

97

T.O.
835
7.1
00796

**ACCION DEL N-ALQUIL DIMETIL BENCIL AMONIO Y UREA TIPO GRAS SOBRE
STRETOCOCCUS PYOGENES, SREPTOCOCCUS PNEUMONIE Y
ESCHERICHIA COLI**

10-7-11-1111

**ELIZABETH ACERO MONTAÑA
LUZ MIREYA ARDILA HUERFANO
DIVA BARRERA GAMA
TATIANA INES GUERRA
JENNY MARCELA GOMEZ
SANDRA HELENA LINARES
TAIRYTH PEREZ IBARRA**



**COLEGIO UNIVERSITARIO COLOMBIANO
COLEGIO ODONTOLOGICO COLOMBIANO
SANTA FE DE BOGOTA D.C**

1999

**ACCION DEL N-ALQUIL DIMETIL BENCIL AMONIO Y UREA TIPO GRAS SOBRE
STREPTOCOCCUS PYOGENES STREPTOCOCCUS PNEUMONIE Y
ESCHERICHIA COLL**

**ELIZABETH ACERO MONTANA
LUZ MIREYA ARDILA HUERFANO
DIVA BARRERA GAMA
TATIANA INES GUERRA
JENNY MARCELA GOMEZ PARDO
SANDRA HELENA LINARES
TAIRYTH PEREZ IBARRA**

**Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar
el titulo de Odontologas**

Asesor cientifico

FREDDY OSORIO

Odontologo

Asesor Metodologico

INES AMPARO REVELO MEJIA

Odontologa, Magistra en Administracion de Salud

**COLEGIO UNIVERSITARIO COLOMBIANO
COLEGIO ODONTOLOGICO COLOMBIANO
SANTAFE DE BOGOTA D.C.**

1999

**ACCION DEL N-ALQUIL DIMETIL BENCIL AMINIO Y UREA TIPO GRAS SOBRE
STREPTOCOCCUS PIOGENES, STREPTOCOCCUS NEUMONIE Y
ESCHERICHIA COLI.**

**ELIZABETH ACERO MONTAÑA
LUZ MIREYA ARDILA HUERFANO
DIVA BARRERA GAMA
TATIANA INES GUERRA
JENNY MARCELA GOMEZ PARDO
SANDRA HELENA LINARES
TAIRYTH PEREZ IBARRA**

Asesor Científico

FRDDY OSORIO

Odontólogo

Asesor Metodológico

INES AMPARO REVELO

Odontóloga Magistra en Administración de Salud

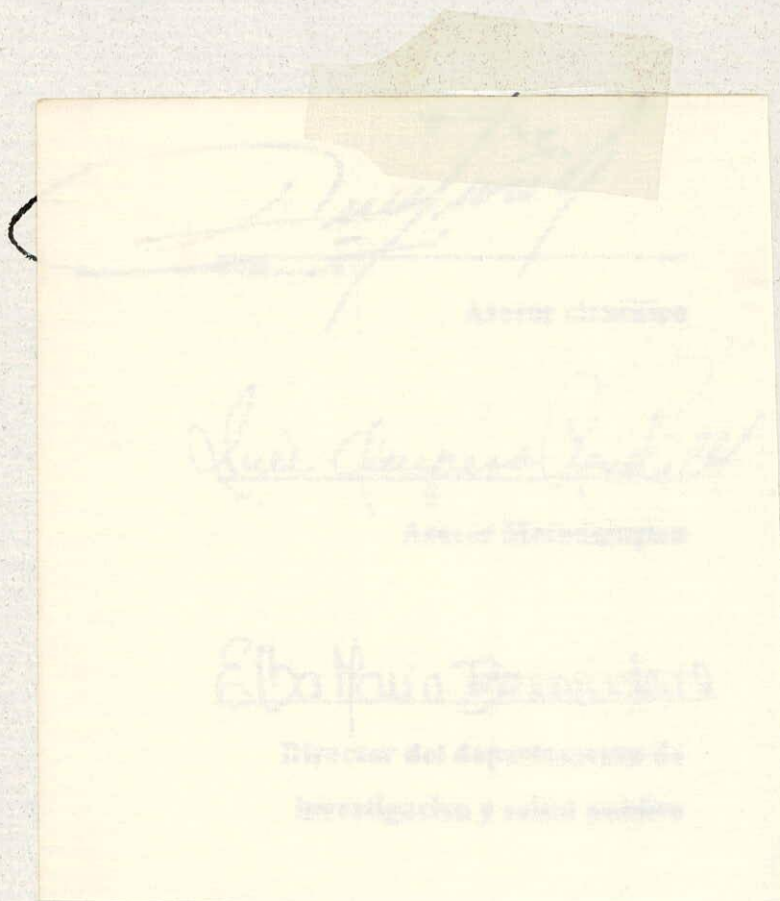
COLEGIO UNIVERSITARIO COLOMBIANO

COLEGIO ODONTOLOGICO COLOMBIANO

SANTAFE DE BOGOTA D.C.

1999

El trabajo de grado ACCION DEL N-ALQUIL DIMETIL BENCIL AMONIO Y UREA TIPO GRAS SOBRE STREPTOCOCCUS PYOGENES, STREPTOCOCCUS PNEUMONIE Y ESCHERICHIA COLI elaborado por ELIZABETH ACERO MONTANA, LUZ MIREYA ARDILA HUERFANO, DIVA BARRERA GAMA, TATIANA INES GUERRA, JENNY MARCELA GOMEZ PARDO, SANDRA HELENA LINARES Y TAIRYTH PEREZ IBARRA, ha sido aprobado como requisito parcial para optar el titulo de ODONTOLOGAS.



Santafé de Bogota D.C

1999

LISTA ESPECIAL

**Tabla 1 : TABLA DE RESULTADOS " EVALUACION BACTERICIDA
DEL N-ALQUIL DIMETIL BENCIL AMONIO Y UREA TIPO
GRAS**

**Gráficoal : PRUEBA PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA
DEL N-ALQUIL DIMETIL BENCIL AMONIO Y UREA TIPO GRAS.**

**Gráfica 2: MUESTRA ESQUEMATICA DE LA EVALUACION BACTERICIDA
DEL N-ALQUIL DIMETIL AMONIO Y UREA TIPO GRAS .**

**Anexo 1: INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS
" FICHA MICROBIOLOGICA**

CONTENIDO

	Pag.
INTRODUCCION	
1. CONTEXTO DE LA INVESTIGACION	2
1.1. DEFINICION DEL PROBLEMA	2
1.2. JUSTIFICACION	2
1.3 PROPOSITO	2
1.4 MARCO TEORICO	3
1.5 OBJETIVOS	21
1.5.1. General	21
1.5.2. Específicos	21
2. METODO	22
2.1. TIPO DE ESTUDIO	22
2.2. OBJETO DE ESTUDIO	22
2.3. POBLACION DE ESTUDIO	22
2.4. DEFINICION DE VARIABLES	22
2.5. INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS	23
2.6 PROCEDIMIENTO	23
3. RESULTADOS	24
4. DISCUSION	25
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	26
BIBLIOGRAFIA	
ANEXOS	

INTRODUCCION

Como es bien sabido es de vital importancia la esterilización y desinfección de superficies como del instrumental de uso odontológico.

