

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



**FORMULACION DE TRES PRODUCTOS DESINFECTANTES Y
EVALUACION DE SU ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.**

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

JOSE WILMER FLAMENCO SANTOS

GLENDIA IVETTE GUEVARA AVALOS

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

AGOSTO, 2011

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SANCHEZ

SECRETARIO GENERAL

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHAVEZ

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIA

MSc. MORENA LIZETTE MARTINEZ DE DIAZ

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION

CORDINADORA GENERAL:

Lic. María Concepción Odette Rauda Acevedo

ASESORA DE AREA DE MICROBIOLOGÍA:

MSc. Coralia González de Díaz.

ASESORA DE AREA DE INDUSTRIA FARMACÉUTICA, COSMÉTICA Y

VETERINARIOS:

Licda. Mercedes Rossana Brito.

DOCENTES DIRECTORAS:

MSc. Amy Elieth Moran Rodríguez

Licda. María Esperanza Rodríguez de Cuellar

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos:

A la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, por la formación académica y **Centro de Investigación y Desarrollo en Salud**. (CENSALUD), por facilitarnos su colaboración en la realización de los análisis de esta investigación.

Docentes Directores:

Licda. María Esperanza Rodríguez de Cuellar y **MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez**, quienes dedicaron su valioso tiempo, y paciencia en la realización de esta investigación.

A los Asesores:

Lic. María Concepción Odette Rauda Acevedo, MSc. Coralia González de Díaz Y

Licda. Mercedes Rossana Brito, por orientarnos a través de sus evaluaciones a un mejor desarrollo de la investigación

GLENDIA IVETTE GUEVARA AVALOS.

JOSE WILMER FLAMENCO SANTOS.

DEDICATORIA

A DIOS TODOPODEROSO, por estar a mi lado; ser mi guía, mi amigo ya que sin el no hubiera sido posible lograr este éxito.

A MIS PADRES, Wilmer Flamenco y Maritza de Flamenco, a ellos principalmente dedico el éxito de mi carrera por estar siempre a mi lado, por su dedicación y confianza.

A MI HERMANO, Eduardo Flamenco, por estar siempre a mi lado, y por ser una pieza fundamental en el transcurso de mi carrera.

A MI ABUELOS, por haber sido como unos padres, cuidarme, apoyarme durante toda mi vida.

A MI COMPAÑERA DE TESIS, Glenda Guevara por ser mi amiga y compañera incondicional, gracias por que sin su apoyo no hubiese logrado esta meta.

GRACIAS, aquellas personas que colaboraron en el desarrollo de mi carrera.

JOSE WILMER FLAMENCO SANTOS.

Dedico este triunfo a mis padres Marinela de Guevara y Julio Guevara que son un ejemplo y guía en todos los aspectos de mi vida, quienes se sacrificaron para que cumpliera mi sueño y con su dedicación, apoyo y cariño me acompañaron en mis estudios.

A mi hermano Francis Guevara por su amor, incondicional por ser un pilar fundamental en mi vida y ayudarme a mantener el equilibrio en mi carrera

A Wilmer Flamenco y a su familia quienes me brindaron su apoyo, comprensión ayuda en todo momento y a quienes agradezco de manera especial su trato profesional y personal hacia mi persona.

A la memoria de mi abuelita Carmen, que con su gran amor y sus oraciones me permitieron ser una mejor persona.

Y sobre todo dedico este triunfo a Dios, por permitirme crecer, lograr mis metas, y por las oportunidades que ha puesto en mi camino.

GLEND A GUEVARA AVALOS

INDICE

	Pág.
Capitulo I	
1.0 Introducción.	xx
Capítulo II	
2.0 Objetivos.	
Capítulo III	
3.0 Marco Teórico.	25
3.1 Reseña histórica.	25
3.2 Desinfectantes.	26
3.3 Niveles de desinfección.	27
3.4 Factores que modifican la acción de los desinfectantes.	29
3.5 Clasificación de los desinfectantes de acuerdo a su mecanismo de acción.	33
3.5.1 Agentes que lesionan la membrana celular.	33
3.5.2 Agentes que desnaturalizan proteínas.	35
3.6 Requisitos generales de un desinfectante.	37
3.7 Mecanismos de resistencia bacteriana.	39
3.7.1 Mecanismos de resistencia intrínseca bacteriana.	40
3.7.2 Mecanismos de resistencia adquirida.	41

3.8 Valoración de los desinfectantes químicos.	42
3.8.1 Coeficiente de fenol ó Coeficiente fenólico.	43
3.8.2 Método difusión en agar según Kirby Bauer.	43
3.8.3 Ensayos de dilución neutralización.	44
3.8.3.1 Factores que afectan la neutralización de los agentes antimicrobianos.	46
3.8.3.2 Eficacia del Neutralizante.	46
3.9 Microorganismos empleados en los test.	47
3.10 Generalidades de las soluciones.	47
3.10.1 Principales solventes usados.	49
3.10.2 Pruebas de control de calidad para soluciones.	50
Capítulo IV	
4.0 Diseño metodológico.	52
4.1 Diseño de la investigación.	52
4.2 Investigación bibliográfica.	52
4.3 Investigación de campo.	53
4.4 Parte experimental.	53
4.4.1 Controles en proceso.	62
4.4.2 Control del producto terminado.	63
4.4.2.1 Eficacia antimicrobiana mediante el método dilución-neutralización.	63

Capítulo V	
5.0 Resultados y discusión.	76
5.1 Formulación de los desinfectantes.	76
5.1.1 Desinfectante a base de Glutaraldehído 2%.	76
5.1.2 Desinfectante a base de Ácido peracético 0.26%.	78
5.1.3 Desinfectante a base de Gluconato de Clorhexidina 4%.	79
5.2 Control de calidad de producto terminado.	81
5.2.1 Evaluación de la eficacia antimicrobiana Método Dilución-Neutralización.	82
5.2.1.1 Identificación de las cepas de trabajo.	82
5.2.1.2 Preparación de la suspensión de ensayo y validación.	84
5.2.1.3 Evaluación de las condiciones Experimentales.	86
5.2.1.4 Verificación de la ausencia de toxicidad de los neutralizantes.	87
5.2.1.5 Verificación del método Dilución Neutralización.	89
5.2.1.6 Ensayo Na. Método Dilución Neutralización.	92
5.3 Comparación de la eficacia antimicrobiana de los desinfectantes elaborados.	99
5.4 Diseño de las etiquetas.	104

Capítulo VI

6.0 Conclusiones.	110
-------------------	-----

Capítulo VII

7.0 Recomendaciones.	114
----------------------	-----

Bibliografía.

Anexos.

INDICE DE CUADROS

CUADRO N°	Pág.
1. Niveles de actividad de desinfección de desinfectantes.	29
2. Fórmula cualitativa y cuantitativa del desinfectante a base de Glutaraldehido 2%.	54
3. Fórmula cualitativa y cuantitativa del desinfectante a base de Ácido Peracético 0.26%.	57
4. Fórmula cualitativa y cuantitativa del desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina 4%.	61
5. Evaluación de las características organolépticas de los desinfectantes a base de Glutaraldehido al 2%.	76
6. Evaluación de las características organolépticas de los desinfectantes a base de Ácido peracético al 0.26%.	78
7. Evaluación de las características organolépticas de los desinfectantes a base de Gluconato de clorhexidina al 4%.	79
8. Identificación de las cepas de trabajo.	82

INDICE DE TABLAS

TABLA N°	Pág.
1. Valores de absorbancia, Vc y UFC/mL de las Suspensiones del Ensayo.	84
2. Valores Vc y UFC/mL en la suspensión de control.	85
3. Parámetro A: Controles de las condiciones experimentales seleccionadas, temperatura 20°C; t: 5, 10 y 15 minutos	86
4. Parámetro B: Verificación de la ausencia de la toxicidad del Neutralízate "A" valores Vc UFC.	88
5. Parámetro B: Verificación de la ausencia de la toxicidad del Neutralízate "B" valores Vc y UFC.	89
6. Verificación del método dilución- neutralización del desinfectante a base de Glutaraldehido al 2 %. Valores Vc UFC a 20°C.	89
7. Verificación del método dilución- neutralización del desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina al 4 %.	90
8. Verificación del método dilución- neutralización del desinfectante a base de ácido peracético al 0.26%.	91
9. Valores Vc1 y Vc2 UFC obtenidos en el ensayo del desinfectante a base de Glutaraldehido 2%.	92
10. Ensayo Na1 y reducción logarítmica: Determinación de la actividad bactericida del desinfectante a base de Glutaraldehido 2%.	94

11. Ensayo Na2 y reducción logarítmica: Determinación de la actividad bactericida del desinfectante a base de Glutaraldehido 2%.	94
12. Valores Vc (UFC) obtenidos en el ensayo del desinfectante a base de Ácido peracético 0.26%.	95
13. Ensayo Na1: Determinación de la actividad bactericida del desinfectante a base de Ácido peracético 0.26%.	95
14. Ensayo Na2: Determinación de la actividad bactericida del desinfectante a base de Ácido peracético 0.26%.	96
15. Valores Vc UFC obtenidos en el ensayo para el desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina 4%.	97
16. Determinación de la actividad bactericida del producto para el desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina 4%.	97
17. Ensayo Na2: Determinación de la actividad bactericida del desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina 4%.	98

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°	Pág.
1. Esquema de resistencia de microorganismos.	41
2. Desinfectantes elaborados.	81
3. Identificación de las cepas de trabajo.	83
4. Espectrofotómetro UV-Visible.	85
5. Gráfico reducción logarítmica Vrs. tiempo de contacto para la <i>E. coli</i> con los desinfectantes: Glutaraldehido 2%, Ácido Peracético 0.26% y Gluconato de clorhexidina 4%.	99
6. Gráfico reducción logarítmica Vrs. tiempo de contacto para la <i>Salmonella choleraesuis</i> con los desinfectantes: Glutaraldehido 2%, Ácido peracético 0.26% y Gluconato de clorhexidina 4%.	100
7. Gráfico reducción logarítmica Vrs. tiempo de contacto para la <i>Pseudomona aeruginosa</i> de los desinfectantes Glutaraldehido 2%, Ácido peracético 0.26% y Gluconato de clorhexidina 4%.	101
8. Gráfico reducción logarítmica Vrs. tiempo de contacto para el <i>Staphylococcus aureus</i> con los desinfectantes: Glutaraldehido 2%, Ácido peracético 0.26% y Gluconato de clorhexidina 4%.	102
9. Gráfico reducción logarítmica Vrs. tiempo de contacto para la <i>Listeria monocytogenes</i> con los desinfectantes: Glutaraldehido 2%, Ácido peracético 0.26% y Gluconato de clorhexidina 4%.	103

10. Etiqueta para el desinfectante a base de Glutaraldehido 2%.	106
11. Etiqueta para el desinfectante a base de Acido peracético 0.26%.	107
12. Etiqueta para el desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina 4%.	108

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

1. Procedimientos de Operación (POES).
2. Monografías.
3. Diseño Metodológico.
4. Cálculos.
5. Neutralizantes.
6. Hoja de requisición de materia prima.
7. Fotografías de elaboración de desinfectantes.
8. Fotografías de Controles en proceso y producto terminado.
9. Hojas de seguridad de los principios activos.

ABREVIATURAS

AENOR	Asociación Española de Normalización y Certificación.
UFC	Unidades formadores de colonias.
UFC/mL	Unidades formadoras de colonia por mililitro.
Vc	Todos los datos obtenidos en los recuentos.
A	Control de las condiciones experimentales.
B	Control del neutralizador.
C	Validación del método dilución-neutralización.
Na1	Número de supervivientes por ml en la mezcla de ensayo de la réplica 1.
Na2	Número de supervivientes por ml en la mezcla de ensayo de la réplica 2.
N	Número de células por ml en la suspensión de ensayo.
N ₀	Número de células por ml de la mezcla de ensayo.
N _v	Número de células por ml en la suspensión de validación.
N _{v0}	Número de células por ml en las mezclas A, B y C.
R	Reducción logarítmica del desinfectante.
TDLS-0	Tesis desinfectantes, limpieza y sanitización.
TDG-1	Tesis desinfectantes, Glutaraldehido.
TDA-:	Tesis desinfectantes, Ácido peracético.
TDC-1	Tesis desinfectantes, Gluconato de clorhexidina.

RESUMEN

La estabilidad de los desinfectantes es importante y esencial para enfrentar la cadena de transmisión de infecciones. En este estudio el objetivo fue elaborar tres desinfectantes de alta potencia y estables, los cuales fueron un desinfectante a base de Acido peracético al 0.26%, otro a base de Glutaraldehido al 2% y un tercero a base de Gluconato de clorhexidina al 4%.

Se elaboraron tres pre formulaciones por cada principio activo, de las cuales la que presento mejores características organolépticas por cada uno de los activos se les evaluó su efectividad antimicrobiana utilizando el método de dilución neutralización. Los microorganismos de ensayo fueron: ***Escherichia coli***, ***Staphylococcus aureus***, ***Pseudomona aeruginosa***, ***Salmonella choleraesuis*** y ***Listeria monocytogenes***. Los resultados obtenidos demostraron una reducción logarítmica superior a cinco, evidenciando la actividad bactericida ejercida por los desinfectantes frente a los microorganismos. El ensayo se realizó después de 30 días de la elaboración de estos, por lo cual se logró elaborar desinfectantes estables con mayor vida útil de los que se comercializan en la actualidad.

Se recomienda que al momento de utilizar estos desinfectantes las personas tomen las medidas indicadas en la etiqueta para su manipulación.

CAPITULO I

INTRODUCCION

Los desinfectantes reducen los organismos nocivos a un nivel que no dañan la salud ni la calidad de los bienes perecederos. Entre estos se utilizan: Glutaraldehido, Acido peracético, Clorhexidina entre otros.

Estos desinfectantes presentan un amplio espectro de acción, pero tienen el inconveniente que sus soluciones son inestables, en el caso del glutaraldehido para que sea un desinfectante de alto nivel sus soluciones deben tener pH básicos, pero a este pH los grupos carbonilos se polimerizan y por lo tanto pierden la efectividad antimicrobiana. El ácido peracético en soluciones diluidas se hidroliza y pierde la eficacia. Debido a esto, la vida útil tanto del glutaraldehido y ácido peracético es aproximadamente 15 días; por lo que los fabricantes para evitar esto, venden las soluciones desinfectantes en dos contenedores separados o a una concentración relativamente elevada, que le daña al manipulador.

Por lo antes expuesto en esta investigación se elaboraron tres productos desinfectantes estables, un desinfectante a base glutaraldehido, otro a base de ácido peracético y un tercero a base de clorhexidina que actualmente tiene uso limitado como antiséptico, pero que puede ofrecer altos beneficios al utilizarlo como desinfectante por su amplio espectro de acción.

Se diseñaron tres pre-formulaciones de cada principio activo a las cuales se les realizaron controles en proceso y al producto terminado como pH,

transparencia, color, olor. De las tres pre-formulaciones de cada principio activo se eligió la que presentó mejores características físicas y a éstas se les evaluó su efectividad antimicrobiana utilizando el método de dilución neutralización según la norma europea UNE-EN1040-2006. El ensayo se efectuó utilizando ***Escherichia coli*** ATCC 8739, ***Staphylococcus aureus*** ATCC 29737, ***Pseudomona aeruginosa*** ATCC 9027, ***Salmonella choleraesuis*** ATCC 9812B1 y ***Listeria monocytogenes*** ATCC 13952, como microorganismos de ensayo. La temperatura bajo la cual se realizó el ensayo fue de 20 ± 1 °C y se emplearon tres tiempos de contacto entre el desinfectante y el microorganismo de prueba (5, 10, 15 minutos).

Los resultados obtenidos demostraron una reducción logarítmica superior a cinco a los 15 minutos de contacto, evidenciando la actividad bactericida ejercida por los desinfectantes frente a los microorganismos de prueba.

Esto se llevó a cabo en un Laboratorio Privado y en el Laboratorio de Análisis Físico Químico y de Microbiología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador.

CAPITULO II

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Formular tres productos desinfectantes y evaluación de su actividad antimicrobiana.

2.2 Objetivos Específicos

- 2.2.1** Fabricar tres pre-fórmulas desinfectantes estables a base de cada principio activo: Ácido Peracético 0.26 %, Glutaraldehido 2% y Clorhexidina 4 %.
- 2.2.2** Realizar los controles en proceso de cada pre-formulación y en producto terminado de aquellas que presentaron mayor estabilidad.
- 2.2.3** Evaluar la eficacia antimicrobiana de la formulación ideal seleccionada de cada principio activo aplicando el método Dilución-Neutralización.
- 2.2.4** Comparar la eficacia antimicrobiana de los desinfectantes elaborados para poder determinar cuál es el que posee el más amplio espectro antimicrobiano.
- 2.2.5** Diseñar la etiqueta de la presentación final de los desinfectantes elaborados.

CAPITULO III

3.0 MARCO TEORICO

3.1 Reseña histórica.

Las nociones de la sanitización y desinfección no son únicas de la era moderna, ya que muchos de los productos utilizados hoy en día ya eran conocidos por griegos y romanos, mientras que otros fueron introducidos durante la edad media. Sin embargo, el auge de estos productos se produjo durante el siglo XIX y primeros años de XX. ⁽³⁾

Es interesante conocer los aspectos más importantes de la historia de la esterilización, sobre todo hasta su intersección con la de la bacteriología.

La purificación de ambientes, la conservación de alimentos, el culto de los muertos, la defensa contra la peste, significaron el empleo de un conjunto de medidas empíricas, conocidas por lo menos desde los egipcios, entre las cuales se mezclan los ritos religiosos con recursos tales como el empleo del fuego, las fumigaciones, sobre todo las producidas por la combustión de plantas aromáticas, resinosas y de las resinas mismas. Indudablemente que entre estas medidas, una selección natural llevo al empleo de desinfectantes químicos, como alquitranes, el azufre, el salado, el vinagre. ^(3,15)

Ignatz Semmelwies (1819-1865), un médico húngaro que trabajaba en Viena, y Joseph Lister (1827-1912), un médico inglés, fueron los primeros que introdujeron el concepto de control de los microorganismos ya que ellos obligaban a todo el personal a lavarse las manos en una solución de lejía al momento de entrar a una cirugía este procedimiento hizo disminuir significativamente la tasa de infecciones.⁽¹⁵⁾

Los procedimientos actuales son mucho más sofisticados y eficaces y se utilizan no sólo para controlar los organismos que provocan enfermedades sino también para eliminar el crecimiento microbiano que conduce al deterioro de los alimentos. Los agentes químicos comprenden varios grupos de sustancias que destruyen o inhiben el crecimiento microbiano en las superficies corporales o en objetos inanimados.⁽³⁾

3.2 Desinfectantes

La desinfección se define como la destrucción de la mayoría de microorganismos presentes en superficies y equipos pero no de esporas bacterianas. En consecuencia un desinfectante no ha de matar necesariamente todos los microorganismos, pero si reducirá su número a un nivel aceptable, que no dañan la salud ni la calidad de los bienes perecederos. Por lo tanto un desinfectante es un agente químico con actividad germicida sobre

microorganismos patógenos; se aplican sobre objetos inanimados, como instrumentos y superficies, para tratar y prevenir las infecciones. (11,26)

Los desinfectantes modernos son complejas formulaciones de sustancias químicas, jabones, detergentes y compuestos que ayudan a la penetración de los principios activos a las células bacterianas. A medida que se avanza en el desarrollo de los desinfectantes se observó que se le podían añadir algunos aditivos en la misma formulación, como ciertos productos que actualmente combinan un detergente con un desinfectante. (23)

3.3 Niveles de desinfección: (14,26)

Spaulding destacó la importancia de la desinfección y propuso tres niveles o grados de desinfección. Estos niveles propuestos (alto, intermedio y bajo) se basan en el hecho de que los microorganismos pueden clasificarse en grupos de acuerdo a su resistencia intrínseca a los desinfectantes químicos.

– Desinfección de alto nivel:

Destruye las formas bacterianas vegetativas, los hongos, las micobacterias y los virus, sobreviviendo algunas endoesporas bacterianas. Esta menor actividad esporicida es el aspecto que diferencia a la desinfección de alto nivel de la esterilización química. Algunos desinfectantes de alto nivel pueden destruir un elevado número de esporas bacterianas a elevadas concentraciones y un tiempo de exposición prolongado, convirtiéndose así en esterilizantes químicos.

Varios productos biocidas se han clasificado en esta categoría, entre ellos se incluyen: el glutaraldehido alcalino al 2% y el peróxido de hidrogeno al 6-8% y varias presentaciones de ácido peracético. (26)

– **Desinfección de nivel intermedio**

Provocan la destrucción de las formas bacterianas vegetativas, los virus lipídicos y los hongos, pero pueden sobrevivir los virus no lipídicos y las micobacterias, así como las esporas bacterianas. Ejemplos de desinfectantes de nivel intermedio son los alcoholes (70-90%), los compuestos clorados y los fenólicos en distintas formulaciones y concentraciones. (26)

– **Desinfección de bajo nivel**

Elimina las formas bacterianas vegetativas y los virus lipídicos, pero no eliminan, en tiempos prácticos de uso, todas las formas fúngicas, las micobacterias, los virus no lipídicos y las esporas bacterianas. Un ejemplo de desinfectante de bajo nivel lo constituyen los derivados de amonio cuaternario.

(26)

Cuadro N° 1: Niveles de actividad de desinfección de algunos desinfectantes.

Producto	Concentración	Nivel de actividad
Gluteraldehido	>2	Intermedio- alto
Ortoftalaldehido(OPA)	0.5%	Alto
Peróxido de hidrogeno	3-6%	Intermedio-alto
Formaldehido	1-8%	Alto-bajo
Acido Peracético	Variable	Alto
Derivados de cloro	500-5.000ppm de cloro disponible	Intermedio
Alcoholes	70% (etanol e isopropanol)	Intermedio
Fenoles	0.5-3.0%	Intermedio-bajo
Compuestos Yodados	30-50mg/L	Intermedio-bajo
Cloruro de benzalconio	0.1-0.2%	Bajo

3.4 Factores que modifican la acción de los desinfectantes

La efectividad de un agente desinfectante es afectada en gran medida por las condiciones siguientes:

– **Resistencia intrínseca del microorganismo:**

Capacidad de modificar el pH del medio, y de producir algunas enzimas que puedan degradar estos agentes, entre otros. ^(3,26)

– **Cantidad de microorganismos presentes:**

La cantidad de microorganismos, influyen en la concentración de desinfectante, por lo que es importante reducir la carga microbiana con un lavado previo y con el uso de detergentes, antes de la desinfección. (3,26)

– **Tipo de microorganismo y condiciones de crecimiento.**

Los desinfectantes deben tener el más amplio espectro posible en contra bacterias, hongos, virus y esporas. Y deberá tener una acción biocida en contra de los microorganismos en una variedad de condiciones y estadios de crecimiento. (3,26)

– **Material orgánico e inorgánico presente**

La materia orgánica puede actuar no específicamente con el desinfectante consumiendo parte del producto aplicado, lo que hace disminuir su concentración efectiva por lo que hay una pérdida de su potencial biocida.

Algunos desinfectantes pueden ser también afectados por materia inorgánica, como las sales presentes en el agua dura, además, en una forma no reactiva, la materia orgánica e inorgánica forma una barrera protectora, de tal manera que los microorganismos son protegidos del efecto del desinfectante. (4)

Entre los desinfectantes cuya actividad inhibitoria disminuye enormemente por la presencia de material orgánico con alto contenido proteico se encuentran las

anilinas mercuriales y los detergentes catiónicos. Los mercuriales se ven notablemente inhibidos por compuestos que contienen grupos sulfidrilos y los compuestos de amonio cuaternario son inhibidos por jabones y lípidos. (13)

– **Concentración y estabilidad del agente.**

Las diferentes diluciones de un agente hacen que se modifique su actividad.

Muchos agentes son letales para las bacterias solo cuando se utilizan en concentraciones extremadamente elevadas. Otros desinfectantes pueden estimular, retardar o incluso destruir microorganismos en concentraciones más bajas. Muchos de los compuestos químicos que son letales para las bacterias presentan un efecto bacteriostático en concentraciones más bajas. También se observa una notable tendencia con los agentes tóxicos para estimular procesos biológicos cuando se emplean a bajas concentraciones. Sin embargo la concentración requerida para producir un efecto dado, así como el espectro de concentración con el cual es demostrable, varía con el desinfectante, el microorganismo y el método de prueba.(11,26)

– **Tiempo y temperatura de exposición del agente**

Para la reacción entre el desinfectante y los microorganismos es un requisito indispensable el contacto entre ambos. Para ello, un tiempo de contacto suficiente es crítico para asegurar la desinfección en la mayoría de los casos,

siendo generalmente aceptado un mínimo de cinco minutos. Generalmente al aumentar el tiempo de contacto, aumenta la tasa de letalidad. (1,4)

En lo que respecta a la temperatura, la destrucción de bacterias por agentes químicos, es directamente proporcional al aumento en la temperatura. Por cada 10 grados Celsius de incremento de temperatura, la tasa de mortalidad se duplica. (12)

– pH

La concentración de iones hidrogeno influye sobre la acción bactericida, afectando tanto al microorganismo como al agente químico.

Cuando se suspenden en un medio de cultivo las bacterias están negativamente cargadas; un aumento del pH incrementa la carga y puede alterar la concentración efectiva del agente químico en la superficie de la célula. El pH también determina el grado de ionización del agente. En general, la forma no ionizada de un agente disociable pasa a través de la membrana celular más fácilmente que las formas iónicas relativamente inactivas. (4,13)

– Naturaleza del objeto a desinfectar

Algunos desinfectantes pueden atacar los metales o alterar las lentes o las gomas de determinados instrumentos. Habrá que tener en cuenta la compatibilidad con los diferentes desinfectantes de los objetos a desinfectar. (3)

3.5 Clasificación de los desinfectantes de acuerdo a su mecanismo de acción.⁽⁴⁾

Los mecanismos por los cuales las sustancias desinfectantes destruyen o inhiben el crecimiento de los microorganismos son variados y complejos. Sin embargo, en general todos los efectos observables de los desinfectantes sobre las bacterias son resultado de cambios en sus componentes macromoleculares. Basándonos en lo anterior podemos clasificar a los desinfectantes de la siguiente forma:

3.5.1 Agentes que lesionan la membrana celular.

La membrana celular separa el protoplasma viviente del medio ambiente no viviente y regula el flujo de solutos hacia y desde la célula.

La integridad estructural de la membrana depende de la ordenada disposición de las proteínas y lípidos que la componen. La exposición de los microorganismos a solventes y detergentes orgánicos da como resultado una desorganización estructural de la membrana e interferencia con la función normal de la misma. Entre estos tenemos:

Desinfectantes con actividad superficial.

Conocidos también con el nombre de agentes tensioactivos, los cuales son sustancias que alteran las relaciones energéticas a nivel de las interfases,

produciendo una reducción de la tensión interfásica de la superficie. Son compuestos que poseen grupos que atraen el agua (hidrófilos) y que la repelen (hidrófobos). La interfase entre la membrana que contiene lípidos de una célula bacteriana y el medio acuoso circundante proporciona un blanco susceptible para los agentes de este tipo. La porción hidrófoba de la molécula es un hidrocarburo de cadena larga liposoluble mientras que la porción hidrófila puede ser un grupo ionizable o una estructura no iónica pero altamente polar, entre los que se incluyen:

- **Sustancias catiónicas:** Compuestos de amonio cuaternario. Cuando las bacterias son expuestas a agentes de este tipo, el grupo positivamente cargado se asocia a grupos fosfatos de los fosfolípidos de la membrana, mientras la porción no polar penetra hacia el interior hidrófobo de la membrana produciendo una pérdida de la semipermeabilidad de la membrana y filtración desde la célula, de nitrógeno y compuestos que contienen fósforo. Entonces el propio agente puede ingresar en la célula y desnaturalizar sus proteínas.
- **Sustancias no iónicas:** Presentan un efecto solubilizante no específico sobre la membrana citoplasmática que separa selectivamente las proteínas de la pared y membrana celular.
- **Sustancias anfóteras:** no ha sido aun determinado el mecanismo de acción de estas sustancias, ya que continúa siendo tema de controversia la

efectividad de este grupo de agentes, a pesar de los informes de que es igualmente efectiva que los amonios cuaternarios catatónicos.

- **Compuestos fenólicos:** Estos compuestos provocan lesión de la membrana con filtración del contenido celular y lisis.

Con bajas concentraciones que son rápidamente bactericidas, las oxidasas y deshidrogenasas unidas a la membrana se inactivan en forma irreversible.

- **Alcoholes:** Desorganizan la estructura lipídica penetrando en la región hidrocarbonada. Además de su efecto sobre la membrana celular, los alcoholes y otros solventes orgánicos también desnaturalizan las proteínas celulares.

3.5.2 Agentes que desnaturalizan las proteínas.

Las proteínas son las moléculas orgánicas más abundantes en una célula bacteriana, y son fundamentales para todos los aspectos de la estructura y función de la célula. Los agentes que alteran la configuración de una proteína por desnaturalización, provocan un desdoblamiento de la célula polipeptídica de forma tal que las cadenas aparecen enrolladas al azar y en forma irregular. Entre los agentes químicos que desnaturalizan las proteínas celulares están:

a) Ácidos y álcalis:

Estos agentes ejercen su actividad antibacteriana a través de sus iones hidrógenos y oxidrilos libres a través de moléculas no disociadas o alterando el pH del medio ambiente del microorganismo.

b) Agentes que modifican los grupos funcionales de proteínas y ácidos nucleicos.

El sitio catalítico de una enzima contiene grupos funcionales específicos que se unen con el sustrato e inician los eventos catalíticos. Se produce una inhibición de la actividad enzimática si uno o más de estos grupos funcionales son alterados o destruidos. Entre los agentes químicos que modifican los grupos funcionales de las células tenemos:

- **Metales pesados:** Las sales solubles de mercurio, arsénico, plata y otros metales pesados, alteran la actividad enzimática formando mercaptanos con grupos sulfidrilos de residuos de cisteína.
- **Agentes oxidantes:** los agentes antimicrobianos más útiles en este grupo son los halógenos y el peróxido de hidrogeno. Inactivan las enzimas convirtiendo los grupos –SH funcionales en forma S-S oxidada. Los agentes más fuertes atacan grupos amino, indol y el grupo hidroxifenólico de la tirosina.

- **Tinturas:** Presentan una notable afinidad por grupos fosfatos acíclicos de las nucleoproteínas y otros componentes celulares.
- **Agentes alquilantes:** Los efectos letales del formaldehído, oxido de etileno y Glutaraldehido son resultado de su acción alquilante sobre las proteínas. Las inhibiciones producidas por tales agentes son irreversibles, dando como resultado la modificación e inhibición de la actividad enzimática.

3.6 Requisitos generales de un desinfectante⁽²⁶⁾

Los desinfectantes sirven para combatir adecuadamente los microorganismos. En lo referente a su utilización, un desinfectante debe cumplir una extensa serie de requisitos:

El desinfectante como producto concentrado:

- Alto contenido de principio activo
- Buena capacidad de transporte y estabilidad en el almacenado
- Buena solubilidad, miscibilidad y dosificación en la preparación de las diluciones habituales.

Propiedades del desinfectante en solución:

- Breve plazos de destrucción de gérmenes con bajas concentraciones, también a bajas temperaturas.
- Igual acción sobre todas las especies de microorganismos.

- Facilidad de dispersión.
- Control sencillo, y si es posible automatizado.
- Ningún ataque a los materiales tratados.

Comportamiento en lo referente a residuos y otras precauciones:

- Ligera inactivación tras dejar sentir su efecto.
- Prolongada acción protectora sobre las superficies tratadas
- Inocuidad de los residuos para el hombre, animales y entorno
- Buena capacidad de enjuagado de las superficies tratadas
- Inocuidad de las aguas residuales

Todas estas especificaciones no pueden cubrirse a la vez, ya que algunas de ellas se contraponen entre sí, como por ejemplo la capacidad de adherencia y la facilidad de enjuagado y en lo referente a estabilidad y posibilidad de inactivación.

Las sustancias desinfectantes tienen como misión matar los gérmenes. Deben contar por ello con una suficiente capacidad de reacción con los componentes importantes para la vida de los microorganismos, es decir, desnaturalizar sus sustancias constitutivas o interrumpir sus procesos metabólicos. Los paralelismos existentes entre los componentes de los microorganismos y el cuerpo humano, excluyen la existencia de una estricta eficacia antimicrobiana

sin acciones secundarias ya que la analogía de los mecanismos metabólicos de todos los seres vivos no permite acciones limitadas a los microorganismos.

