Live Body	0	100	100
	0	100	
Dalux	0	100	100
	0	100	
Blumen	0	100	87.162
	19	74.324	
Equate	0	100	100
	0	100	
Farmacom	1	98.649	95.946
	5	93.243	
Dogo	0	100	100
	0	100	

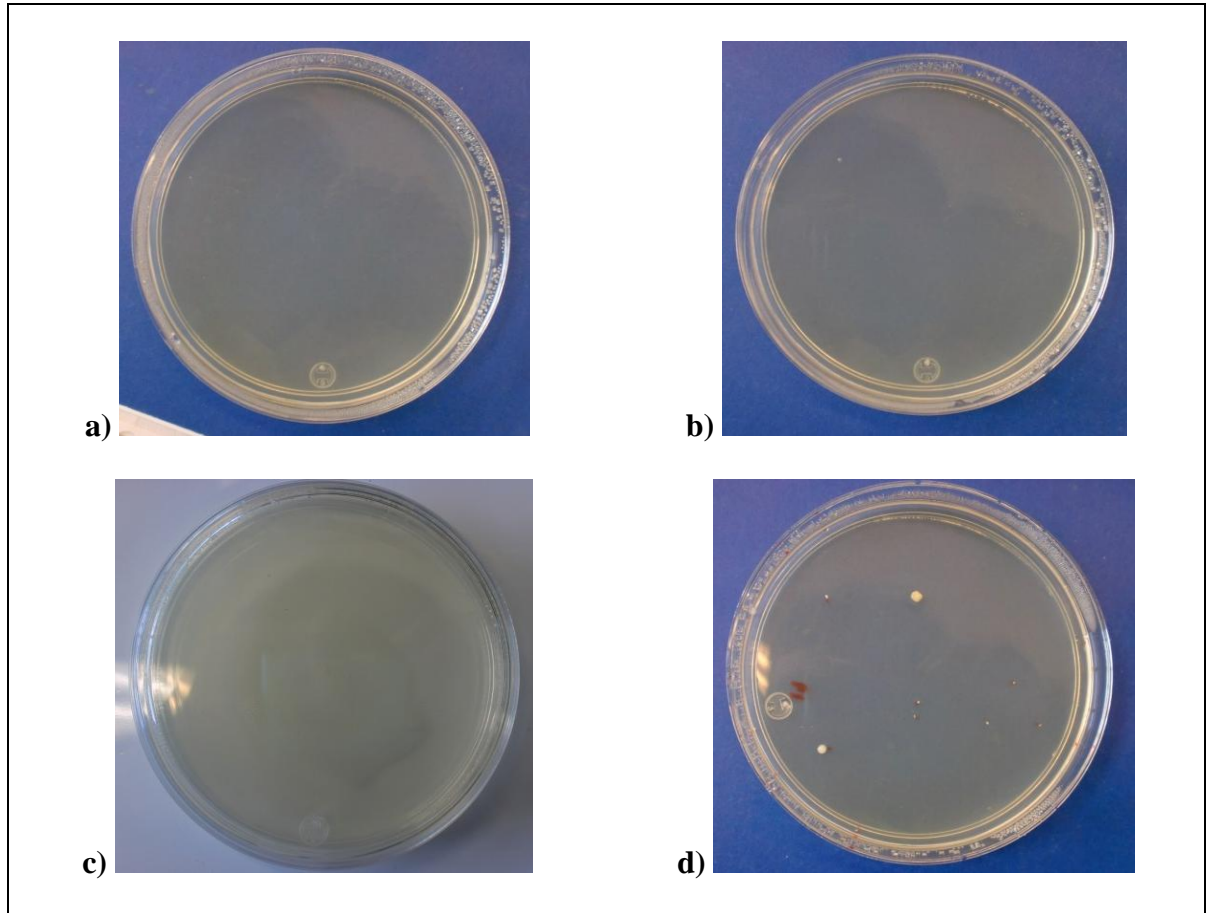


A continuación se muestran las placas de los geles que se evaluaron con la cepa de *Escherichia coli* para la determinación de células sobrevivientes.