El mercado brinda gran variedad de agentes químicos que dicen actuar como desinfectantes, Bactericidas y fungicidas, así es que el Odontólogo esta en el derecho y la obligación de verificar que estos productos tengan una acción veraz sobre los microorganismos patógenos.

se escogió el compuesto N-ALQUIL DIMETIL BENCIL AMONIO Y UREA TIPO GRAS para comprobar si su actividad bactericida brinda la seguridad que se busca en la clínica odontológica.

De esta manera se complemento la información que se conoce sobre el N-ALQIL DIMETIL BENCIL AMONIO Y UREA TIPO GRAS para tener mas elementos de juicio y decidir si se puede o no utilizar.

Este estudio se realizo mediante la utilización de tres cepas de microorganismos patógenos comunes en superficie de medios hospitalarios y clínicos, los cuales se evaluaron en diferentes concentraciones y tiempos de exposición con el N-ALQIL DIMETIL BENCIL AMONIO Y UREA TIPO GRAS.

1. CONTEXTO DE LA INVESTIGACION

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

No hay estudios que demuestren la efectividad del N- alquil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS sobre microorganismos patógenos tipo: streptococcus pneumonie, streptococcus pyogenes y escherichia coli, los cuales son muy comunes en superficies clínicas facilitando de esta manera la contaminación cruzada en sitios como son el consultorio odontológico.

1.2 JUSTIFICACION:

Es de vital importancia saber si existe una verdadera acción bacteriostatica y bactericida sobre diferentes microorganismos patógenos con el uso del N-alquil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS para comprobar si de esta manera se evita la propagación de infecciones en pacientes, profesionales, auxiliares y demás personas que estén en contacto con el área de trabajo.

1.3 PROPOSITO:

La investigación pretende proporcionar información a los estudiantes y docentes del Colegio Universitario Colombiano sobre el grado de confiabilidad en el uso del N-alquil dimetil bencil Amonio y urea tipo GRAS como desinfectante en la clínica odontológica.

1.4. MARCO TEORICO:

1.4.1 Conceptos básicos

La infección es el resultado de la penetración de gérmenes patógenos al organismo, los cuales son atacados por el sistema inmunitario. Pero en la mayoría de los casos son insuficientes para combatir los microorganismos patógenos, cuando esto sucede se producen infecciones a veces con conexión purulenta que el organismo no tolera. (Barbano 1996)

En odontología los elementos según su grado de contaminación se clasifican en:

- Críticos: instrumentos utilizados para penetrar los tejidos blandos u óseos que están en contacto con sangre y deben ser esterilizados después de cada uso. Aquí se incluyen elementos como: bisturios, instrumentos para exodoncias, sondas periodontales, curetas manuales y ultrasónicas.
- Semicríticos: incluyen elementos que no penetran los tejidos blandos u óseos pero entran en contacto con mucosas orales. Deben ser desinfectados y posteriormente esterilizados incluyen elementos como: instrumental básico, instrumental para amalgamas, cubetas perforadas.
- No críticos: son instrumentos o dispositivos que no tienen contacto con la piel del paciente, puede presentar riesgos de contaminación, entre ellos esta: pisos, mesones y paredes.
- De protección: todos aquellos elementos que se utilizan para protección personal como gafas, gorros, batas, guantes y tapabocas.

La antisepsia es el método que se propone evitar el desarrollo de microorganismos o trata de destruir los mismos para no permitir el desarrollo de procesos infecciosos. La antisepsia constituye la base de la cirugía y hoy no se concibe la realización de ningún procedimiento quirúrgico sin que se haya procedido por la más rigurosa asepsia. (Barbano, 1996)

Métodos de antisepsia:

La desinfección se consigue por medio de un agente químico que elimina parcialmente los microorganismos patógenos y no patógenos mediante una vía de acceso adecuada y un tiempo de acción suficiente. Sin incluir las esporas. (Barbano, 1996)

Un bactericida es aquel que determina una acción irreversible que mata la célula. Los germicidas y desinfectantes se comportan como bactericidas si esto se utiliza en concentraciones adecuadas mientras que los antisépticos pueden ser bacteriostáticos o bactericidas. La diferencia entre estos dos tipos existe en la actividad de concentración y el tiempo de exposición para determinar si un agente químico es bactericida el diseño del experimento debe ser tal que excluya la inhibición bacteriostática, la falta de desarrollo bacteriano puede interpretarse como actividad bactericida del agente. (Barbano, 1996)

Un viricida es un agente que inactiva o destruye el virus tanto en materia viva como en objetos inanimados.

El Fungicida es una sustancia química que destruye hongos patógenos y no patógenos. En tejidos vivos y objetos.

Antiséptico es una sustancia química que destruye microorganismo y se aplica sobre tejidos vivos.

Las propiedades deseables de los agentes químicos recomendados para desinfectar son:

Capacidad para destruir microorganismos a bajas concentraciones y en poco tiempo

Que sea soluble en agua o en otros vehículos sin que pierda su capacidad bacteriana.

Que la toxicidad a los tejidos sea la menor posible.

Buen poder de penetración en las superficies que se aplique y que no se combine con la materia orgánica.

Que no sea corrosivo ni tiña en forma permanente

Que tenga propiedades detergentes y descolorizante que incrementen su actividad y no sean desagradables (Barbano, 1996)

Los factores que afectan la actividad del desinfectante son los siguientes:

Concentración eficaz del agente.

Algunos desinfectantes son muy solubles en agua otros no lo son tanto y requieren un tratamiento eficaz para obtener una actividad adecuada.

El tiempo, de exposición. Pues el agente germicida no causa la muerte instantánea de todos los microorganismos.

Tipo de material que ha de desinfectarse.

Presencia de materia orgánica. (Barbano, 1996)

Los factores que determinan la actividad del desinfectante son los siguientes:

Temperatura: el aumento de la temperatura causa un incremento en la actividad germicida. Por cada 10 grados centígrados de aumento de temperatura, la actividad de desinfección se incrementa.

PH: algunos agentes expresan su mayor efecto en un ph ácido y otros en un medio alcalino.