3.7 Mecanismos de resistencia bacteriana.

Podemos considerar que, en general, existen dos mecanismos de resistencia a los biocidas. Uno considerado como un mecanismo de “insensibilidad” intrínseco, cuando el desinfectante es incapaz de alcanzar su diana de acción en concentraciones suficientemente elevadas para producir un efecto letal. Así por ejemplo las esporas bacterianas, las micobacterias y las bacterias gram-negativas como *P. aeruginosa*, o las del género *Proteus* son intrínsecamente resistentes a muchos desinfectantes. Esta resistencia, esta asociada en gran medida a impermeabilidad celular, aunque también puede ser causada por la existencia de enzimas de tipo degradativo. Una situación especial es aquella que acontece en las bacterias que integran biofilms, presentan resistencia intrínseca debido a mecanismos resultantes de la adaptación fisiológica o fenotípica de las células. (5,16)

El otro mecanismo es la resistencia adquirida, ésta puede aparecer como consecuencia de una mutación, o por la adquisición de elementos genéticos externos (plásmidos o transposones). Este tipo de resistencia no se ha asociado a esporas ni a micobacterias, pero si a bacterias gram-negativas y a *estaphylococcus*. (5,16)

3.7.1 Mecanismos de resistencia intrínseca bacteriana.

Las bacterias gram-negativas son más resistentes a los biocidas que las bacterias gram-positivas no esporuladas. Existe una marcada diferencia entre la cantidad mínima inhibitoria de *S. aureus* y de *E. coli* a hexaclorofeno, diamidinas y triclosan, pero poca en cuanto a la clorhexidina. Entre las bacterias gram-negativas *P. aeruginosa* y *Proteus spp* son las especies más resistentes a estos agentes, incluida la clorhexidina. (5,16)

La pared celular de los estafilococos está compuesta esencialmente por peptidoglicano y ácidos teicoicos, que no impiden la penetración de los biocidas. Las moléculas de elevado peso molecular como la clorhexidina atraviesan dicha barrera en el caso de los *Staphylococcus* y *Bacillus spp*. Lo que explica la sensibilidad de estos microorganismos a la clorhexidina.

La asociación de un microorganismo con una superficie sólida genera un biofilm o capa biológica, definible como un acumulo de microorganismos organizados dentro de un exopolímero polisacárido. Estos biofilms son importantes porque generan biocorrosión, agua de escasa calidad y sobre todo por ser posibles reservorios para la contaminación nosocomial. (5)

Hay varias razones que explican las diferencias en la resistencia bacteriana en un biofilm: acceso reducido del desinfectante, interacción química entre el desinfectante y el propio biofilm, producción de enzimas degradativas y neutralizantes químicos e intercambio genético entre las células. (5)

3.7.2 Mecanismos de resistencia adquirida

El uso inadecuado de desinfectantes químicos en realidad podría fortalecer y hacer más resistentes con el tiempo a las bacterias que se trata de eliminar.

Cuando estas sustancias químicas se utilizan en concentraciones inferiores a las letales, las bacterias pueden sobrevivir y con el tiempo hacerse resistentes a la sustancia. (16)

La resistencia adquirida es conseguida por mutación o adquisición de plásmidos (autorreplicación, ADN extracromosómico) o transposones (cromosomal o integrado en plásmidos, cassettes de ADN transmisibles). Los genes de resistencia naturales en plásmidos, se originan como mutaciones puntuales en los genes blanco (sitios de inserción de los genes de resistencia) de bacterias susceptibles y también de genes que les proveen protección contra otras bacterias. (16)

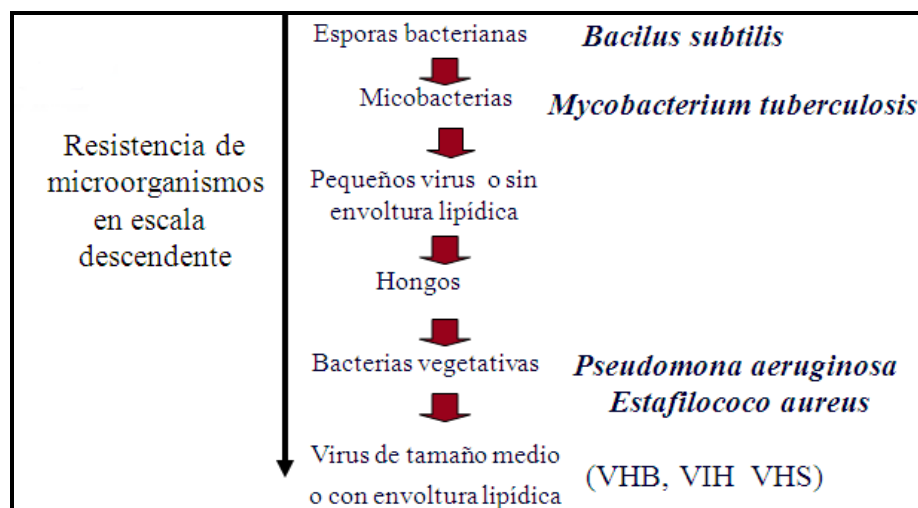


Figura N°1 : Esquema de resistencia de microorganismos en orden descendente.

3.8 Valoración de los desinfectantes químicos

Hay varios métodos para valorar la capacidad de desinfección de las sustancias químicas. Se describirá solamente algunos métodos.

3.8.1 Coeficiente de fenol ó Coeficiente fenólico. ⁽⁶⁾

Es uno de los métodos más antiguos, elaborado para emplearse solamente en la comparación de compuestos que actúan en bacterias en la misma forma que lo hace el fenol, esto es, cresoles y otros derivados u homólogos mayores del fenol. Este método se aplicó después a sustancias químicas que actúan por otros mecanismos, y de ello se obtuvo y publico gran cantidad de datos inútiles o desorientados.

El conocimiento correcto de lo anterior condujo a la introducción de otros métodos de valoración.

El coeficiente fenólico es una cifra para comparar las diluciones de fenol y de otras sustancias químicas que tengan capacidad germicida equivalente para un microorganismo específico en estudio, sea ***S. aureus*** o ***Salmonella typhi***.

Se prepara una serie de tubos conteniendo cada uno 5 ml de diferentes diluciones del desinfectante. A la vez se prepara una segunda serie de tubos que contengan diferentes diluciones de fenol. Cada tubo de las dos series se inocula con 0,5 ml de un cultivo de 24 horas del microorganismo utilizado como

prueba (cepas específicas de *Salmonella thypi* o *Staphylococcus aureus*). A los 5, 10 y 15 minutos se recoge una cantidad alícuota de cada tubo que se inocula en otro tubo que contenga medio de cultivo estéril. Estos tubos inoculados se incuban durante 24 a 48 horas y se observa el crecimiento del microorganismo (aparición de turbidez). La mayor dilución del desinfectante que mate a los microorganismos en 10 minutos pero no los mate en 5 minutos se divide por la dilución mayor de fenol que dé los mismos resultados. El número obtenido es el coeficiente fenólico de ese desinfectante.

3.8.2 Método difusión en agar según Kirby Bauer^(3,7)

Las primeras pruebas se realizaron inoculando la superficie de una placa de agar con el microorganismo en estudio, colocando pequeñas cubetas (de metal o vidrio) sobre el agar y agregando las soluciones de los diferentes antimicrobianos dentro de dichas cubetas. Los agentes antimicrobianos difundían en el medio en forma radial alrededor de la cubeta e inhibían el desarrollo del microorganismo en la zona donde su concentración era suficientemente alta. Las áreas de inhibición grandes indicaban una actividad antimicrobiana más efectiva.

Este método fue modificado en 1947 por Bondi y col. incorporando el agente antimicrobiano a discos de papel de filtro. Fue un paso adelante gigantesco ya que el uso de los discos de papel permitía preparar un gran número de pruebas idénticas y almacenarlas para uso futuro.

El microorganismo a investigar se inocula en una o varias placas de agar y sobre su superficie se disponen los discos correspondientes a la sustancia a ensayar. Se incuban las placas durante 16-24 horas a 35°C y al cabo de este tiempo se estudia el crecimiento en ellas. Se valora el diámetro de la zona de inhibición que se forma alrededor de cada disco.

3.8.3 Ensayos de dilución neutralización:

Este ensayo consiste en mezclar un determinado inóculo microbiano con una determinada dilución de desinfectante y después de un tiempo de contacto, transferir alícuotas de la mezcla microorganismos-desinfectantes a un medio que contenga el neutralizante del desinfectante. (1,2)

Estos ensayos pueden ser:(1,2)

- Cualitativos: cuando se detecta presencia o ausencia de microorganismos supervivientes en los subcultivos
- Cuantitativos: cuando se realiza el recuento del número de microorganismos supervivientes con respecto al inóculo inicial.

Los ensayos cualitativos fueron muy utilizados en el pasado, pero actualmente se prefieren los ensayos cuantitativos porque dan una información de mayor utilidad. Mediante estos ensayos se puede determinar la reducción del inóculo

inicial conseguida por el desinfectante en una determinada dilución y en un determinado tiempo de contacto.

Estos ensayos pueden realizarse con varias concentraciones del desinfectante y con distintos tiempos de contacto, en presencia o ausencia de materia orgánica y con diferente dureza del agua. ⁽¹²⁾

La recuperación de los microorganismos puede realizarse por cultivo directo en un medio sólido o por filtración sobre membrana. El recuento por cultivo directo se requiere la neutralización del desinfectante y por tanto ensayos previos para determinar cuál es el neutralizante ideal para cada caso; son los denominados ensayos de dilución-neutralización. ⁽¹⁾

Cuando no se halla un neutralizante adecuado para el desinfectante, se puede recurrir a la técnica de filtración sobre membrana para el recuento de microorganismos viables. El número de microorganismos supervivientes en los subcultivos se comparan con el número de microorganismos presentes en un control en el que el desinfectante se sustituye por agua destilada estéril u otro tipo de diluyente. ⁽¹⁾

De acuerdo con las técnicas normalizadas (AENOR, 1997; AFNOR, 1995), para el método de dilución-neutralización se parte de una suspensión bacteriana que debe contener entre 1×10^8 y 3×10^8 bacterias/ml. La tasa de reducción logarítmica o efecto biocida es la diferencia entre el logaritmo base 10 del número de unidades formadoras de colonias (UFC) recuperadas en el control y

el número de UFC recuperadas después de la exposición con el desinfectante. La reducción logarítmica exigida en los diferentes ensayos de suspensión cuantitativa está comprendida entre 3 y 5 log₁₀, en función fundamentalmente de los microorganismos de ensayo. ⁽¹⁾

3.8.3.1 Factores que afectan la neutralización de los agentes antimicrobianos

Existen tres criterios que deben tener en cuenta en el diseño de un estudio de neutralización:

1. El neutralizante debe inhibir efectivamente la acción de la solución desinfectante.
2. El neutralizante no debe ser por si mismo toxico para los microorganismos de ensayo.
3. El neutralizante y el agente activo no se deben combinar para formar un compuesto toxico. ⁽¹⁶⁾

3.8.3.2 Eficacia del Neutralizante:

Le eficacia del neutralizante usado en los experimentos de evaluación de desinfectantes puede variar tanto con el organismo de estudio como el desinfectante. Además la sensibilidad del organismo al desinfectante y la concentración del mismo pueden tener un efecto importante en la eficacia del

tratamiento de neutralización. Es importante comparar la recuperación de los microorganismos del neutralizador en presencia y ausencia del desinfectante, ya que diversos inhibidores químicos de antimicrobianos son tóxicos por sí mismos. ⁽¹⁶⁾

3.9 Microorganismos empleados en los test.

La especie y la cepa del germen deben expresarse exactamente. Para una buena capacidad comparativa, es necesario emplear microorganismos en cultivos puros. La elección de los microorganismos adecuados para el test depende de la zona de empleo prevista para el desinfectante a comprobar. Debería incluir como mínimo una especie bacteriana gran-positiva, otra gran-negativa, una levadura y un moho. ⁽²⁶⁾

3.10 Generalidades de las soluciones. (20)

Se pueden definir como líquidos constituidos por una o más sustancias activas disueltas en un vehículo adecuado. Se presentan como líquidos incoloros o coloreados de olor agradable en el caso de las soluciones desinfectantes o para uso externo. Frente a una mayor facilidad operativa en su elaboración las soluciones presentan una serie de problemas que el farmacéutico debe resolver manejando hábilmente los fundamentos fisicoquímicos.

En las soluciones las sustancias activas están disueltas en un vehículo que es agua destilada o que la contienen en gran proporción, por lo que pueden sufrir hidrólisis o bien interactuar con algunos componentes de la fórmula provocando pérdida o disminución de la actividad, con modificación aparente o no de los caracteres organolépticos del producto.

En la fórmula de las soluciones se pueden señalar los siguientes componentes:

1. Principio Activo(s)
2. Coadyuvante
3. Vehículo
4. Correctivo del olor
5. Correctivo del color
6. Regulador del pH

Las propiedades fisicoquímicas del principio activo y sus caracteres organolépticos condicionaran la naturaleza del vehículo a emplear y la cantidad de los otros aditivos de la formula.

La primera propiedad a considerar es la solubilidad del principio activo y los recursos disponibles para proceder a su correcta solubilización. Esta será realizada en forma directa en el agua o mezcla de solventes o por acción de un intermedio que la facilite. El olor de la sustancia activa puede requerir una corrección de los caracteres organolépticos de la formulación lo que trae consigo una complicación, porque se agregan sustancias cuya reactividad junto al medio debe considerarse. Lo mismo sucede al tener que elegir el conservador y cualquier otro agente estabilizador. ⁽¹³⁾

Ventaja:

- Constitución homogénea, el principio activo esta uniformemente repartido en el seno de la solución.

3.10.1 Principales solventes usados ⁽²⁰⁾

- El agua es el solvente universal por excelencia, capacidad disolvente, su principal inconveniente es la de provocar hidrólisis en algunos principios activos. En tecnología farmacéutica se utilizan diversos tipos de agua: Agua potable, agua purificada, agua estéril, agua para inyectables, agua libre de iones

- Los alcoholes, el mas utilizado es el etanol, tanto solo como en mezclas con agua.
- Los aceites, son utilizados como solventes de sustancias liposolubles.

3.10.2 Pruebas de control de calidad para soluciones (13,20)

Controles en proceso:

- Características organolépticas: Color, sabor, transparencia
- Volumen de entrega
- Determinación de pH
- Determinación de viscosidad
- Densidad relativa o peso específico

Controles en Producto Terminado:

- Identificación de (los) principio(s) activo(s)
- Valoración, potencia, concentración o actividad del (o los) principio(s) activo(s)
- Impurezas, sustancias relacionadas o productos de degradación
- Límites de disolventes residuales
- Límites microbianos

CAPITULO IV

4.0 DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 Diseño de la investigación

Experimental:

El diseño de la investigación es tipo experimental ya que se formularon tres desinfectantes con tres diferentes principios activos y se les evaluó la eficacia antimicrobiana mediante el método dilución- neutralización.

Retrospectivo: Ya que se investigó sobre hechos ocurridos en el pasado.

Prospectivo: Se registró la información según fueron ocurriendo los resultados en esta investigación.

4.2 Investigación bibliográfica:

Se realizó a través de un enfoque teórico, fundamentado, en una investigación bibliográfica; lo que permitió consultar una serie de registros gráficos como: Libros, Trabajos de investigación, revistas, información de internet; con la finalidad de sustentar teóricamente el documento de investigación.

La investigación bibliográfica se realizó en las siguientes bibliotecas:

- Biblioteca central de la Universidad de El Salvador
- Biblioteca Dr. Benjamín Orozco, facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador
- Biblioteca de la Universidad Centroamericana José Simeón Cañas

- Biblioteca de la Universidad Dr. José Matías Delgado
- Internet

4.3 Investigación de campo:

Universo de estudio y muestra:

El universo de la investigación consistió en los desinfectantes a base de Ácido peracético al 0.26%, desinfectantes a base de Glutaraldehido al 2% y desinfectantes a base de Gluconato de clorhexidina al 4% existentes en El Salvador. Se realizó un muestreo puntual dirigido a los desinfectantes elaborados que consistió en elegir un desinfectante de cada principio activo que presentó mejor apariencia y mejores propiedades físicas. Por lo tanto fueron tres desinfectantes que se sometieron a pruebas de eficacia antimicrobiana quince días aproximadamente después de su fabricación.

4.4 Parte experimental

Se desarrollaron tres Pre-formulaciones desinfectantes por cada uno de los principios activos:

- Ácido peracético 0.26%
- Glutaraldehido 2%
- Gluconato de clorhexidina 4%

Se realizaron tres ensayos por cada principio activo en los cuales se prepararon 200.0 mL de cada solución desinfectante, las cuales se presentan en los siguiente procedimientos, ver los POES en anexo 1

PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE DESINFECTANTE A BASE DE GLUTARALDEHIDO AL 2%

Cuadro N°2 : Fórmula cualitativa y cuantitativa del desinfectante a base de Glutaraldehido 2%

MATERIA PRIMA	FORMULA CUANTITATIVA			FORMULA CUALITATIVA
	PRE-FOR 1	PRE-FOR 2	PRE-FOR 3	
Trietilenglicol	4.0%	8.0%	12.0%	Humectante
Bifosfato monosódico	3.0%	5.0%	10.0%	Regulador de pH
Glutaraldehido	2.0%	2.0%	2.0%	Agente desinfectante
Nitrito sódico	0.10%	0.30%	0.50%	Anticorrosivo
FD&C Azul N°5	0.50%	0.80%	0.10%	Correctivo de color
Fragancia de limón	-----	0.40%	0.50%	Correctivo de olor
Agua desmineralizada	90.31%	83.5%	74.9%	Vehículo

Procedimiento:

1. Limpieza y sanitización del área y equipo de trabajo.(ver anexo 1: POES TDLS-3)
2. Requisición de materia prima (ver anexo 6)
3. Pesar sólidos en balanza analítica: Bifosfato monosódico 3.0g; Nitrito sódico 0.10g.
4. Medir líquidos utilizando pipeta Mohr: Trietilenglicol 4.0mL; Glutaraldehido 2.0mL; FD&C Azul N°5 0.50mL; fragancia de limón 0.30mL; agua destilada 90.31mL utilizando probeta.
5. En un vaso de precipitado de 150mL, agregar 60mL de agua destilada y disolver 3.0g de Bifosfato monosódico, 0.10g de Nitrito sódico, agitando mecánicamente después de cada adición hasta completa disolución.
6. Incorporar a la mezcla 2.0mL de Glutaraldehido y 4.0mL Trietilenglicol agitando mecánicamente después de cada adición hasta completa miscibilidad.
7. Colorear la mezcla del paso 6 con 0.5mL de FD&C Azul N°5 con agitación mecánica hasta homogenizar
8. Adicionar 0.3mL de fragancia de limón con agitación mecánica hasta homogenizar. (Omitir si no lleva fragancia)
9. Filtrar la solución del paso 8.
10. Completar hasta volumen total de 100mL con agua destilada.
11. Realizar controles en proceso (ver página 62)

- a) Evaluación de las características organolépticas: olor, color.
 - b) Transparencia
 - c) Partículas extrañas
 - d) Verificación de volumen
 - e) pH
12. Envasar el desinfectante en recipiente de polietileno de alta densidad
 13. Etiquetar
 14. Almacenar en el área de cuarentena durante quince días a una temperatura de 29°C.

Procedimiento de elaboración de desinfectante a base de ácido peracético 0.26%

Cuadro N°3: Fórmula cualitativa y cuantitativa del desinfectante a base de Ácido Peracético 0.26%.

MATERIA PRIMA	FORMULA CUANTITATIVA			FORMULA CUALITATIVA
	PRE-FOR 1	PRE-FOR 2	PRE-FOR 3	
Bifosfato monosódico	1.0%	1.5%	2.0%	Agente quelante
Ácido Peracético	0.26%	0.26%	0.26%	Agente Desinfectante (P.A.)
Lauril sulfato de sodio	0.10%	0.20%	0.30%	Surfactante, Humectante
FD&C Rojo N°4	0.50%	0.80%	1.0%	Correctivo de color
Fragancia floral	-----	0.40%	0.50%	Correctivo de olor
Agua desmineralizada	98.14%	96.84%	95.94%	Vehículo

Procedimiento:

1. Limpieza y sanitización de área y equipo de trabajo.(ver anexo 1: POES TDLS-3)
2. Requisición de materia prima. (ver anexo 6)
3. Pesar sólidos en balanza analítica: Bifosfato monosódico 1.0g; Lauril sulfato de sodio 0.10g.

4. Medir líquidos utilizando pipeta Mohr: Ácido peracético 0.26mL; FD&C Rojo N°4 0.50mL; fragancia floral 0.30mL; agua destilada 98.14mL utilizando probeta.
5. En un vaso de precipitados de 150mL, agregar 60mL de agua destilada y disolver 1.0g de Bifosfato monosódico, 0.10g de Lauril sulfato de sodio, agitando mecánicamente después de cada adición hasta completa disolución.
6. Incorporar a la mezcla 0.26mL de Ácido peracético agitando mecánicamente hasta completa miscibilidad.
7. Colorear la mezcla del paso 6 con 0.5mL de FD&C Rojo N°4 con agitación mecánica hasta homogenizar.
8. Adicionar fragancia floral con agitación mecánica hasta homogenizar. (Omitir si la solución no lleva fragancia)
9. Filtrar la solución del paso 8.
10. Completar hasta volumen total de 100ml con agua destilada.
11. Realizar controles en proceso (ver página 62)
 - a) Evaluación de las características organolépticas: olor, color.
 - b) Transparencia
 - c) Partículas extrañas
 - d) Verificación de volumen
 - e) pH
12. Envasar el desinfectante en recipiente de polietileno de alta densidad

13. Etiquetar

14. Almacenar en el área de cuarentena durante quince días, a una temperatura de 29°C.

Procedimiento de elaboración de desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina al 4%

Cuadro N°5: Fórmula cualitativa y cuantitativa del desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina 4%

MATERIA PRIMA	FORMULA CUANTITATIVA			FORMULA CUALITATIVA
	PRE-FOR 1	PRE-FOR 2	PRE-FOR 3	
Gluconato de clorhexidina	4.0%	4.0%	4.0%	Agente desinfectante
Isopropanol 70%	3.0%	3.0%	3.0%	Coadyuvante; desinfectante
Propilenglicol	1.0%	2.0%	3.0%	Humectante
Nitrito sódico	0.05%	0.1%	0.3%	Anticorrosivo
EDTA	0.005%	0.08%	0.1%	Agente quelante
FD&C Morado N°1	0.5%	0.8%	1.0%	Correctivo de color
Fragancia de lavanda	-----	0.4%	0.5%	Correctivo de olor
Agua desmineralizada	91.45%	89.42%	88.1%	Vehículo

Procedimiento:

1. Limpieza del área y equipo de trabajo (Ver anexo 1: POES TDLS-3)
2. Requisición de materia prima.(ver anexo 6)
3. Pesar sólidos en balanza analítica: Gluconato de clorhexidina 4.0g; Nitrito sódico 0.1g; EDTA 0.05g;
4. Medir líquidos utilizando pipeta Mohr: Isopropanol al 70% 3.0mL; Propilenglicol 1.0mL; FD&C Azul N°1 0.50mL; fragancia de lavanda 0.30mL; agua destilada 91.45mL utilizando probeta.
5. En un recipiente de 150mL, agregar 60mL agua destilada y disolver 0.005g de EDTA, 0.1g de Nitrito sódico y 4.0g de Gluconato de clorhexidina, agitando mecánicamente después de cada adición hasta completa disolución.
6. Incorporar a la mezcla 3.0mL de Alcohol isopropílico y 1.0mL de Propilenglicol agitando mecánicamente después de cada adición, hasta completa miscibilidad.
7. Colorear la mezcla del paso 6 con 0.5mL de FD&C Morado N°1 con agitación mecánica hasta homogenizar.
8. Adicionar 0.3mL de fragancia lavanda con agitación mecánica hasta homogenizar. (omitir si no lleva fragancia)
9. Filtrar la solución del paso 8.
10. Completar hasta volumen total de 100ml con agua destilada.
11. Realizar controles en proceso (ver página 62)

12. Evaluación de las características organolépticas: olor, color.
 - a) Transparencia
 - b) Partículas extrañas
 - c) Verificación de volumen
 - d) pH
13. Envasar el desinfectante en recipiente de polietileno de alta densidad
14. Etiquetar
15. Almacenar en el área de cuarentena durante quince días a una temperatura de 29°C.

4.4.1 CONTROLES EN PROCESO

Se evaluaron las características organolépticas de los desinfectantes elaborados para determinar, cual presentaría mejores características organolépticas, y estabilidad. Éstos se estudiaron con los siguientes procedimientos:

a) Evaluación de las características organolépticas ⁽²⁰⁾ :

- **Color:** llenar 2 tubos, uno de comparación con el desinfectante a examinar y otro con una solución estándar (ver anexo 8) del color correspondiente, luego colocar ambos tubos sobre una fuente de luz blanca y observar los tubos desde arriba en posición vertical sobre la fuente de luz.
- **Transparencia:** Verter 10.0 mL del desinfectante a analizar en un vaso de precipitado de capacidad adecuada y observar a la luz natural.

b) **Partículas extrañas:** Verter 10.0 mL del desinfectante a analizar en un vaso de precipitado de capacidad adecuada, luego agitar vigorosamente la solución y observar si la solución contiene partículas extrañas suspendidas.

(20)

c) **Verificación del volumen:** Vaciar el contenido del recipiente contenedor del desinfectante en la probeta y dejar escurrir hasta que este quede

completamente vacío, luego observar y anotar volumen de producto obtenido del contenedor.

- d) **Determinación del pH:** humedecer una tira reactiva de pH. Luego se compara el color de la tira reactiva, con los estándares de la caja de tiras. (20)

4.4.2 Control del producto terminado:

Se evaluó la eficacia antimicrobiana de las tres pre-formulaciones que presentaron mejores características organolépticas (una pre-formulación por principio activo), por el método de dilución-neutralización. Se realizaron dos repeticiones por cada desinfectante, con los resultados obtenidos, se comparó la eficacia antimicrobiana de los desinfectantes elaborados para determinar cuál es el que posee un espectro más amplio de acción antimicrobiana frente a los microorganismos de prueba.

4.4.2.1 Eficacia antimicrobiana mediante el método dilución-neutralización

Establecimiento de las condiciones experimentales para el método de ensayo dilución-neutralización. (Ver anexo 3)

Para la ejecución de la metodología, se tuvieron en cuenta las condiciones experimentales estipulados por la norma UNE-EN 1040:2006: temperatura 20°C \pm 1°C, en cuanto al tiempo de contacto entre el desinfectante y los

microorganismos de prueba se consideró el obligatorio⁽¹⁾ por la norma: 5min ± 10s, y dos tiempos adicionales de 10 y 15min ± 10s. ⁽¹⁾

Los microorganismos de ensayo fueron:

- ***Escherichia coli***
- ***Staphylococcus aureus***
- ***Pseudomona aeruginosa***
- ***Salmonella choleraesuis***
- ***Listeria monocytogenes***

Identificación de las cepas de ensayo:

Se prepararon suspensiones de cada microorganismo de ensayo. Partiendo de la cepa liofilizada se inoculó en 10ml de caldo Casoy, se incubaron por 24h a 37°C, luego, cada microorganismo se sembró en un medio selectivo. Los microorganismos utilizados fueron: ***Escherichia coli*** ATCC 8739 se sembró en agar EMB, ***Staphylococcus aureus*** ATCC 29737, se sembró en agar Baird Parker, ***Pseudomona aeruginosa*** ATCC 9027 se sembró en agar Cetrimide, ***Salmonella choleraesuis*** ATCC 9812B1 se sembró en agar Rambach y ***Listeria monocytogenes*** ATCC 13952 en agar sangre, se incubaron por 24h a 37°C. ^(1, 2,19)

Cultivo de trabajo de los microorganismos de prueba:

1. Realizar un cultivo en caldo CASOY a partir del microorganismo liofilizado al cual se le dominara cultivo de primera generación.
2. Incubar durante un tiempo de 24h a $37 \pm 1^\circ\text{C}$.
3. A partir de éste sembrar los microorganismos de prueba en agar TSA, de la misma forma incubar durante un tiempo de 24h a 37°C ; a partir de este realizar la suspensión de ensayo.⁽¹⁾

Suspensión de ensayo (“N”)

1. Transferir alícuotas de la bacteria a 10.0mL de diluyente (solución salina al 0.85%).
2. Ajustar el número de células a un valor comprendido entre 1.5×10^8 UFC/mL y 5.0×10^8 UFC/mL por medición de absorbancia utilizando un espectrofotómetro a 620nm. Así para las bacterias gram-negativas una absorbancia comprendida de 0.2–0.3 y para las bacterias gram-positivas de 0.3- 0.4 ⁽²⁾
3. Para el recuento preparar diluciones 10^{-6} y 10^{-7} de la suspensión de ensayo (obtenida en el paso 2) utilizando el diluyente. Tomar una muestra de 1.0 mL de cada dilución por duplicado, e inocular utilizando la técnica de vertido en placa en agar TSA. ⁽¹⁾
4. Incubar a 37°C por 24h

Preparación de las suspensiones de control de los microorganismos de prueba.

1. De la dilución 10^{-5} procedente de la suspensión de ensayo diluir una cuarta parte, para obtener una concentración comprendida entre 3.0×10^2 UFC/ml y 1.6×10^3 UFC/ml.
2. Para el recuento, preparar una dilución 10^{-1} y tomar una alícuota por duplicado, e inocular en agar TSA utilizando la técnica de vertido en placas.
3. Incubar a 37°C por 24h. ⁽¹⁾

Control de las condiciones experimentales “A”: verificación de la ausencia de algún efecto letal en las condiciones de ensayo. ⁽¹⁾

1. Con una pipeta de Mohr adicionar 1.0mL de agua en un tubo y añadir 1.0mL de la suspensión de control, activar inmediatamente el cronómetro, mezclar y colocar el tubo en un baño maría a $20 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 2 min.
2. Pasado los 2min añadir 8.0mL de agua, reiniciar el cronómetro, mezclar y colocar en un baño maría a 20°C durante los tiempos seleccionados 5, 10 y $15\text{min} \pm 10\text{s}$.
3. Trascurrido este tiempo, tomar una muestra de 1.0mL de la mezcla de ensayo “A” por duplicado, inocular utilizando la técnica de vertido en placas.
4. Incubar a 37°C por 24h. ⁽¹⁾

Control del Neutralizador “B”: verificación de la ausencia de la toxicidad de los neutralizadores.

1. Con una pipeta Mohr medir 8.0mL del neutralizador y 1.0mL de agua en un tubo.
2. Añadir 1.0mL de la suspensión de validación, activar el cronómetro, mezclar y colocar el tubo de ensayo en un baño maría a 20°C durante 5min. Antes de terminar este tiempo mezclar.
3. Tomar una alícuota de 1.0mL de esta mezcla “B” por duplicado e inocular utilizando la técnica de vertido en placas;
4. Incubar a 37°C por 24h. ⁽¹⁾

Control “C”: Verificación del método.

1. Medir 1.0mL de agua y 1.0mL de diluyente (solución salina 0.85%) en un tubo de ensayo, activar el cronómetro, y añadir 8.0mL de la solución desinfectante de prueba, mezclar y colocar el tubo en un baño maría a 20°C durante cada uno de los tiempos del ensayo (5, 10 y 15min).
2. Trascurrido cada uno de los tiempos del ensayo, transferir 1.0mL de la mezcla a un tubo con 8.0mL de neutralizante, activar nuevamente el cronómetro, mezclar y colocar en un baño maría a 20°C durante 5min. ⁽¹⁾

3. Añadir 1.0mL de la suspensión de control, activar el cronómetro al comienzo de la adición y mezclar, colocar el tubo en un baño a 20°C durante 30min. Antes de transcurrido este tiempo mezclar de nuevo.
4. Finalizado los 30min tomar una muestra de 1.0mL de la mezcla "C" por duplicado e inocular utilizando la técnica de vertido en placas.
5. Incubar a 37°C por 24h. ⁽¹⁾

Determinación de la actividad bactericida - "Na"

1. Con una pipeta Mohr medir 1.0mL de agua en un tubo de ensayo, añadir 1.0mL de la suspensión de ensayo; activar inmediatamente el cronómetro, agitar y colocar el tubo en un baño maría a 20°C, durante 2min.
2. Transcurrido el tiempo añadir 8.0mL de una de las soluciones desinfectantes elaborados, mezclar y colocar en un baño maría, activar nuevamente el cronómetro para cada uno de los tiempos de contacto escogidos (5,10 y 15min), antes del final de cada uno de los tiempos mezclar de nuevo.
3. Al finalizar cada uno de los tiempos seleccionados, tomar una muestra de 1.0mL de la mezcla de ensayo (Na) y transferir a un tubo con 8.0mL del neutralizante y 1.0mL de agua, mezclar y se colocar en un baño maría controlado a 20°C. ⁽¹⁾

4. Después de un tiempo de neutralización de 5min, tomar inmediatamente una alícuota de 1.0mL de la mezcla del ensayo ya neutralizada por duplicado e inocular utilizando la técnica de vertido en placa.
5. Incubar durante 24h a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Incubación y recuento de las mezclas de control (A, B y C) y de la mezcla de ensayo (Na)

Incubar las cajas Petri a 37°C durante 24h , realizar el recuento de las cajas y determinar el número de unidades formadoras de colonia (UFC) en cada caja, se registra para cada placa el número exacto de colonias. ⁽¹⁾

Obtención de los datos experimentales:

Para recolectar la información se emplearon los parámetros establecidos por la norma española UNE-EN 1040:2006, a partir de la cual se tuvo en cuenta los procedimientos experimentales para la determinación de la actividad bactericida de los desinfectantes en estudio.