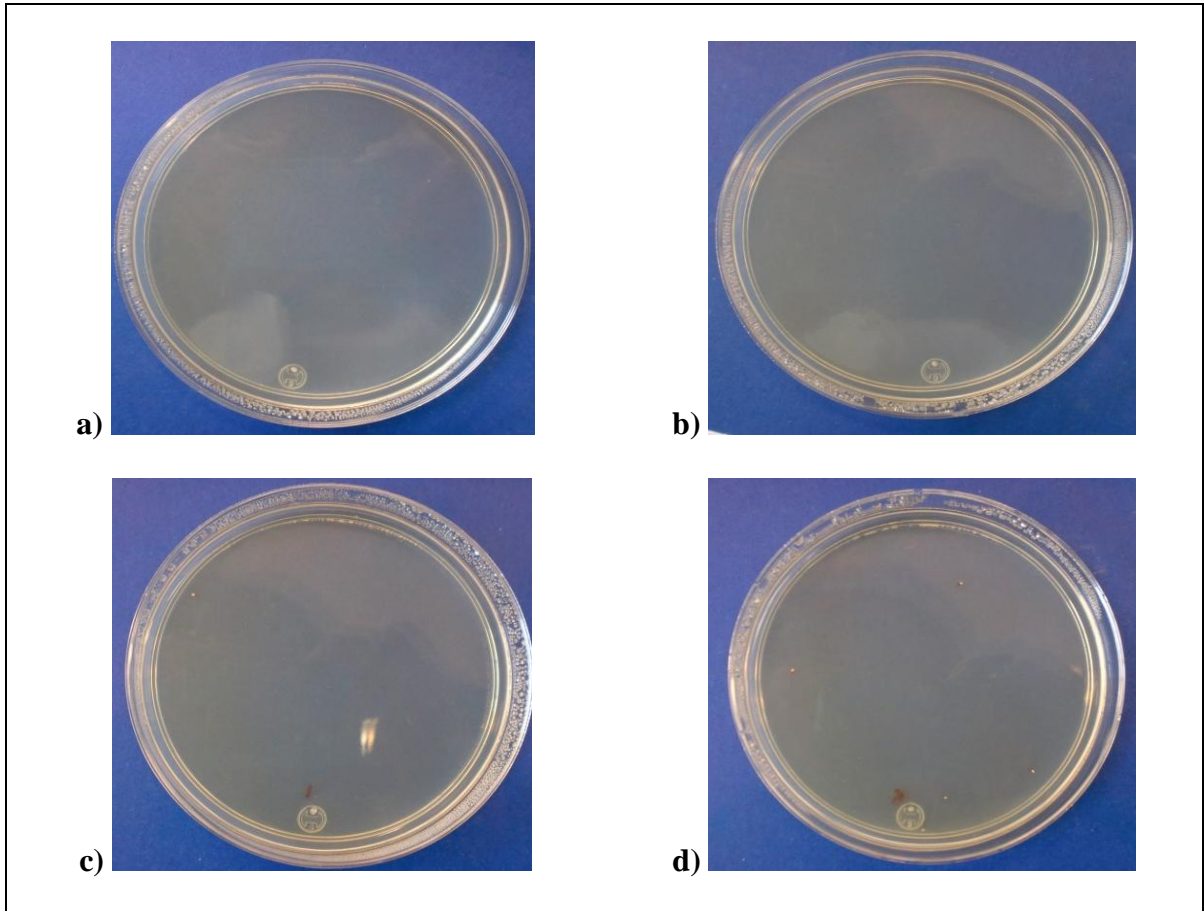


**Figura 3.2.** Placas de los geles que se evaluaron con la cepa de *Escherichia coli* para la determinación de las células sobrevivientes: **a)** Gel del INP Placa No.1 sin crecimiento, **b)** Gel del INP placa No.2 sin crecimiento, **c)** Gel marca Live Body Placa No.1 sin crecimiento, **d)** Gel marca Live Body placa No.2 sin crecimiento.

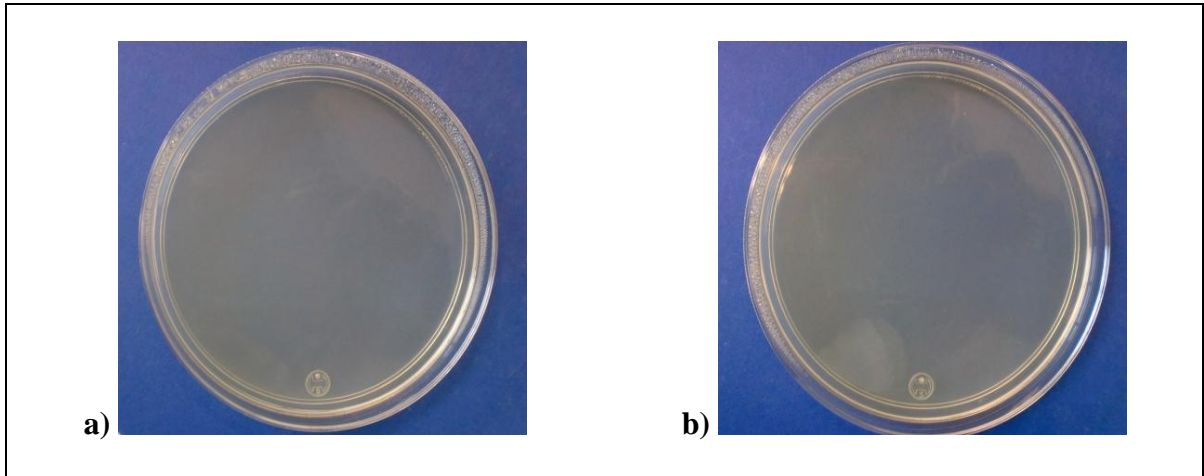
En estas cuatro placas no se observó la presencia de colonias, con lo cual se puede comprobar que el gel de la marca Live Body es un gel efectivo capaz de eliminar la bacteria de *Escherichia coli* al igual que el gel de referencia mostrando ser iguales para la eliminación del microorganismo de prueba. Lo que implica que el contenido de alcohol presente en el gel Live Body es el adecuado para la eliminación de este microorganismo.



**Figura 3.3.** Placas de los geles que se evaluaron con la cepa de *Escherichia coli* para la determinación de las células sobrevivientes: **a)** Gel marca Dalux Placa No.1 sin crecimiento, **b)** Gel marca Dalux placa No.2 sin crecimiento, **c)** Gel marca Blumen Placa No.1 con  $1.9 \times 10^{23}$  UFC /mL, **d)** Gel marca Blumen placa No.2 sin crecimiento.



**Figura 3.4.** Placas de los geles que se evaluaron con la cepa de *Escherichia coli* para la determinación de las células sobrevivientes: **a)** Gel marca Equate Placa No.1 sin crecimiento, **b)** Gel marca Equate placa No.2 sin crecimiento, **c)** Gel marca Farmacom Placa No.1 con  $1 \times 10^{23}$  UFC / mL, **d)** Gel marca Farmacom placa No.2 con  $5 \times 10^{23}$  UFC/mL.



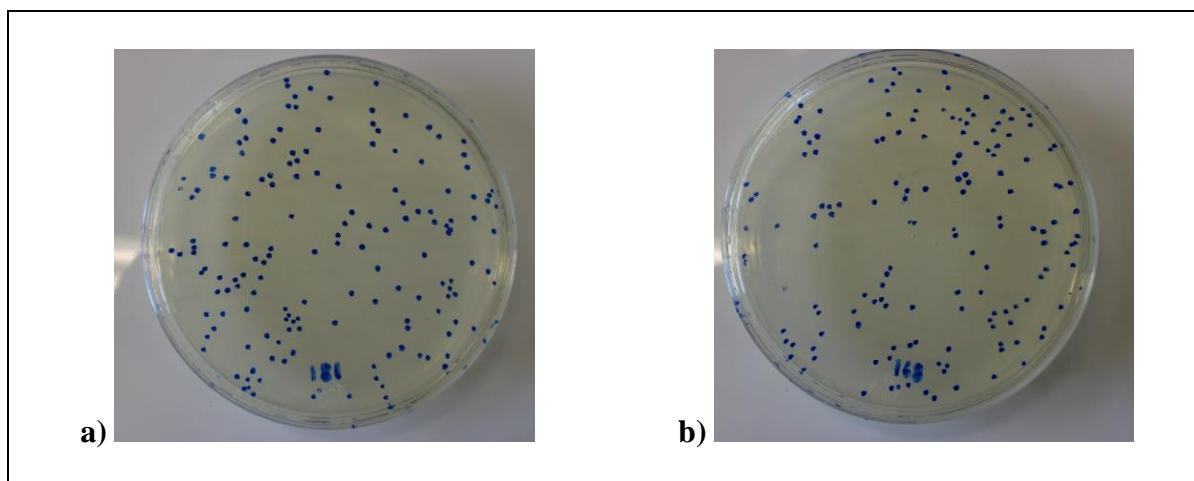
**Figura 3.5.** Placas de los geles que se evaluaron con la cepa de *Escherichia coli* para la determinación de las células sobrevivientes: **a)** Gel marca Dogo Placa No.1 sin crecimiento, **b)** Gel marca Dogo placa No.2 sin crecimiento.