Presencia de contaminantes: la presencia de materiales orgánicos como sangre, pus o saliva reducen su efecto de forma importante. (Barbano, 1996)

Los mecanismos de la resistencia bacteriana a los agentes químicos son:

Acumulación de lípidos en la célula: estos aumentan la resistencia en algunos microorganismos como son; estafilococos, eschericha coli, salmonella thyfosa y estreptococos. (Basualdo, 1996)

Los desinfectantes más comunes son:

Alcoholes: los alcoholes son desnaturizantes de proteínas que destruyen rápidamente las bacterias vegetativas al aplicarlas en forma de solución acuosa con un 70 o 95 % de alcohol. Resultan inactivas frente a las esporas bacterianas y numerosos virus. Las soluciones de alcohol al 100 % deshidratan rápidamente los microorganismos. Pero son incapaces de destruirlos.

El alcohol isopropílico ha sustituido ampliamente el etanol en el empleo hospitalario ya que es algo más activo y no está sujeto a desolación para uso doméstico. (Basualdo, 1996).

Halógenos : el yoduro es un desinfectante que actúa mediante yodación u oxidación de los componentes esenciales se utilizan habitualmente en forma de tintura de yodo al 2% en un 50% de alcohol destruye de forma más rápida y eficaz que el alcohol simple, pero presenta una desventaja que en ocasiones provoca reacciones de hipersensibilidad de tinción de materiales con los cuales entra en contacto (Basualdo, 1996).

Yodoforos : es la combinación de yodo con compuestos orgánicos éstos causan un mejor grado de tinción y deshidratación cutánea. (Basualdo, 1996)

Agentes fenólicos: el fenol es uno de los primeros desinfectantes eficaces, es un potente desnaturizante proteico y agente bactericida.

Dos compuestos fenólicos el exaclorofeno y la clorhexidina se ha empleado extensamente como desinfectante cutáneo.

El exaclorofeno es sobretodo un bacteriostático que al aplicarse en concentraciones excesivas produce efectos neurotóxicos en niños prematuros.

La clorhexidina ha sustituido el clorofeno presentando una mayor actividad bactericida es de carácter catiónico y por consiguiente incompatible con los jabones y sustancias aniónicas que desnaturalizan su acción. (Basualdo, 1996)

Los hipocloritos pertenecen al grupo de los halógenos, son de bajo costo y eficaces, su modo de acción es por liberación de cloro y otros activos combatiendo virus y por lo tanto son recomendados para la desinfección del equipo contaminado con sangre, la desventaja es que corroe los metales. (Basualdo, 1996)

Los aldeidos más utilizados son: El formaldehído es un gas irritante produce alergias siendo muy desagradable pero más sin embargo se ha utilizado durante años para descontaminar ambientes tales como, telas e instrumentos.

El glutaraldehído se emplea como agente de esterilización en frío para instrumentos quirúrgicos, este es cien veces más efectivo que el formaldehído como agente bactericida, esporicida y es considerado menos tóxico. Su actividad bactericida no se disminuye por la presencia de materiales que contienen proteínas, es eficaz para aparatos que no pueden tratarse con calor como algunos instrumentos ópticos y para terapia respiratoria la forma de acción de este se ha atribuido a su unión con grupos sulfúricos o amonio pero no sea definido su forma de acción en la célula. (Basualdo, 1996)

La esterilización es el Método por el cual se eliminan microorganismos patógenos y no patógenos incluyendo esporas. Esto se logra mediante incineración, tratamiento no destructivo con calor gases, exposición a radiaciones ionizantes, algunos productos químicos lípidos y filtración. (Basualdo, 1996)

Métodos de esterilización.

Calor : es el método más simple de esterilización y consiste en exponer la superficie que debe ser esterilizada en una llama al descubierto.

Calor seco: la esterilización con calor seco requiere de temperaturas mas elevadas y un periodo mas prolongado de calentamiento. Los microorganismos se destruyen tras exponerlos a una temperatura de 169 durante 2 horas. En un horno de esterilización este método es aplicable en metales, objetos de vidrio algunos aceites y ceras resistentes al calor.

Calor húmedo: en forma de agua o de vapor resulta mucho más rápida y eficaz que la técnica de esterilización con calor seco.

Autoclave : Es un complejo horno a presión su forma más simple consiste en una cámara en la cual el aire puede ser sustituido por vapor saturado sometido a presión pueden ser utilizados para la esterilización de cualquier tipo de material que no sea dañado por el vapor y el calor. (Basualdo 1996)

Gas : el más común es el oxido de etileno este es inflamable explosivo que inactiva los microorganismos.

El uso de sustancias químicas en estado gaseoso para esterilizar ofrece muchas ventajas:

Permite desinfectar materiales que se dañan con el calor y la humedad.

Favorece la penetración, facilita la rápida destrucción de microorganismos.

Luz ultravioleta: la esterilización UV resulta limitada por su baja capacidad de penetración causando daño genético, lesión térmica y ocular.

Radiación ionizante: se ha utilizado ampliamente en procesos industriales, incluyendo la esterilización de numerosos dispositivos quirúrgicos como guantes jeringas de plástico.

Filtración : Esta se utiliza para la esterilización de grandes volúmenes de líquidos especialmente aquellos que contienen componentes termo móviles como el suero.

1.4.2. Microflora oral.

Para efecto de esta investigación es necesario describir la microflora oral que consiste en bacterias, levaduras, algunos hongos, microplasma, protozoarios y virus.

Microflora de la placa bacteriana: la placa sublingual generalmente se define como la acumulación microbacteriana no mineralizada que se adquiere tenazmente a la superficie dentaria y materiales de restauración. (Jhon HI Play Fair 1997)

Se puede observar estreptococos salibarius y estreptococos sanguíneos en una superficie limpia.

En placa bacteriana de dos a tres días se podrá observar la formación de cocos, neisseria, bacilos, gram positivos y unas cuantas formas filamentosas. los vibriones anaerobias y las espiroquetas aparecen al sexto día. (Roy M. Anderson 1997)

Las determinaciones cuantitativas y cualitativas de los microorganismos de placa realizadas en sujetos jóvenes han dado cuentas promedio de 250mil millones de bacteria por gramos de bacteria húmeda, por el método de cultivos. Los anaerobios en promedio se encontraron en una cantidad de 46 mil millones y el promedio aeróbicos fue de 25 mil millones. En menor proporción podemos encontrar B. Melaniogenicos y lactobacilos puede que construyan menos de 0.1% de las bacterias de la placa, al igual que las espiroquetas.