Inicialmente se hizo una determinación de los valores V_c , que son los valores experimentales que se obtuvieron en el método de dilución-neutralización, (recuento de bacterias) estos valores incluyen los valores del ensayo y los controles. ⁽¹⁾

En el método de dilución-neutralización se tuvo en cuenta límites para el recuento entre 14 y 330 colonias. Si el recuento en una placa fue superior a 330 se registró como ">330"; y si el valor fue inferior a 14, se sustituye por "<14" para el caso de Na. (1)

Para el cálculo del número de UFC/ml de la suspensión de ensayo se calculó la media aritmética ponderada de los recuentos de la dilución 10^{-6} y 10^{-7} , para esto se utilizó la siguiente fórmula: (1)

$$N = \frac{C}{(n_1 + 0.1n_2)10^{-6}}$$

Dónde:

C: es la suma de los valores Vc tenidos en cuenta.

n_1 : es el número valores Vc tenidos en cuenta en la dilución más baja (10^{-6}).

n_2 : es el número de valores Vc tenidos en cuenta en la dilución más alta (10^{-7}).

10^{-6} : es el factor de dilución correspondiente a la dilución más baja.

Para determinar el número de células/ml en la mezcla de ensayo al comienzo del tiempo de contacto (N_0) es decir, al tiempo cero, se obtuvo la décima parte de la media aritmética ponderada de "N" debido a la dilución a la décima parte que se produce, al añadir el desinfectante y agua.

Cálculo de Na

La determinación del número de microorganismos supervivientes/ml en la mezcla de ensayo al final del tiempo de contacto y antes que la neutralización, es diez veces superior que los valores Vc debido a la adición de neutralizador y agua; por la tanto se empleó la siguiente fórmula: ⁽¹⁾

$$Na = \frac{c \times 10}{n}$$

En donde:

c: es la suma de los valores Vc tenidos en cuenta.

n: es el número de valores Vc tenidos en cuenta.

Algunos de los valores por duplicado de Vc fueron más pequeños que el límite inferior por lo que se expresaron inferior a 14 (<14).

Cálculo de Nv y Nv0:

Nv es el número de células/mL en la suspensión de control. Es diez veces superior a los recuentos en términos de valores Vc debido a la etapa de dilución de 10^{-1} . ⁽¹⁾

Nv0 es el número de células/mL en las mezclas A, B, C al comienzo del tiempo de contacto (tiempo 0) es diez veces más pequeño que la media de los valores Vc de Nv que se tienen en cuenta:

Por lo tanto para el cálculo de N_v y N_{v0} se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$N_v = 10 \frac{c}{n} \qquad N_{v0} = \frac{c}{n}$$

En donde:

c: es la suma de los valores V_c tenidos en cuenta.

n: es el número de valores V_c tenidos en cuenta. (1)

Calculo de A, B y C

Para calcular el número de sobrevivientes en el control de las condiciones experimentales (tiempo y temperatura) "A", control del neutralizador "B" y control del método "C" al final de los tiempos de contactos ("A": 5, 10 y 15min; "B" 5min y "C" 30min) se empleó la siguiente ecuación: (1)

$$A, B, C = \frac{c}{n}$$

En donde:

c: es la suma de los valores V_c tenidos en cuenta.

n: es el número de valores V_c tenidos en cuenta

Reducción logarítmica:

Según la norma española UNE-EN 1040:2006 la reducción logarítmica se expresa: (1)

$$R = \frac{N_0}{N_a}$$

Para cada microorganismo de ensayo se registró el número de UFC/mL en la suspensión de ensayo "N" y en el ensayo "Na" y se calculó N_0 .

Para cada condición experimental, se calculó el logaritmo decimal de la reducción (logR) respectivo utilizando la ecuación:

$$\text{Log } R = \text{Log } N_0 - \text{Log } N_a$$

Verificación de la metodología: ⁽¹⁾

Para determinar si el ensayo fue valido se tomaron en cuenta los siguientes límites establecidos por la norma española UNE-EN 1040:2006⁽¹⁾

a) N está comprendido entre $1,5 \times 10^8$ y $5,0 \times 10^8$ ($8,17 \leq \log \text{ de } N \leq 8,70$)

N_0 está comprendido entre $1,5 \times 10^7$ y $5,0 \times 10^7$ ($7,17 \leq \log \text{ de } N_0 \leq 7,70$)

b) N_{v0} está comprendido entre 30 UFC/ml y 160 UFC/ml ($3,0 \times 10^1$ y

$1,6 \times 10^2$) (N_v está entre $3,0 \times 10^2$ y $1,6 \times 10^3$)

c) A,B,C son iguales o superiores a $0,5 \times N_{v0}$

d) El desinfectante en estudio debe demostrar una reducción logarítmica igual o superior a 5.

Ver ejemplos en anexo 4.

Comparación de la eficacia antimicrobiana de los desinfectantes elaborados:

Para la comparación de la actividad antimicrobiana de los desinfectantes elaborados, se calculó el promedio de la reducción logarítmica para los cinco microorganismos de prueba y para los tres tiempos de ensayo de ambas réplicas de cada desinfectante evaluado. Luego se realizaron gráficas de barras; reducción logarítmica versus tiempo de contacto, para cada microorganismo de prueba. ⁽¹⁾

Rotulación de la etiqueta:

Se obtuvo información a partir de consulta bibliográfica con el fin de determinar los mecanismos de acción del proceso de desinfección, modo de aplicación de los desinfectantes, precauciones, toxicidad. Además se utilizó la norma de etiquetado de productos higiénicos, del Reglamento Técnico Centroamericano.

71.03.38:07. ⁽²²⁾

CAPITULO V

5.0 RESULTADOS

5.1 Formulación de los desinfectantes

De cada principio activo se diseñaron 3 pre-formulaciones, de las cuales la pre-formulación número 1 de cada principio activo no contenía fragancia ya que en ciertas industrias como la alimenticia es de preferencia la ausencia de fragancia en desinfectantes para superficies.

5.1.1 Desinfectante a base de Glutaraldehido 2%

Controles en Proceso

Cuadro N°5: Evaluación de las características organolépticas de los desinfectantes a base de Glutaraldehido al 2%.

PRE-FORM.	COLOR	TRANSPARENCIA	PÀRT. EXT.	pH	resultado
1	✓	✓	✓	± 7	Cumple
2	✓	✓	✗	± 7	No cumple
3	✓	✗	✗	± 7	No cumple

✓ = cumple

✗ = no cumple

El color de las tres pre-formulaciones fue homogéneo; no se observaron áreas oscuras ni distorsión de la luz transmitida en el fondo del tubo. El color de las muestras fue igual al del estándar.

Las soluciones 1 y 2 presentaron una apariencia límpida, transparente y sin turbidez, en la pre-formulación N°3 se observó un poco de turbidez.

En cuanto a las partículas extrañas se observó que las solución 2 y 3 tenían partículas extrañas de color blanco y de aspecto grasoso en la superficie, la pre-formulación N°1, no poseía partículas extrañas visibles. La Variación de Volumen en la tres pre-formulaciones no fue superior de 5.0 mL

Se seleccionó la pre-formulación N° 1, ya que esta presento mejores características organolépticas, no se observaron partículas extrañas y la solución estaba totalmente transparente, las partículas observadas en la pre-formulación 2 y 3 se deben a que la fragancia no se incorpora en totalidad en éstos desinfectantes.

Por lo tanto la fórmula final es:

Trietilenglicol	4.00%
Bifosfato monosódico	3.00%
Glutaraldehido	2.00%
Nitrito sódico	0.10%
FD&C Azul N°5	0.50%
Agua desmineralizada	90.31%

5.1.2 Desinfectante a base de Ácido peracético 0.26%

Controles en Proceso

Cuadro N°6: Evaluación de las características organolépticas de los desinfectantes a base de ácido peracético.

PRE-FORM.	COLOR	TRANSPARENCIA	PÀRT. EXT.	pH	RESULTADO
1	✓	✓	✓	± 4	Cumple
2	✓	✓	✗	± 4	No cumple
3	✓	✓	✗	± 4	No cumple

✓ = cumple

✗ = no cumple

Al examinar el color de las tres pre-formulaciones éste fue homogéneo y no se observaron áreas oscuras ni distorsión de la luz transmitida en el fondo del tubo. El color de las muestras fue igual al del estándar, así mismo presentaron una apariencia límpida, transparente y sin turbidez.

Partículas extrañas: se observó que las soluciones 2 y 3 de los desinfectantes poseía partículas extrañas en la superficie, y en la pre-formulación N°1 no se observaron partículas extrañas, por lo que las partículas observadas en las soluciones 2 y 3 fueron debidas a la fragancia que no se incorporó a la solución.

El pH de las tres pre-formulaciones fue de ± 4, por lo que no fue necesario la adición de un regulador de pH.

Se seleccionó la pre-formulación N° 1, ya que esta presentó mejores características organolépticas, no se observaron partículas extrañas y la solución estaba totalmente transparente.

Por lo tanto la fórmula final es:

Bifosfato monosódico	1.00%
Ácido Peracético	0.26%
Lauril sulfato de sodio	0.10%
FD&C Rojo N°4	0.50%
Agua desmineralizada	98.14%

5.1.3 Desinfectante a base de Gluconato de Clorhexidina 4%

Cuadro N°7: Evaluación de las características organolépticas de los desinfectantes a base de Gluconato de clorhexidina.

PRE-FORM.	COLOR	TRANSPARENCIA	PÀRT. EXT.	pH	RESULTADO
1	✓	✓	✓	±5.5	Si cumple
2	x	x	x	±5,0	No cumple
3	x	x	x	±5.0	No cumple

✓ = cumple

x = no cumple

En las pre-formulaciones 2 y 3 al adicionar el nitrito sódico se formó un precipitado blanquecino, en la pre-formulación N°1 no se presentó esta incompatibilidad.

El color en la pre-formulación N°1 fue homogéneo no se observaron áreas oscuras ni distorsión de la luz transmitida en el fondo del tubo. El color de la muestra fue igual al del estándar. En la pre-formulaciones 2 y 3 debido al precipitado el color fue opaco.

La pre-formulación 1 presentó una apariencia límpida, transparente y sin turbidez, en las otras pre-formulaciones se observó un precipitado blanco producido por el exceso de Nitrito sódico.

Partículas extrañas: se observó que la solución N°1 no poseía partículas extrañas visibles. La variación de volumen en las tres pre-formulaciones fue de 2 mL.

La pre-formulación que se eligió fue la número 1, ya que esta presentó mejores propiedades organolépticas, por lo tanto la fórmula del desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina es la siguiente:

Gluconato de clorhexidina	4.000%
Isopropanol 70%	3.000%
Propilenglicol	1.000%
Nitrito sódico	0.050%
EDTA	0.005%
Color morado	0.500%
Agua desmineralizada	91.450%



Figura N°2: Desinfectantes elaborados. **A:** desinfectante a base de Glutaraldehido, **B:** desinfectante a base de Ácido peracético, **C:** desinfectante a base Gluconato de clorhexidina.

5.2 Control de calidad de producto terminado

Propiedades organolépticas, y físicas de los desinfectantes ver páginas 75-80.

5.2.1 Evaluación de la eficacia antimicrobiana: Método Dilución-Neutralización

5.2.1.1 Identificación de las cepas de trabajo:

Inicialmente se prepararon suspensiones de cada microorganismo de ensayo, partiendo de la cepa liofilizada, se inoculó en 10.0mL de caldo Casoy, se incubaron por 24h a 37°C, luego cada microorganismo se sembró en la superficie del medio selectivo correspondiente.

Cuadro N°8 : Identificación de las cepas de trabajo ⁽¹⁹⁾

BACTERIA	MEDIO SELECTIVO	OBSERVACIONES	RESULTADO
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	Agar Cetrimide	No hubo crecimiento	Identificación negativa
<i>Pseudomona aeruginosa</i> salvaje	Agar Cetrimide	Crecimiento de colonias verdosas.	Identificación positiva
<i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC 9812B1	Agar Rambach	Crecimiento de colonias de color rojo.	Identificación positiva
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	EMB	Crecimiento de colonias verdosas con brillo metálico.	Identificación positiva
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29737	Baird Parker	Crecimiento de colonias de color negro con halos transparentes alrededor.	Identificación positiva
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13952	Agar Sangre	Crecimiento de colonias pequeñas rodeadas por halo transparente.	Identificación positiva

En el caso de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 9027 se sembró en agar Cetrimide luego del tiempo de incubación de 24h no se observó crecimiento, por lo que se incubó 24h más, pero igualmente no se observó crecimiento por lo que se cree que la cepa ya no era viable. De acuerdo con lo anterior se sugirió aislar el microorganismo a partir de una muestra de agua contaminada. Se

inoculó 10.0 mL de la muestra en caldo casoy. Se incubó por 24h a 37°C luego se sembró en agar Cetrimide y se observaron colonias verdosas.

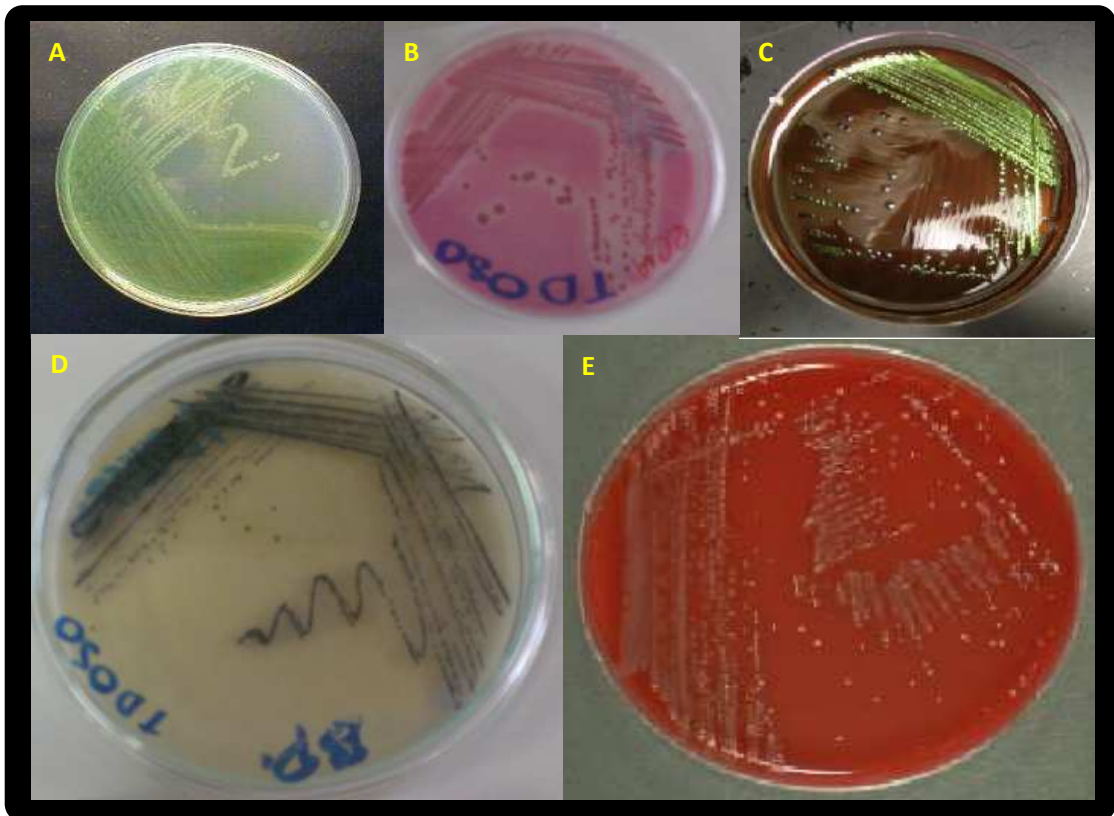


Figura N°3: Identificación de las cepas de trabajo. A: *Pseudomona Aeruginosa*, en agar Cetrimide; B: *Salmonella Choleraesuis*, en agar Rambach, C: *Escherichia coli* , en agar EMB; D: *Staphylococcus aureus* en agar Baird Parker; E: *Listeria monocytogenes* en agar Sangre.

5.2.1.2 Preparación de la suspensión de ensayo y la suspensión control

A partir de los microorganismos en agar TSA se procedió a la estandarización de los microorganismos haciendo uso de un espectrofotómetro UV-Visible a una longitud de onda de 620nm.⁽²⁾

Tabla N°1: Valores de absorbancia, Vc y UFC/mL de las suspensiones del ensayo.

Microorganismo de prueba	Absorbancia	valores Vc		valores UFC/ml		logN ₀
		10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	N	N ₀ =N/10	
<i>Escherichia coli</i>	0.251nm	158, 246	10, 8	1.92*10⁸	1.92*10 ⁷	7.28
<i>Salmonella choleraesuis</i>	0.216nm	138, 131	29, 30	1.5*10⁸	1.5*10 ⁷	7.17
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	0.204nm	126, 177	17, 10	1.5*10⁸	1.5*10 ⁷	7.17
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.470nm	225, 212	10, 14	2.1*10⁸	2.1*10 ⁷	7.32
<i>Listeria monocytogenes</i>	0.493	205, 159	63, 67	2.2*10⁸	2.2*10 ⁷	7.34

Al realizar los recuentos correspondientes de cada microorganismo se observó que estos cumplían con las especificaciones de la norma. ⁽¹⁾ Los resultados se reflejan en la tabla N°1.

El diluyente que se utilizó fue una solución de cloruro de sodio al 0.85%, no se trabajó con el diluyente recomendado por la norma que es una solución de Triptona, Cloruro de sodio y agua, porque la Triptona posee una coloración amarilla que afecta los resultados emitidos por el espectrofotómetro.⁽²⁾



Figura N°4: Espectrofotómetro UV- Visible utilizado para la estandarización de las cepas.

A partir de las suspensiones de ensayo, se prepararon diluciones seriadas hasta 10^{-7} ; de la dilución 10^{-5} se prepararon las suspensiones de control correspondientes. Ver anexo 3

Tabla N°2: Valores V_c y UFC/mL en la suspensión de control.

Microorganismos de prueba	Recuentos valores V_c			UFC/mL (N_v)
	V_{c1}	V_{c2}	\bar{x}	
<i>Escherichia coli</i>	92	100	96	$9.6 \cdot 10^2$
<i>Salmonella choleraesuis</i>	80	90	85	$8.5 \cdot 10^2$
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	59	58	58.5	$5.9 \cdot 10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i>	120	115	117.5	$1.2 \cdot 10^3$
<i>Listeria monocytogenes</i>	110	98	104	$1.04 \cdot 10^3$

En la tabla N°2 se reflejan las concentraciones UFC /mL de las suspensiones de control, por lo que estas se encuentran en el rango que expresa la norma que

es de 3.0×10^2 - 1.6×10^3 .⁽¹⁾ Se considera de vital importancia, la preparación, de las suspensiones de los microorganismos ya que de estas dependen los resultados siguientes del método.

5.2.1.3 Evaluación de las condiciones experimentales – Control A

Los resultados de los recuentos obtenidos no deben ser menores a la mitad del recuento obtenido al final del tiempo cero de contacto según especifica la norma. Esta condición se dio satisfactoriamente tal como se refleja en los resultados de la tabla 10.

Tabla N°3: Parámetro A: Controles de las condiciones experimentales seleccionada; temperatura 20°C; t: 5, 10 y 15 minutos.

Microorganismos de prueba	Limite A \geq $0.5 \cdot N_{v0}$ UFC	5 min. 20°C UFC			10 min. 20°C UFC			15min. 20°C UFC		
		Vc1	Vc2	\bar{x}	Vc1	Vc2	\bar{x}	Vc1	Vc2	\bar{x}
<i>Escherichia coli</i>	48	60	51	55.5	54	49	51.5	59	62	60.5
<i>Salmonella choleraesuis</i>	42.5	50	42	46	50	45	47.5	59	44	51.5
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	29.3	37	38	37.5	42	39	40.5	38	40	39
<i>Staphylococcus aureus</i>	58.5	70	75	72.5	72	6	73.5	77	69	73
<i>Listeria monocytogenes</i>	52	59	45	52	57	58	57.5	48	56	52

Mediante los resultados de la tabla N°3 se determinó que el crecimiento de los microorganismos de ensayo no se ve afectado por la temperatura a la que se realizó el ensayo (20°C) ni por los tiempos de exposición (5,10 y 15min), ya que

los promedios de los datos V_c son mayor al límite ($A \geq 0.5 \cdot N_{v0}$) datos de la columna 2.

5.2.1.4 Verificación de la ausencia de toxicidad de los neutralizantes - Control "B". (2)

El método de dilución-neutralización implica el enfrentamiento de una suspensión bacteriana y un desinfectante, y la terminación de la reacción mediante la exposición a un neutralizante.

En este estudio se utilizaron dos neutralizantes que eran uno para los desinfectantes a base de Ácido peracético y los desinfectantes a base de Glutaraldehído; denominado neutralizante "A" y otro neutralizante para los desinfectantes a base de clorhexidina; denominado neutralizante "B".

El neutralizante A estaba compuesto por: tween 80, bisulfito de sodio al 10%, tiosulfato y como diluyente solución salina al 85%. La composición del neutralizante B es la siguiente: tween 80, Bisulfito de sodio al 10%, tiosulfato de sodio, Lecitina y como diluyente solución salina al 85%.

Al momento de realizar este control se observó que los recuentos proporcionados por el neutralizante A no cumplían con las especificaciones de la norma (B son iguales o superiores a $0,5 \times N_{v0}$) ya que el recuento de este era menor al 50% del recuento de N_{v0} (número de células/ml en la mezcla del control B al comienzo del tiempo de contacto) por lo que no permitía crecer a los microorganismos de ensayo, por lo que se sugirió omitir de la composición

de neutralizante A el Bisulfito de sodio ya que esto podría estar interfiriendo en los recuentos. Esto debido a que el Bisulfito de sodio se utiliza en algunas industrias como conservante.

Para comprobar este planteamiento se preparó el neutralizante A omitiendo de su composición el Bisulfito de sodio

Tabla N° 4: Parámetro B: Verificación de la ausencia de la toxicidad del Neutralizante "A" valores Vc UFC

Microorganismos de prueba	Limite $B \geq 0.5 * N_{v0}$ UFC	Neutralizante A UFC		
		Vc1	Vc2	\bar{x}
<i>Escherichia coli</i>	48	72	59	65.5
<i>Salmonella choleraesuis</i>	42.5	60	54	57
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	29.3	39	44	40.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	58.5	69	72	70.5
<i>Listeria monocytogenes</i>	52	70	66	68

En la tabla N°4 se observa que al realizar el ensayo y obtener los datos del recuento (Vc) estos reflejaron que el neutralizante "A" sin bisulfito de sodio, permitió ampliamente el crecimiento de los microorganismos evaluados. Ya que los promedios de los recuentos Vc son mayor al 50% de N_{v0} .

Tabla N°5 . Parámetro B: Verificación de la ausencia de la toxicidad del neutralizante “B” valores Vc.

Microorganismos de prueba	Limite $B \geq 0.5 \cdot N_{v0}$ UFC	Neutralizante A UFC		
		Vc1	Vc2	\bar{x}
<i>Escherichia coli</i>	48	61	55	58
<i>Salmonella choleraesuis</i>	42.5	58	49	53.5
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	29.3	39	41	40
<i>Staphylococcus aureus</i>	58.5	71	75	73
<i>Listeria monocytogenes</i>	52	51	56	53.5

En el caso del neutralizante B los datos de la tabla N°5 demuestran que el neutralizante no presentó efectos negativos que llegaran a ocasionar inhibición en los mismos, Ya que los promedios de los recuentos Vc son mayor al 50% de N_{v0} como especifica la norma UNE-EN 1040:2006

5.2.1.5 Verificación del método Dilución Neutralización - Control C

Tabla N°6: Verificación del método dilución- neutralización del desinfectante a base de Glutaraldehido al 2 %. Valores Vc UFC a 20°C

Microorganismos de prueba	Limite $C \geq 0.5 \cdot N_{v0}$ UFC	5 min. UFC			10 min. UFC			15min .UFC		
		Vc1	Vc2	\bar{x}	Vc1	Vc2	\bar{x}	Vc1	Vc2	\bar{x}
<i>Escherichia coli</i>	48	55	52	53.5	58	49	53.5	52	49	50.5
<i>Salmonella choleraesuis</i>	42.5	48	45	46.5	50	45	47.5	44	43	43.5
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	29.3	50	49	49.5	53	51	52	48	54	51
<i>Staphylococcus aureus</i>	58.5	59	65	62	64	69	66.5	60	63	61.5
<i>Listeria monocytogenes</i>	52	59	56	57.5	60	63	61.5	61	58	64.5

Los datos Vc obtenidos del desinfectante a base de Glutaraldehido, cumplen con la norma que especifica que estos deben ser mayores o iguales al 50% al dato de N_{v0} .(1)

Tabla N7: Verificación del método dilución- neutralización del desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina al 4 %. Valores Vc a 20°C.

Microorganismos de prueba	Limite $C \geq 0.5 * N_{v0}$	5 min.			10 min.			15min.		
		Vc1	Vc2	\bar{x}	Vc1	Vc2	\bar{x}	Vc1	Vc2	\bar{x}
<i>Escherichia coli</i>	48	55	52	53.5	58	49	53.5	52	49	50.5
<i>Salmonella choleraesuis</i>	42.5	39	45	42	41	30	35.5	42	45	43.5
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	29.3	48	51	51	53	51	52	48	54	51
<i>Staphylococcus aureus</i>	58.5	59	65	62	64	69	66.5	60	55	57.5
<i>Listeria monocytogenes</i>	52	60	59	59.5	63	68	65.5	69	65	67

En los recuentos de las tabla 14 se observa que al realizar este control para el desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina los recuentos en diferentes tiempos fue superior a la mitad del número de células/ml de N_{v0} , para los cinco microorganismos de prueba.

A diferencia del desinfectante a base de ácido peracético, se observaron recuentos menores del 50% del recuento de N_{v0} , lo que se cree que el neutralizante "A" no fue capaz de detener la acción del desinfectante por lo que se tomó como opción utilizar el neutralizante "B" para que inhibiera la acción del

desinfectante a base de Ácido peracético 0.26%. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Tabla N°8: Verificación del método dilución- neutralización del desinfectante a base de ácido peracético al 0.26%, valores Vc a 20°C

Microorganismos de prueba	Limite $A \geq 0.5 \cdot N_{v0}$	5 min.			10 min.			15min.		
		Vc1	Vc2	\bar{X}	Vc1	Vc2	\bar{X}	Vc1	Vc2	\bar{X}
<i>Escherichia coli</i>	48	62	64	63	64	51	57.5	56	51	53.5
<i>Salmonella choleraesuis</i>	42.5	57	46	51.5	49	50	49.5	56	50	53
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	29.3	32	33	32.5	33	35	34	34	31	32.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	58.5	72	75	73.5	71	63	67	69	71	70
<i>Listeria monocytogenes</i>	52	55	51	53	60	55	57.5	52	59	55.5

Al obtener lo recuentos como se demuestran en la tabla N°15, se observa que en todos los controles a diferentes tiempos de contacto y en los cinco microorganismos de prueba, fue superior a la mitad de N_{v0} .

Debido a que se trata de un procedimiento indispensable, lo recomendable es que a la hora de aplicar la metodología de la norma se inicie con éste control, ya que está diseñado para conocer la acción bactericida de cualquier desinfectante sin generar por sí mismo efectos negativos sobre los microorganismos de prueba.

En el método de dilución-neutralización se tuvo en cuenta límites para el recuento entre 14 y 330 colonias. Si el recuento en una placa fue superior a 330 se registra como ">330"; y si el valor fue inferior a 14, se sustituye por "<14" para el caso de Na.

En la tabla N°9 se observan los recuentos (Vc) de las cepas de prueba obtenidos después de realizar el ensayo, ya que los recuentos oscilaron entre 5 a 8 colonias se tomaron menor de 14 como especifica la norma, (1) a excepción de la ***Pseudomona aeruginosa*** a los 5 min.

las dos réplicas del desinfectante a base de glutaraldehído 2% al ser evaluado con ***E. coli***, ***P. aeruginosa***, ***L. monocytogenes***, ***Staphylococcus aureus*** se observó, que luego de los 5 minutos de contacto, el número de sobrevivientes de microorganismos fue inferior a 14 unidades formadores de colonias a excepción con la ***Salmonella choleraesuis*** que a los cinco minutos de contacto aún no había hecho efecto el desinfectante y no hubo una reducción logarítmica superior a cinco, sino hasta los 10min de contacto; se observa un crecimiento inferior a 14 UFC/mL.

Tabla N°10: Ensayo Na1 y reducción logarítmica: Determinación de la actividad bactericida del desinfectante a base de Glutaraldehido 2%

Microorganismo de prueba	N _{a1} N _a = X*10			Log N _{a1}			Log R LogR= LogN ₀ -LogN _a		
	5min	10min	15min	5min	10min	15min	5min	10min	15min
<i>Escherichia coli</i>	<140	<140	<140	<2.15	<2.15	<2.15	>5.13	>5.13	>5.13
<i>Salmonella choleraesuis</i>	185	<140	<140	2.28	<2.15	<2.15	4.89	>5.02	>5.02
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<140	<140	<140	<2.15	<2.15	<2.15	>5.02	>5.02	>5.02
<i>Staphylococcus aureus</i>	<140	<140	<140	<2.15	<2.15	<2.15	>5.17	>5.17	>5.17
<i>Listeria monocytogenes</i>	<140	<140	<140	<2.15	<2.15	<2.15	>5.19	>5.19	>5.19

Al calcular la reducción logarítmica, se obtuvieron datos superiores a 5 unidades, es decir que esté es efectivo a los 5 minutos de contacto con las cepas de prueba, ya que reduce su concentración a más 5 unidades logarítmicas, a excepción con la cepa de *Salmonella choleraesuis* que fue efectivo contra ella hasta los 10min de contacto.

Tabla N°11: Ensayo Na2 y reducción logarítmica: Determinación de la actividad bactericida del desinfectante a base de Glutaraldehido 2%

Microorganismo de prueba	N _{a2} N _a = X*10			Log N _{a2}			Log R LogR= LogN ₀ -LogN _a		
	5min	10min	15min	5min	10min	15min	5min	10min	15min
<i>Escherichia coli</i>	<140	<140	<140	<2.15	<2.15	<2.15	>5.13	>5.13	>5.13
<i>Salmonella choleraesuis</i>	165	<140	<140	2.22	<2.15	<2.15	4.95	>5.02	>5.02
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<140	<140	<140	<2.15	<2.15	<2.15	>5.02	>5.02	>5.02
<i>Staphylococcus aureus</i>	<150	<140	<150	<2.17	<2.15	<2.15	>5.15	>5,17	>5.17
<i>Listeria monocytogenes</i>	<145	<140	<145	<2.16	<2.15	2.15	>5.18	>5.19	>5.19

Los ensayos de la réplica fueron similares al ensayo Na1, por lo que a los diez minutos de contacto el desinfectante es efectivo contra los microorganismos de prueba, ya que que la reducción logarítmica es superior a 5.

Tabla N°12 : Valores Vc obtenidos en el ensayo del desinfectante a base de Ácido peracético 0.26%.

Microorganismo de prueba	Valores Vc					
	5min		10min		15min	
	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2
<i>Escherichia coli</i>	<14.5	<14	<14	<14	<14	<14
<i>Salmonella choleraesuis</i>	22.5	19.5	<18	<14	<14	<14
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	14.5	<16	<14	<14	<14	<14
<i>Staphylococcus aureus</i>	<17	17	<14	<14	<14	<14
<i>Listeria monocytogenes</i>	17	<16	<14	<16	<14	<14

En la tabla N°12 se observan los recuentos (Vc) de las cepas de prueba obtenidos después de realizar el ensayo.