Los siguientes resultados son de la cuenta viable inicial de la cepa *Staphylococcus aureus* partiendo de una suspensión que al leerla en espectrofotómetro a 580 nm se obtuvo una lectura de 4% de transmitancia. En el cuadro 3.15 se muestran las colonias observadas a diferentes diluciones, aquellas que fueron menores a  $10^{-18}$  presentaron gran cantidad de colonias considerándose incontables, mientras que a una mayor dilución, se obtuvieron entre 95 y 203 colonias, por lo tanto se eligió la dilución  $10^{-22}$ , al estar en el rango intermedio de las colonias requeridas que es de 25 a 250 con un promedio de 174 colonias, para inocular las muestra de gel y determinar las células sobrevivientes.

**Cuadro 3.15**  
**Cuenta viable inicial de *Staphylococcus aureus***

Dilución realizada	No. de colonias en placa
$10^{-24}$	95
$10^{-24}$	72
$10^{-22}$	181
$10^{-22}$	168
$10^{-20}$	197
$10^{-20}$	198
$10^{-18}$	219
$10^{-18}$	203
$10^{-2}$ a $10^{-16}$	Incontables

La figura 3.17 y 3.18 se muestran las placas de la dilución  $10^{-22}$  con 181 y 168 colonias respectivamente.



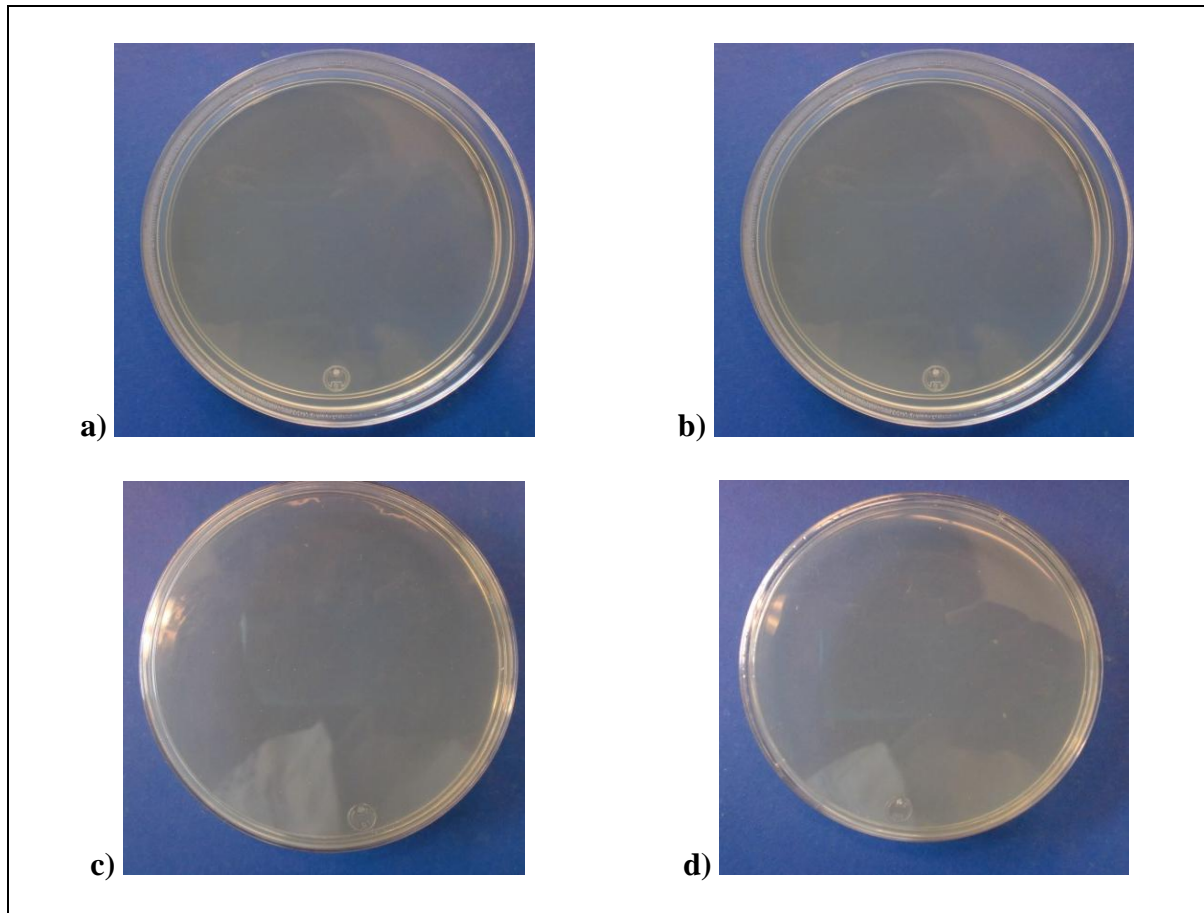
**Figura 3.6** Placas de dilución  $10^{-22}$  para la determinación de cuenta viable inicial con la cepa de *Staphylococcus aureus*: **a)** Placa No.1 con  $18.1 \times 10^{23}$  UFC /mL **b)** Placa No. 2 con  $16.8 \times 10^{23}$  UFC /mL.

En la determinación de las células sobrevivientes de *Staphylococcus aureus* al estar en contacto con las diferentes muestras de gel durante 30 segundos, se obtuvieron los siguientes resultados mostrados en el cuadro 3.16. Cinco de los geles probados no presentaron ningún crecimiento de colonias, obteniendo de esta forma un porcentaje de reducción del 100% siendo iguales al gel de referencia. El único gel que presentó crecimiento de colonias fue la marca Dalux con una actividad antimicrobiana de 99.4269% que es menor al porcentaje requerido de 99.999%.