Entre las bacterias que primero colonizan el diente esta el s. sanguis y s. mutans. En los surcos gingivales predominan actinomices y otras formas filamentosas a medida que él calculos aparece y crece, las formas filamentosas son A.Maeslundii, B.Matruchotii especie de Leptotricha y streptococcus sanguis.

Los cálculos provocan traumas en la encía lo cual determina una perdida anormal de los líquidos tisulares y la migración de leucocitos hacia los canales gingivales y se crea un ambiente con tensión de oxígeno reducido y rico en nutrientes del huésped, todo esto favorece al crecimiento y reproducción de anaerobios, espiroquetas, fusobacterias, bacteroides, difleroides, estreptococos, actinomyces. Algunos de estos anaerobios y las espiroquetas del genero borrelia treponema parecen estar restringidos principalmente a esta área de la cavidad oral. (Roy M. Anderson, 1997)

Microflora de la lengua: las bacterias predominantes de la lengua pertenecen los géneros siguientes:

estreptococos facultativos: s. silabarios, s. milleri, s. mitior 14.5% veilloneda. difteroides anaerobios 7.4% peptos estreptococos, neisseria 2.3% fusobacterium 0.8%, vibrio 2.1%, bacilos gram (-) no identificados 2.6%. (Jhon HL Play Fair, 1997)

Para análisis de esta investigación se destacaran las siguientes cepas:

- **Streptococcus pneumoniae**

Coco Gram positivo pequeño, ligeramente alargado o puntiagudo, no móvil ni forma esporas.

Su hábitat normal es el hombre en boca, faringe y traquea.

Presenta necesidades nutritivas complejas, necesitando para su crecimiento colonia, ácido nicotínico y pantoténico y algunas cepas requieren biotina y ácido ascórbico.

Son asociados a enfermedades como neumonía lobular, septicemia, meningitis y endocarditis. (Laboratorio Ivonne Bernier)

- **Streptococcus pyogenes**

Cocos Gram positivos en cadena, temperatura óptima 37 grados centígrados, aerobio facultativo, necesita glutamina, riboflavina y piridoxina como suplementos nutritivos.

Se desarrolla especialmente en la faringe aguda, celulitis de heridas y septicemias y en otros casos llegan a producir fiebre reumatoidea, glomerulonefritis y endocarditis.

(Laboratorio Ivonne Bernier)

- **Escherichia coli**

Es habitante normal del intestino de todos los animales de sangre caliente. Bacilo corto Gram negativo aerobio facultativo, capaz en gran variedad crecer en fuentes de carbono energía como azúcares aminoácidos, ácidos orgánicos. (Laboratorio Ivonne Bernier)

1.4.2 Cultivos Bacteriológico:

La caracterización y la clasificación de un tipo o especie de bacterias, se requiere que se aísle de otro microorganismo de su ambiente y que se mantenga en un cultivo puro.

En el estudio del comportamiento bacteriano un cultivo consta de 10⁶ a 10⁹ células. Las características más importantes de la mayoría de las especies bacterianas, suficientemente estables en cultivos para permitir determinado comportamiento promedio.

Es difícil mantener este cultivo de manera que no cambie significativamente sus propiedades o conductas, uno de los métodos es subcultivándolo y así se puede esterilizar la virulencia y las principales actividades fermentativas y enzimáticas. Estos cultivos pueden preservarse durante cierto tiempo enfriándolos y congelándolos. También se emplean la liofilización para preservar las bacterias de un cultivo puro, estas se mezclan con proteína.

- Métodos para aislar un cultivo puro:

Se lleva a cabo con un medio que contenga agar, ya sea por diseminación o plantas en ambos se utiliza la caja de petri para mantener asépticamente el medio de cultivo. Es un recipiente circular de vidrio, comúnmente de 10cm de largo con dos lados de 10ml de altura en el que se vierten aproximadamente 20ml del agar fundido estéril para formar una capa de 1.1 a 3ml de espesor. La placa se cubre entonces con otro similar pero ligeramente más grande, se deja que se enfríe y se solidifique.

- Método de diseminación:

Se inocula una muestra adecuada diluida que contenga una mezcla de tipos o especies bacterianas en la superficie del agar, la diseminación se lleva a cabo utilizando una aguja para inoculación bacteriológica esterilizada, una vez diseminada la muestra sobre la superficie del medio se invierte la cápsula de petri, antes de incubarla para impedir la contaminación por condensación de humedad en la parte superior, cada colonia aislada puede obtenerse y subcultivarse para la determinación de su desarrollo conducta e identidad.

- **Método de diseminación:**

Es una alternativa del método de diseminación de superficie, aproximadamente 20ml de cultivo esterilizado y fundido, se enfrían y se mantiene entre 45 y 50 grados centígrados, la muestra adecuadamente diluida se agrega entonces al medio fundido y se mezclan bien virtiendosen el conjunto en una cápsula y sé incuba a temperatura adecuada, si la muestra esta correctamente diluida se desarrollan primariamente en el medio colonias bacterianas aisladas ya que unas pocas se abran alojado en la superficie.

Medios de cultivos bacterianos: estos se pueden dividir en tres tipos de identificación.

-General: Este se emplea para el crecimiento y aislamiento de bacterias patógenas, ya sea para los métodos de diseminación, o en dilucion y en algunos casos para fines de identificación.

-Selectivo: contiene inhividores para las bacterias no deseadas, este medio contiene acetatos y otras sales para suprimir la mayoría de las bacterias orales.

-Indicadores o diferenciales: se emplean para detectar bacterias que tengan pro piedades distintivas. Los indicadores ácido base se utilizan para detectar bacterias acidogenas y el huevo coagulado o en suero se usan para detectar bacterias proteolíticas. (Medios de cultivo, Edición España, 1995 pag 171ª181)

Tipos De Cultivos:

Agar enriquecido: composición; extracto de carne, extracto de levadura, peptona, triptona, aminoácidos, glucosa agar y agua destilada. Este cultivo es primo apropiado para el cultivo de microorganismos algo exigentes. (Medios de Cultivo, pag 171 a185 /1995)

Agar de estuar: composición; ácido fioglicolico, glicerol fosfato sódico, cloruro cálcico, agar y agua destilada. Este cultivo se utiliza para el transporte de muestras y preservar la viabilidad de microorganismos labiales.

Agar de Amies: composición; cloruro sódico, cloruro cálcico, cloruro de potasio, cloruro magnesico, monofosfato potasico, disfosfato sódico, carbón agua y agua destilada. Este medio de transporte permite la conservación de microorganismos de requerimiento de oxígeno.

Agar de Meller Hinton: composición; infusión de carne, aminoácidos, almidón, este es para efectuar pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos, tanto en forma sólida como líquida.