Tabla N°13 : Ensayo Na1: Determinación de la actividad bactericida del desinfectante a base de Ácido peracético 0.26%

Microorganismo de prueba	N _{a2} N _a = X*10			Log N _{a2}			Log R LogR= LogN ₀ -LogN _a		
	5min	10min	15min	5min	10min	15min	5min	10min	15min
<i>Escherichia coli</i>	<145	<140	<140	<2.16	<2.15	<2.15	>5.11	>5.13	>5.13
<i>Salmonella choleraesuis</i>	225	180	<140	2.35	<2.26	<2.15	4.82	4.91	>5.02
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	145	<140	<140	2.16	2.15	<2.15	5.01	>5.02	>5.02
<i>Staphylococcus aureus</i>	170	<140	<140	2.23	2.15	<2.15	5.09	>5.17	>5.17
<i>Listeria monocytogenes</i>	170	<140	<140	2.23	2.15	<2.15	5.11	>5.19	>5.19

En la tabla N°13 se observa que el desinfectante ha sido efectivo a los 5 minutos de contacto, exceptuado por la cepa de **Salmonella choleraesuis** que alcanza su efectividad hasta los 15min de contacto, ya que la reducción logarítmica es superior a 5, como especifica la norma europea UNE-EN 1040:2006. (1)

Tabla N°14 : Ensayo Na2: Determinación de la actividad bactericida del desinfectante a base de Ácido peracético 0.26%

Microorganismo de prueba	N _{a2} N _a = X*10			Log N _{a2}			Log R LogR= LogN ₀ -LogN _a		
	5min	10min	15min	5min	10min	15min	5min	10min	15min
Escherichia coli	<145	<140	<140	<2.25	<2.15	<2.15	>5.03	>5.13	>5.13
Salmonella choleraesuis	195	175	<140	2.29	2.24	<2.15	4.88	4.93	>5.02
Pseudomona aeruginosa	160	<140	<140	2.20	<2.15	<2.15	4.97	>5.02	>5.02
Staphylococcus aureus	<140	<140	<140	<2.15	<2.15	<2.15	>5.17	>5.17	>5.17
Listeria monocytogenes	160	<160	<140	2.20	<2.20	<2.15	5.19	>5.19	>5.14

Como se observa en la tabla N° 14 el desinfectante es efectivo hasta los 10min con **Pseudomona aeruginosa** y a los 15 minutos con la **Salmonella choleraesuis** con las otras cepas el desinfectante es efectivo a los 5min de contacto ya que hubo una reducción logarítmica superior a 5.

Burdon y col. Publicaron en 1967 que las soluciones de clorhexidina resultaban frecuentemente contaminadas con especies de **Pseudomonas**, pero que la combinación de clorhexidina y de isopropanol reducía en gran medida este problema, por esta razón se incluyó en la formulación del desinfectante a base

de Gluconato de clorhexidina un 3% de alcohol isopropílico al 70% que tiene propiedades como desinfectante.

Tabla N°15 : Valores Vc obtenidos en el ensayo para el desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina 4%.

Microorganismo de prueba	Valores Vc					
	5min		10min		15min	
	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2
<i>Escherichia coli</i>	<14	<14	<14	<14	<14	<14
<i>Salmonella choleraesuis</i>	18	16.5	<14	<14	<14	<14
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	22	19.5	14.5	<16	<14	<14
<i>Staphylococcus aureus</i>	15.5	15.5	<14	<16	<14	<14
<i>Listeria monocytogenes</i>	18	22.5	<16.5	<16.5	<14	<14

En la tabla N°15 se observan los recuentos (Vc) de las cepas de prueba obtenidos después de realizar el ensayo

Tabla N°16 : Determinación de la actividad bactericida del producto para el desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina 4%

Microorganismo de prueba	N _a N _a = X*10			Log N _a			Log R LogR= LogN ₀ -LogN _a		
	5min	10min	15min	5min	10min	15min	5min	10min	15min
<i>Escherichia coli</i>	<140	<140	<140	<2.15	<2.15	<2.15	>5.13	>5.13	>5.13
<i>Salmonella choleraesuis</i>	180	<140	<140	2.25	<2.15	<2.15	4.92	>5.02	>5.02
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	220	145	<140	2.34	2.16	<2.15	4.83	5.01	>5.02
<i>Staphylococcus aureus</i>	155	<140	<140	2.19	<2.15	<2.15	5.13	>5.13	>5.17
<i>Listeria monocytogenes</i>	180	<165	<140	2.25	<2.22	<2.15	5.09	>5.12	>5.19

Tabla N°17 : Ensayo Na2: Determinación de la actividad bactericida del desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina 4%

Microorganismo de prueba	N_{a2} $N_a = X \cdot 10$			Log N_{a2}			Log R $\text{LogR} = \text{Log}N_0 - \text{Log}N_a$		
	5min	10min	15min	5min	10min	15min	5min	10min	15min
<i>Escherichia coli</i>	<140	<140	<140	<2.15	<2.15	<2.15	5.13	>5.13	>5.13
<i>Salmonella choleraesuis</i>	165	<140	<140	2.22	<2.15	<2.15	4.95	>5.02	>5.02
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	195	160	<140	2.29	2.20	<2.15	4.87	4.97	>5.02
<i>Staphylococcus aureus</i>	155	<160	<140	2.19	<2.20	<2.15	5.13	>5.12	>5.17
<i>Listeria monocytogenes</i>	225	<165	<140	2.35	<2.21	<2.15	4.98	>5.11	>5.19

Al obtener los resultados de la evaluación microbiológica del desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina que se reflejan en las tablas 16 y 17 éste es efectivo contra los microorganismos de prueba ya que a los 15min de contacto se asegura que la reducción logarítmica es superior a 5 unidades.

Por lo tanto los desinfectantes elaborados, son efectivos y se pueden utilizar en las diversas industrias que se requieran, ya que los tres cumplen con la especificación de la norma europea UNE-EN 1040:200 que cita: que el producto evaluado debe demostrar una reducción logarítmica no inferior a 5, ⁽¹⁾ también se consiguió fabricar desinfectantes estables ya que después de treinta días de su elaboración fueron efectivos contra las bacterias de prueba.

5.3 Comparación de la eficacia antimicrobiana de los desinfectantes elaborados:

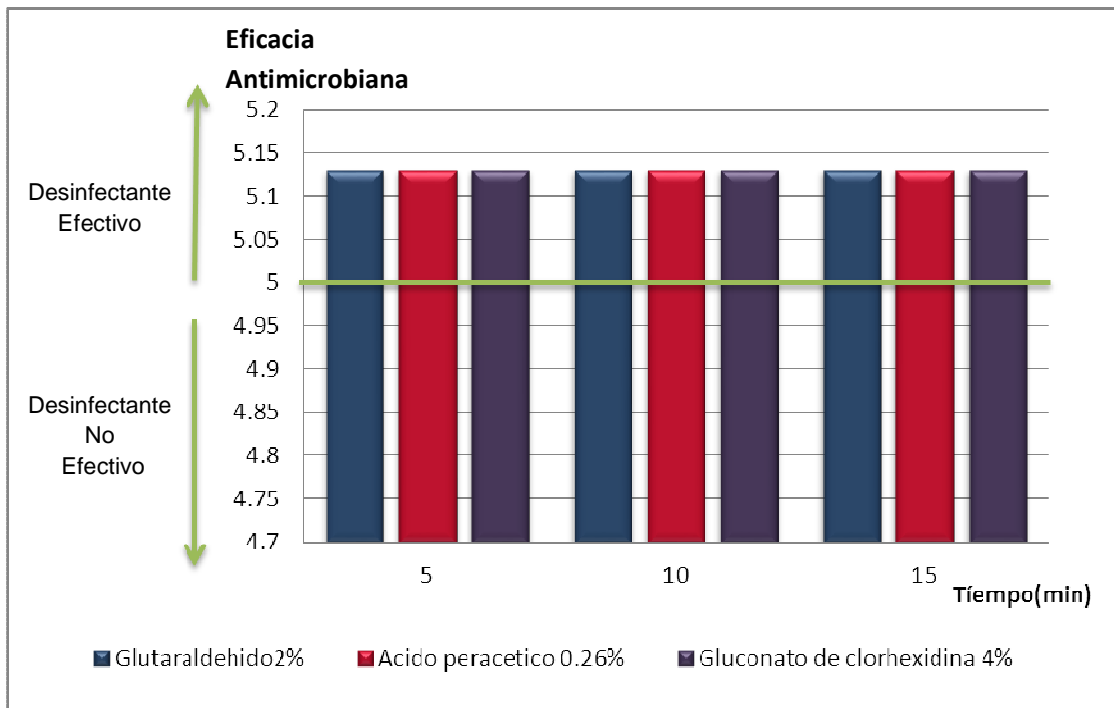


Figura N°5: Gráfico reducción logarítmica Vrs. tiempo de contacto para la *E. coli* con los desinfectantes: Glutaraldehído 2%, Ácido Peracético 0.26% y Gluconato de clorhexidina 4%.

En la figura 3 se refleja que los tres desinfectantes elaborados redujeron en 5 unidades la concentración de la cepa *E. coli* a los 5 minutos de contacto.

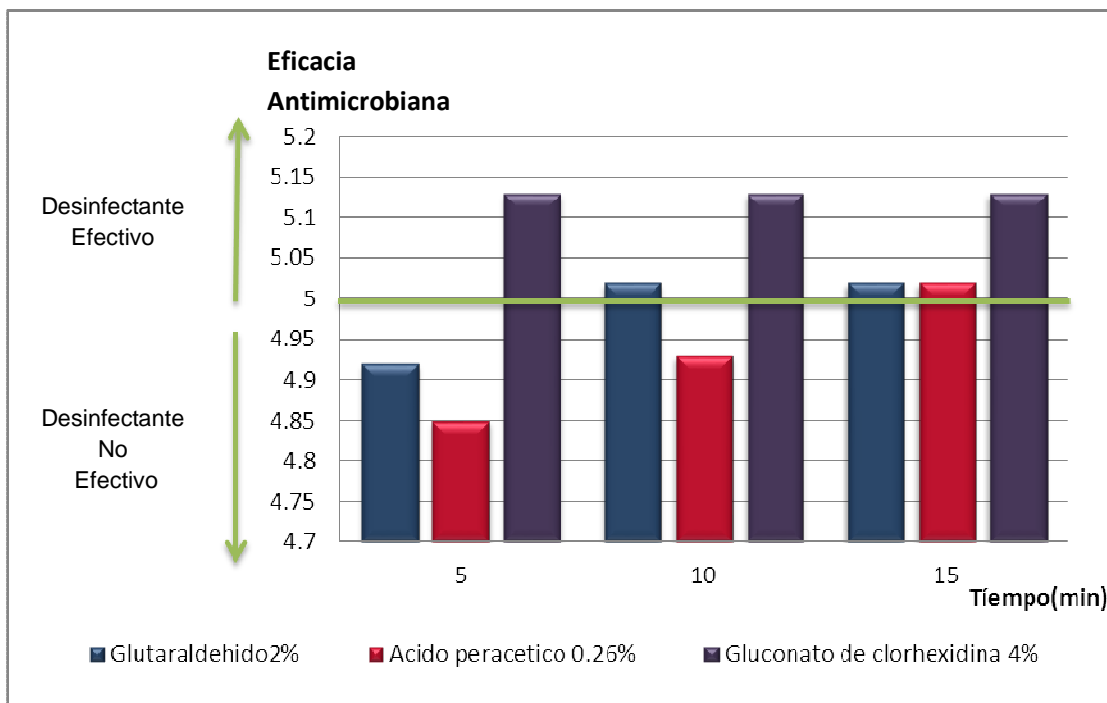


Figura N°6: Gráfico reducción logarítmica Vrs. tiempo de contacto para la *Salmonella choleraesuis* con los desinfectantes: Glutaraldehído 2%, Ácido peracético 0.26% y Gluconato de clorhexidina 4%.

En la figura N°4 se observa que la *Salmonella choleraesuis* fue más sensible con el desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina 4% ya que a los 5 minutos hubo una reducción logarítmica de 5.13

Según estudios realizados las bacterias gram-negativas por lo general son más resistentes a los desinfectantes que las gram-positivas, ya que la membrana externa de las bacterias gram-negativas actúa como una barrera que limita la

entrada de varios tipos de agentes antibacterianos sin relación química (3); esto podría explicar el crecimiento de la cepa de *Salmonella choleraesuis* en los tiempos de 5 y 10min en los desinfectantes evaluados.

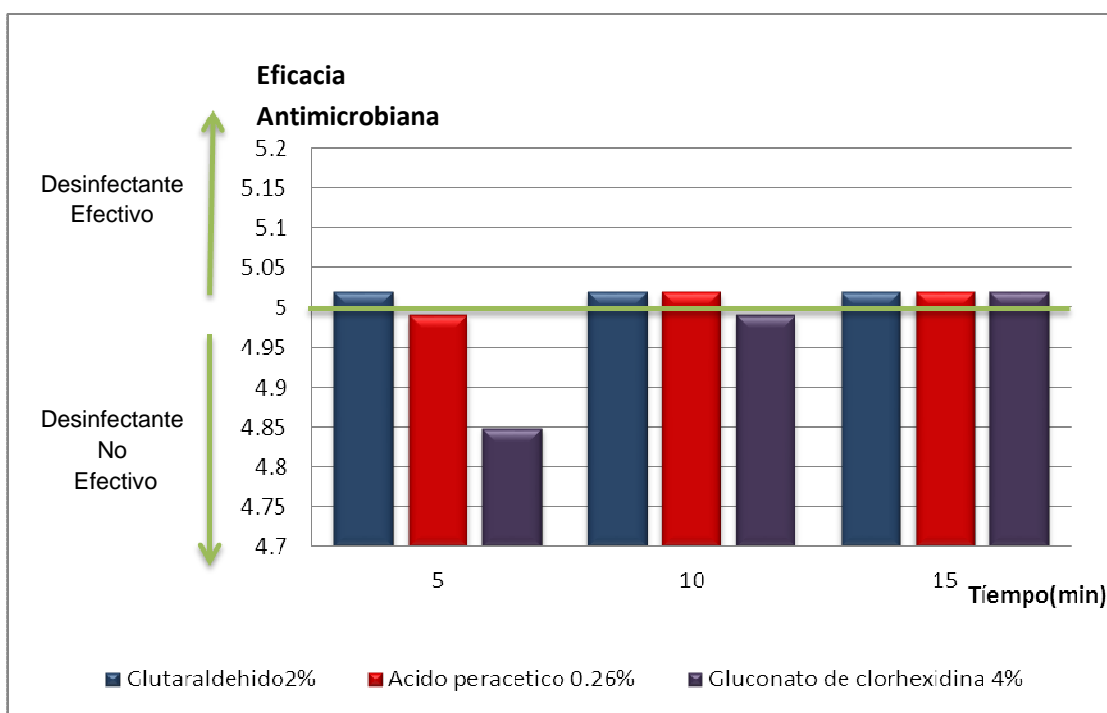


Figura N7: Gráfico reducción logarítmica Vrs. tiempo de contacto para la *Pseudomonas aeruginosa* con los desinfectantes Glutaraldehído 2%, Ácido peracético 0.26% y Gluconato de clorhexidina 4%

En la figura N5 se observa que el desinfectante que actúa con más rapidez para reducir la concentración de la cepa de *P. aeruginosa* es el desinfectante a base de glutaraldehído al 2%. Ésta bacteria mostró crecimiento leve a los 5 minutos contra el desinfectante a base de ácido peracético y a los 5 y 10

minutos con el desinfectante a base de gluconato de clorhexidina 4%, los recuentos oscilaron entre 15 y 20 colonias.

La resistencia de ésta bacteria es atribuida a varias factores, una de ellas es que por ser gram-negativa posee reducida sensibilidad hacia los desinfectantes, comparadas con los *Staphylococcus* debido a los lipopolisacáridos de su membrana externa que impiden el flujo de los desinfectantes al interior de la célula.⁽⁵⁾

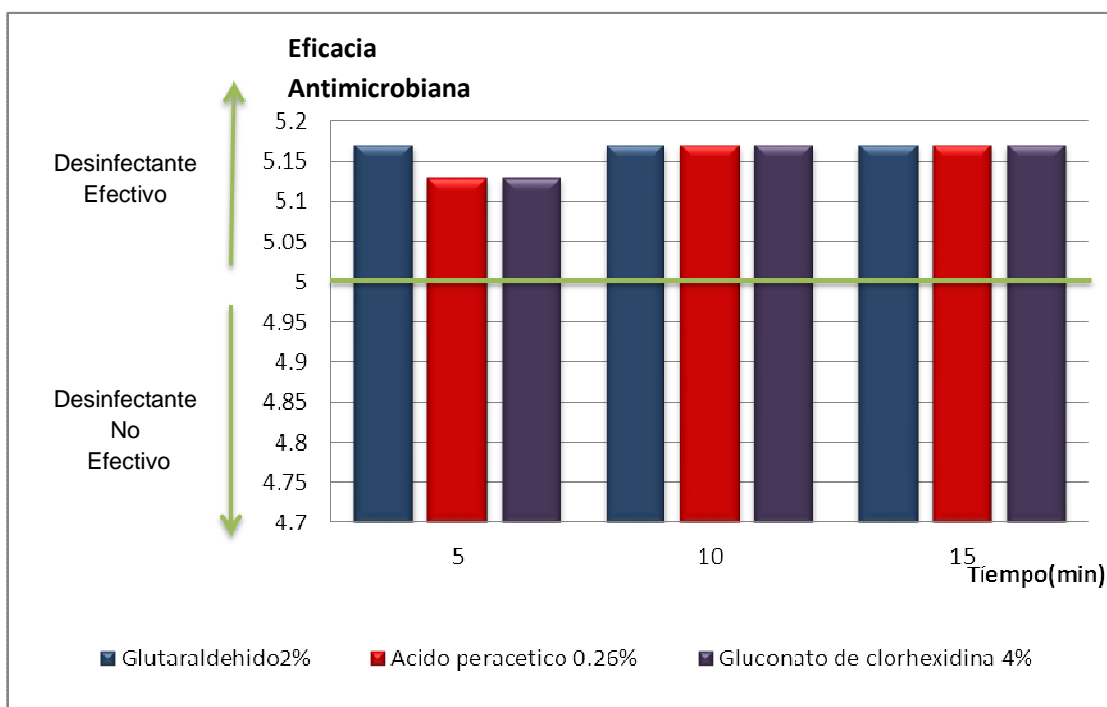


Figura N°8: Gráfico reducción logarítmica Vrs. tiempo de contacto para el *Staphylococcus aureus* con los desinfectantes: Glutaraldehído 2%, Ácido peracético 0.26% y Gluconato de clorhexidina 4%

En la figura N°6 el desinfectante a base de glutaraldehído, es más efectivo, a los 5 minutos de contacto ya que hubo una reducción logarítmica superior de 5.17 de la cepa *Staphylococcus aureus* se refleja también que el desinfectante a base de ácido peracético y el desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina al 4% poseen el mismo comportamiento de acción antimicrobiana frente a éste microorganismo.

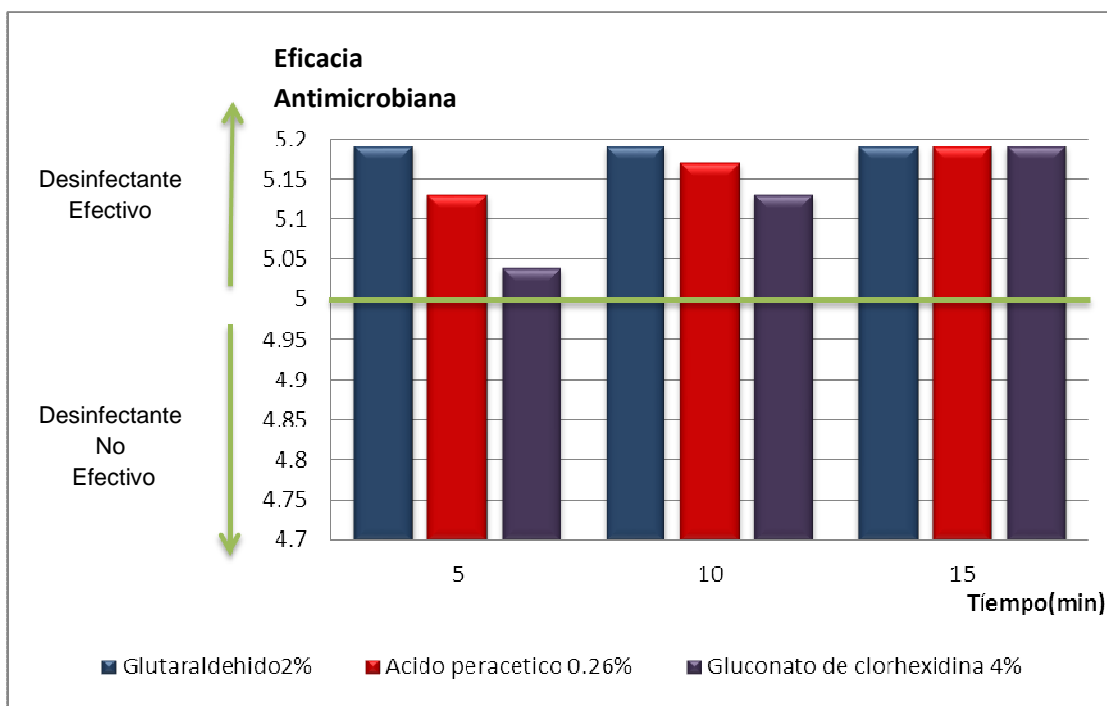


Figura N°9: Gráfico reducción logarítmica Vrs. tiempo de contacto para la *Listeria monocytogenes* con los desinfectantes: Glutaraldehído 2%, Ácido peracético 0.26% y Gluconato de clorhexidina 4%

En este grafico se demuestra nuevamente la acción bactericida del desinfectante a base de glutaraldehido a los 5 minutos de contacto contra la ***L. monocytogenes***.

En síntesis el desinfectante que presenta una acción bactericida, más rápida, frente a los microorganismos en estudio fue el que contiene como principio activo glutaraldehido al 2%. Se puede construir un mecanismo importante de desinfección en diferentes industrias ya que éste producto a los 10 minutos de contacto presenta un efecto notorio contra las bacterias gram-negativas, gram-positivas y bacterias de difícil eliminación como la ***Listeria monocytogenes***.

5.4 INFORMACION CONTENIDA EN LA ETIQUETA

La información de la etiqueta de un desinfectante es esencial para la seguridad de las personas que manipulan el producto. Por esta razón, para el diseño de la etiqueta se tomó en cuenta las hojas de seguridad de los principios activos, y también la norma de Etiquetado de productos higiénicos, 71.03.38:07 establecido por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA), proporcionado por CONACYT. ⁽²²⁾

Requisitos del etiquetado:

- Desinfección: ⁽²²⁾

Describe cómo y cuándo utilizar el desinfectante

- Precauciones durante el uso: ⁽²²⁾

Esta sección describirá los riesgos para el ser humano al usar este producto. Recomienda qué tipo de equipo de protección personal deberá llevarse puesto, y dará información sobre el tratamiento que deberá aplicarse en caso de salpicaduras en los ojos o de ingestión.

- También se señala el principio activo del desinfectante, y la fecha de fabricación y de vencimiento de éste, número de lote y de registro, advertencias de uso, además como especifica la norma se incluyó la siguiente leyenda: “En caso de intoxicación consulte al médico y aporte esta etiqueta”. ⁽²²⁾

- Desinfectante a base de Glutaraldehido 2% (9, 24)



<p>Desinfectante de amplio espectro de acción, es activo en presencia de material orgánico y no es corrosivo.</p> <p>INSTRUCCIONES DE USO</p> <p>Desinfección</p> <p>Para desinfección de instrumental quirúrgico, médico y dental, sumerja el material por 15 minutos, al término de la desinfección enjuague con agua destilada.</p> <p>Para desinfección de superficies y maquinaria, dejar una capa de la solución por 15min y permitir su secado.</p> <p>Fecha de fabricación:</p> <p>Fecha de vencimiento: Registro N°:</p> <p>Lote No.:</p> <p>Hecho en El Salvador por:</p>	 <p>GLUTARALDEHIDO AL 2% ACTIVADO</p> <hr/> <p>Solución Desinfectante de Superficies e instrumental</p> <p>FORMULA Cada 100 mL contiene: Glutaraldehido.....2.0g Vehiculo c.s.p..... 100.0 mL</p> <p>Contenido neto: 3.79L</p>	<p>Precauciones a guardar durante su uso Usar anteojos protectores y guantes, manejándolo en áreas ventiladas.</p> <p>Riesgos para la salud: La inhalación de este producto puede producir tos e irritación de las vías respiratorias, el contacto con la piel y los ojos puede ocasionar dolor y enrojecimiento.</p> <p>En caso de intoxicación consulte al médico y aporte esta etiqueta.</p> <p>Sustancia toxica para el medio ambiente.</p> <p>Instrucciones para almacenar la solución y para eliminar el envase vacío. Consérvese en lugar fresco y seco a 30°C. Deberá estar alejado de las drogas, medicamentos y alimentos, en un área reservada para productos antisépticos. Al término de su uso, enjuagar el contenedor con agua potable y destinar como desecho industrial.</p> 
--	---	---

Figura N°10: Etiqueta para el desinfectante a base de glutaraldehido al 2%.

- Desinfectante a base de Ácido peracético 0.26%. (8, 24)



<p>INSTRUCCIONES DE USO</p> <p>El alto poder biocida permite la eliminación de microorganismos, virus, bacterias y hongos.</p> <p>Desinfección Use en superficies previamente limpias,. Dejar actuar por 15 minutos.</p> <p>Para equipos e instrumental de laboratorio: Sumergir material a desinfectar en la solución durante 15 minutos.</p> <p>Producto de baja toxicidad ya que se descompone en agua, oxígeno y ácido acético, por lo que su utilización no daña el medioambiente.</p> <p>Fecha de fabricación:</p> <p>Fecha de vencimiento:</p> <p>Lote No.:</p> <p>Registro N°:</p> <p>Hecho en El Salvador por:</p>	 <p>ÁCIDO PERACETICO AL 0.26% Estabilizado</p> <hr style="border: 2px solid black;"/> <p>Solución Desinfectante de Superficies e instrumental</p> <p>FORMULA Cada 100 mL contiene: Ácido peracético.....0.26g Vehiculo c.s.p.....100.0 mL</p> <p>Contenido neto 3.79 L</p>	<p>Precauciones a guardar durante su uso</p> <p>Usar guantes plásticos, gabacha y lentes de seguridad. En caso de contacto con los ojos, piel y mucosas lavarse con abundante agua. En caso de intoxicación consulte al médico y aporte esta etiqueta</p> <p>Instrucciones para almacenar la solución y para eliminar el envase vacío.</p> <p>Almacenar en un lugar seco, fresco, entre 25°C y 30°C mantener alejado de temperaturas extrema. Al término de su uso, enjuagar el contenedor con agua potable y destinar como desecho industrial.</p> <div style="text-align: right;">  </div>
---	--	---

Figura N° 11: Etiqueta para el desinfectante a base de Acido peracético al 0.26%.

- Desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina 4% (10, 24)


<p>Desinfectante eficaz contra gérmenes Gram (+) y Gram (-), también efectivo contra hongos y virus.</p> <p>INSTRUCCIONES DE USO</p> <p>Limpia las superficies antes de utilizar el desinfectante, dejar en contacto el desinfectante con la superficie por 15 minutos, luego enjuagar con agua si es necesario.</p> <p>Para equipos e instrumental de laboratorio: Sumergir material a desinfectar en la solución durante 15 minutos.</p> <p>Fecha de fabricación:</p> <p>Fecha de vencimiento:</p> <p>Lote N°:</p> <p>Registro N°:</p> <p>Hecho en El Salvador por</p>	 <p>GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 4%</p> <hr/> <p>Solución Desinfectante de Superficies e instrumental</p> <p>Cada 100 ml contiene: Gluconato de clorhexidina 4.0g Vehículo c.s.p.100.0 mL</p> <p>Contenido neto 3.79 L</p>	<p>Precauciones durante su uso</p> <p>Usar guantes plásticos, gabacha y lentes de seguridad.</p> <p>Advertencia:</p> <p>El contacto prolongado con el producto puede causar irritación en piel y ojos, los vapores pueden causar leve irritación en las mucosas. En caso de contacto con la piel y membranas mucosas lavarse con abundante agua durante 15 minutos. En caso de intoxicación consulte al médico y aporte esta etiqueta.</p> <p>Instrucciones para almacenar la solución y para eliminar el envase vacío.</p> <p>Almacenar en un lugar seco, fresco, entre 25°C y 30°C mantener alejado de temperaturas extremas y de la luz directa.</p> <p>Al término de su uso, enjuagar el contenedor con agua potable y destinar como desecho industrial.</p>
--	---	---

Figura Nº 12: Etiqueta para el desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina al 0.26%.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1. Mediante el análisis de los resultados obtenidos en las pruebas de eficacia antimicrobiana utilizando el método dilución-neutralización, se determinó que los desinfectantes elaborados, son efectivos contra los microorganismos: ***Escherichia coli***, ***Staphylococcus aureus***, ***Pseudomonas aeruginosa***, ***Salmonella choleraesuis*** y ***Listeria monocytogenes***, ya que en 15 minutos los desinfectantes demostraron una reducción logarítmica superior a 5 de la concentración bacteriana de los microorganismos de prueba, por lo que cumplen con las especificaciones de la norma europea UNE-EN 1040:2006.
2. Se determinó que los desinfectantes a base de Glutaraldehído 2% y Ácido peracético 0.26%, presentan actividad antimicrobiana después de 30 días de su elaboración, por lo que son desinfectantes más estables y activos en comparación con los que se comercializan actualmente que en su etiqueta indican que solamente duran 15 días después de su activación .
3. Se demostró que la combinación de clorhexidina y alcohol isopropílico, puede ser utilizada como una solución desinfectante de superficies ya que en la evaluación microbiológica, presentó una reducción logarítmica superior a 5 de la concentración bacteriana de los microorganismos de prueba entre 10 y 15 minutos de contacto.

4. Al comparar la eficacia antimicrobiana de los desinfectantes elaborados se determinó que el que ejerce una acción bactericida en menos tiempo de contacto es el desinfectante a base de glutaraldehído al 2%, ya que éste producto a los 10 minutos de contacto consigue una reducción de más de 5 unidades logarítmicas a diferencia a los otros dos desinfectantes.
5. El desinfectante a base de ácido peracético y el desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina ejercen una acción bactericida, pero para que estos ejerzan un efecto notorio contra los microorganismos se deben dejar actuar por 15min, por lo que pueden ser productos alternativos para el glutaraldehído al 2%.
6. Las fragancias utilizadas presentaron incompatibilidad con las soluciones desinfectantes ya que no se incorporaban en la solución desinfectante. Se optó por prescindir de las fragancias en las formulaciones ya que en sectores como la industria alimentaria la fragancia interfiere en la calidad del producto.
7. El contenido de las etiquetas de los productos elaborados cumple con el objetivo, de informar al usuario final en forma clara y sencilla, los elementos esenciales para el control de los microorganismos. y también las precauciones que deben observarse para que su uso resulte lo más seguro posible.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Conocer a que industria va estar dirigido el desinfectante para así utilizar una determinada fragancia y dependiendo de esto realizar estudios de compatibilidad con el principio activo, para que ésta no afecte la apariencia de las soluciones desinfectantes.
2. Llevar un control del pH y de las cantidades de los vehículos a utilizar, al momento de elaborar soluciones a base de gluconato de clorhexidina ya que éste es difícil de incorporar con otras sustancias.
3. Iniciar con la verificación del método antes de evaluar los desinfectantes con el método dilución –neutralización, ya que este control nos revela, que no se generan inhibiciones del crecimiento bacteriano, por motivos diferentes a la acción del producto a evaluar, tal como la metodología, las condiciones experimentales y la sustancia neutralizante.
4. Leer la etiqueta antes de utilizar los desinfectantes; ya que brinda información sobre la manipulación, almacenamiento, como usarlos en forma segura y que hacer en caso de accidente.

5. Implementar en la cátedra de control de calidad de medicamentos y productos veterinarios la metodología de análisis dilución – neutralización para evaluar desinfectantes.

BIBLIOGRAFIA

1. AENOR. UNE-EN 1040:2006, Antisépticos y desinfectantes químicos. Ensayo cuantitativo de suspensión para la evaluación de la actividad bactericida básica de los antisépticos y desinfectantes químicos. Método de ensayo y requisitos (fase 1). 2006
2. Álvarez Alcántara, Espigares Rodríguez y Gálvez Vargas. Valoración de desinfectantes. Método de dilución-neutralización. [Internet] Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Medicina, Madrid España. 2001 [acceso 10 marzo de 2010].
Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd27/higsand14.pdf>
3. Ancalmo, E. Fundamentals of microbiology, Massachusetts. Jonas and Bartlett Publisher. 2001 (6^o Edition)
4. Bautista R. "Evaluación de la actividad antimicrobiana de un desinfectante formulado a base de orégano, en la sanitización del equipo de terapia respiratoria en la unidad de cuidados intensivos neonatales del hospital nacional Benjamín Bloom" Trabajo de graduación. Lic. Química y Farmacia, San Salvador, El Salvador, Universidad de El Salvador. 2007.