**Cuadro 3.16**  
*Determinación de las células sobrevivientes de **Staphylococcus aureus***

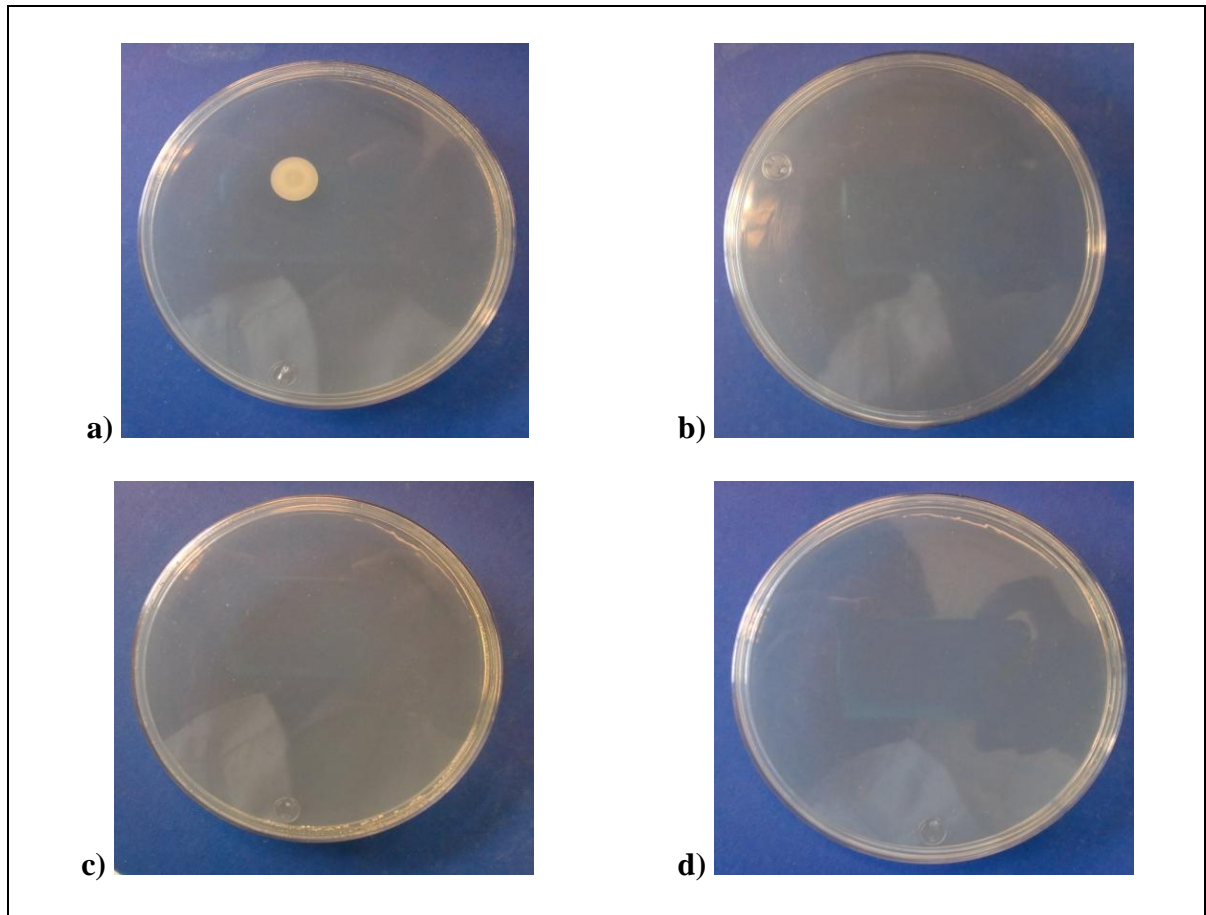
Gel utilizado	No. de colonias en placa	Porcentaje de reducción	Promedio de porcentaje de reducción
INP	0	100	100
	0	100	
Live Body	0	100	100
	0	100	
Dalux	1	99.4269	99.4269
	1	99.4269	
Blumen	0	100	100
	0	100	
Equate	0	100	100
	0	100	
Farmacom	0	100	100
	0	100	
Dogo	0	100	100
	0	100	

A continuación se muestran las placas de los geles que se evaluaron con la cepa de *Staphylococcus aureus* para la determinación de células sobrevivientes.



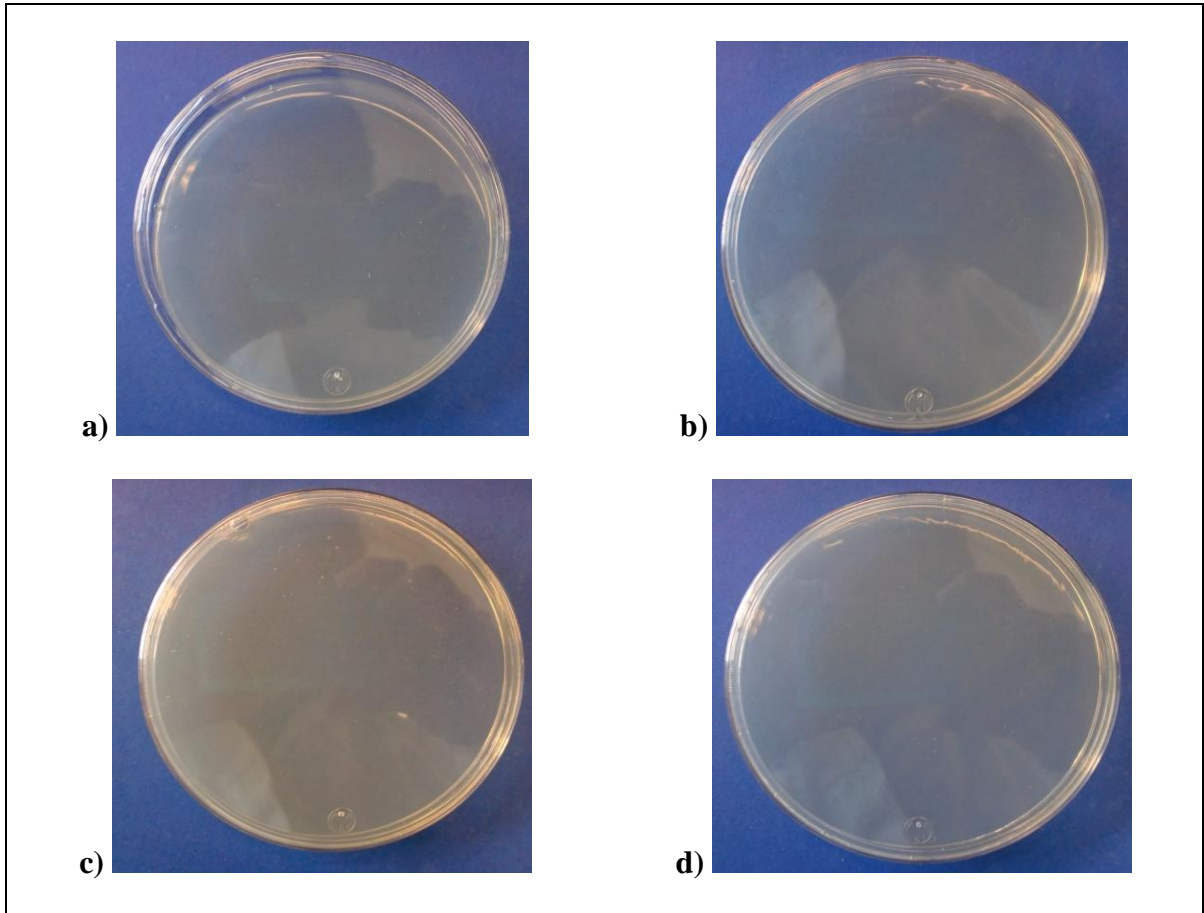
**Figura 3.7.** Placas de los geles que se evaluaron con la cepa de *Staphylococcus aureus* para la determinación de las células sobrevivientes: **a)** Gel del INP Placa No.1 sin crecimiento, **b)** Gel del INP placa No.2 sin crecimiento, **c)** Gel marca Live Body Placa No.1 sin crecimiento, **d)** Gel marca Live Body placa No.2 sin crecimiento.