Agar sangre: Composición; estrato de carne, peptona, sangre agar, y agua destilada. Este medio es ideal para microorganismos exigentes. En él crecen la mayoría de las bacterias patógenas y algunas levaduras.

Agar sangre para anaerobios: a esta se adicionan antibióticos para el aislamiento selectivo de anaerobios.

Agar chocolate: composición; extracto de carne, peptona, sangre, agar y agua destilada este esta particularmente indicado para neisseria.

Agar clea: (cistina- lactosa-electrolitos - deficiencia) composición; Estrato de carne, peptosa, triptona, cistina, lactosa azul de bromo, agar y agua destilada. Medio de cultivo para bacterias en la orina. (Medios de cultivo, Edición España, 1995 pag 171 a 185)

Componentes bacteriológicos de cultivo por colores o tonalidades para enterobacterias:

- Agar de Mac Conkey.
- Azul de metileno.
- Agar XLA (xilosa, licina, desooxicolato sódico)
- Agar s-s.
- Agar Ram Bach
- Caldo con selenito
- Caldo con GN de hasna
- Agar cin (cefsulodina- irgasan-novobiocina)

Otros medios selectivos y específicos

- Agar monotol salado
- Agar de thayer - martin
- Agar new York city
- Agar gardnerella
- Agar granada
- Agar legionella
- Agar comphylobacter
- Agar microbilico.

Examen sistemático de bacterias

Una vez que una bacteria esta ubicada y establecida como un cultivo puro, es necesario determinar una cantidad suficiente de sus propiedades para identificarlas y clasificar las. Al determinar esta característica hay que tener en mente que la mayoría de las bacterias experimentan mutaciones así como variaciones fisiológicas de acuerdo con la edad, el tipo de medio de cultivo, el tiempo, la temperatura inhibición y otros factores ambientales. Dependiendo del control y la normalización de tales factores. (Medios de Cultivo, Edición España, 1995, pag 171 a 185)

Características de las colonias bacterianas:

- Tamaño
- Forma (circular, irregular, diseminada)
- Elevación (hemisférica, moderadamente elevada, plana)
- Estructura (lisa, áspera, homogénea, granular, filamentosa)
- Color y pigmento (fildecente, fluorescente, opalescente)
- Transparencia (clara, traslúcida, opaca)
- Topografía (lisa, brillante, húmeda, mucosa, seca, áspera)
- Márgenes (regular, entero, indentado, carácter halo)
- Consistencia (lisa, húmeda, fácilmente suspendida en agua viscosa)
- Cambios en el medio (heomifilis decoración)

(Medios de Cultivo, Edición España 1995, pag 171 a 185)

- Consistencia (lisa, húmeda, fácilmente suspendida en agua viscosa)
- Cambios en el medio (hemifilis decoración)

(Medios de Cultivo, Edición España 1995, pag 171 a 185)

Las características celulares, importantes para definir una especie bacteriana se observan sobre las células bacterianas teñidas fijadas por color sobre el portaobjeto, la coloración se lleva a cabo generalmente con una tinción de gram, la coloración autoresistente y la metacromática o por tinciones especiales para demostrar alguna parte específica, tales como los flagelos o las cápsulas.

En el campo médico odontológico el potencial patógeno de una bacteria es una característica importante. Los potenciales patógenos comúnmente establecidos son el grado de susceptibilidad al huésped adecuado, la descripción histológica de las lesiones y la respuesta inmune del huésped. (Medios de cultivo, Edición España 1995, pag 171 a 185)

1.4.4 N-alkil dimetil bencil amonio y urea tipo gras.

Como es claro, este estudio quiere demostrar la veracidad del N-alkil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS como desinfectante y esterilizante al ser utilizado sobre los siguientes microorganismos, *S. pyogenes*, *Escherichia coli* y *S. pneumoniae*, los cuales se escogieron por ser los más comunes que se pueden encontrar a nivel de superficie.

A continuación se dará a conocer el resultado del estudio que fue realizado por la Dagazzi Farmacéutica y que al parecer demuestra que este agente químico es la mejor opción dentro de los actuales desinfectantes que encontramos en el mercado. Posteriormente se mostrarán los resultados del estudio que se realizara sobre los microorganismos ya mencionados para así poder confirmar su acción y compararla con la investigación ya realizada.

El N-alkil dimetil bencil amonio y urea es una molécula única concentrada compuesta por un principio activo en un 40% de N-alkil dimetil bencil amonio clorado y un

vehículo que contiene un 40% de urea estabilizada tipo GRAS (sigla que significa uso farmacéutico).

Este agente es un producto de muchos años de intensa investigación de trabajo de campo, el cual fue diseñado para elaborar un compuesto de alta potencia fungicida, bactericida, viricida, esporicida, y esterilizante (Dagazzi Farmaceutica)

Propiedades Generales: Las soluciones del agente son suaves y seguras para desinfectar y esterilizar en todo instrumental medico, quirúrgico, incluyendo elementos de fibra óptica, este a su vez reduce la tensión superficial, lo cual brinda una alta penetración y una excelente acción germicida desinfectando en 15mn y eliminando una gran cantidad de microorganismos patógenos que en determinados casos podrían llegar a ser fatales. (Dagazzi farmacéutica)

Actividad de Superficie: la tensión superficial y del agua se produce bastante al añadir el agente, esta propiedad inherente de una solución germicida asegura la penetración de la misma en las pequeñas grietas y por lo tanto hace posible un intimo contacto entre el germicida y los microorganismos.

La molécula del agente, de un grupo lipofilico cargado positivamente (cationico) y de un grupo hidrofílico cargado negativamente (anionico). (Dagazzi Farmacéutica)

Peso Molecular: tiene un peso molecular promedio de 380 U.M.A.

PH: esta entre la gama de 7 a 8 y trabaja dentro de un rango comprendido entre 10 y 11.

Corrosión: las soluciones diluidas y concentradas del agente no tiene efecto corrosivo sobre el acero inoxidable, metal, monel, hierro latón, aluminio, plomo y estaño, también puede inhibir la acción de ácidos y álcalis sobre estos.

Condiciones de manejo: una de las más importantes condiciones del agente es incompatibles con jabones y detergentes anillos, por lo cual no debe usarse en conjunto con: ácido nítrico, ácido bórico, cloro, yodoforo, permanganato, citrato de sodio, hipoclorito de sodio, sulfato de sodio, sulfato de zinc, cal, nitrato de plata, peróxido de zinc, agua oxigenada, fenol y ácidos orgánicos.

Lo cual quiere decir que tales sustancias deben ser enjuagadas antes de usar el agente.