5. Cristina Eugenia Cabrera, Rommel Fabián Gómez, Andrés Edmundo Zúñiga
La resistencia de bacteria a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. [Internet] Colombia Médica, 2007. [acceso 28 enero de 2011]. Disponible en:
<http://www.bioline.org.br/pdf?rc07034>
6. Carpenter, F. Microbiología Básica. México D.F. Editorial Interamericana S.A. de C.V. 1969. (2º Edición).
7. Contreras Torres L. “Evaluación Microbiológica de Desinfectantes Elaborados en El Salvador y Comercializados en el área Metropolitana; por los métodos Coeficiente Fenólico y Kirby Bauer Modificado.” Trabajo de graduación Lic. Química y Farmacia. El Salvador, Universidad de EL Salvador. 1996.
8. Corporación química Venezolana. Hoja de seguridad de Ácido peracético. [Internet]. [acceso 9 agosto de 2010]. Disponible en:
http://www.corquiven.com.ve/esp/MSDS%5CMSDSACIDO_PERACETICO.
9. Corporación química Venezolana. Hoja de seguridad de Glutaraldehido. [Internet]. [acceso 9 agosto de 2010]. Disponible en:
<http://www.corquiven.com.ve/PDF/MSDS-GLUTARALDEHIDO.pdf>

10. Corporación química Venezolana. Hoja de seguridad de Gluconato de clorhexidina. [Internet]. [acceso 9 agosto de 2010]. Disponible en:
<http://www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9923401>
11. Dealat, A. Microbiología, México D.F., Editorial Interamericana S.A. de C.V. 1983. (2º Edición.)
12. Echeverri L, Cifuentes G, Granados M, Arias J, Fernández C, Cinética de desinfección para cinco desinfectantes utilizados en industria farmacéutica. [Internet]. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia, 2007 [acceso marzo de 2010]. Disponible en:
http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol41_2_07/far06207.html
13. Escobar P, Rodríguez C, “Formulación y desarrollo de un desinfectante para pisos y sus controles de calidad” Trabajo de graduación. Lic. Química y Farmacia, San Salvador, El Salvador, Universidad de El Salvador. 1996
14. Gálan L. Desarrollo de métodos para verificar la eficacia fungicida de sustancias desinfectantes. [Internet]. Tesis para optar al grado de Doctor. Universidad Autónoma de Barcelona. 2003 [acceso 10 marzo de 2010]. Disponible en: http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX-0611104-150900//lcga1de1.pdf


15. Helman, J. Farmacotécnica teórica y práctica. México. Editorial Continental, S.A. de C.V. V.8 Tomo IV. 1996.
16. Hernández Rodríguez, Águeda Aportaciones al estudio de la actividad antimicrobiana de los antisépticos desinfectantes. [Internet]. Universidad autónoma de Barcelona. 2006. [acceso 10 febrero de 2010]. Disponible en: <http://www.tdx.cat/TDX-0601107-162233>
17. Margariños, Delmy. Actividad del digluconato de clorhexidina sobre aislamientos hospitalarios de *Staphylococcus sp.* en diferentes condiciones ambientales. [Internet]. Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires argentina, 2003 [acceso marzo de 2010]. Disponible en: <http://www.siicsalud.com/dato/dat032/03806000.htm>
18. Medina Alegría, Amaya Rivera. “Recopilación de monografías de excipientes y vehículos utilizados en la fabricación de medicamentos y cosméticos en la cátedra de tecnología farmacéutica”. Trabajo de Graduación Lic. Química y Farmacia. El Salvador, Universidad de El Salvador. 2007

19. Merck, E. Manual de medios de cultivo. Franckfurterstrasse. R.F. de Alemania. 1994.
20. Orellana Díaz, Sanchez Barahona E, Mirella E. Diseño de los procedimientos generales de operación estándar (POE'S) para las formas farmacéuticas fabricadas en el laboratorio de tecnología farmacéutica de la facultad de química y farmacia de la universidad de El Salvador. Trabajo de graduación. Lic. Química y Farmacia, San Salvador, El Salvador, Universidad de El Salvador. 2008.
21. Pharmaceutical Press,. Martindale: Guia Completa de Consulta Farmacoterapeutica. Editorial Grupo Ars. 2004 (1º Edición)
22. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 71.03.38:07. Productos higiénicos. Etiquetado de productos higiénicos. [Internet]. CONACYT. [acceso Enero de 2011]. Disponible en:
<http://www.infoq.org.sv/dbnormas/NSO%20RTCA%2071.03.38.07.pdf>
23. Sifuentes, A. Desinfectantes. [Internet]. 2005. [acceso marzo de 2010].
Disponible en:
<http://www.monografias.com/trabajos14/desinfectantes/desinfectantes.shtml?monosearch>

24. The center food security & public health. Etiquetas de desinfectantes. [Internet]. Iowa State University. [acceso 13 de febrero 2011]. Disponible en: http://www.cfsph.iastate.edu/BRMForProducers/Spanish/AdditionalSupplements/S_disinfectant_label_handout.pdf
25. Torres de Navas O. "Evaluación Microbiológica de la Potencia de Antisépticos y Desinfectantes Utilizados en Cateterización Urinaria en el Hospital Rosales de San Salvador." Trabajo de Graduación Lic. Química y Farmacia. El Salvador, Universidad de El Salvador. 1896
26. Wildbrett, G. Limpieza y desinfección en la industria alimentaria. Editorial Acribia, 2000. (1º Edición)
27. Zabala, R. Manual de desinfección y esterilización hospitalaria, [Internet]. Lima Perú. 2002. [acceso febrero de 2010]. Disponible en: <http://spe.epiredperu.net/SE-IIH/17%20Norma%20Esterilizacion.pdf>

ANEXO N° 1

PROCEDIMIENTOS DE OPERACIÓN (POES)

	PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN ESTÁNDAR	
	UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA	CODIGO:TDLS-0
FECHA: 10/10	HOJA: 1 DE: 1	
TITULO: PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA Y SANITIZACION DEL ÁREA DE FABRICACION.		
<p>Alcance: Documentar un procedimiento para la limpieza y sanitización del área de fabricación.</p> <p>Objetivo: Describir los lineamientos generales de limpieza y sanitización del área de fabricación para eliminar correctamente restos del producto y evitar contaminaciones cruzadas.</p> <p>Procedimiento de operación:</p> <ol style="list-style-type: none"> Limpieza del área y equipo de trabajo: Limpiar el área con papel toalla que no desprenda fibra para eliminar los restos de polvo, agregar solución detergente sobre la superficie del área de trabajo y limpiar con una esponja con movimientos circulares hasta remover la suciedad y retirar los restos de la solución con papel toalla que no desprenda fibras. Sanitización del área y equipo de trabajo: Disolver 5.0mL de solución de Cloruro de benzalconio al 25% en 5.0mL de agua destilada y con una esponja distribuir la solución sobre la superficie de la mesa y dejar por 20 minutos. Retirar los restos de la solución con una toalla que no desprenda fibras. 		
REDACTADO POR:	VERIFICADO POR:	APROBADO POR:



PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN ESTÁNDAR

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

CODIGO: TDG-1

FECHA:
10/10

HOJA: 1 DE: 3

TITULO: PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE DESINFECTANTE A
BASE DE GLUTARALDEHIDO AL 2%

ALCANCE: Identificar la formulación que presente mejores características de calidad.

OBJETIVO: Diseñar un procedimiento para la elaboración de un desinfectante a base de Glutaraldehido al 2%.


Cuadro N°2 : Fórmula cualitativa y cuantitativa del desinfectante a base de Glutaraldehido 2%

MATERIA PRIMA	FORMULA CUANTITATIVA			FORMULA CUALITATIVA
	PRE-FOR 1	PRE-FOR 2	PRE-FOR 3	
Trietilenglicol	4.0%	8.0%	12.0%	Humectante
Bifosfato monosódico	3.0%	5.0%	10.0%	Regulador de pH
Glutaraldehido	2.0%	2.0%	2.0%	Agente desinfectante
Nitrito sódico	0.10%	0.30%	0.50%	Anticorrosivo
FD&C Azul N°5	0.50%	0.80%	0.10%	Correctivo de color
Fragancia de limón	-----	0.40%	0.50%	Correctivo de olor
Agua desmineralizada	90.31%	83.5%	74.9%	Vehículo

REDACTADO POR:

VERIFICADO POR:

APROBADO POR:

	PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN ESTÁNDAR	
	UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA	CODIGO: TDG-1
FECHA: 10/10	HOJA: 2 DE: 3	
TITULO: PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE DESINFECTANTE A BASE DE GLUTARALDEHIDO AL 2%		
<p>Procedimiento de operación:</p> <ol style="list-style-type: none"> 15. Limpieza y sanitización del área y equipo de trabajo.(TDLS-3) 16. Requisición de materia prima (ver anexo 9) 17. Pesar sólidos en balanza analítica: Bifosfato monosódico 3.0g; Nitrito sódico 0.10g. 18. Medir líquidos utilizando pipeta Mohr: Trietilenglicol 4.0mL; Glutaraldehido 2.0mL; FD&C Azul N°5 0.50mL; fragancia de limón 0.30mL; agua destilada 90.31mL utilizando probeta. 19. En un vaso de precipitado de 150mL, agregar 60mL de agua destilada y disolver 3.0g de Bifosfato monosódico, 0.10g de Nitrito sódico, agitando mecánicamente después de cada adición hasta completa disolución. 20. Incorporar a la mezcla 2.0mL de Glutaraldehido y 4.0mL Trietilenglicol agitando mecánicamente después de cada adición hasta completa miscibilidad. 21. Colorear la mezcla del paso 6 con 0.5mL de FD&C Azul N°5 con agitación mecánica hasta homogenizar 22. Adicionar 0.3mL de fragancia de limón con agitación mecánica hasta homogenizar. (omitir si no lleva fragancia) 		
REDACTADO POR: <i>[Firma]</i>	VERIFICADO POR: <i>[Firma]</i>	APROBADO POR: <i>[Firma]</i>



PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN ESTÁNDAR

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

CODIGO: TOG-1

FECHA:
10/10

HOJA: 3 DE: 3

TITULO: PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE DESINFECTANTE A
BASE DE GLUTARALDEHIDO AL 2%

- 23. Filtrar la solución del paso 8.
- 24. Completar hasta volumen total de 100mL con agua destilada.
- 25. Realizar controles en proceso (ver página 61)
 - f) Evaluación de las características organolépticas: olor, color.
 - g) Transparencia
 - h) Partículas extrañas
 - i) Verificación de volumen
 - j) pH
- 26. Envasar el desinfectante en recipiente de polietileno de alta densidad
- 27. Etiquetar
- 28. Almacenar en el área de cuarentena durante quince días a una temperatura de 29°C.

Universidad de El Salvador

REDACTADO POR:

VERIFICADO POR:

APROBADO POR:

Hacia la libertad por la cultura



PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN ESTÁNDAR

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

CODIGO: TDA-1

FECHA:
10/10

HOJA: 1 DE: 3

TITULO: PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE DESINFECTANTE A
BASE DE ÁCIDO PERACÉTICO 0.26%

ALCANCE: Identificar la formulación que presente mejores características de calidad.

OBJETIVO: Diseñar un procedimiento para la elaboración de un desinfectante a base de ácido peracético al 0.26 % y evaluar las formulaciones elaboradas.


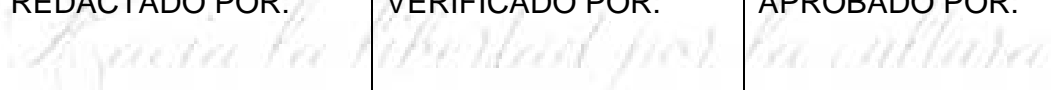
Cuadro N°3: Fórmula cualitativa y cuantitativa del desinfectante a base de Ácido Peracético 0.26%.

MATERIA PRIMA	FORMULA CUANTITATIVA			FORMULA CUALITATIVA
	PRE-FOR 1	PRE-FOR 2	PRE-FOR 3	
Bifosfato monosódico	1.0%	1.5%	2.0%	Agente quelante
Ácido Peracético	0.26%	0.26%	0.26%	Agente Desinfectante (P.A.)
Lauril sulfato de sodio	0.10%	0.20%	0.30%	Surfactante, Humectante
FD&C Rojo N ⁴	0.50%	0.80%	1.0%	Correctivo de color
Fragancia floral	-----	0.40%	0.50%	Correctivo de olor
Agua desmineralizada	98.14%	96.84%	95.94%	Vehículo

REDACTADO POR:

VERIFICADO POR:

APROBADO POR:

	PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN ESTÁNDAR	
	UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA	CODIGO: TDA-1
FECHA: 10/10		HOJA: 2 DE: 3
TITULO: PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE DESINFECTANTE A BASE DE ÁCIDO PERACÉTICO AL 0.26%		
<p>15. Limpieza y sanitización de área y equipo de trabajo.(TDLS-3)</p> <p>16. Requisición de materia prima. (ver anexo 6)</p> <p>17. Pesar sólidos en balanza analítica: Bifosfato monosódico 1.0g; Lauril sulfato de sodio 0.10g.</p> <p>18. Medir líquidos utilizando pipeta Mohr: Ácido peracético 0.26mL; FD&C Rojo N°4 0.50mL; fragancia floral 0.30mL; agua destilada 98.14mL utilizando probeta.</p> <p>19. En un vaso de precipitados de 150mL, agregar 60mL de agua destilada y disolver 1.0g de Bifosfato monosódico, 0.10g de Lauril sulfato de sodio, agitando mecánicamente después de cada adición hasta completa disolución.</p> <p>20. Incorporar a la mezcla 0.26mL de Ácido peracético agitando mecánicamente hasta completa miscibilidad.</p>		
REDACTADO POR:	VERIFICADO POR:	APROBADO POR:
		



PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN ESTÁNDAR

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

CODIGO: TDA-1

FECHA:
10/10

HOJA:3 DE: 3

TITULO: PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE DESINFECTANTE A
BASE DE ÁCIDO PERACÉTICO AL 0.26%

21. Colorear la mezcla del paso 6 con 0.5mL de FD&C Rojo N°4 con agitación mecánica hasta homogenizar.
22. Adicionar fragancia floral con agitación mecánica hasta homogenizar.
(Omitir si la solución no lleva fragancia)
23. Filtrar la solución del paso 8.
24. Completar hasta volumen total de 100ml con agua destilada.
25. Realizar controles en proceso (ver página 61)
 - f) Evaluación de las características organolépticas: olor, color.
 - g) Transparencia
 - h) Partículas extrañas
 - i) Verificación de volumen
 - j) pH
26. Envasar el desinfectante en recipiente de polietileno de alta densidad
27. Etiquetar
28. Almacenar en el área de cuarentena durante quince días, a una temperatura de 29°C.

REDACTADO POR:

VERIFICADO POR:

APROBADO POR:

Justicia, la libertad por la cultura



PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN ESTÁNDAR

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

CODIGO: TDC-1

FECHA:
10/10

HOJA:1 DE: 3

TITULO: PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE DESINFECTANTE A
BASE DE GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 4%

ALCANCE: Identificar la formulación que presente mejores características de calidad.

OBJETIVO: Diseñar un procedimiento para la elaboración de un desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina 4% .

Cuadro N°5: Fórmula cualitativa y cuantitativa del desinfectante a base de Gluconato de clorhexidina 4%

MATERIA PRIMA	FORMULA CUANTITATIVA			FORMULA CUALITATIVA
	PRE-FOR 1	PRE-FOR 2	PRE-FOR 3	
Gluconato de clorhexidina	4.0%	4.0%	4.0%	Agente desinfectante
Isopropanol 70%	3.0%	3.0%	3.0%	Coadyuvante; desinfectante
Propilenglicol	1.0%	2.0%	3.0%	Humectante
Nitrito sódico	0.05%	0.1%	0.3%	Anticorrosivo
EDTA	0.005%	0.08%	0.1%	Agente quelante
FD&C Morado N°1	0.5%	0.8%	1.0%	Correctivo de color
Fragancia de lavanda	-----	0.4%	0.5%	Correctivo de olor
Agua desmineralizada	91.45%	89.42%	88.1%	Vehículo

REDACTADO POR:

VERIFICADO POR:

APROBADO POR:



PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN ESTÁNDAR

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

CODIGO: TDC-1

HOJA:2 DE: 3

FECHA:
10/10

TITULO: PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE DESINFECTANTE A
BASE DE GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 4%


Procedimiento de operación:

16. Limpieza del área y equipo de trabajo (TDLS-3)
17. Requisición de materia prima.(ver anexo 6)
18. Pesar sólidos en balanza analítica: Gluconato de clorhexidina 4.0g; Nitrito sódico 0.1g; EDTA 0.05g;
19. Medir líquidos utilizando pipeta Mohr: Isopropanol al 70% 3.0mL; Propilenglicol 1.0mL; FD&C Azul N°1 0.50mL; fragancia de lavanda 0.30mL; agua destilada 91.45mL utilizando probeta.
20. En un recipiente de 150mL, agregar 60mL agua destilada y disolver 0.005g de EDTA, 0.1g de Nitrito sódico y 4.0g de Gluconato de clorhexidina, agitando mecánicamente después de cada adición hasta completa disolución.
21. Incorporar a la mezcla 3.0mL de Alcohol isopropílico y 1.0mL de Propilenglicol agitando mecánicamente después de cada adición, hasta completa miscibilidad.
22. Colorear la mezcla del paso 6 con 0.5mL de FD&C Morado N°1 con agitación mecánica hasta homogenizar.

REDACTADO POR:

VERIFICADO POR:

APROBADO POR:

	PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN ESTÁNDAR	
	UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA	CODIGO: TDC-1
FECHA: 10/10	HOJA:3 DE: 3	
TITULO: PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE DESINFECTANTE A BASE DE GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 4%		
<p>23. Adicionar 0.3mL de fragancia lavanda con agitación mecánica hasta homogenizar. (omitir si no lleva fragancia)</p> <p>24. Filtrar la solución del paso 8.</p> <p>25. Completar hasta volumen total de 100ml con agua destilada.</p> <p>26. Realizar controles en proceso (ver página 61)</p> <p>27. Evaluación de las características organolépticas: olor, color.</p> <ul style="list-style-type: none"> e) Transparencia f) Partículas extrañas g) Verificación de volumen h) pH <p>28. Envasar el desinfectante en recipiente de polietileno de alta densidad</p> <p>29. Etiquetar</p> <p>30. Almacenar en el área de cuarentena durante quince días a una temperatura de 29°C.</p>		
<h1>Universidad de El Salvador</h1>		
REDACTADO POR: <i>[Firma]</i>	VERIFICADO POR: <i>[Firma]</i>	APROBADO POR: <i>[Firma]</i>

ANEXO N° 2
MONOGRAFIAS

CLORHEXIDINA ⁽²¹⁾

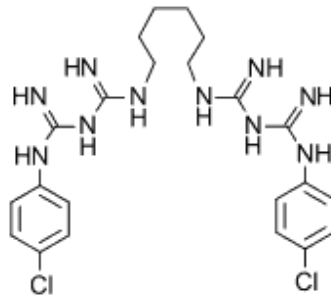


Figura N°13: Estructura química de la Clorhexidina

Características organolépticas: (Gluconato de Clorhexidina)

Solución acuosa que contiene no menos de 190 g/litro y no más de 210 g/litro de Gluconato de clorhexidina. Líquido casi incoloro o amarillo pálido, miscible en agua.

Espectro de acción:

Los siguientes microorganismos muestran una alta susceptibilidad a la clorhexidina: Estreptococos, estafilococos, ***Cándida albicans***, ***Escherichia coli***, ***salmonella sp.***, y bacterias anaeróbicas. Las cepas de Proteus, Pseudomonas, Klebsiella y cocos gram-negativos muestran una baja susceptibilidad a la clorhexidina.⁽²⁷⁾

Mecanismo de acción:

La clorhexidina desestabiliza y penetra las membranas de las células bacterianas. La clorhexidina precipita el citoplasma e interfiere con la función de la membrana, inhibiendo la utilización de oxígeno, lo que ocasiona una disminución de los niveles de ATP y la muerte celular. En las bacterias Gram-negativas, la clorhexidina afecta la membrana exterior permitiendo la liberación de las enzimas periplasmáticas. La membrana interna de estos microorganismos no es destruida, pero sí que es impedida la absorción de pequeñas moléculas. A bajas concentraciones, la clorhexidina exhibe un efecto bacteriostático, mientras que a altas concentraciones es bactericida.⁽¹⁷⁾

Incompatibilidades: ⁽²¹⁾

Las sales de clorhexidina son incompatibles con jabones y otros materiales aniónicos. Su actividad puede ser reducida por la presencia de agentes suspensores como el alginato y tragacanto, también polvos insolubles como el kaolin y compuestos insolubles de Calcio, magnesio y zinc.

A concentración de 0.05% las sales de clorhexidina son incompatibles con boratos, bicarbonatos, carbonatos, cloruros, citratos, nitratos, fosfatos y sulfatos, formando sales de baja solubilidad las cuales pueden precipitar de la solución. A diluciones de 0.01% o más, estas sales son generalmente solubles. En presencia de aguas duras se pueden formar sales insolubles.

GLUTARALDEHIDO



Fig.Nº14: Estructura química del Glutaraldehido.

Propiedades fisicoquímicas

Líquido de bajo peso molecular, incoloro y de olor picante. Miscible en agua y solventes orgánicos (etanol, benceno y éter). En agua es ligeramente ácido (pH 3 – 4). Emanar vapores tóxicos. (21)

Espectro de actividad

Bactericida de elevada potencia. Es activo frente a GRAM (+), GRAM (-), Micobacterias, Virus y algunos hongos.

Las soluciones acuosas de glutaraldehído ácidas no son esporicidas; para serlo es necesario que estén activadas a pH 7.5-8.5 Se ha demostrado efectivo contra *Mycobacterium tuberculosis*, así como contra el virus de la hepatitis B y HIV. (21)

Mecanismo de acción

Es alquilante de grupos sulfidrilo, hidroxilo, carbonilo y amino, alterando así la síntesis de DNA, RNA y proteínas. La célula es incapaz de llevar a cabo sus funciones esenciales. Causa también disrupción de la pared de esporas e inhibe la esporulación y germinación. Las soluciones deben estar activadas: el pH óptimo de actuación es entre 7.5-8.5 (21,27)

Incompatibilidades

No interacciona con metales, gomas, lentes ópticos o plásticos. A diferencia del formaldehído. El glutaraldehído mantiene un alto grado de actividad en presencia de materia orgánica. (21,27)

ÁCIDO PERACÉTICO

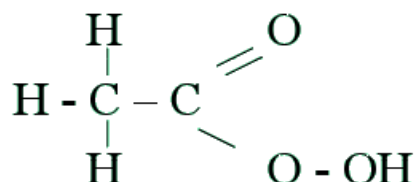


Fig.Nº 15 Estructura química del ácido peracético

Formula química: C₂H₄O₃

Sinónimos: Ácido peroxiacético, acetil hidroperóxido ⁽²¹⁾

Propiedades fisicoquímicas:

Masa molar: 76.05, densidad: 1.13g/ml, P.f.:0.2°C, P.e: 110°C, Flash point: 40.5°C, es un ácido débil, cuyo pH es de 8.2 a 20°C, ⁽²¹⁾

El ácido peracético es una mezcla de ácido acético y peróxido de hidrógeno en solución acuosa. Se obtiene por oxidación a partir de acetaldehído y oxígeno en presencia de acetato de cobalto. También puede obtenerse tratando anhídrido acético con peróxido de hidrógeno (en presencia de ácido sulfúrico). Soluble en agua, alcohol, éter y ácido sulfúrico. ⁽²¹⁾

Espectro de actividad

Es activo frente a bacterias, hongos, levaduras, endoesporas y virus. A concentraciones inferiores a 100 ppm inhibe y mata a bacterias Gram positivas, Gram negativas, micobacterias, hongos y levaduras en 5 minutos o menos. Algunos virus son inactivados por 12-30 ppm en 5 minutos, mientras que otros requieren 2000 ppm (0.2%) durante 10-30 minutos. La Concentración Mínima Esporicida (CME) del ácido peracético es de 168-336 ppm (son necesarias 1-2 horas de contacto). (21,26)

Mecanismo de acción

La actividad desinfectante del ácido peracético radica en su capacidad oxidante sobre la membrana externa de las bacterias, endoesporas y levaduras. El mecanismo de oxidación consiste en la transferencia de electrones de la forma oxidada del ácido a los microorganismos, provocando así su inactivación o incluso su muerte. Ejerce su actividad al descomponerse en ácido acético, peróxido de hidrógeno y oxígeno (productos no dañinos). (21, 26, 27)

Incompatibilidades:

El ácido peracético se descompone con mucha lentitud a la temperatura ambiente. Esta descomposición se acelera muchísimo cuando hay indicios de ciertas impurezas, en particular de iones de metales pesados, como cobalto, hierro y cobre, que reducen considerablemente la estabilidad, ya en

concentraciones de solo unas pocas partes por millón, por lo que pueden producirse serias contaminaciones por exposición al polvo atmosférico o por el equipo usado en la manufactura o en el almacenaje. El efecto de estas impurezas se contrarresta mediante la adición de pequeñas cantidades de secuestrantes o de agentes de quelación, que se supone forman complejos catalíticamente inactivos con los iones metálicos, esto no solo reduce la pérdida de ácido peracético por almacenaje sino que también permite manejar la solución con más seguridad. Las sustancias alcalinas disminuyen la estabilidad del ácido peracético. (21)

TRIETILENGLICOL ⁽²¹⁾



Fig. N° 16: Estructura química de Trietilenglicol

Sinónimos: Trietilenoglicol

Fórmula química: C₆ H₁₄ O₄

Descripción: Líquido incoloro a amarillo pálido, higroscópico

Solubilidad: Completamente soluble en agua, soluble en alcohol insoluble en tolueno, benceno.

Propiedades físicas:

Masa molar:	150.17g/mol
Punto de fusión:	-7°C
Punto de ebullición:	285-295°C
Densidad:	1.123g/cm ³ (20°C)
Temperatura de inflamabilidad:	165°C

El trietilenglicol se asemeja por sus propiedades al derivado polímero más sencillo de etilenglicol; fue obtenido primero por Lourenco y Wurtz como subproducto e síntesis del dietilenglicol.

Usos: se usa para desinfectar el aire de hospitales, tiene propiedades emulsionantes y lubricante.

BIFOSFATO MONOSODICO ⁽²¹⁾

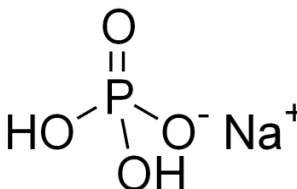


Fig. N° 17: Estructura química de Bifosfato monosodico

Sinónimos: Sodio dihidrogenofosfato, sodio bifosfato, fosfato de sodio monobásico.

Fórmula química: NaH_2PO_4

Descripción: Polvo cristalino, blanco o transparente, sin olor; ligeramente higroscópico.

Solubilidad: En agua 850g/l, insoluble en alcohol.

Propiedades físicas:

Masa molar:	119.98g/mol
Punto de fusión:	60°C
Punto de ebullición:	285-295°C
Densidad:	1.915g/cm ³ (20°C)

Usos: Es utilizado como regulador de la acidez y como agente quelante o secuestrante ya que forma complejos con los iones metálicos; disminuye la pérdida de agua.

NITRITO SODICO ⁽²¹⁾

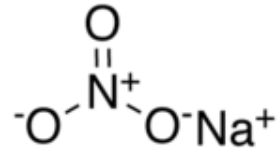


Fig. N° 18: Estructura química de Nitrito sódico

Sinónimos: Nitrito de sodio, sal sódica del ácido nitroso.

Fórmula química: NaNO_2

Descripción: Polvo granular de color blanco a ligeramente amarillo, o varillas o masas fundidas, opacas, de color blanco o prácticamente blanco. Tiene un suave sabor salino y es deliquescente en aire.

Solubilidad: Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol.

Propiedades físicas:

Masa molar:	69g/mol
Punto de fusión:	280°C
Punto de ebullición:	320°C
Densidad:	2.1g/cm ³

Usos: Se emplea principalmente como conservante alimenticio y como agente anticorrosivo.

LAURILSULFATO DE SODIO (18, 21)

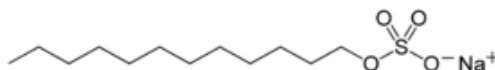


Fig. N°19: Estructura química de lauril sulfato de sodio

Sinónimos: Dodecil sulfato de sodio, Sulfato laureo de sodio, Sal sódica dodecilo sulfato, Monododecil sulfato de sodio.

Fórmula química: $C_{12}H_{25}NaO_4S$

Descripción: polvo blanco ó ligeramente amarillo

Solubilidad: soluble en agua, parcialmente soluble en alcohol, prácticamente insoluble en éter y cloroformo.

Propiedades físicas:

Masa molar:	288.38 g/mol
Punto de fusión:	204-207°C
Punto de ebullición:	se descompone
Densidad:	1.1g/ml

Usos: Aditivo para alimentos, tensioactivo, agente humectante. En preparaciones de limpieza se emplea como emulsificante y detergente formando espuma.

EDTA (18,21)

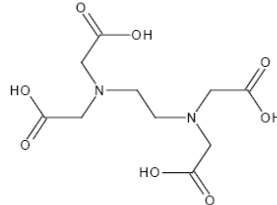


Fig. N° 20: Estructura química de EDTA

Sinónimos: Ácido etilendiamino tetraacético, Ácido (etilendinitrilo) tetraacético

Fórmula química: $C_{10}H_{16}N_2O_8$.

Descripción: Cristales o polvo cristalino blanco, inodoro.

Solubilidad: Muy poco soluble en agua e hidróxido de sodio al 0.1 N; insoluble en etanol y cloroformo; soluble en hidróxido alcalinos

Propiedades físicas:

Masa molar	292.25 g/mol
Punto de fusión	245 °C. descompone
Densidad (25°C)	0.86 g/mL.

Usos: El EDTA y sus sales se utilizan de 0.005 – 0.1% como agente quelante en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria

PROPILENGLICOL ⁽¹⁸⁾

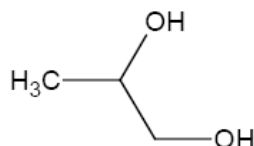


Fig. N° 21: Estructura química de Propilenglicol

Sinónimos: Metilglicol, Metiletilenglicol, Propano-1,2-diol, 1,2-propilenglicol

Fórmula química: $C_3H_8O_2$

Descripción: Líquido claro, límpido, incoloro, viscoso a temperatura ambiente; prácticamente inodoro que tiene un sabor ligeramente acre. Higroscópico

Solubilidad: Miscible en agua, glicerina, alcohol, acetona y cloroformo; soluble en éter; disuelve a muchos aceites volátiles; no miscible con aceites fijos

Propiedades físicas:

Masa molar:	76.094 g/mol
Punto de ebullición:	184 - 189°C,
Densidad:	1.035 - 1.037 25°C g/mL

Usos: Como conservador y emulsificante en alimentos, preservante, humectante, solvente.

ALCOHOL ISOPROPILICO ^(18,21)

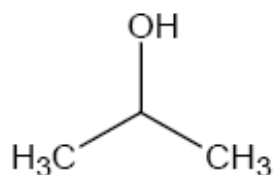


Fig. N° 22: Estructura química de alcohol isopropílico

Sinónimos: Isopropanol, 2-Propanol, Dimetil carbinol

Fórmula química: C₃H₈O

Descripción: Líquido inflamable, transparente, incoloro, móvil, volátil, con características de olor que asemeja a una mezcla de etanol y acetona, y un ligero sabor amargo.

Solubilidad: Miscible con agua, etanol, benceno, cloroformo, éter y glicerina.

Insoluble en soluciones salinas. Soluble en acetona

Propiedades físicas:

Masa molar:	60.10 g/mol
Punto de fusión:	-89.5°C
Punto de ebullición:	82.3°C
Densidad:	0.7855 (20°C) g/mL.

Usos: Se utiliza como solvente en proporción de 70%, en lociones de mano, lociones para después de afeitarse y productos similares. Al 70% se usa como coadyuvante para la desinfección en productos para manos.