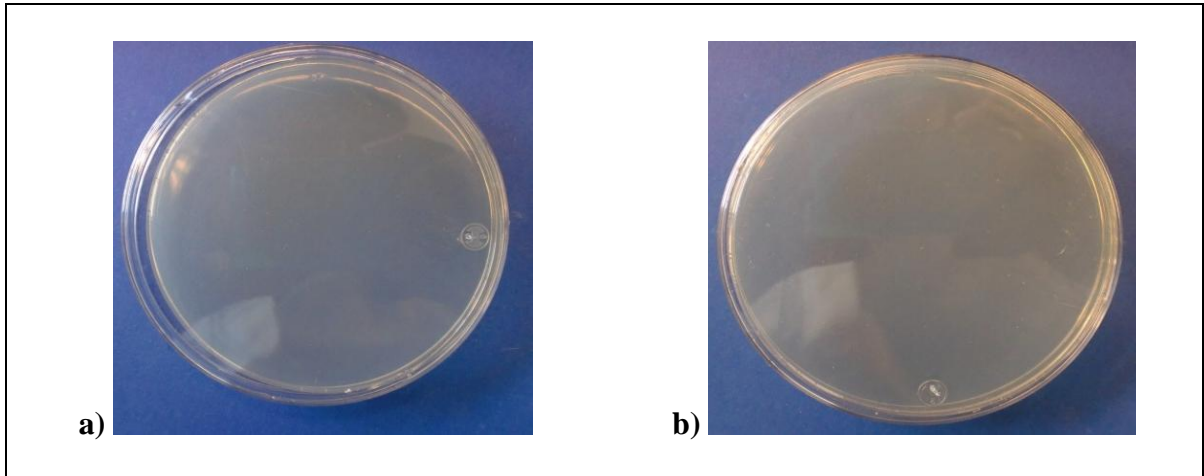


**Figura 3.8.** Placas de los geles que se evaluaron con la cepa de *Staphylococcus aureus* para la determinación de las células sobrevivientes: **a)** Gel marca Dalux Placa No.1 con  $1 \times 10^{23}$  UFC /mL, **b)** Gel marca Dalux placa No.2 con  $1 \times 10^{23}$  UFC /mL, **c)** Gel marca Blumen Placa No.1 sin crecimiento, **d)** Gel marca Blumen placa No.2 sin crecimiento.





**Figura 3.9.** Placas de los geles que se evaluaron con la cepa de *Staphylococcus aureus* para la determinación de las células sobrevivientes: **a)** Gel marca Equate Placa No.1 sin crecimiento, **b)** Gel marca Equate placa No.2 sin crecimiento, **c)** Gel marca Farmacom Placa No.1 sin crecimiento, **d)** Gel marca Farmacom placa No.2 sin crecimiento.



**Figura 3.10.** Placas de los geles que se evaluaron con la cepa de *Staphylococcus aureus* para la determinación de las células sobrevivientes: **a)** Gel marca Dogo Placa No.1 sin crecimiento, **b)** Gel marca Dogo placa No.2 sin crecimiento.

Con los resultados obtenidos al evaluar la actividad antimicrobiana utilizando la cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* y compararlos con la actividad antimicrobiana de del gel referencia se obtuvieron los resultados que se muestran en el cuadro 3.17.

**Cuadro 3.17**

*Resultados de la prueba de Actividad antimicrobiana de los geles*

Gel evaluado	Porcentaje de reducción con la cepa <i>Escherichia coli</i>	Porcentaje de reducción con la cepa <i>Staphylococcus aureus</i>	Dictamen
INP	100	100	Cumple
Live Body	100	100	Cumple
Dalux	100	99.4269	No cumple
Blumen	87.162	100	No cumple
Equate	100	100	Cumple
Farmacom	95.946	100	No cumple
Dogo	100	100	Cumple

Las marcas Dalux, Blumen y Farmacom no cumplieron con un porcentaje de reducción del 99.999% al estar 30 segundos de contacto a la concentración de uso recomendada, esto se debió a que existen diferencias en cuanto al porcentaje de reducción entre una cepa y otra, esto ocasionado a las características del microorganismo de prueba en donde los geles pueden ser más susceptibles a un microorganismo que a otro, pero al presentar en alguno de los dos crecimiento de UFC cuando la cuenta viable inicial se encuentra entre 75 y 125 X 10<sup>8</sup> UFC/mL indica que su actividad antimicrobiana esta por debajo del 99.999% por lo que su uso no es confiable para la eliminación total de los microorganismos evaluados.

Mientras que los geles de las marcas Live Body, Equate y Dogo presentaron un porcentaje de reducción del 100% por lo que su uso es confiable para una disminución del 99.999% o eliminación total de los microorganismos existentes en manos y también los convierte en geles que en comparación con el de referencia respecto a su actividad antimicrobiana son iguales, implicando que el contenido de alcohol presente en cada gel es el indicado para combatir este tipo de microorganismos, el cual se encuentra al 70% o más, las pequeñas diferencias entre estos geles se encuentran en sus propiedades físicas pero no son ningún impedimento para cumplir con su principal función que es la eliminación de microorganismos que puedan estar presentes en las manos.