Acción protectora: la urea actúa como un agente protector permitiendo que el agente trabaje en condiciones adversas, como en rangos de pH entre 3 y 11 en presencias orgánicas y aguas duras.

- **Solubilidad:** incrementa la solubilidad del producto para hacerlo 100% soluble.
- **Suavizante:** la urea forma una capa protectora que inhibe los posibles efectos irritantes.
- **Residualidad:** la capa protectora permite la liberación gradual de ingrediente activo.

Materia orgánica: Algunos amoníacos cuaternarios pierden sus propiedades frente a la presencia de materia orgánica, este agente actúa en presencia de materia orgánica destruyendo bacterias en presencia de leches, eses, sangre, etc.

Tipo de agua: el tipo de agua que se ha de utilizar juega un rol fundamental en la efectividad de la solución. El agua destilada es más efectiva para las soluciones porque garantiza la ausencia de cualquier sustancia indeseada. Se puede utilizar una concentración mayor de agente siendo más efectivo en aguas duras, este agente trabaja en agua dura hasta 550ppm de Ca Co_3 .

Efecto residual: en algunas industrias, en coacciones pueden existir algunos inconvenientes como son el no tener efecto residual. Frente a esto se aconseja enjuagar el área donde se aplicó el agente puede ser con el agua fría o caliente en una sola ocasión.

Modo de acción: cuando esta en contacto con los microorganismos causa la anulación de las cargas negativas existentes a su alrededor provocando:

- apertura incontrolada de los poros citoplasmáticos
- Pérdida de elementos esenciales. (nitrógeno y fósforo)
- ingreso de las cadenas de carbono al radical alquilo

Este agente debido a sus componentes esenciales causa la destrucción de las bacterias en un orden secuencial causando los siguientes efectos. (Dagazzi farmacéutica)

- Cargas neutralizados
- Acción tensoactiva

- Alteración de la semipermeabilidad química causando el rompimiento de los puentes de membrana
- Pérdida de nitrógeno fósforo y otras sustancias celulares
- Destrucción del núcleo.

Propiedades físicas:

- solución,
- 40% de ingrediente activo: N- alquil dimetil bencil amonio
- 60% de vehículo: Urea tipo GRAS.
- Incoloro
- Inoloro
- Sabor amargo
- No volátil
- 100% biodegradable
- Acción residual sino se enjuaga
- No inflamable
- Gravedad específica: 0.6 molecular
- Ph neutro entre 7 y 8 pero trabaja en un rango de 3 a 11. (Dagazzi farmacéutica)

Propiedades bacteriológicas:

Las bacterias tienen membranas externas no tienen núcleo se divide por fisión binaria Bacteria gram (+) estas bacterias es más sensible a desinfectantes, son más fáciles de eliminar que las gram (-), se tiñen de color violeta.

Bacterias gram (-) estas bacterias son más resistentes a desinfectantes generales porque tienen membrana doble, se tiñe de rojo.

Esporas tienen metabolismo (0), la bacteria sin alimento o agua se mantienen en esporas y son muy difíciles de eliminar. Estas pueden sobrevivir por muchos años y si reciben alimento o agua pueden volver a su estado inicial, las esporas no se pueden reproducir.

(Dagazzi Farmacéutica)

Tensión superficial: este agente reduce la tensión superficial de las soluciones en que se utiliza la cual brinda una alta penetración y una excelente acción germicida.

Puntos de Saturación: La tensión superficial aumentada pasada las 4.000ppm el exceso de agente en un exceso de iones no permite el rompimiento de puentes de hidrogeno. Por lo tanto el aumento de la tensión superficial impide que la solución pase fácilmente. (Dagazzi farmacéutica)

El agua con el agente tiene un efecto de humedecimiento mayor.

Entre más pequeño el ángulo de contacto que puede ser seco o húmedo existe mayor área de penetración permitiendo un mayor contacto con los microorganismos.

Acción tensoactiva:

Al agregar este agente el agua elimina su electronegatividad rompiendo los puentes de hidrogeno y las moléculas de agua son capaces de penetrar entre figuras más pequeñas y tener contacto con los microorganismos.

Protección ambiental:

No es carcinogeno es biodegradable en todos los sistemas de desagüe, por la baja toxicidad no se requiere ropa especial, o guantes para la persona que lo va a utilizar, tiene protección segura para los trabajadores.

Estabilidad:

Actúa en presencia de Materia orgánica y no pierde sus propiedades en presencia de oxígeno y rayos ultravioleta, cuando se aplica no se altera de ninguna forma, al esponerse al medio ambiente no se convierte en gases ni emite vapores. (Dagazzi Farmacéutica)

Las concentraciones bacteriológicas que eliminaron los microorganismos en 10 minutos;
Esta información bacteriológica, muestra la eficiencia del agente germicida.

Promedio de disoluciones letales.

Microorganismos :	Dilusión letal (20)
	100% base de actividad
Estafilococo	1/ 58000
Salmonella thyosa	1/ 54000
Salmonella pullorum	1/ 48000
Salmonella schottmulleri	1/ 42000
Aerobacter aerogenes	1/35000.
Eschericha coli	1/33000
Bacterium ammoniagenes	1/10000

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la acción del N-alkil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS sobre streptococcus pyogenes, streptococcus pneumonie y escherichia coli.

1.5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Establecer la actividad del N-alkil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS sobre cepas de streptococcus pyogenes INS 009, strptococcus pneumonie ATCC 49619 y escherichia coli ATCC 25922 a diferentes tiempos: 15 minutos, 30 minutos y 24 horas.

Establecer la actividad del N-alkil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS sobre streptococcus pyogenes INS 009, strptococcus pneumonie ATCC 49619 y escherichia coli ATCC 25922 a diferentes concentraciones : Puro, 1:50 y 1:25.

2. METODO

2.1 TIPO DE ESTUDIO

Descriptivo

2.2 OBJETO DE ESTUDIO

Solución de N-alquil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS.

2.3 POBLACION DE ESTUDIO

Una cepa de streptococcus pyogenes INS 009.

Una cepa de streptococcus pneumonie ATCC 49619

Una cepa de escherichia coli ATCC 25922

2.4. VARIABLES

- Tipo de microorganismos:

streptococcus pyogenes

streptococcus pneumonie

Escherichia coli

- Concentración

puro

1:50

1:25

- Tiempo de exposición:

15 minutos

30 minutos

24 horas

2.5 INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS

Para tal efecto se diseño una tabla denominada " Ficha Microbiología " donde se registraron los datos concernientes a las variables expuestas (anexo 1)

2.6 PROCEDIMIENTO

Para la determinación de la actividad bactericida se realizaron cultivos de los microorganismos y se expusieron a diferentes tiempos y concentraciones al agente.