ANEXO N° 3
DISEÑO METODOLOGICO

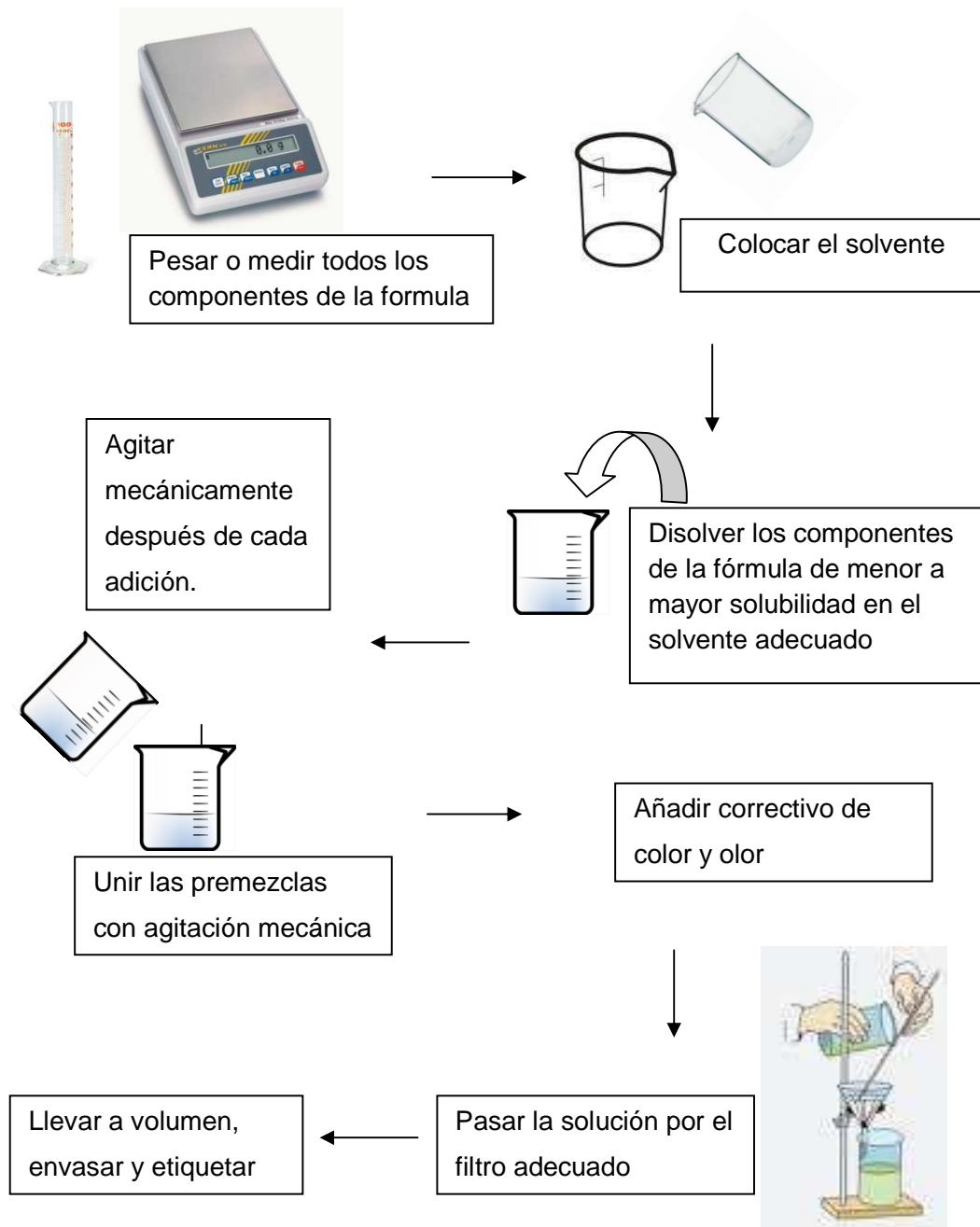
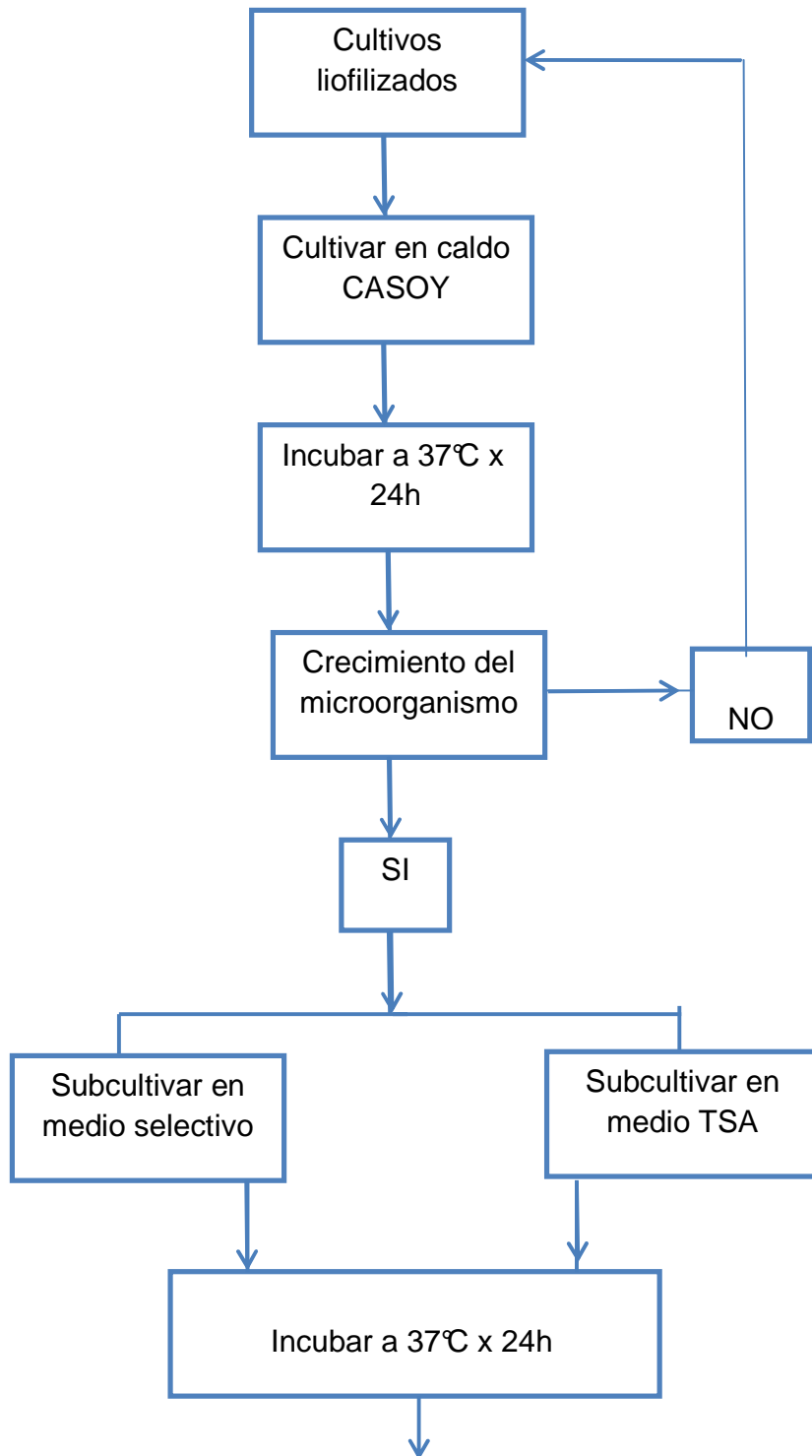
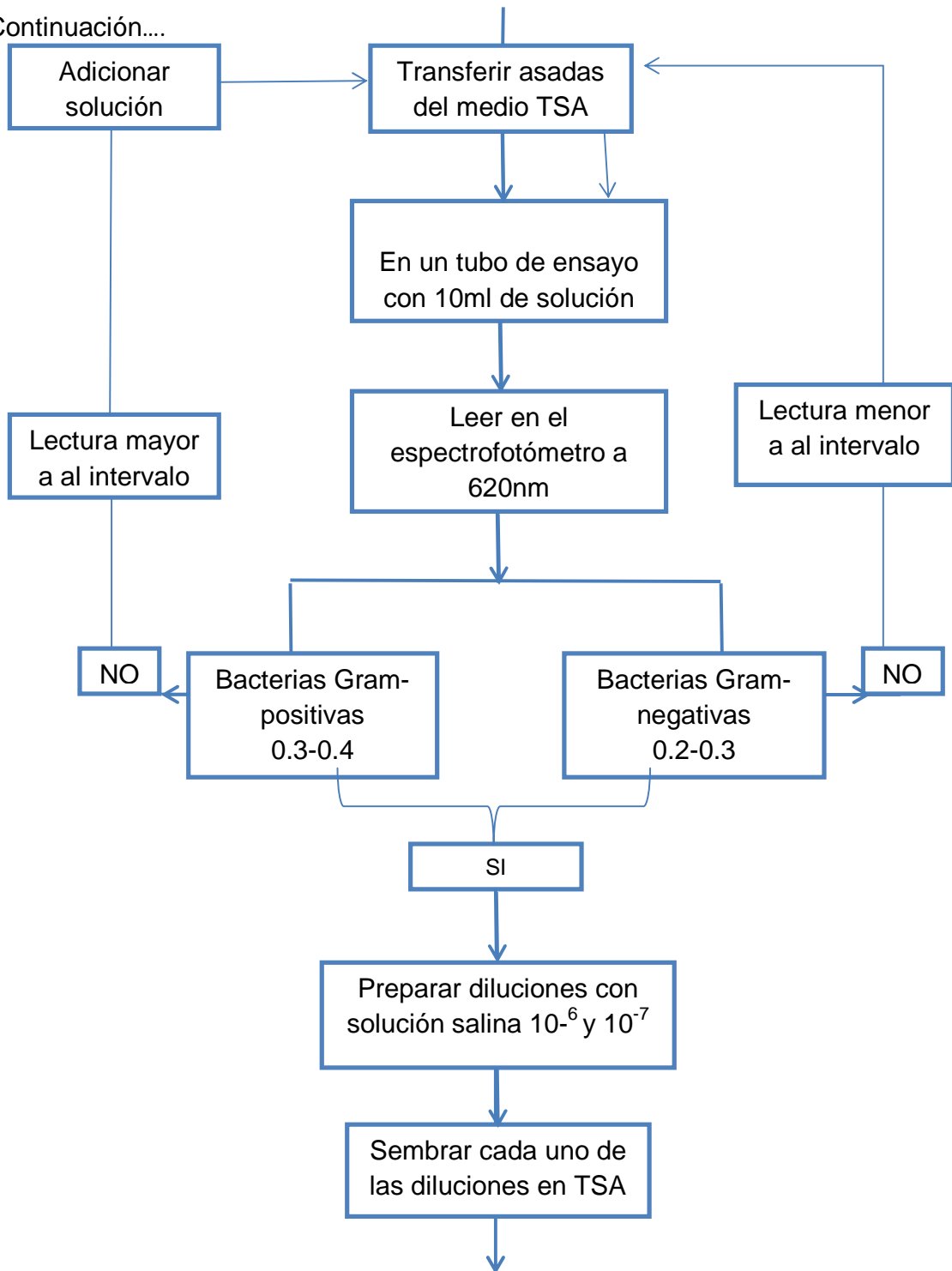


Fig. N°23: Esquema para elaborar las soluciones desinfectantes.

PREPARACIÓN DE LAS SUSPENSIONES DE ENSAYO ⁽¹⁾



Continuación...



Continuación...

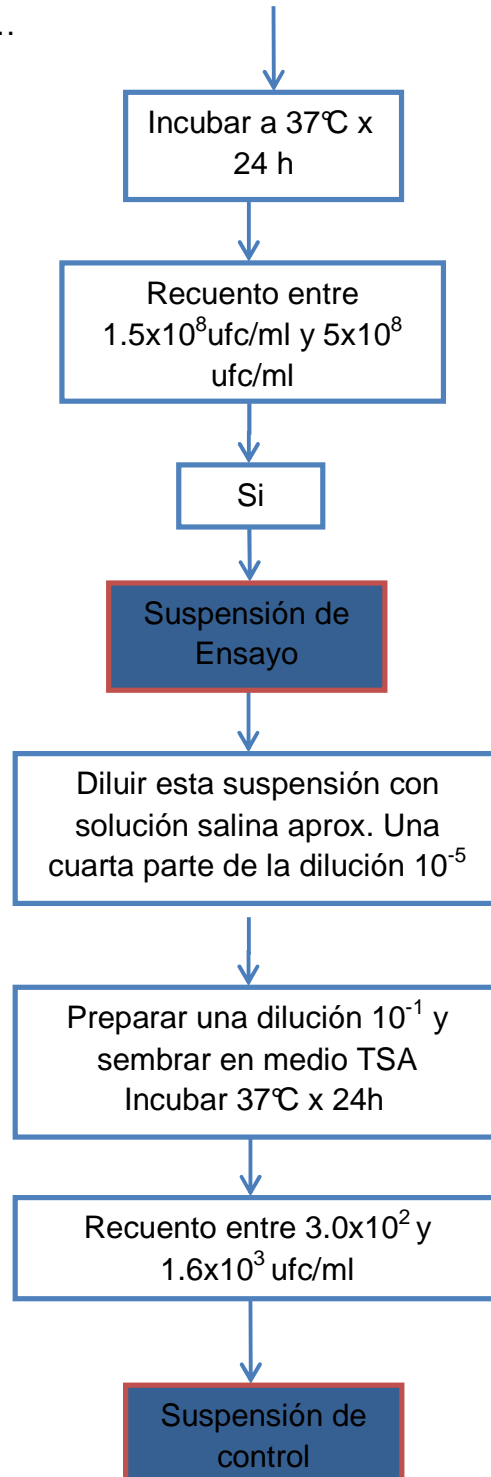


Figura N°24: Esquema de preparación de las suspensiones de ensayo.

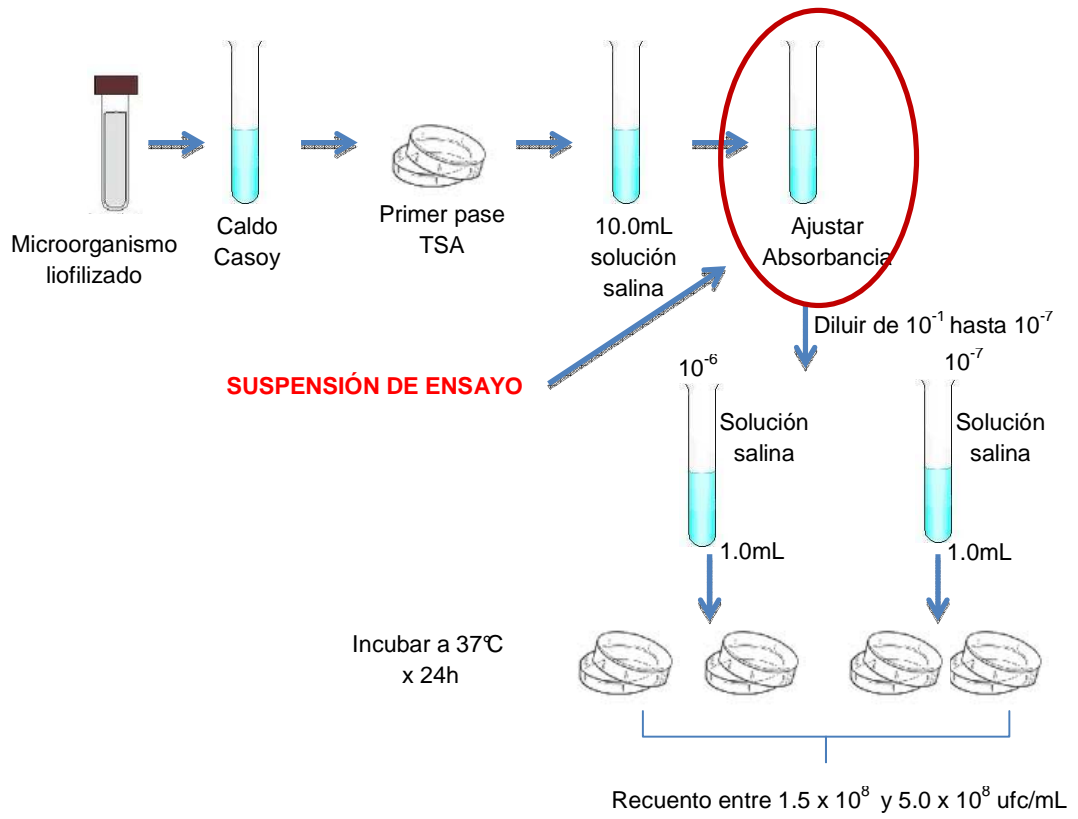


Fig. N° 25: Preparación de la Suspensión de ensayo

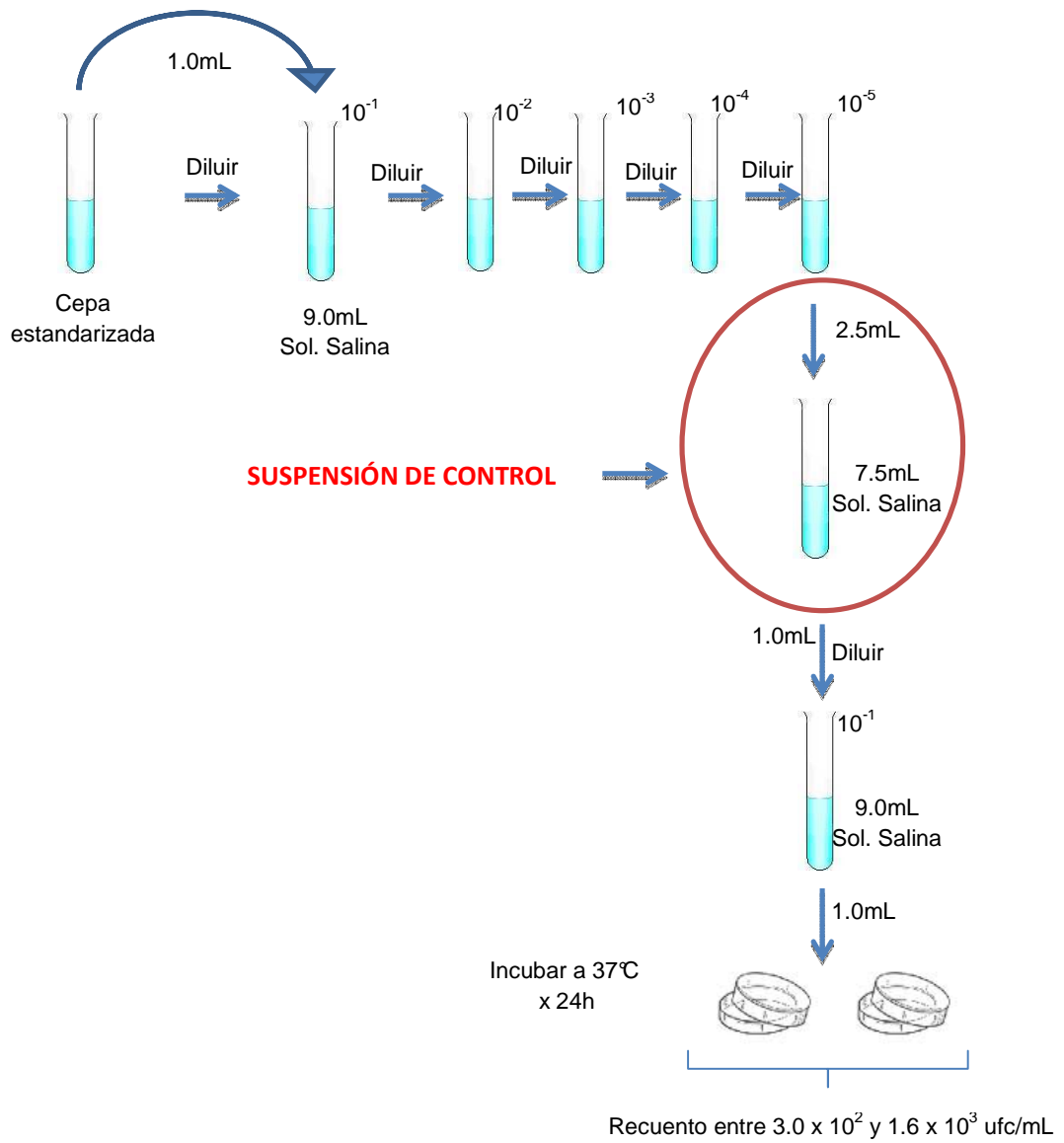
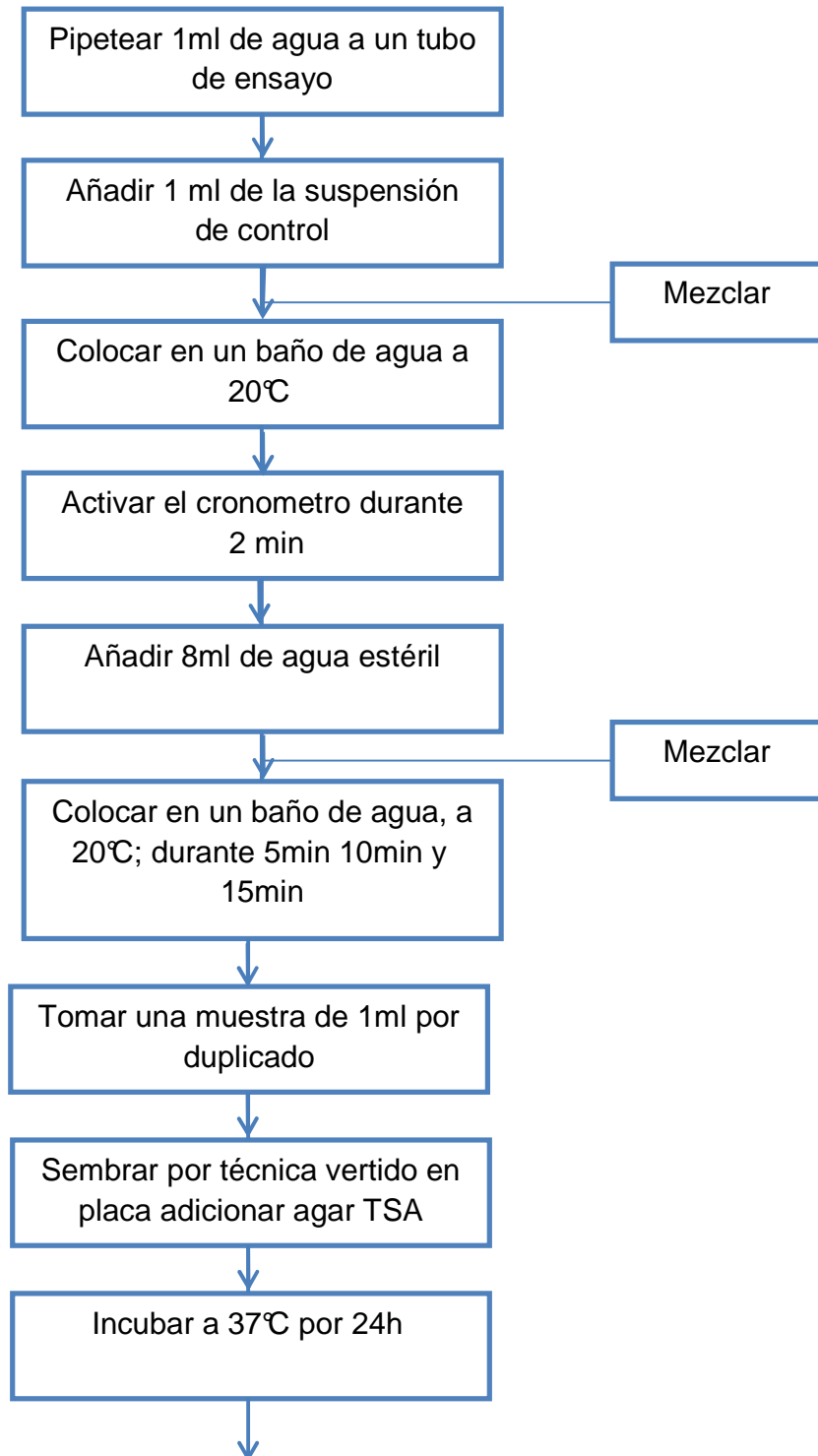


Fig. N°26: Preparación de la Suspensión de control

Parámetro A- Control de las condiciones experimentales ⁽¹⁾



Continuación...

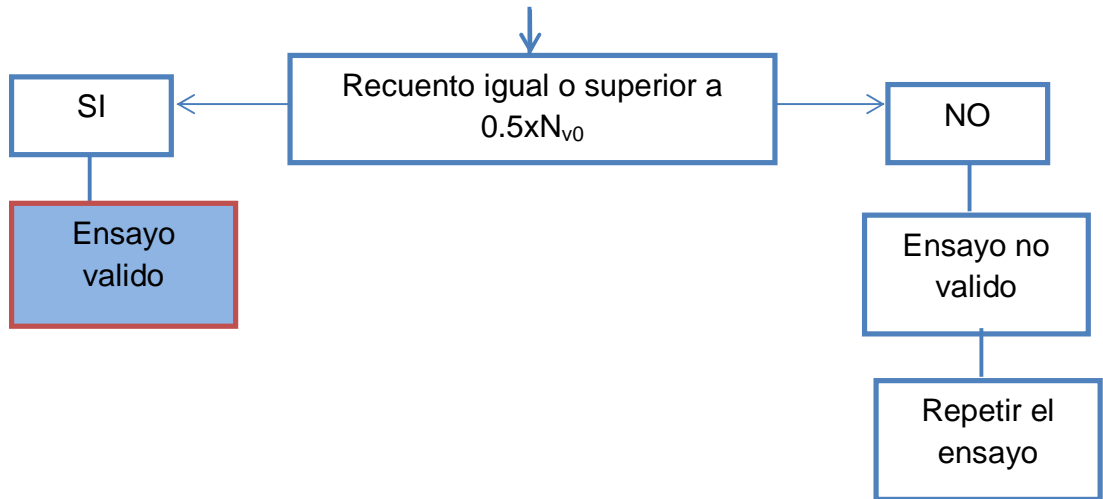


Figura N° 27: esquema control de las condiciones experimentales

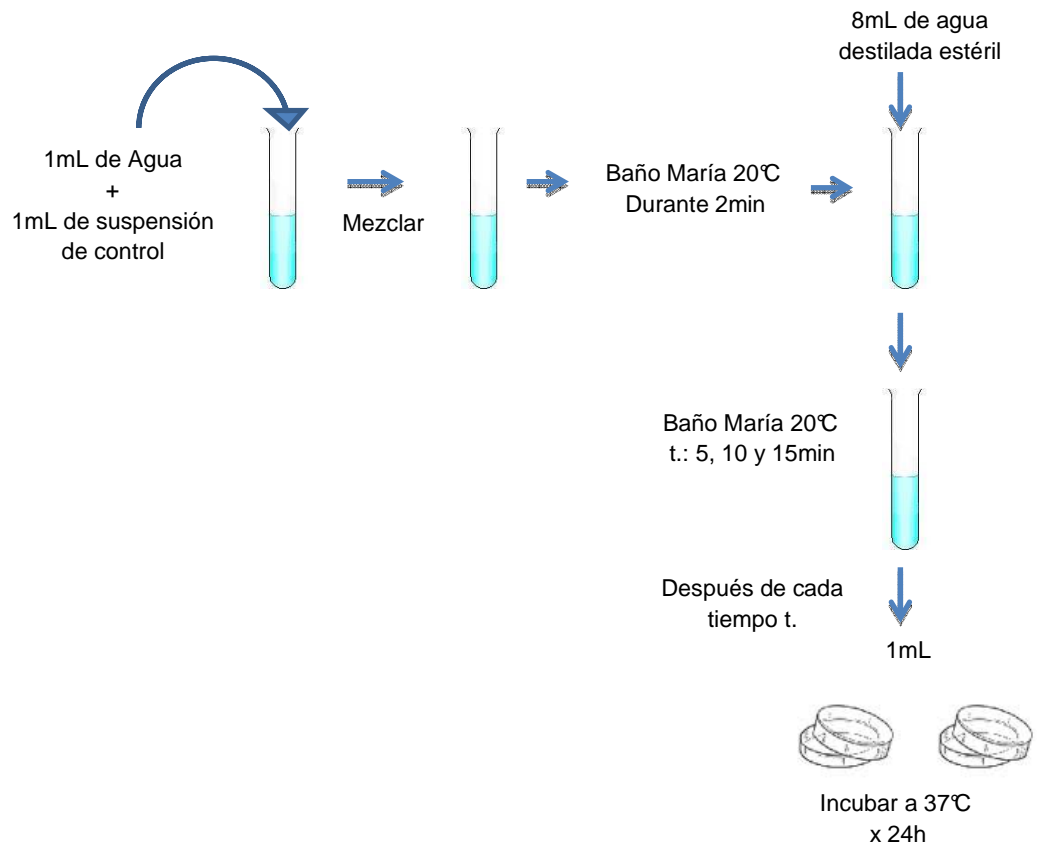


Fig. N°28: Control de las condiciones experimental es: "A"

Parámetro B- Control del neutralizador ⁽¹⁾

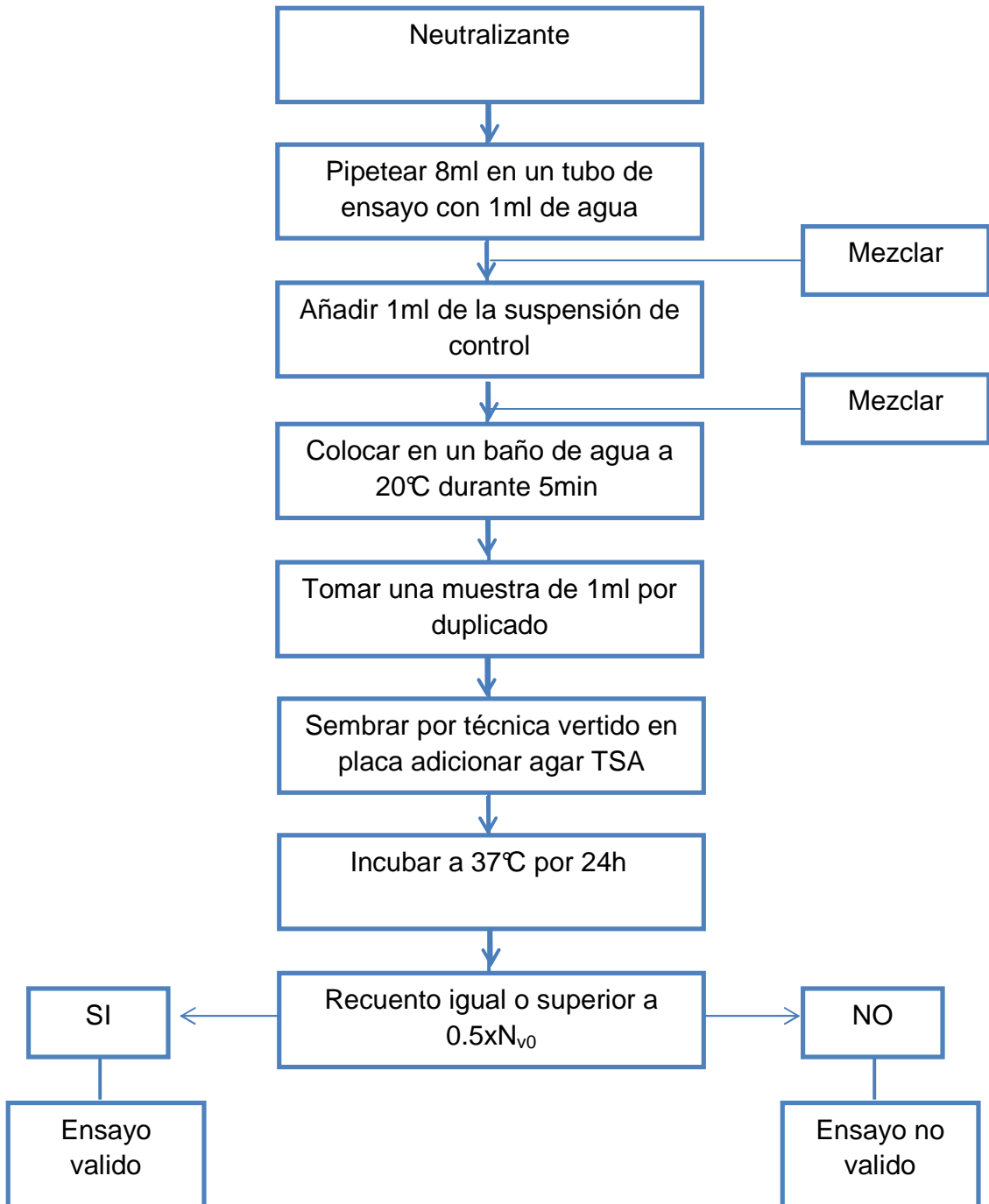
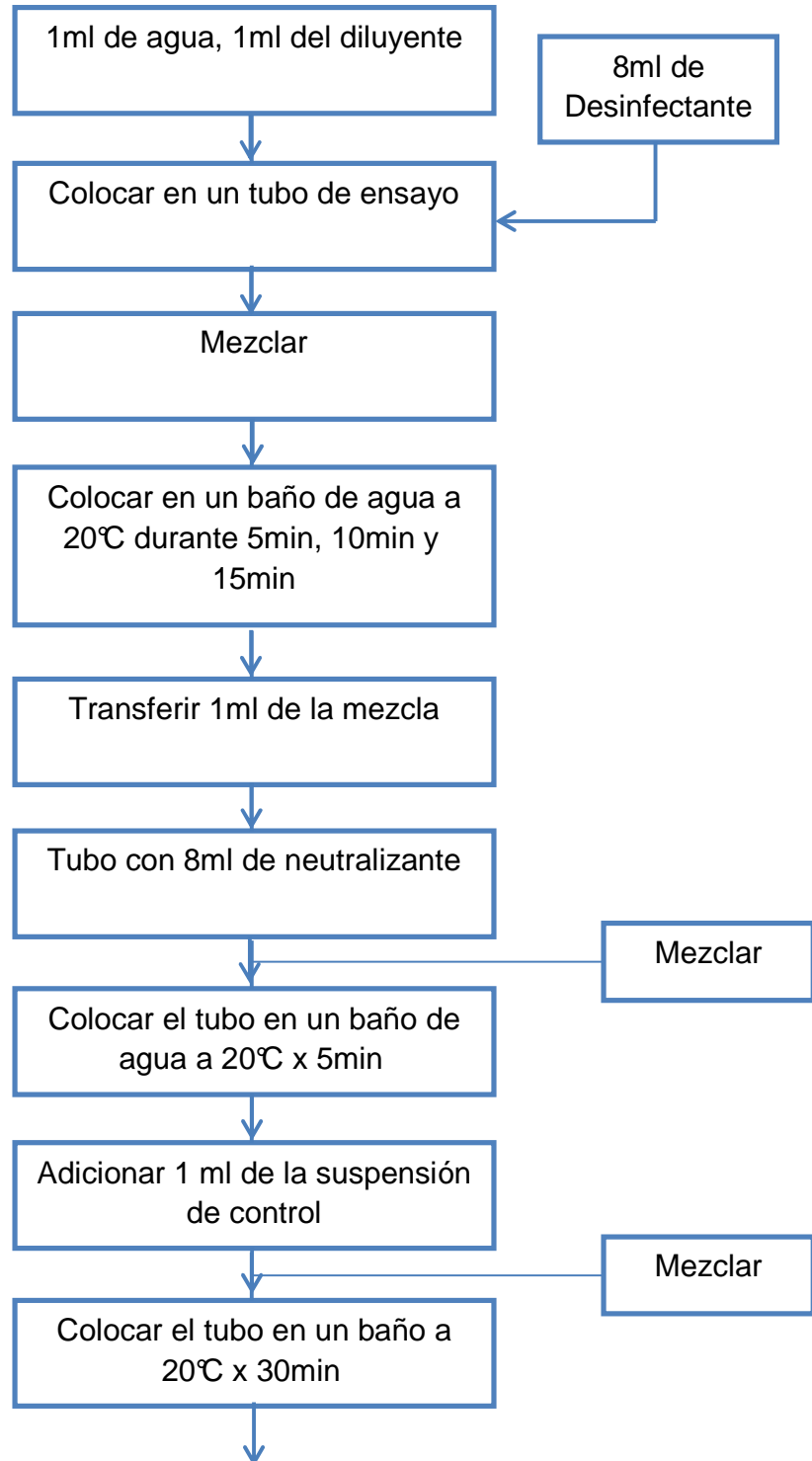


Figura Nº 29: Esquema control del neutralizador



Fig. N°30: Control del Neutralizador: "B"

Parámetro C: Verificación del método ⁽¹⁾



Continuación...