Esto indica que no todos los geles que se venden en el mercado nacional de la zona metropolitana cumplen con su objetivo principal, que es la eliminación total de los microorganismos que se encuentran presentes en manos o con el porcentaje mínimo de reducción especificado por la norma NMX-BB-040-SCFI para productos germicidas.

### 3.6 Estudio de mercado

El cuadro 3.18 muestra los precios que tienen las marcas de gel analizadas y el de referencia por 1 litro, el que tiene un menor precio es Blumen seguido de Dogo, pero de estos dos, sólo Dogo cumple con el 99.999% de eliminación de microorganismos de prueba mientras que Blumen está por debajo. En los geles más caros se encuentran Farmacom y Live Body en donde Live Body es el único que cumple con lo establecido, respecto a la actividad antimicrobiana y Farmacom no cumple con esta característica. De los geles de un precio medio que son Dalux y Equate, sólo Equate cumple con la actividad antimicrobiana requerida por la norma.

Debe tomarse en cuenta que el costo del gel elaborado por el Instituto Nacional de Pediatría no considera mano de obra, servicios, propaganda, ganancias, registro, etc. que si puedan estar contemplados en el precio comercial que tienen las marcas estudiadas. Sin embargo los otros productos al hacerse a gran escala disminuyen su costo.

**Cuadro 3.18**  
*Precios de diferentes marcas de gel que se venden en la zona metropolitana de la ciudad de México*

Marca	Presentación (mL)	Costo de Presentación m.n.	Costo. 1 L m.n.
INP*	-	-	12.00
Blumen	525	17.50	33.33
Dogo	1000	34.50	34.50
Dalux	500	20.00	40.00
Equate	300	14.90	49.67
Farmacom	450	23.20	51.56
Live body	500	27.00	54.00

\*Gel de referencia elaborado y utilizado por Instituto Nacional de Pediatría.

## CONCLUSIONES

Se desarrollo la técnica de acuerdo a la NOM –BB-040 SCFI acondicionándola para el gel de alcohol etílico; la cual es reproducible para otros productos semisólidos que poseen actividad germicida.

Los porcentajes de reducción en la cuenta viable inicial y la actividad antimicrobiana de las marcas Dalux para *Staphylococcus aureus*, además de Blumen y Farmacom para *Escherichia coli* son menores al del INP, no cumpliendo con el porcentaje de reducción requerido.

Evaluando los parámetros físicos entre los geles obtenidos del mercado nacional y en comparación con el gel de referencia se encontraron similitudes y diferencias mínimas que no fueron impedimento para la determinación de la actividad antimicrobiana.

Al evaluar y comparar la actividad antimicrobiana respecto del gel de referencia, se observo que el gel de marca Dalux no elimina *Staphylococcus aureus*, mientras que Blumen y Farmacom no lo hacen con *Escherichia coli*, por lo que no cumplen la especificación de la norma NMX-BB-040-SCFI, contrario a los geles de marcas Live Body, Equate y Dogo.

Los precios de estos productos no son indicadores de la calidad ó efectividad en la actividad antimicrobiana que estos puedan tener, ya que existen geles de menor precio, siendo el caso de la marca Dogo que presenta la actividad antimicrobiana requerida para la eliminación de los microorganismos de prueba, mientras que otras como Farmacom aún cuando son más conocidas y de precio elevado, no la tienen.

De los geles evaluados, solo las marcas Live Body, Equate y Dogo son iguales, por lo que el gel utilizado por el Instituto Nacional de Pediatría puede ser igual o mejor que algunos geles que se venden en el mercado nacional, teniendo la ventaja de que su elaboración es mas económica al prescindir de gastos de mercadotecnia, mano de obra, registro y algunos otros, aunque en cuanto a materiales pudiera ser más caro debido a que el IPN no los compra en cantidades industriales como lo hacen las marcas comerciales.

En toda la investigación, las conclusiones extraídas avanzan en el mismo sentido: la actividad antimicrobiana debería tender a ser homogénea en todos los geles de alcohol etílico estudiados, porque los consumidores asumen que todo producto debe contar con la calidad mínima por el simple hecho de ofrecerse al mercado; sin embargo, al existir diferencias entre ellas, deben realizarse esfuerzos en esta variable, que de acuerdo al presente estudio aun no están completamente acabados, considerando que pueden y deben continuar mejorándose a fin de ir a la par con las tendencias de consumo, para lograr estar mejor situado que su competencia en la prevención, satisfacción y necesidad de higiene específica de los consumidores, metas que en este producto deben ser alcanzadas.

## GLOSARIO

**Actividad antimicrobiana:** Propiedad que tiene una sustancia de inhibir o matar a los microorganismos <sup>1</sup>

**Antimicrobiano/Antibacterial:** Cualquier sustancia natural o producto químico con actividad antimicrobiana, que pueda usarse en el tratamiento de enfermedades infecciosas capaz de detener la multiplicación de las bacterias o destruirlas. <sup>24, 25.</sup>

**Antisepsia:** Procedimiento que detiene el crecimiento bacteriano en una superficie viva. <sup>25</sup>

**Antiséptico:** Es un producto que inhibe o destruye microorganismos como bacterias o virus sobre un tejido vivo. <sup>5, 24, 25.</sup>

**Bactericida:** Antimicrobiano que no sólo inhibe el crecimiento, sino que destruye las bacterias. <sup>24</sup>

**Biocida:** Agente químico generalmente de amplio espectro que inactiva microorganismos. <sup>27</sup>

**Desinfección:** Es la destrucción o eliminación de microorganismos patógenos mediante agentes químicos. <sup>25</sup>

**Desinfectante:** Es un producto que destruye o elimina microorganismos en superficies inanimadas. <sup>25</sup>

**Germicida:** Productos químicos que destruyen una amplia gama de microorganismos sobre superficies o tejidos, las esporas pueden sobrevivir. <sup>1, 5.</sup>

**Sanitizante:** Agente que reduce, en superficies inanimadas, la cantidad de toda forma de vida microbiana, incluyendo hongos, virus y bacterias. <sup>26</sup>