El ensayo se realizo In Vitro con las siguientes cepas streptococcus pyogenes INS 009, sterptococcus pneumoniae y echericha coli ATCC 25922. Estas cepas fueron adquiridas en el Instituto Nacional de Salud con previa presentación de protocolo aprobado. Las abreviaturas anteriormente mencionadas nos indican lo siguiente:

En el laboratorio las muestras fueron trabajadas inmediatamente, siguiendo el siguiente procedimiento:

- Se prepara el inoculo en fase logarítmica a un 63% de tramitancia en caldo Tripticasa de Soya.
- Se prepararon tubos de ensayo con 9mL de N-alquil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS puro (concentración comercial del producto elevado), 1/25 y 1/50.
- Se realizaron siembras a T1=15 minutos, T2=30 minutos y T3=24 horas de exposición.
- Se realizaron siembras control de cada uno de los microorganismos de ensayo.
- Se toma 1 mL del inoculo y se agrega a cada tubo contenido 9mL de la concentración del N-alquil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS a evaluar.
- Para cada uno de los tiempos del ensayo se sembró 0.1mL del inoculo en Agar Tripticasa de Soya.
- Incubación invertida en a 35 grados centígrados por 24- 48 horas, revisando el crecimiento a las 24 horas.
- El conteo de colonias se realizo utilizando en cuenta colonias y la lectura final se realiza a las 48 horas contando las unidades formadoras de colonias presentadas en cada concentración.

El procedimiento realizado lo podemos observar en la gráfica 1 y 2.

Todo el procedimiento bacteriológico se realizo en el laboratorio comercial Ivonne Bernnier.

3. RESULTADOS

El producto evaluado N-alquil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS presento acción bactericida para streptococcus pyogenes en concentraciones Puro, 1:25 y 1:50.

El producto evaluado N-alquil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS presento acción bactericida para estreptococos pyogenes a los 15 mn, 30mn y 24 horas de exposición

El producto evaluado N-alquil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS presento acción bactericida para escherichia coli en concentraciones Puro, 1:25 y 1:50.

El producto evaluado N-alquil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS presento acción bactericida para escherichia coli a los 15 mn, 30mn y 24 horas de exposición.

La cepa de streptococcus pneumonie no tuvo viabilidad por lo cual los resultados obtenidos no pueden ser tenidos en cuenta en la valoración del N-alquil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS.

Los resultados obtenidos se pueden observar en la tabla 1

4. DISCUSION

Con el ensayo realizado no se puede llegar a concluir la efectividad del producto tan solo da una idea que tiene amplio espectro y puede ser bactericida si se utiliza puro.

El microorganismo ensayado (*streptococcus pneumoniae*), de por sí es muy susceptible a cualquier tipo de desinfectante.

En el experimento realizado cepa Vs agente químico hay un contacto íntimo entre el desinfectante y el microorganismo, contacto que no se consigue si la utilización del producto es por aspersión sobre el material quirúrgico.

Se debe tener también en cuenta que si hay presencia de materia orgánica la efectividad del agente químico se ve reducida igualmente si hay variación del PH del medio donde se ejerza la aplicación.

Los tiempos de exposición son también claves para determinar la efectividad del agente químico. Cuando se realiza la aspersión, el contacto con los microorganismos es mínimo por el cual el tiempo de exposición debe ser mayor y determinado con exactitud para garantizar si hay efectividad

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- El N-alquil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS presento acción bactericida sobre el streptococcus pyogenes y la eschericha coli. La cepa de streptococcus pneumonie no presento viabilidad por lo cual la respuesta ante el agente químico no puede ser tomada como positiva.
- El N-alquil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS presento acción bactericida en las en las siguientes concentraciones: puro es decir a la concentración comercial, 1: 50 y 1:25.
- El N-alquil dimetil bencil amonio y urea tipo GRAS presento acción bactericida en los siguientes tiempos: 15 minutos, 30 minutos y 24 horas.
- No se conoce la concentración a la que esta el producto comercial evaluado ya que la casa comercial no registra el dato.

Las investigadoras recomiendan:

- Se debe hacer evaluaciones con otros microorganismos como son el staphylococcus áureos y pseudomanas sp.
- Se debe hacer diversos ensayos que permitan tener una estadística que corrobore la efectividad del producto utilizado.
- Analizar la acción del producto con material contaminado con materia orgánica tipo sangre o diferentes fluidos corporales.

BIBLIOGRAFIA

BARBANO M . , Soule. Infecciones y practica de odontología. Eldine 1 . Gari A. Presto
Capitulo de asepsia, pag 155-167 Suecrow.Editorial Mosby /Doyma. Edición 1996.

BASUALDO, Juan Angel, Celia e., DE TORRES, Ramón Alberto. Métodos de
desinfección de esterilizacion. Microbiología Biomedica . Edit. Atlanta S.R, pag 151,171
Buenos Aires Edición 1996.

Daggazzi farmaceutica Monografia 1998.

JHON HL PLAY FAIR ,ROY M ANDERSON, JUAN M ROTT / DEREK
WAKELIN. Microbiologia Medico. CEDRIL A MILMS P.

MEDIOS DE CULTIVO ,Editorial Mosby / Doyma libros . pag 171 a 185 Edición 1995.

MARTINEZ, MARIA Mercedes. Microbiologia Metodos de Esterilizacion. Universidad
nacional Santa fe de Bogotá, pag 218-235 Edición 1998.