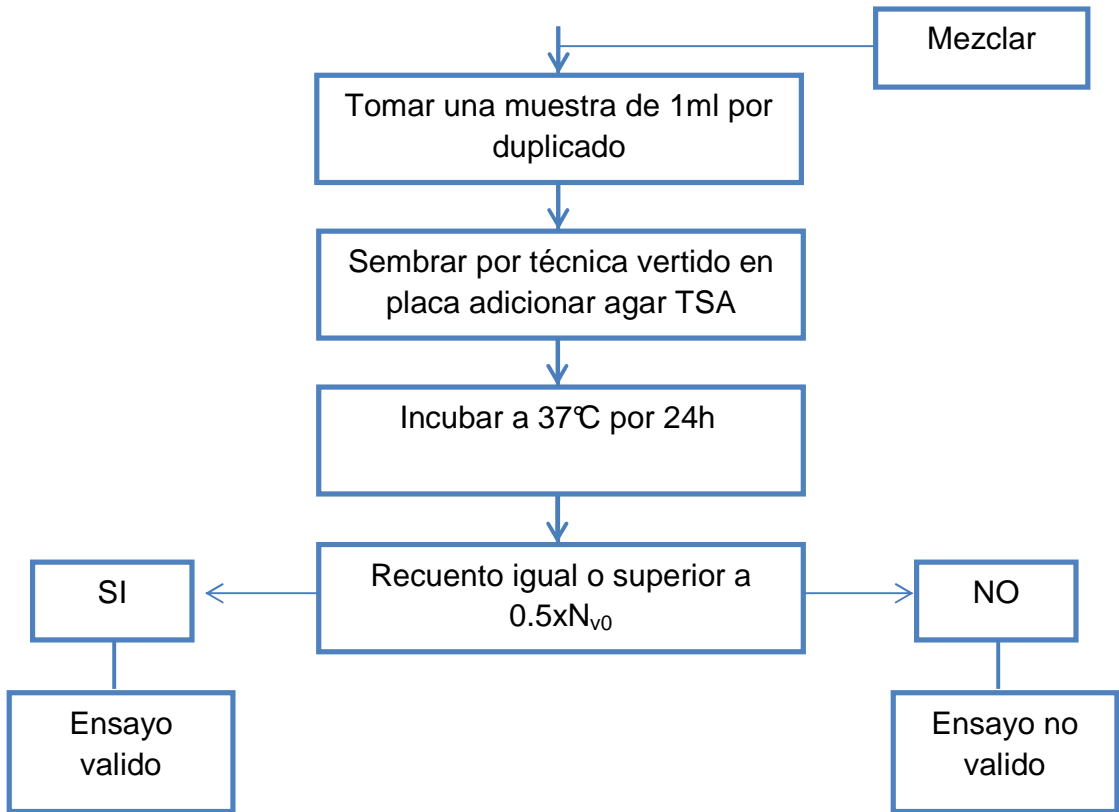


Figura N° 31: Esquema verificación de la metodología

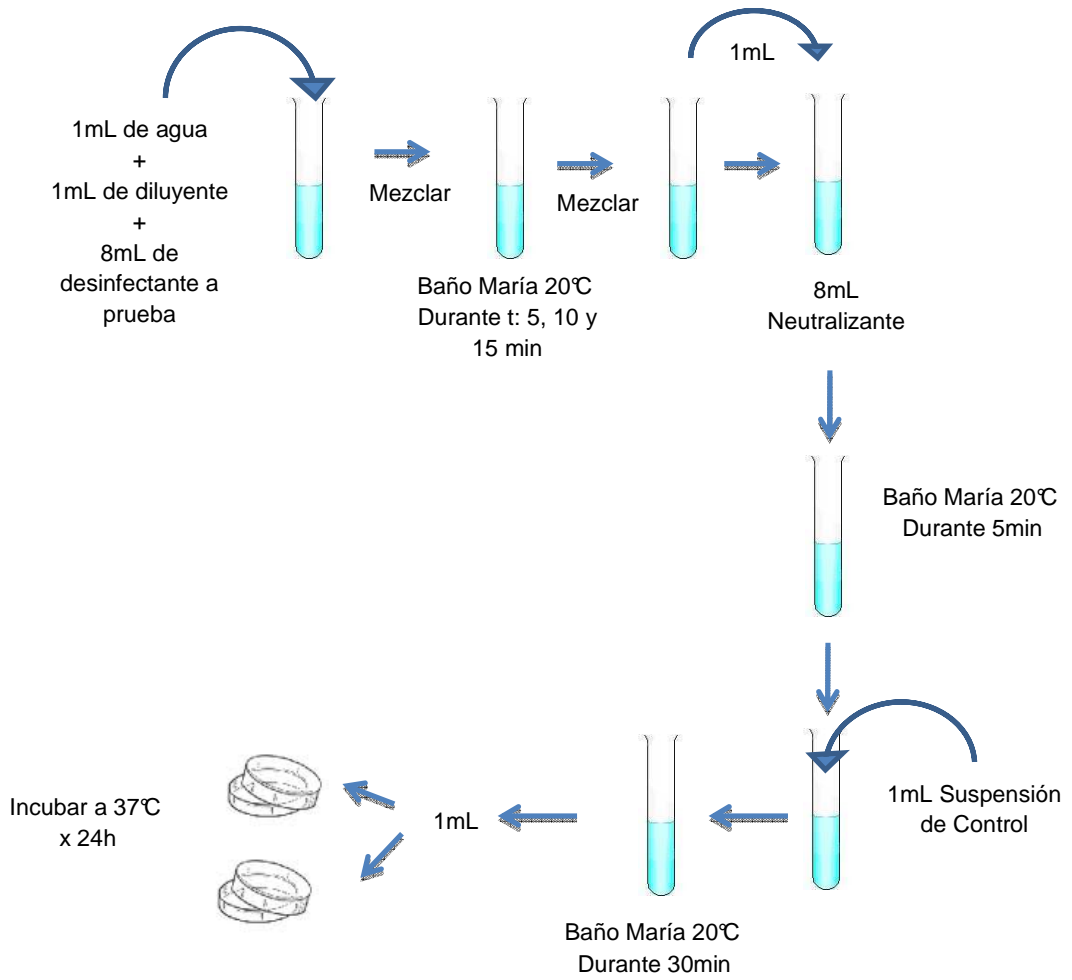
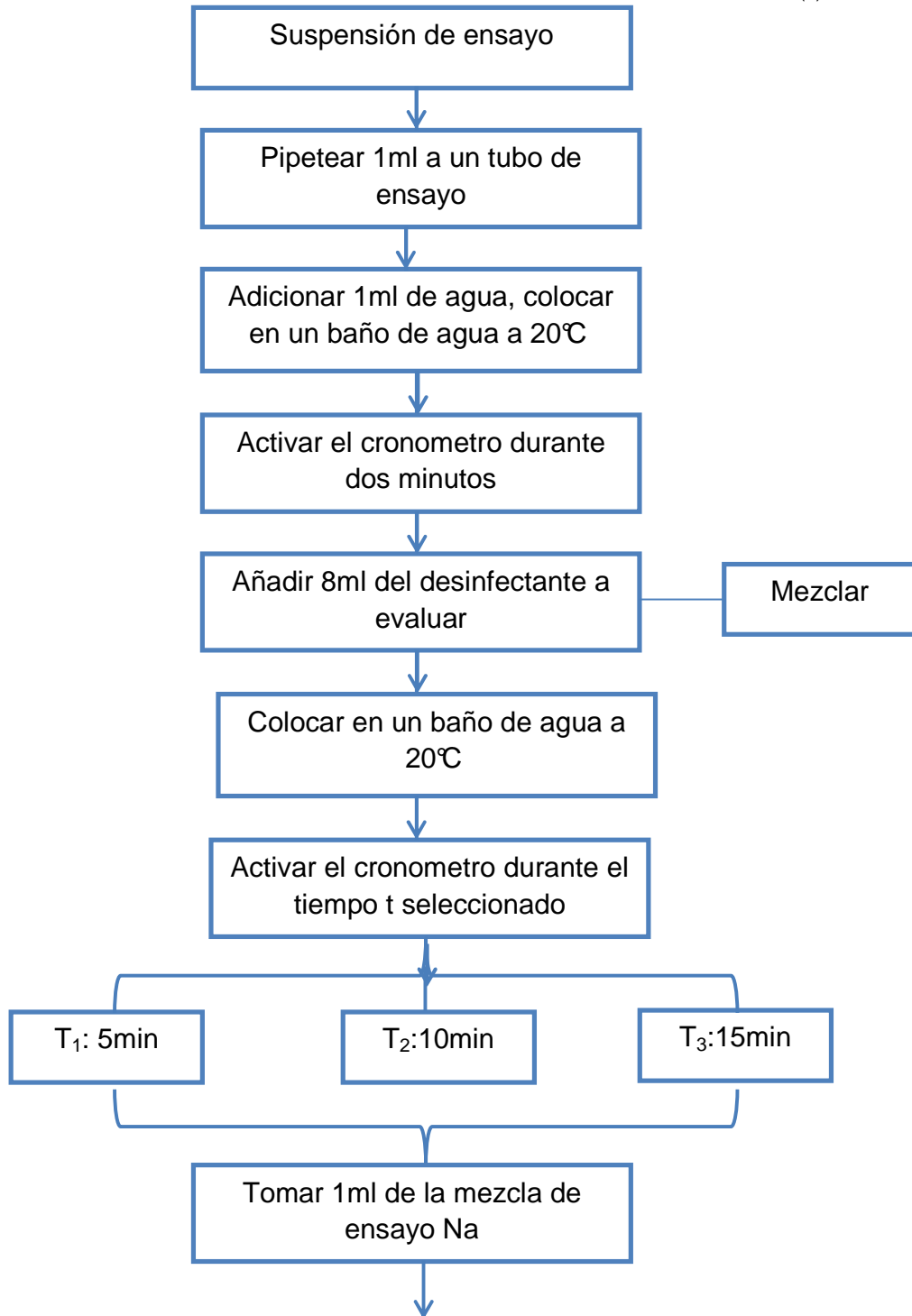


Fig. N° 32: Verificación del método "C"

Ensayo Na (determinación de la actividad bactericida) ⁽¹⁾



Continuación...

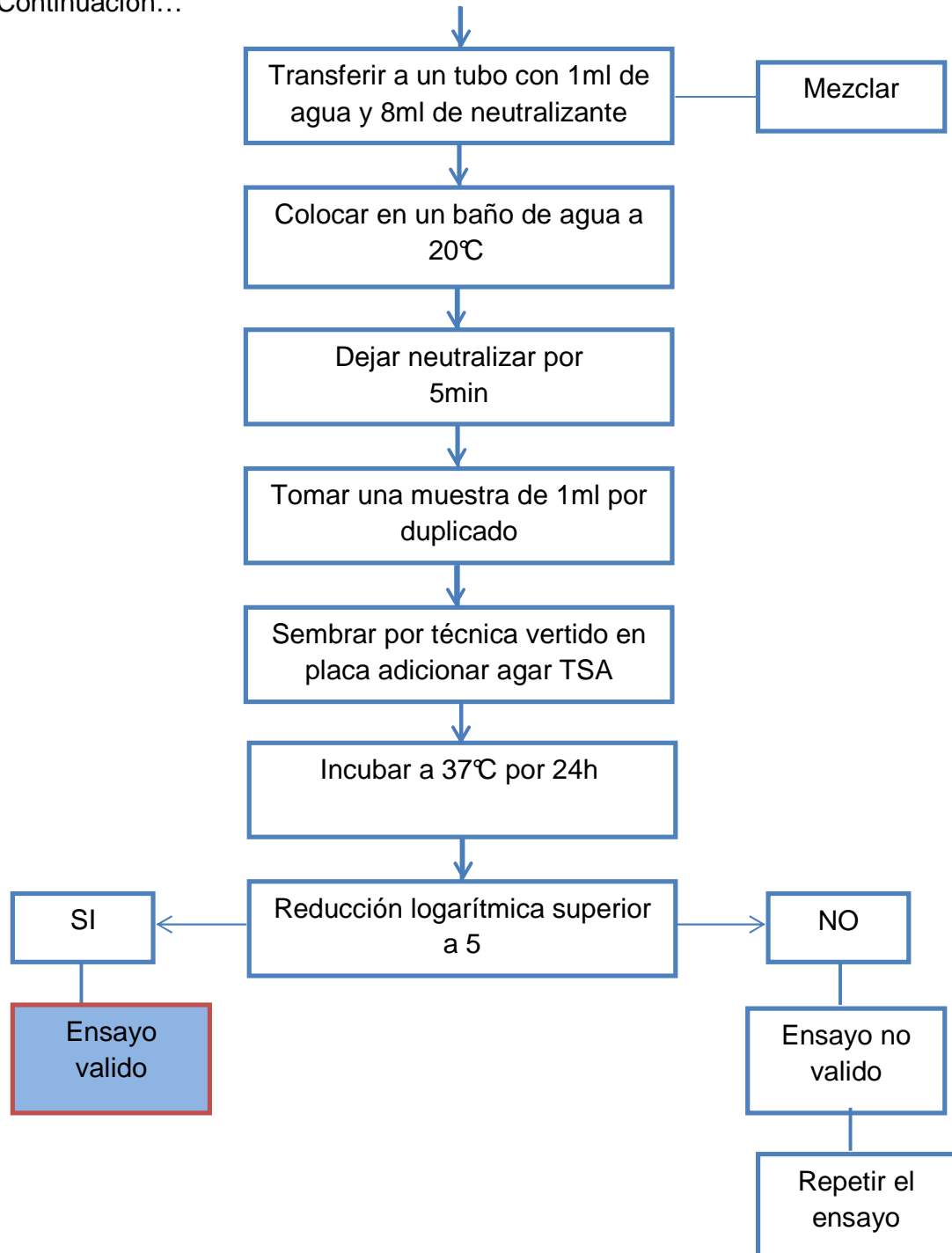


Figura N° 33: Esquema ensayo Na

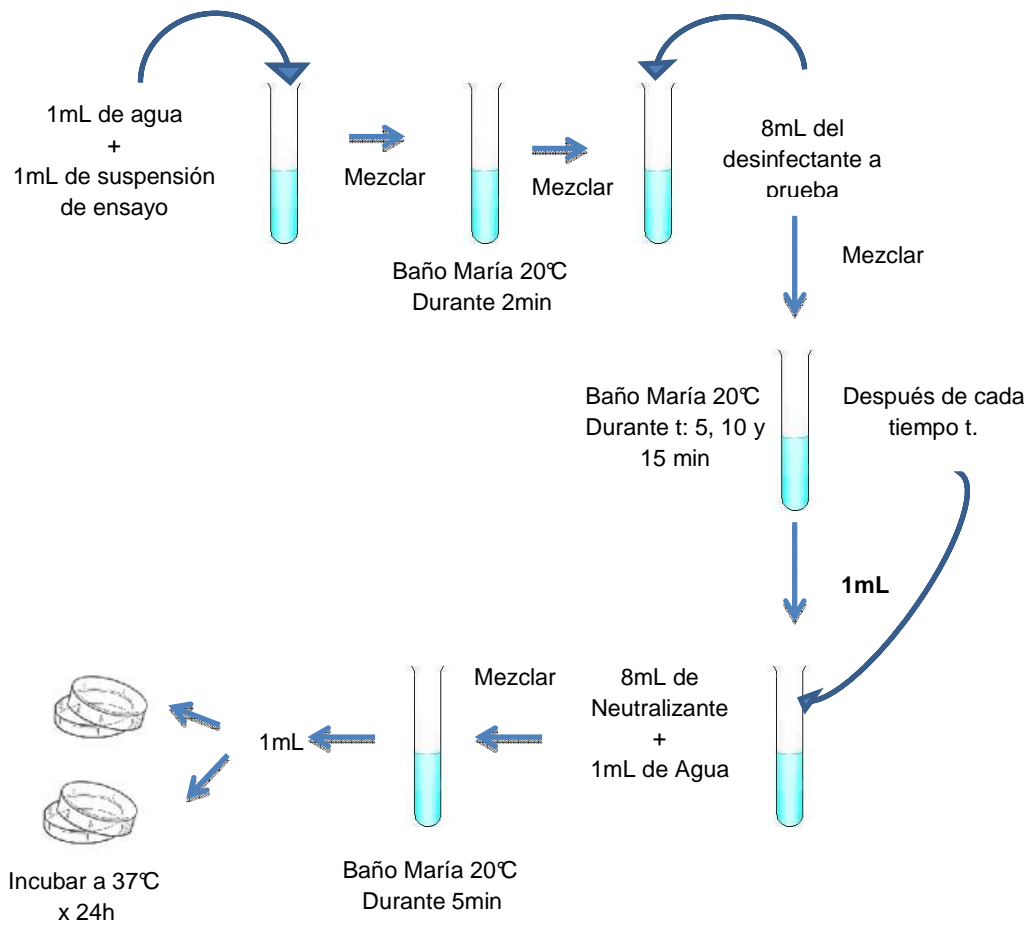


Fig. N°34: Determinación de la actividad bactericida del desinfectante.

ANEXO N°4

CALCULOS

Calculo para desinfectante a base de Glutaraldehido 2% contra **Salmonella choleraesuis** a 5 y 10 min de contacto.

Determinación de los valores Vc:

Todos los datos de recuentos microbianos se registran como valores Vc.

En este método, los ensayos y los controles, un valor Vc es el número de unidades formadoras de colonias contadas por 1.0mL de muestra.

Datos

Cepa: **Salmonella choleraesuis**

- Recuentos obtenidos en la dilución 10^{-6} y 10^{-7} de la suspensión de ensayo 24h después de la incubación.

Recuento de la dilución 10^{-6} : 138 UFC, 131UFC

Recuento de la dilución 10^{-7} : 10 UFC, 8 UFC

- Recuento de la suspensión de validación de la dilución 10^{-1} :

10^{-1} : 80 UFC, 90 UFC

- Recuentos obtenidos en los controles:

Control "A":

5min: 50 UFC, 42 UFC

10min: 39 UFC, 45 UFC

Control "B":

60 UFC, 54 UFC

Control "C":

5min: 39 UFC, 45 UFC

10min: 41UFC, 30 UFC

Recuento obtenido en el ensayo:

Na1:

5min: 18 UFC, 19 UFC

10min: 10 UFC , 8 UFC

Calculo de "N"

"N" es el número de células por mL en la suspensión de ensayo

$$N = \frac{C}{(n_1 + 0.1n_2)10^{-6}}$$

Dónde:

C: es la suma de los valores Vc tenidos en cuenta.

n_1 : es el número valores Vc tenidos en cuenta en la dilución más baja (10^{-6}).

n_2 : es el número de valores Vc tenidos en cuenta en la dilución más alta (10^{-7}).

10^{-6} : es el factor de dilución correspondiente a la dilución más baja.

$$N = \frac{(138 + 131 + 10 + 8)}{(2 + 0.1 * 2)10^{-6}} = \frac{287}{2.2 \times 10^{-6}} = 1.5 \times 10^8 \text{ UFC/mL}$$

Calculo de "N₀"

N₀ es el número de células por mL en la mezcla de ensayo al comienzo del tiempo de contanto (tiempo "cero" = 0) es la décima parte de N debido a la dilución que se produce al añadir el desinfectante y agua. (1)

$$N_0 = \frac{N}{10}$$

$$N_0 = \frac{1.5 \times 10^8}{10} = 1.5 \times 10^7 \text{ UFC/ml}$$

Calculo de N_v y N_{v0} "Numero de células en la suspensión de validación"

N_v es el número de células por mL en la suspensión de validación. Es diez veces superior a los recuentos en términos de valores Vc debido a la etapa de dilución. (1)

$$N_v = 10 \frac{c}{n}$$

En donde:

c: es la suma de los valores Vc tenidos en cuenta.

n: es el número de valores Vc tenidos en cuenta

$$N_v = 10 \frac{80 + 90}{2} = 10 * \frac{170}{2} = 8.5 \times 10^2 \text{ UFC/ml}$$

N_{v0} es el número de células/ml en las mezclas A, B, C al comienzo del tiempo de contacto (tiempo 0) es diez veces más pequeño que la media de los valores Vc de N_v que se tienen en cuenta

$$N_{v0} = \frac{c}{n}$$

$$N_{v0} = \frac{80 + 90}{2} = 85 \text{ UFC/mL}$$

Calculo de A, B y C

Para calcular el número de sobrevivientes en el control de las condiciones experimentales (tiempo y temperatura) "A", control del neutralizador "B" y validación del método "C" al final de los tiempos de contactos ("A": 5, 10 y 15min; "B" 5min y "C" 30min) se empleó la siguiente ecuación:

$$A, B, C = \frac{c}{n}$$

En donde:

c: es la suma de los valores Vc tenidos en cuenta.

n: es el número de valores Vc tenidos en cuenta

$$A(5 \text{ min}) = \frac{50 + 42}{2} = 46 \text{ UFC}$$

$$A(10 \text{ min}) = \frac{50 + 45}{2} = 47.5 \text{ UFC}$$

$$B = \frac{60 + 54}{2} = 57 \text{ UFC}$$

$$C(5 \text{ min}) = \frac{48 + 45}{2} = 46.5 \text{ UFC}$$

$$C(10 \text{ min}) = \frac{50 + 45}{2} = 47.5 \text{ UFC}$$

La norma dice que para que la metodología sea válida los recuentos de A, B y C deben ser mayor o igual al 50 por ciento de N_{v0} ($A, B, C \geq 50\% N_{v0}$) por lo que, se puede observar que A, B y C son mayores a 42.5 que corresponde al 50 por ciento de N_{v0} .

Calculo de “Na”

número de microorganismos supervivientes/ml en la mezcla de ensayo al final del tiempo de contacto y antes que la neutralización, es diez veces superior que los valores V_c debido a la adición de neutralizador y agua; por la tanto se empleó la siguiente fórmula: ⁽¹⁾

$$Na = \frac{c \times 10}{n}$$

En donde:

c: es la suma de los valores Vc tenidos en cuenta.

n: es el número de valores Vc tenidos en cuenta.

5min de contacto:

Valores Vc por duplicado 18 UFC, 19 UFC

$$Na = \frac{18 + 19}{2} * 10 = \frac{37}{2} * 10 = 185 \text{ UFC/mL}$$

10min de contacto:

Valores Vc por duplicado: 10 UFC, 8 UFC

En el método de dilución-neutralización se tuvo en cuenta límites para el recuento entre 14 y 330 colonias. Si el recuento en una placa fue superior a 330 se registró como ">330"; y si el valor fue inferior a 14, se sustituye por "<14" para el caso de Na.

Ya que los recuentos obtenidos fueron 8 UFC y 10 UFC se rempazan por <14

$$Na = \frac{< 14 + < 14}{2} * 10 = \frac{14}{2} * 10 = < 140 \text{ UFC/mL}$$

Reducción Logarítmica:

Para que el desinfectante sea efectivo, según la norma UNE-EN1040:2006 este debe demostrar una reducción logarítmica no inferior a 5.

Esta reducción se calcula de la siguiente manera:

Para cada condición experimental, se calculó el logaritmo decimal de la reducción (logR) respectivo utilizando la ecuación:

$$\mathit{Log R} = \mathit{Log}N_0 - \mathit{Log}N_a$$

$$N_0 = 1.5 \times 10^7 \text{ UFC/mL}$$

$$\mathit{log}N_0 = 7.17$$

N_a a los 5min de contacto fue de: 185 UFC/mL

$$\mathit{log}N_a = 2.28$$

Reducción logarítmica a los 5min de contacto del desinfectante es de:

$$\mathit{Log R} = 7.17 - 2.28$$

$$\mathit{Log R} = 4.89$$

Na a los 10min de contacto fue de: 140 UFC/mL

$$\log N_a = 2.15$$

$$\log R = 7.17 - 2.15$$

$$\log R = 5.02$$

El desinfectante es efectivo contra la cepa de ***Salmonella choleraesuis*** hasta los 10min de contacto ya que la reducción logarítmica es superior a 5.

ANEXO N° 5
NEUTRALIZANTES

Preparación de los neutralizantes^(1,2)

Neutralizante para desinfectante a base de Glutaraldehido

Su composición a doble concentración es la siguiente:

Tween 80,.....	30.00 ml (32.25 g)
Tiosulfato sódicox5H ₂ O,	3.922 g
Diluyente (solución salina 0.85%), c.s.p.	250.00 ml

1. Poner un vaso de 50 o 100 ml en la balanza y añadir con una pipeta Tween 80 hasta 32.25g.
2. Disolver en varias alícuotas de diluyente (hasta arrastrar todo el contenido del vaso), que se transvasan a un matraz aforado de 250 ml.
3. Añadir en el matraz diluyente hasta completar 2/3 del volumen aproximadamente. Pesar y añadir el resto de los componentes hasta su disolución, y a continuación, completar con diluyente hasta 250 ml.
4. Ajustar a pH 7 con una solución de NaOH y esterilizar.
5. Las cantidades descritas corresponden al neutralizante a doble concentración. Para prepararlo a concentración simple se le añade igual volumen de diluyente (no de agua destilada).

Neutralizante para desinfectante a base de Clorhexidina y desinfectante a base de Ácido peracético:

Tween 80,.....	30.000ml (32.25 g)
Bisulfito sódico al 40%,.....	6.250ml
Tiosulfato sódico $\times 5H_2O$,	3.922g
Lecitina.....	1.000g
Diluyente (solución salina 0.85%), c.s.p.	250.000ml

1. Poner un vaso de 50 o 100 ml en la balanza y añadir con una pipeta Tween 80 hasta 32.25g.
2. Disolver en varias alícuotas de diluyente (hasta arrastrar todo el contenido del vaso), que se transvasan a un matraz aforado de 250 ml.
3. Añadir en el matraz diluyente hasta completar 2/3 del volumen aproximadamente. Pesar y añadir el resto de los componentes hasta su disolución (excepto la lecitina), y a continuación, completar con diluyente hasta 250 ml.
4. Ajustar a pH 7 con una solución de NaOH y esterilizar.
5. Las cantidades descritas corresponden al neutralizante a doble concentración. Para prepararlo a concentración simple se le añade igual volumen de diluyente (no de agua destilada).

ANEXO N°6

HOJA DE REQUISICION DE MATERIA PRIMA

HOJA DE REQUISICION DE MATERIA PRIMA

Nº _____

Fecha: _____

Cantidad	Nombre de la Materia prima	Lote

Solicitado por: _____

ANEXO N° 7

FOTOGRAFIAS ELABORACION DE LOS DESINFECTANTES

Figura N°35: Elaboración de los desinfectantes



a) Limpieza del área de trabajo



b) Pesado de materia prima.



c) Desinfectante a base de Glutaraldehido al 2%



d) Desinfectante a base de Ácido peracético al 0.26%



e) Desinfectante a base de Gluconato de Clorhexidina 4%

ANEXO N° 8

**FOTOGRAFIAS CONTROLES EN PROCESO Y EN PRODUCTO
TERMINADO DE LOS DESINFECTANTES**

Fig. N°36 Controles en proceso y en producto terminado de los desinfectantes



- a) Control de las propiedades organolépticas de ácido peracético:
Color. Tubo A solución estándar; Tubo B desinfectante.



- b) Control de las propiedades físicas de ácido peracético: pH.



c) Variación de volumen



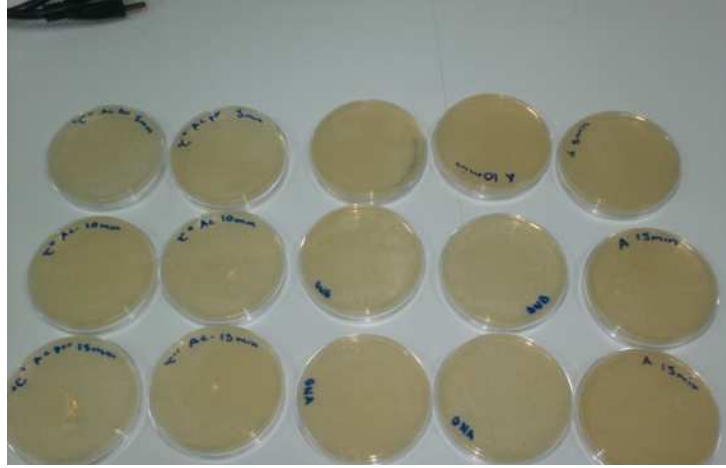
d) Estandarización de las cepas de trabajo



e) Método dilución neutralización: preparación de las diluciones de las cepas de trabajo.



f) Método dilución neutralización: Actividad bactericida del desinfectante



g) Método dilución neutralización: Actividad bactericida del desinfectante, placas después de la incubación.

ANEXO N°9

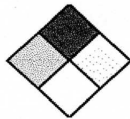
HOJAS DE SEGURIDAD (MSDS) DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS



CORPORACIÓN QUÍMICA VENEZOLANA
CORQUIVEN C.A.