## REFERENCIAS

- 1) Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. NMX-BB-040-SCFI-1999. Métodos generales de análisis-determinación de la actividad antimicrobiana en productos germicidas. DGN, México: 1999.
- 2) Secretaria del trabajo y previsión social. Guía de recomendaciones para instrumentar el plan de emergencia en los centros de trabajo por la epidemia de influenza.[Manual en línea]. México. 5 de junio de 2009. <[http://www.stps.gob.mx/ANEXOS/Guia\\_Influenza\\_09.pdf](http://www.stps.gob.mx/ANEXOS/Guia_Influenza_09.pdf)> [Consulta: 16 de enero de 2010].
- 3) Secretaria de salud. Información Clave Sobre La Influenza A(H1N1) [En línea]. México 18 de mayo de 2009. <[http://www.influenzaah1n1.org.mx/docs/mensajes\\_clave\\_18mayo09\\_9hrs.pdf](http://www.influenzaah1n1.org.mx/docs/mensajes_clave_18mayo09_9hrs.pdf)> [Consulta: 16 de Enero 2010].
- 4) COFEPRIS. Productos que no Requieren Autorización [En línea]. México 25 de abril de 2009. <<http://www.cofepris.gob.mx/work/sites/cfp/resources/LocalContent/846/1/noautorizacion5.pdf>> [Consulta: 19 de marzo 2010].
- 5) Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología Médica. 5a Ed. Barcelona. España. Elsevier, 2008: 89-91, 94.
- 6) Organización Mundial de la Salud. Directrices de la OMS sobre higiene de las manos en la atención sanitaria [Guía en línea]. Francia 2005. <[http://formacion.seguridaddelpaciente.es/doc/Spanish\\_HH\\_Guidelines.pdf](http://formacion.seguridaddelpaciente.es/doc/Spanish_HH_Guidelines.pdf)> [Consulta 23 de febrero de 2010].
- 7) Remington GA. Farmacia. 20ª Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, 2003; 2: 1258.
- 8) Orkin MD, Maibach IH, Dahl MV. Dermatología. México D. F.- Santa Fe de Bogota. El Manual Moderno S.A. de C. V. 1994: 10-20.
- 9) Volk WA, Gebhardt BM, Kadner RJ, Hammarskjöl ML. Essentials of Medical Microbiology. 5a Ed. Philadelphia. New York. United States American. Lippincott-Raven Publishers, 1996: 317.
- 10) Organización mundial de la salud. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care First Global Patient Safety Challenge Clean Care is Safer Care. [Guía en línea] 2009. <[http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241597906\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241597906_eng.pdf)> [Consulta: 17 de febrero de 2010].

- 11) Brooks GF, Butel JS, Carroll KC, Morse SA. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 19a Ed. México. el Manual Moderno, 2008: 60-62, 207-208.
- 12) Organización Mundial de la Salud. Prevención y control de infección en enfermedades respiratorias agudas con tendencia epidémica y pandémica durante la atención sanitaria. [En línea] Junio de 2007. <[http://whqlibdoc.who.int/hq/2009/WHO\\_CDS\\_EPR\\_2007.6\\_spa.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2009/WHO_CDS_EPR_2007.6_spa.pdf)> [Consulta: 16 de febrero de 2010].
- 13) Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Farmacopea de los estados Unidos Mexicanos. 9ª Ed., México: Secretaria de salud Publica, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 2008; 1: 101, 102, 291, 292, 338-340, 410-417.
- 14) Rowe CR, Sheskey P, Owen CS. Handbook of pharmaceutical Excipients. 5a Ed. United States American. Pharmaceutical Press. Apha, 2006:18-20.
- 15) Garcini GVM. Tecnología Farmacéutica, Texto para el Ingeniero Científico Farmacéutico. Zaragoza. España. Acribia, 1979.
- 16) Moffat CA, Osselton DM. Analysis of Drugs and Poisons. 3a Ed. United States American. Ed. Pharmaceutical Press, 2004; 2: 991.
- 17) North West Supply. Hoja de seguridad del producto. [En línea] México. Febrero de 2009. <[http://www.northwest.com.mx/images/archivos\\_disponibles/96092%20MSDS%20Gel%20Antibacterial%20sin%20esf.pdf](http://www.northwest.com.mx/images/archivos_disponibles/96092%20MSDS%20Gel%20Antibacterial%20sin%20esf.pdf)> [Consulta : 12 de febrero de 2010].
- 18) Cowan MK, Park TK. Microbiology a Systems Approach. New York: United States American. Mc Graw-Hill, 2006: 331-336, 540-541.
- 19) Remington GA. Farmacia. 20ª Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, 2003; 1: 867-869, 1208.
- 20) Brock TD, Madigan MT. Biology of Microorganisms. 5a Ed. New Jersey. United States American. Prentice Hall, 1988: 349-350.
- 21) US Pharmacopoeia Convention, Inc. United States Pharmacopoeia 30/ National Formulary 25. Rockeville, MD: US Pharmacopeial Convention, Inc. 2007. Versión en Español; 1: 687.
- 22) Gilbert S, Banker, Rhodes TC. Modern pharmaceuticals. 4ª Edición. Editorial Marcel Dekker Inc. New York, 2002:319-321.
- 23) Kenneth JR. George CR, Champoux JJ, Neidhardt FC. Microbiología Médica. 4a Edición. Ed Mac Graw Hill. México, 2007: 213 214, 193-194, 199, 357, 380, 285.



- 24) Romero CR. Microbiología y parasitología humana. 3ª Edición. Editorial medica panamericana México, 2007: 41, 42, 51, 753.
- 25) Gerard JT, Berdell R, Funke C, Case L. Introducción a la microbiología. 9ª Edición. Editorial panamericana. Buenos Aires Argentina, 2007: 188, 189, 201.
- 26) Geo FB, Janet SB, Stephen AM. Microbiología medica de Jawetz, Melnick y Adelberg 17ª Edición .Editorial el manual moderno. México, 2002: 62.
- 27) Peña NC. Investigación hemerobibliográfica de aspectos más recientes de la producción de diarrea por los diferentes patotipos de *Escherichia coli* en México, haciendo énfasis en ETEC y EHEC. [Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico Biólogo] Cuatlitlán Estado de México, 2006.
- 28) Monografías. Estructura de los Gram negativos. [En línea] México <[http://www.monografias.com/trabajos/fision\\_celular.html](http://www.monografias.com/trabajos/fision_celular.html)> [Consultada 15 de enero del 2010].
- 29) Sandoval MS. *Escherichia coli* y sus serotipos enteropatogenos. [Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico Biólogo]. 2000 México. D.F. Escuela de Ciencias Químicas Incorporada a la UNAM Universidad de la SALLE.
- 30) Procedimiento normalizado de operación para realizar la prueba de transparencia u opalescencia de geles. Código PNO-0147-08-01
- 31) Procedimiento normalizado de operación para realizar la prueba de consistencia y diámetro de dispersión de semisólidos. Código PNO-0117-06-02
- 32) MCD LAB, S.A. de C.V. Agar Nutritivo. [En línea] México. <http://www.mcd.com.mx/pdfs/AGAR%20NUTRITIVO.pdf>>. [Consulta 01 de marzo de 2010].
- 33) MCD LAB, S.A. de C.V. Agar métodos estándar. [En línea] México. <<http://www.mcd.com.mx/pdfs/AGAR%20METODO%20ESTANDAR.pdf>>. [Consulta 01 de marzo de 2010].
- 34) Probac. Escala nefelométrica de Mc Farland. [En línea] Brasil. <<http://www.probac.com.br/bulas/nefelobac.pdf>>. [Consulta 08 de marzo de 2010].