ANEXO 1

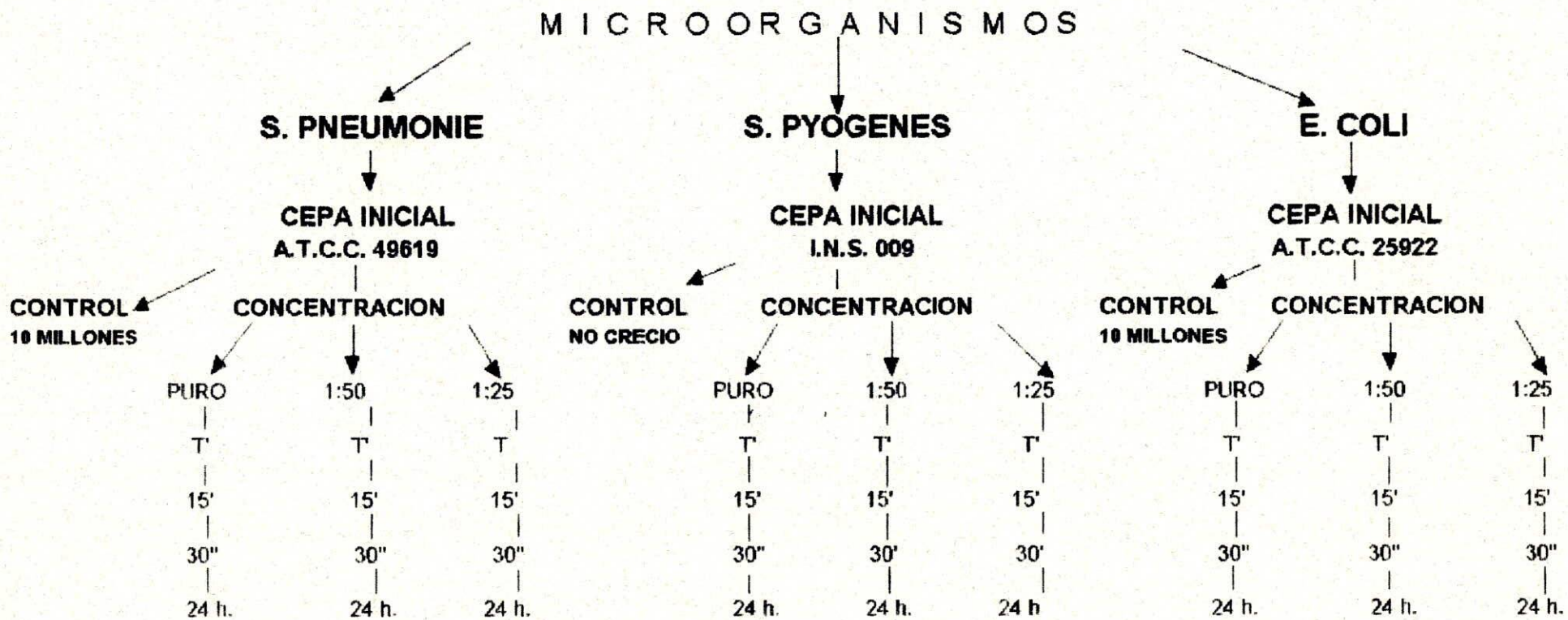
INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS

"FICHA MICROBIOLÓGICA"

TIEMPO	CONCENTRACION	MICROORGANISMOS		
		S.PNEUMONIE UFC/m L	S.PYOGENES UFC/m L	E.COLI UFC/m L

GRAFICA 2

MUESTRA ESQUEMATICA DE LA EVALUACION BACTERICIDA



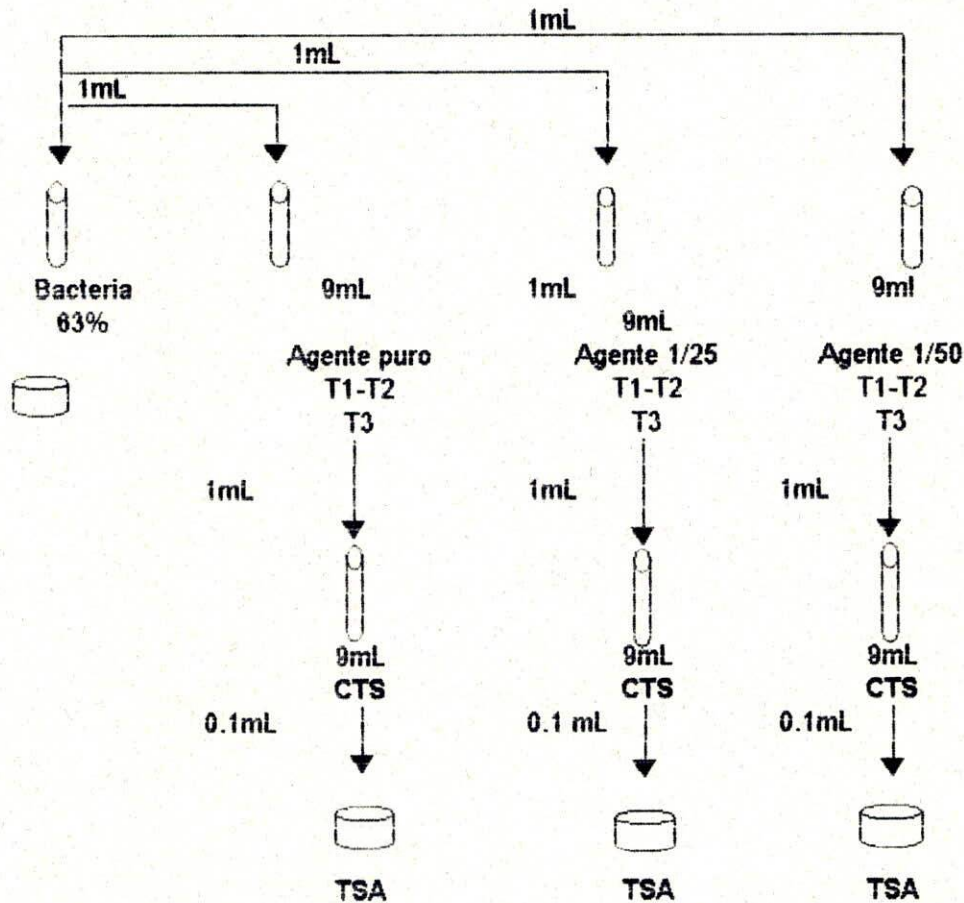
GRAFICA 1

PRUEBA PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA
DEL N- ALQUIL DIMETIL AMONIO Y UREA TIPO GRAS

MICROORGANISMOS

Streptococcus pyogenes INS 009
Streptococcus pneumoniae ATCC 49619
Escherichia coli ATCC 25922

10 Millones /mL = 63% Transmittancia



35 C 48-72 horas

TSA = Agar Tripticasa de soya
CTS = Caldo Tripticasa de soya

T1 = 15 minutos
T2 = 30 minutos
T3 = 24 horas

TABLA 1

TABLA DE RESULTADOS

EVALUACION BACTERICIDA DEL N-AIQUIL DIMETIL BENCIL AMONIO Y UREA TIPO GRAS SEGÚN TIEMPO Y CONCENTRACION

TIEMPO	CONCENTRACION	MICROORGANISMOS		
		S.PNEUMONIE UFC/m L	S.PYOGENES UFC/m L	E.COLI UFC/m L
Control	Timsen puro		10 Millones	10 Millones
15 minutos		Cepa no	<10	<10
30 minutos		Viable	<10	<10
24 horas			<10	<10
control	Timsen 1/25		10 Millones	10 Millones
15 minutos		Cepa no	<10	<10
30 minutos		Viable	<10	<10
24 horas			<10	<10
control	Timsen 1/50		10 Millones	10 Millones
15 minutos		Cepa no	<10	1.500
30 minutos		Viable	<10	10
24 horas			<10	<10