Presentes en las Áreas de:
Droguerías, Cosmético, Industrial,
Mantenimiento, Petróleo, Alimento y Laboratorios

HOJA DE SEGURIDAD (MSDS / Material Safety Data Sheet) GLUTARALDEHIDO



Rombo NFPA-704

Rótulos UN

Fecha Revisión: 02/06/2007

*** TELEFONOS DE EMERGENCIA ***

CORQUIVEN, C.A. : +58 (241) 832.73.49 / 832.70.92 / 838.95.68 - Otros: *171

IDENTIFICACION

- Sinónimos** : Pentanedial, Glutaral, Alsesan, Glutarex, Acido Glutárico dialdehído, Dialdehído glutárico, 1, 5-Pentanodiol.
- Fórmula** : $\text{OHC}(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$
- Composición** : Solución acuosa al 50% de pureza.
- Número Interno** :
- Número CAS** : 111-30-8
- Número UN** : N.R.
- Clases UN** :
- Usos** : Ampliamente usado como desinfectante y esterilizante en medicina y odontología, también usado en embalsamado y conservación y en las industrias de papel y curtido.



CORPORACIÓN QUÍMICA VENEZOLANA
CORQUIVEN C.A.

Presentes en las Áreas de:
Droguerías, Cosmético, Industrial,
Mantenimiento, Petróleo, Alimento y Laboratorios

HOJA DE SEGURIDAD (MSDS / Material Safety Data Sheet) GLUTARALDEHIDO

EFECTOS PARA LA SALUD

(LÍMITES DE EXPOSICIÓN OCUPACIONAL)

TWA	: 0.2 ppm.
STEL	: N.R.
TECHO (C)	: N.R.
IPVS	: N.R.
Inhalación	: El vapor es irritante y causa sensación de comezón en la nariz y la garganta, acceso de tos, malestar en el pecho y opresión, dolor de cabeza, dificultad respiratoria
Ingestión	: Irritación, malestar, dolor en el pecho, náuseas, somnolencia, debilidad, shock, colapso, coma. Puede ocasionar quemaduras en la boca, garganta, esófago y estómago. La ingestión de gran cantidad puede causar efectos tóxicos con síntomas de depresión del sistema nervioso central, náuseas y vómito.
Piel	: Causa irritación Se puede presentar reacción alérgica.
Ojos	: Es irritante y causa daños serios e irreversibles. El líquido produce conjuntivitis e inflamación de la conjuntiva, con posible daño de la córnea. El vapor produce comezón y lagrimeo, pero no ocasiona daños en la córnea.
Efectos Crónicos	: El contacto prolongado y repetido puede resultar en la absorción de cantidades potencialmente nocivas del material causa dermatitis por contacto con la piel, con síntomas de brotes y comezón, enrojecimiento y escamado de la piel. La sensibilización respiratoria probablemente no ocurre en personas sin antecedentes de problemas respiratorios. El glutaraldehído no se acumula en el cuerpo.

PRIMEROS AUXILIOS

Inhalación	: Trasladar al aire fresco. Si no respira administrar respiración artificial. Si respira con dificultad suministrar oxígeno. Mantener la víctima abrigada y en reposo.
Ingestión	: Lavar la boca con agua. Si está consciente, suministrar abundante agua. No inducir el vómito. Buscar atención médica inmediatamente.
Piel	: Retirar la ropa y calzado contaminados. Lavar la zona afectada con abundante agua y jabón, mínimo durante 15 minutos. Si la irritación persiste repetir el lavado. Buscar atención médica
Ojos	: Lavar con abundante agua, mínimo durante 15 minutos. Levantar y separar los párpados para asegurar la remoción del químico. Si la irritación persiste repetir el lavado. Buscar atención médica.



CORPORACIÓN QUÍMICA VENEZOLANA
CORQUIVEN C.A.

Presentes en las Áreas de:
Droguerías, Cosmético, Industrial,
Mantenimiento, Petróleo, Alimento y Laboratorios

HOJA DE SEGURIDAD (MSDS / Material Safety Data Sheet)

GLUTARALDEHIDO

RIESGOS DE INCENDIO Y/O EXPLOSION

Punto de Inflamación (°C) N.A.

Temperatura de Autoignición (°C) N.A.

Limites de Inflamabilidad (%V/V) N.A.

Peligros de Incendio y/o Explosión

No inflamable en solución. Después de evaporarse el agua, el líquido podría quemarse.

Productos de la Combustión:

Monóxido de carbono y dióxido de carbono.

Precauciones para evitar Incendio y/o Explosión

No dejar evaporar la solución acuosa porque una vez que esto suceda podría quemarse generando monóxido de carbono. Eliminar toda fuente de ignición. Conectar a tierra los recipientes para evitar descargas electrostáticas.

Procedimientos en caso de Incendio y/o Explosión:

Evacuar o aislar el área de peligro. Restringir el acceso a personas innecesarias y sin la debida protección. Ubicarse a favor del viento. Usar equipo de protección personal.

Agentes Extintores del Fuego:

En incendios mayores: espuma tipo alcohol o multipropósito y en incendios pequeños: dióxido de carbono o químico seco.

ALMACENAMIENTO Y MANIPULACION

Almacenamiento : Almacenar en un lugar fresco, alejado del calor y de material incompatible, en recipientes bien cerrados. Lavar vigorosamente después del manejo. Mantener buena ventilación en el área de trabajo. Almacenar siempre en el tipo de contenedor recomendado por el fabricante.

Tipo Recipiente :

Manipulación : Usar siempre protección personal así sea corta la exposición o la actividad que realice con el producto. Mantener estrictas normas de higiene, no fumar, ni comer en el sitio de trabajo. Usar las menores cantidades posibles. Conocer en donde está el equipo para la atención de emergencias. Leer las instrucciones de la etiqueta antes de usar el producto. Conocer los peligros y el manejo seguro de la sustancia. Rotular los recipientes adecuadamente.

PROCEDIMIENTOS EN CASO DE ESCAPE Y/O DERRAME

Evacuar o aislar el área de peligro. Restringir el acceso a personas innecesarias y sin la debida protección. Ubicarse a favor del viento. Usar equipo de protección personal. Ventilar el área. No permitir que caiga en fuentes de agua y alcantarillas. No tocar el material derramado. No permitir la contaminación de corrientes de agua. Detener o reducir el derrame si es posible. Derramar pequeños: pueden diluirse con grandes cantidades de agua porque a menos de 100 ppm puede ser degradado en planta de tratamiento biológico. Derrames grandes deben ser recolectados para su desecho en recipientes secos, limpios y secos con cierre hermético.

Corporación Química Venezolana CORQUIVEN, C. A.

Página 3 de 5

MSDS :GLUTARALDEHIDO

Zona Ind. Carabobo, 4ta. Transversal, Galpon G6-B
Valencia Edo. Carabobo / VENEZUELA
Telf.: +58 (241) 832.73.49 / 832.70.92 / 838.95.68
Fax: + 58 (241) 832.67.05 / 838.46.96



CORPORACIÓN QUÍMICA VENEZOLANA
CORQUIVEN C.A.

Presentes en las Áreas de:
Droguerías, Cosmético, Industrial,
Mantenimiento, Petróleo, Alimento y Laboratorios

HOJA DE SEGURIDAD (MSDS / Material Safety Data Sheet) GLUTARALDEHIDO

EQUIPO DE PROTECCION PERSONAL/CONTROL EXPOSICION

- Uso Normal** : Usar guantes de caucho butílico, neopreno o PVC, gafas de seguridad y máscara para vapores orgánicos.
- Control de Emergencia** : Equipo de respiración autocontenido (SCBA) y ropa de protección.
- Controles de Ingeniería** : Ventilación local y general, para asegurar que la concentración no exceda los límites de exposición ocupacional. Debe disponerse de duchas y estaciones lavajos.

PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS

Apariencia	Líquido claro amarillento
Gravedad Específica (Agua=1)	1.131 / 20°C
Punto de Ebullición (°C)	188 (puro)
Punto de Fusión (°C)	-14
Densidad Relativa del Vapor (Aire=1)	3.4
Presión de Vapor (mm Hg)	15.0 / 20°C
Viscosidad (cp)	N.R.
pH	Las soluciones son ácidas, pH de 3 a 4
Solubilidad	Soluble en agua, etanol, benceno, éter y solventes orgánicos

ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD

Estabilidad : Estable bajo condiciones normales

Incompatibilidades ó Materiales a Evita

Agua : No **Aire** : No

Otras : Oxidantes fuertes, alcoholes, aminas

INFORMACION TOXICOLOGICA

El líquido es irritante para la piel y los ojos. Puede ser perjudicial por ingestión. Emite vapores altamente irritantes. No hay información disponible sobre carcinogenicidad ni toxicidad reproductiva. En estudios en ratas los resultados sobre mutagenicidad fueron negativos. En estudios en animales se observaron efectos teratogénicos y fetotóxicos, pero las dosis fueron lo suficientemente altas para producir toxicidad en la madre.

DL50(oral, rata) = 165 mg/kg.
DL50(oral, ratón) = 134 mg/kg
DL50(oral ratón) = 600 mg/kg
DL50(oral, rata) = 123 mg/kg
DL50(dermal, conejo) = 795 mg/kg
LC50(rata) = 40 ppm/4 horas.

INFORMACION ECOLOGICA

Tóxico para peces. Evitar descargas a aguas naturales.



CORPORACIÓN QUÍMICA VENEZOLANA
CORQUIVEN C.A.

TEL: + 58 (241) 832.73.49

Presentes en las Áreas de:
Droguerías, Cosmético, Industrial,
Mantenimiento, Petróleo, Alimento y Laboratorios

HOJA DE SEGURIDAD

(MSDS / Material Safety Data Sheet)

GLUTARALDEHIDO

CONSIDERACIONES DE ELIMINACION Y/O DISPOSICION

Pulverizar en un incinerador o mezclar con solvente inflamable adecuado e incinerar cuidadosamente. Puede ser aceptable enviar a un relleno seguro.

INFORMACION DE TRANSPORTE

Utilizar etiqueta de precaución. No transportar con sustancias explosivas, sustancias que en contacto con el agua puedan desprender gases inflamables, comburentes y peróxidos orgánicos, radiactivas, sustancias incompatibles ni alimentos.

INFORMACION DE REGULACION

Código Nacional de Tránsito Terrestre. Decreto 1344/70, modificado por la Ley 33/86. Artículo 48: *Transportar carga sin las medidas de protección, higiene y seguridad.* Artículo 49: *Transportar materiales inflamables, explosivos o tóxicos al mismo tiempo que pasajeros o alimentos.* Suspensión de la Licencia de Conducción.

OTRA INFORMACION

La información relacionada con este producto puede no ser válida si éste es usado en combinación con otros materiales o en otros procesos. Es responsabilidad del usuario la interpretación y aplicación de esta información para su uso particular.

Bibliografía :



Presentes en las Áreas de:
Droguerías, Cosmético, Industrial,
Mantenimiento, Petróleo, Alimento y Laboratorios

HOJA DE SEGURIDAD
(MSDS / Material Safety Data Sheet)
GLUTARALDEHIDO

CONSIDERACIONES DE ELIMINACION Y/O DISPOSICION

Pulverizar en un incinerador o mezclar con solvente inflamable adecuado e incinerar cuidadosamente. Puede ser aceptable enviar a un relleno seguro.

INFORMACION DE TRANSPORTE

Utilizar etiqueta de precaución. No transportar con sustancias explosivas, sustancias que en contacto con el agua puedan desprender gases inflamables, comburentes y peróxidos orgánicos, radiactivas, sustancias incompatibles ni alimentos.

INFORMACION DE REGULACION

Código Nacional de Tránsito Terrestre. Decreto 1344/70, modificado por la Ley 33/86. Artículo 48: *Transportar carga sin las medidas de protección, higiene y seguridad.* Artículo 49: *Transportar materiales inflamables, explosivos o tóxicos al mismo tiempo que pasajeros o alimentos.* Suspensión de la Licencia de Conducción.

OTRA INFORMACION

La información relacionada con este producto puede no ser válida si éste es usado en combinación con otros materiales o en otros procesos. Es responsabilidad del usuario la interpretación y aplicación de esta información para su uso particular.

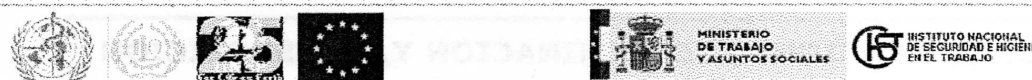
Bibliografía :

Hoja de Seguridad (MSDS)

Fichas Internacionales de Seguridad Química


ACIDO PERACETICO (Estabilizado)

ICSC: 1031



Ácido peroxiacético
 Ácido etanoperoxoico
 Hidroperóxido de acetilo
 $C_2H_4O_3$ / CH_3COOOH
 Masa molecular: 76.1

N° CAS 79-21-0
 N° RTECS SD8750000
 N° ICSC 1031
 N° NU 3105
 N° CE 607-094-00-8



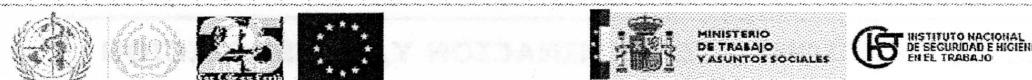
TIPOS DE PELIGRO/ EXPOSICION	PELIGROS/ SINTOMAS AGUDOS	PREVENCION	PRIMEROS AUXILIOS/ LUCHA CONTRA INCENDIOS
INCENDIO	Inflamable. Explosivo.	Evitar las llamas, NO producir chispas y NO fumar. NO poner en contacto con sustancias inflamables. NO poner en contacto con superficies calientes.	Agua pulverizada.
EXPLOSION	Por encima de 40.5°C pueden formarse mezclas explosivas vapor/aire.	Por encima de 40.5°C, sistema cerrado, ventilación y equipo eléctrico a prueba de explosión. No exponer a fricción o choque.	En caso de incendio: mantener fríos los bidones y demás instalaciones rociando con agua. Combatir el incendio desde un lugar protegido.
EXPOSICION		¡EVITAR TODO CONTACTO!	
•INHALACION	Sensación de quemazón. Tos. Dificultad respiratoria. Jadeo. Dolor de garganta. Síntomas no inmediatos (véanse Notas).	Ventilación, extracción localizada o protección respiratoria.	Aire limpio, reposo. Posición de semiincorporado. Proporcionar asistencia médica. Véanse Notas.

Hoja de Seguridad (MSDS)

Fichas Internacionales de Seguridad Química


ACIDO PERACETICO (Estabilizado)

ICSC: 1031



Ácido peroxiacético
 Ácido etanoperoxoico
 Hidroperóxido de acetilo
 $C_2H_4O_3$ / CH_3COOOH
 Masa molecular: 76.1

N° CAS 79-21-0
 N° RTECS SD8750000
 N° ICSC 1031
 N° NU 3105
 N° CE 607-094-00-8




TIPOS DE PELIGRO/ EXPOSICION	PELIGROS/ SINTOMAS AGUDOS	PREVENCION	PRIMEROS AUXILIOS/ LUCHA CONTRA INCENDIOS
INCENDIO	Inflamable. Explosivo.	Evitar las llamas, NO producir chispas y NO fumar. NO poner en contacto con sustancias inflamables. NO poner en contacto con superficies calientes.	Agua pulverizada.
EXPLOSION	Por encima de 40.5°C pueden formarse mezclas explosivas vapor/aire.	Por encima de 40.5°C, sistema cerrado, ventilación y equipo eléctrico a prueba de explosión. No exponer a fricción o choque.	En caso de incendio: mantener fríos los bidones y demás instalaciones rociando con agua. Combatir el incendio desde un lugar protegido.
EXPOSICION		¡EVITAR TODO CONTACTO!	
•INHALACION	Sensación de quemazón. Tos. Dificultad respiratoria. Jadeo. Dolor de garganta. Síntomas no inmediatos (véanse Notas).	Ventilación, extracción localizada o protección respiratoria.	Aire limpio, reposo. Posición de semiincorporado. Proporcionar asistencia médica. Véanse Notas.



Corporación
Química
Venezolana CORQUIVEN, C. A.

Presentes en la Áreas de:
Droguerías, Cosmético, Industrial
Mantenimiento, Alimento y Laboratorios

• PIEL	¡PUEDE ABSORBERSE! Enrojecimiento. Quemaduras cutáneas. Dolor. Ampollas.	Guantes protectores. Traje de protección.	Aclarar con agua abundante, después quitar la ropa contaminada y aclarar de nuevo. Proporcionar asistencia médica.
• OJOS	Enrojecimiento. Dolor. Quemaduras profundas graves.	Pantalla facial, o protección ocular combinada con la protección respiratoria.	Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto si puede hacerse con facilidad), después proporcionar asistencia médica.
• INGESTION	Dolor abdominal. Sensación de quemazón. Shock o colapso.	No comer, ni beber, ni fumar durante el trabajo.	Enjuagar la boca. NO provocar el vómito. Proporcionar asistencia médica.

DERRAMES Y FUGAS	ALMACENAMIENTO	ENVASADO Y ETIQUETADO
Evacuar la zona de peligro. Consultar a un experto. Recoger el líquido procedente de la fuga en recipientes tapados de plástico . Absorber el líquido residual en arena o absorbente inerte y trasladarlo a un lugar seguro. NO verterlo al alcantarillado. NO absorber en serrín u otros absorbentes combustibles. NO permitir que este producto químico se incorpore al ambiente. (protección personal adicional: traje de protección completo incluyendo equipo autónomo de respiración).	A prueba de incendio. Medidas para contener el efluente de extinción de incendios. Separado de sustancias combustibles y reductoras. Véanse Peligros Químicos. Mantener en lugar fresco. Almacenar solamente si está estabilizado.	 <p>NU (transporte): Ver pictograma en cabecera Clasificación de Peligros NU: 5.2 Grupo de Envasado NU: II</p> <p>CE: símbolo O símbolo C símbolo N R: 7-10-20/21/22-35-50 S: 1/2-3/7-14-36/37/39-45-61 Nota: B, D</p>

VEASE AL DORSO INFORMACION IMPORTANTE

ICSC: 1031

Preparada en el Contexto de Cooperación entre el IPCS y la Comisión Europea © CE, IPCS, 2003

Corporación Química Venezolana CORQUIVEN, C. A. / (Hoja Seguridad MSDS: ACIDO PERACETICO)
Zona Ind. Carabobo, 4ta. Transversal; Galpón G6-B
Valencia Edo. Carabobo / VENEZUELA
Telf.: +58 (241) 832.73.49 / 832.70.92/ 838.9568
Fax: +58 (241) 832.67.05/ 838.46.96
Email: corquiven@cartv.net
Web site: <http://www.corquiven.com>



Corporación
Química
Venezolana CORQUIVEN, C. A.

Presentes en la Áreas de:
Droguerías, Cosmético, Industrial
Mantenimiento, Alimento y Laboratorios

Fichas Internacionales de Seguridad Química

ACIDO PERACETICO (Estabilizado)

ICSC: 1031

D A T O S I M P O R T A N T E S	ESTADO FISICO; ASPECTO Líquido incoloro, de olor característico.	VIAS DE EXPOSICION La sustancia se puede absorber por inhalación, a través de la piel y por ingestión
	PELIGROS QUIMICOS Puede descomponerse con explosión por choque, fricción o sacudida. Puede explotar por calentamiento intenso. La sustancia es un oxidante fuerte y reacciona violentamente con materiales combustibles y reductores. La sustancia es un ácido débil. Ataca muchos metales incluyendo aluminio.	RIESGO DE INHALACION No puede indicarse la velocidad a la que se alcanza una concentración nociva en el aire por evaporación de esta sustancia a 20°C.
	LIMITES DE EXPOSICION TLV no establecido. MAK: categoría 3B (DFG 2002).	EFFECTOS DE EXPOSICION DE CORTA DURACION La sustancia es corrosivo para los ojos, la piel y el tracto respiratorio. Corrosivo por ingestión. La inhalación puede originar edema pulmonar (véanse Notas).
PROPIEDADES FISICAS	Punto de ebullición: 105°C Punto de fusión: 0°C Densidad relativa (agua = 1): 1.2 Solubilidad en agua: miscible Presión de vapor, kPa a 20°C: 2.6	Densidad relativa de vapor (aire = 1): 2.6 Densidad relativa de la mezcla vapor/aire a 20°C (aire = 1): 1.04 Punto de inflamación: 40.5° C c.a. Temperatura de autoignición: 200°C Límites de explosividad, % en volumen en el aire: véanse Notas
DATOS AMBIENTALES	La sustancia es muy tóxica para los organismos acuáticos.	
NOTAS		
No se encuentran referenciados en la bibliografía los límites de explosividad. Los síntomas del edema pulmonar no se ponen de manifiesto, a menudo, hasta pasadas algunas horas y se agravan por el esfuerzo físico. Reposo y vigilancia médica son, por ello, imprescindibles. Estabilizadores o inhibidores añadidos pueden influir sobre las propiedades toxicológicas de esta sustancia; consultar a un experto. Enjuagar la ropa contaminada con agua abundante (peligro de incendio).		
Ficha de emergencia de transporte (Transport Emergency Card): TEC (R)-52G01b Código NFPA: H 3; F 2; R 4; ox		

CONTACTO CON NOSOTROS
CORPORACIÓN QUÍMICA VENEZOLANA CORQUIVEN, C. A.
Zona Ind. Carabobo, 4ta. Transversal; Galpón G6-B
Valencia Edo. Carabobo / VENEZUELA
Telf.: +58 (241) 832.73.49 / 832.70.92 / 838.9568
Fax: +58 (241) 832.67.05 / 838.46.96
Email: corquiven@cantv.net
Web site: <http://www.corquiven.com>

Corporación Química Venezolana CORQUIVEN, C. A. / (Hoja Seguridad MSDS: ACIDO PERACETICO)
Zona Ind. Carabobo, 4ta. Transversal; Galpón G6-B
Valencia Edo. Carabobo / VENEZUELA
Telf.: +58 (241) 832.73.49 / 832.70.92 / 838.9568
Fax: +58 (241) 832.67.05 / 838.46.96
Email: corquiven@cantv.net
Web site: <http://www.corquiven.com>



Corporación
Química
Venezolana CORQUIVEN, C. A.

Presentes en la Áreas de:
Droguerías, Cosmético, Industrial
Mantenimiento, Alimento y Laboratorios

INFORMACION ADICIONAL

Los valores LEP pueden consultarse en línea
en la siguiente dirección:
<http://www.mtas.es/insht/practice/vlas.htm>

Última revisión IPCS: 2000
Traducción al español y actualización de
valores límite y etiquetado: 2003
FISQ: 6-017

ICSC: 1031

ACIDO PERACETICO (Estabilizado)

© CE, IPCS, 2003

**NOTA LEGAL
IMPORTANTE:**

Esta ficha contiene la opinión colectiva del Comité Internacional de Expertos del IPCS y es independiente de requisitos legales. Su posible uso no es responsabilidad de la CE, el IPCS, sus representantes o el INSHT, autor de la versión española.

Section 3: Composition and information on ingredients

# by Weight	CAS #
10-21	78475-81-0
10-81	7732-18-8

Section 3: Hazards identification

Corporación Química Venezolana CORQUIVEN, C. A. / (Hoja Seguridad MSDS: ACIDO PERACETICO)

Zona Ind. Carabobo, 4ta. Transversal; Galpón G6-B

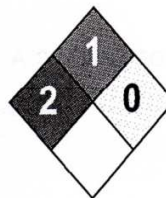
Valencia Edo. Carabobo / VENEZUELA

Tel.: +58 (241) 832.73.49 / 832.70.92/ 838.9568

Fax: +58 (241) 832.67.05/ 838.46.96

Email: corquiven@cantv.net

Web site: <http://www.corquiven.com>



Health	2
Fire	1
Reactivity	0
Personal Protection	H

Material Safety Data Sheet Chlorhexidine Gluconate Solution MSDS

Section 1: Chemical Product and Company Identification

Product Name: Chlorhexidine Gluconate Solution

Catalog Codes: SLC5218

CAS#: Mixture.

RTECS: Not applicable.

TSCA: TSCA 8(b) inventory: Chlorhexidine gluconate;
Water

CI#: Not available.

Synonym:

Chemical Name: Not applicable.

Chemical Formula: Not applicable.

Contact Information:

Sciencelab.com, Inc.

14025 Smith Rd.

Houston, Texas 77396

US Sales: **1-800-901-7247**

International Sales: **1-281-441-4400**

Order Online: ScienceLab.com

CHEMTREC (24HR Emergency Telephone), call:

1-800-424-9300

International CHEMTREC, call: 1-703-527-3887

For non-emergency assistance, call: 1-281-441-4400

Section 2: Composition and Information on Ingredients

Composition:

Name	CAS #	% by Weight
Chlorhexidine gluconate	18472-51-0	19-21
Water	7732-18-5	79-81

Toxicological Data on Ingredients: Chlorhexidine gluconate: ORAL (LD50): Acute: 2000 mg/kg [Rat]. 1260 mg/kg [Mouse].

Section 3: Hazards Identification

Potential Acute Health Effects:

Very hazardous in case of ingestion. Hazardous in case of skin contact (irritant), of eye contact (irritant), of inhalation. Non-corrosive for skin. Non-sensitizer for skin. Non-permeator by skin.

Potential Chronic Health Effects:

Very hazardous in case of ingestion. Hazardous in case of skin contact (irritant), of eye contact (irritant), of inhalation. Non-corrosive for skin. Non-sensitizer for skin. Non-permeator by skin. CARCINOGENIC EFFECTS: Not available. MUTAGENIC EFFECTS: Not available. TERATOGENIC EFFECTS: Not available. DEVELOPMENTAL TOXICITY: Not available. The substance is toxic to lungs, mucous membranes. Repeated or prolonged exposure to the substance can produce target organs damage.

Section 4: First Aid Measures

Eye Contact:

Check for and remove any contact lenses. Immediately flush eyes with running water for at least 15 minutes, keeping eyelids open. Cold water may be used. Do not use an eye ointment. Seek medical attention.

Skin Contact:

After contact with skin, wash immediately with plenty of water. Gently and thoroughly wash the contaminated skin with running water and non-abrasive soap. Be particularly careful to clean folds, crevices, creases and groin. Cold water may be used. Cover the irritated skin with an emollient. If irritation persists, seek medical attention. Wash contaminated clothing before reusing.

Serious Skin Contact:

Wash with a disinfectant soap and cover the contaminated skin with an anti-bacterial cream. Seek medical attention.

Inhalation: Allow the victim to rest in a well ventilated area. Seek immediate medical attention.

Serious Inhalation: Not available.

Ingestion:

Do not induce vomiting. Loosen tight clothing such as a collar, tie, belt or waistband. If the victim is not breathing, perform mouth-to-mouth resuscitation. Seek immediate medical attention.

Serious Ingestion: Not available.

Section 5: Fire and Explosion Data

Flammability of the Product: May be combustible at high temperature.

Auto-Ignition Temperature: Not available.

Flash Points: Not available.

Flammable Limits: Not available.

Products of Combustion: These products are carbon oxides (CO, CO₂), nitrogen oxides (NO, NO₂...), halogenated compounds.

Fire Hazards in Presence of Various Substances: Not available.

Explosion Hazards in Presence of Various Substances:

Risks of explosion of the product in presence of mechanical impact: Not available. Risks of explosion of the product in presence of static discharge: Not available.

Fire Fighting Media and Instructions:

SMALL FIRE: Use DRY chemical powder. LARGE FIRE: Use water spray, fog or foam. Do not use water jet.

Special Remarks on Fire Hazards: Not available.

Special Remarks on Explosion Hazards: Not available.

Section 6: Accidental Release Measures

Small Spill:

Dilute with water and mop up, or absorb with an inert dry material and place in an appropriate waste disposal container. Finish cleaning by spreading water on the contaminated surface and dispose of according to local and regional authority requirements.

Large Spill:

Absorb with an inert material and put the spilled material in an appropriate waste disposal. Finish cleaning by spreading water on the contaminated surface and allow to evacuate through the sanitary system.

Section 7: Handling and Storage

Precautions:

Keep away from heat. Keep away from sources of ignition. Empty containers pose a fire risk, evaporate the residue under a fume hood. Ground all equipment containing material. Do not ingest. Do not breathe gas/fumes/ vapour/spray. Wear suitable protective clothing. In case of insufficient ventilation, wear suitable respiratory equipment. If ingested, seek medical advice immediately and show the container or the label. Avoid contact with skin and eyes.

Storage:

Keep container dry. Keep in a cool place. Ground all equipment containing material. Keep container tightly closed. Keep in a cool, well-ventilated place. Combustible materials should be stored away from extreme heat and away from strong oxidizing agents.

Section 8: Exposure Controls/Personal Protection

Engineering Controls:

Provide exhaust ventilation or other engineering controls to keep the airborne concentrations of vapors below their respective threshold limit value. Ensure that eyewash stations and safety showers are proximal to the work-station location.

Personal Protection:

Splash goggles. Lab coat. Vapor respirator. Be sure to use an approved/certified respirator or equivalent. Gloves.

Personal Protection in Case of a Large Spill:

Splash goggles. Full suit. Vapor respirator. Boots. Gloves. A self contained breathing apparatus should be used to avoid inhalation of the product. Suggested protective clothing might not be sufficient; consult a specialist BEFORE handling this product.

Exposure Limits: Not available.

Section 9: Physical and Chemical Properties

Physical state and appearance: Liquid.

Odor: Not available.

Taste: Not available.

Molecular Weight: Not applicable.

Crystallinity: Not available.

pH (1% soln/water): Neutral.

Boiling Point: The lowest known value is 100°C (212°F) (Water).

Melting Point: Not available.

Critical Temperature: Not available.

Specific Gravity: The only known value is 1 (Water = 1) (Water).

Vapor Pressure: The highest known value is 17.535 mm of Hg (@ 20°C) (Water).

Vapor Density: The highest known value is 0.62 (Air = 1) (Water).

Volatility: Not available.

Odor Threshold: Not available.

Water/Oil Dist. Coeff.: Not available.

Ionicity (in Water): Not available.

Dispersion Properties: See solubility in water.

Solubility: Easily soluble in cold water.

Section 10: Stability and Reactivity Data

Stability: The product is stable.

Instability Temperature: Not available.

Conditions of Instability: Not available.

Incompatibility with various substances: Not available.

Corrosivity: Non-corrosive in presence of glass.

Special Remarks on Reactivity: Not available.

Special Remarks on Corrosivity: Not available.

Polymerization: Not available.

Section 11: Toxicological Information

Routes of Entry: Eye contact. Inhalation. Ingestion.

Toxicity to Animals: Acute oral toxicity (LD50): 6300 mg/kg (Mouse) (Calculated value for the mixture).

Chronic Effects on Humans: The substance is toxic to lungs, mucous membranes.

Other Toxic Effects on Humans:

Very hazardous in case of ingestion. Hazardous in case of skin contact (irritant), of inhalation. Non-corrosive for skin. Non-sensitizer for skin. Non-permeator by skin.

Special Remarks on Toxicity to Animals: Not available.

Special Remarks on Chronic Effects on Humans: Not available.

Special Remarks on other Toxic Effects on Humans: Not available.

Section 12: Ecological Information

Ecotoxicity: Not available.

BOD and COD: Not available.

Products of Biodegradation:

Possibly hazardous short term degradation products are not likely. However, long term degradation products may arise.

Toxicity of the Products of Biodegradation: The products of degradation are more toxic than the product itself.

Special Remarks on the Products of Biodegradation: Not available.

Section 13: Disposal Considerations

Waste Disposal:

Section 14: Transport Information

DOT Classification: Not a DOT controlled material (United States).

Identification: Not applicable.

Special Provisions for Transport: Not applicable.

Section 15: Other Regulatory Information

Federal and State Regulations: TSCA 8(b) inventory: Chlorhexidine gluconate; Water

Other Regulations: OSHA: Hazardous by definition of Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200).

Other Classifications:

WHMIS (Canada): CLASS D-2A: Material causing other toxic effects (VERY TOXIC).

DSCL (EEC):

R38- Irritating to skin. R41- Risk of serious damage to eyes.

HMIS (U.S.A.):

Health Hazard: 2

Fire Hazard: 1

Reactivity: 0

Personal Protection: h

National Fire Protection Association (U.S.A.):

Health: 2

Flammability: 1

Reactivity: 0

Specific hazard:

Protective Equipment:

Gloves. Lab coat. Vapor respirator. Be sure to use an approved/certified respirator or equivalent. Wear appropriate respirator when ventilation is inadequate. Splash goggles.

Section 16: Other Information

References: Not available.

Other Special Considerations: Not available.

Created: 10/09/2005 04:52 PM

Last Updated: 11/01/2010 12:00 PM

The information above is believed to be accurate and represents the best information currently available to us. However, we make no warranty of merchantability or any other warranty, express or implied, with respect to such information, and we assume no liability resulting from its use. Users should make their own investigations to determine the suitability of the information for their particular purposes. In no event shall ScienceLab.com be liable for any claims, losses, or damages of any third party or for lost profits or any special, indirect, incidental, consequential or exemplary damages, howsoever arising, even if ScienceLab.com has been advised of the possibility of such damages.