## **ANEXO I PREPARACIÓN DE MEDIOS Y REACTIVOS**

### **Agar nutritivo (1 L)<sup>32</sup>**

- Peptona de Gelatina 5.0 g
- Extracto de Carne 3.0 g
- Agar bacteriológico 15.0 g
- pH  $6.8 \pm 0.2$

Preparación: Suspender 23 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121° C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Dejar enfriar a una temperatura entre 45-50° C y vaciar en placas de Petri estériles.

### **Solución amortiguadora de fosfatos 0.25 M (1 L)**

- Fosfato monobásico de potasio 34 g
- Agua destilada 1000 mL
- Solución de hidróxido de sodio 1.0 N

Preparación: En un matraz volumétrico de 1 000 mL, disolver 34 g de fosfato monobásico de potasio en 500 mL de agua, ajustar el pH entre 7.1 y 7.3 con la solución de hidróxido de sodio, aforar con agua, mezclar y distribuir en porciones de 100 mL. Esterilizar en autoclave a 394 K (121° C) durante 15 min., dejar enfriar y conservar en refrigeración.

### **Solución amortiguadora de fosfatos diluida (1 L)**

- Solución amortiguadora de fosfatos 0.25 M
- Agua destilada

Preparación: Colocar 1.25 mL de la solución amortiguadora de fosfatos 0.25 M en un matraz volumétrico de 1 L y llevar a volumen con agua, mezclar y distribuir en porciones de 9 mL y 99 mL en tubos y matraces, respectivamente, esterilizar en autoclave a 394 K (121° C) durante 15 min.

### **Hidróxido de sodio 1.0 N (1 L)**

- NaOH 40 g en 1000 mL

Preparación: En un vaso de precipitados disolver 42 g de hidróxido de sodio con 150 mL de agua libre de dióxido de carbono, dejar enfriar la solución a temperatura ambiente, pasar a un matraz volumétrico de 1000 mL y llevar a volumen con agua libre de dióxido de carbono.

### **Agar para métodos estándar (1 L)**<sup>33</sup>

- Peptona de caseína 5.0 g
- Dextrosa 1.0 g
- Extracto de levadura 2.5 g
- Agar bacteriológico 15.0 g
- pH  $7.0 \pm 0.2$

Preparación: Suspender 23.5 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121° C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Dejar enfriar a una temperatura entre 45-50° C y vaciar en placas de Petri estériles.

### **Solución neutralizante concentrada (1 L)**

- Azolecitina 40 g
- Polisorbato 80 280 mL
- Solución amortiguadora de fosfatos 1.25 mL
- SV hidróxido de sodio 1.0 N
- SV ácido clorhídrico 1.0 N

Preparación: Mezclar 40 g de azolecitina, con 280 mL de polisorbato 80 y 1.25 mL de la solución amortiguadora de fosfatos, diluir con agua hasta obtener un volumen final de un 1 L; ajustar el pH a 7.2 con la solución volumétrica de hidróxido de sodio o la solución volumétrica de ácido clorhídrico, distribuir en porciones de 100 mL. Esterilizar en autoclave a 394 K (121° C) durante 20 min.

### **Ácido clorhídrico 1.0N (1 L)**

- HCl 36.46 g en 1000 mL.

Preparación: En un matraz volumétrico de 1000 mL, depositar 200 mL de agua, agregar lentamente 85 mL de ácido clorhídrico. Enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua.

## ANEXO II ESCALA DE Mc FARLAND

La escala nefelométrica de turbidez McFarland es usada para determinar la intensidad de proliferación de bacterias en medios de cultivo, esta multiplicación en medios líquidos se manifiesta por un aumento de partículas (bacterias) que se oponen al libre paso de la luz, causando turbidez o la opacidad en el centro. Cuanto mayor sea el número de bacterias, mayor es la opacidad del medio.<sup>34</sup>

La finalidad, es establecer una relación entre una precipitación química y una suspensión bacteriana y por espectrofotometría se crea una recta patrón, de forma que se pueda detectar la concentración de las diluciones bacterianas (de manera aproximada, ya que depende de factores como el tamaño de la bacteria, la formación de agregados).

Se trata de una serie numerada de 10 tubos, La escala se basa en la capacidad de precipitación del cloruro de bario en presencia de ácido sulfúrico. con diferentes cantidades de cloruro de bario y ácido sulfúrico para obtener diferentes concentraciones de sulfato de bario, que corresponden a diferentes recuentos bacterianos. La equivalencia de UFC/mL se muestra en el siguiente cuadro.

TUBO	Cl <sub>2</sub> Ba 1%	SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> 1%	U.F.C/mL
1	0,1	9,9	3,0x10 <sup>8</sup>
2	0,2	9,8	6,0x10 <sup>8</sup>
3	0,3	9,7	9,0x10 <sup>8</sup>
4	0,4	9,6	1,2x10 <sup>9</sup>
5	0,5	9,5	1,5x10 <sup>9</sup>
6	0,6	9,4	1,8x10 <sup>9</sup>
7	0,7	9,3	2,1x10 <sup>9</sup>
8	0,8	9,2	2,4x10 <sup>9</sup>
9	0,9	9,1	2,7x10 <sup>9</sup>
10	1,0	9,0	3,0x10 <sup>9</sup>

Procedimiento: Comparar los tubos a simple vista con el tubo de bacterias. Antes, agitar los tubos vigorosamente, debido a que el sulfato de bario tiende a precipitar. También homogenizar el tubo con el cultivo bacteriano, para tener una suspensión (aspecto turbio) uniforme.

Se recomienda hacer lecturas comparativas de los tubos, colocándolos en contra de un texto impreso de modo que una mayor o menor claridad de las letras como se ve a través de las trompas de indicar más o menos turbidez.<sup>34</sup>