



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN Y VALIDACIÓN DE UN AMONIO CUATERNARIO
DE QUINTA GENERACIÓN Y UN COMPUESTO YODADO EN LA
DESINFECCIÓN DE LAS ÁREAS DE PRODUCCIÓN DE QUESO Y
YOGURT EN LA EMPRESA PRASOL LÁCTEOS SANTILLÁN”**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR: MYRIAM JANNETH MORALES FLORES

TUTOR: DRA. ANA ALBUJA

Riobamba – Ecuador

2015

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal del trabajo de titulación certifica que: El trabajo de investigación: **EVALUACIÓN Y VALIDACIÓN DE UN AMONIO CUATERNARIO DE QUINTA GENERACIÓN Y UN COMPUESTO YODADO EN LA DESINFECCIÓN DE LAS ÁREAS DE PRODUCCIÓN DE QUESO Y YOGURT EN LA EMPRESA PRASOL LÁCTEOS SANTILLÁN**” de responsabilidad de la señorita Myriam Janneth Morales Flores, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. Ana Albuja

DIRECTOR DE TESIS

.....

.....

Dr. Félix Andueza

MIEMBRO DE TRIBUNAL

.....

.....

Dr. Carlos Pilamunga

MIEMBRO DE TRIBUNAL

.....

.....

DOCUMENTALISTA

SISBIB ESPOCH

.....

.....

NOTA DEL TRABAJO ESCRITO

Yo, Myriam Janneth Morales Flores, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos de este trabajo de titulación y el patrimonio intelectual pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

MYRIAM JANNETH MORALES FLORES

DEDICATORIA

A Dios, por iluminarme y darme fortaleza para culminar cada meta que me he planteado, por haberme dado la oportunidad de conocer grandes personas que me han dejado enseñanzas inolvidables tanto en lo académico como en lo personal.

A mis padres por estar siempre incondicionales junto a mí, por brindarme apoyo, amor, por ser mi inspiración día a día y sobre todo por ser el motivo de quererme superar en cada aspecto de mi vida para nunca decepcionarlos.

A mis hermanos por ser ejemplos a seguir, por brindarme sus consejos y cariño.

Myriam

AGRADECIMIENTO

A Dios por haberme permitido conocer personas con gran sabiduría y experiencia que me aportaron con sus conocimientos y fueron una guía a lo largo de este trayecto.

A mis padres, hermanos y sobrino por su apoyo incondicional, por siempre encontrarse ahí con sus sonrisas, su cariño y sus consejos cuando lo he necesitado.

Al Dr. Felix Andueza por su guía y excelente asesoramiento en el desarrollo de mi trabajo de titulación.

A la Dra. Ana Albuja por su paciencia y oportunos consejos para la culminación del trabajo investigativo.

A la empresa de Lácteos Santillán Prasol por la apertura y apoyo en la realización del presente trabajo, un especial agradecimiento a la Tlga. Mery Oleas y al Ing. Oscar Torres quienes compartieron de cerca el desarrollo del presente trabajo, aportando con sus conocimientos y experiencias, a ellos gracias.

Myriam

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
RESUMEN	xv
SUMARY	xvi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	
1. MARCO TEÓRICO	3
1.1. Marco Filosófico o epistemológico de la investigación	3
1.1.1. <i>Validación</i>	3
1.1.2. <i>Verificación</i>	3
1.1.3. <i>Desinfectante</i>	3
1.1.4. <i>Sanitización</i>	3
1.1.5. <i>Método Cualitativo</i>	4
1.1.6. <i>Método Normalizado</i>	4
1.1.7. <i>Bacteriostático</i>	4
1.1.8. <i>Bactericida</i>	4
1.2. Antecedentes de investigación	4
1.3. Bases Teóricas	6
1.3.1. <i>Globalización y normas de calidad</i>	6
1.3.1.1. <i>Buenas Prácticas de Manufactura</i>	6
1.3.2. <i>Limpieza y desinfección en la industria alimentaria</i>	7
1.3.2.1. <i>Importancia de la sanitización en la industria</i>	8
1.3.2.2. <i>Tipos de suciedad</i>	9
1.3.2.3. <i>Biofilms o Biopelículas</i>	10

1.3.2.3.1.	<i>Estrategias para evitar la presencia de Biofilms</i>	11
1.3.2.4.	<i>Tipos de limpieza</i>	11
1.3.2.5.	<i>Métodos de limpieza</i>	12
1.3.2.6.	<i>Métodos para desinfectar los equipos y utensilios</i>	13
1.3.3.	<i>Programa de limpieza y desinfección</i>	14
1.3.3.1.	<i>Componentes del programa de limpieza y desinfección</i>	15
1.3.3.2.	<i>Pasos a seguir en la sanitización en industrias de alimentos</i>	16
1.3.4.	<i>Agentes de limpieza</i>	18
1.3.4.1.	<i>Componentes de productos de limpieza</i>	18
1.3.4.2.	<i>Desinfectantes</i>	19
1.3.4.3.1.	<i>Características de un desinfectante ideal</i>	21
1.3.4.3.2.	<i>Mecanismo de acción de desinfectantes</i>	22
1.3.4.3.3.	<i>Clasificación de los desinfectantes</i>	23
1.3.4.3.3.1.	<i>Clasificación de los Amonios desinfectantes de Cuaternario</i>	24
1.3.4.3.3.2.	<i>Mecanismo de acción de los desinfectantes de Amonio cuaternario</i>	25
1.3.4.3.3.3.	<i>Mecanismo de acción desinfectantes yodados</i>	26
1.3.5.	<i>Mecanismos de resistencia de los microorganismos a los desinfectantes</i>	27
1.3.5.1.	<i>Resistencia intrínseca</i>	29
1.3.5.2.	<i>Resistencia por mutación</i>	30
1.3.6.	<i>Validación</i>	31
1.3.6.1.	<i>Tipos de validación</i>	31
1.3.6.2.	<i>Las validaciones microbiológica</i>	32
1.3.7.	<i>Métodos para evaluar los desinfectantes</i>	32
1.3.8.	<i>Métodos de muestreo</i>	35
1.3.9.	<i>Descripción de los microorganismos en estudio</i>	35

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	36
2.1.	Diseño de investigación	36
2.2.	Tipo de investigación	36
2.3.	Población y muestra	37
2.4.	Inspección Global	37
2.4.1.	<i>Datos de la empresa</i>	37
2.4.2.	<i>Materiales de las superficie</i>	38
2.4.3.	<i>Equipos que disponen</i>	38
2.5.	Datos de los desinfectantes	39
2.6.	Método del coeficiente fenólico	40
2.7.	Difusión en placa	42
2.8.	Muestreo in situ	43
2.9.	Análisis microbiológico por Compact Dry <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	44
2.9.	Análisis microbiológico por Petrifilm para <i>Listeria</i>	45

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	46
3.1.	Coeficiente fenólico con respecto a <i>Staphylococcus aureus</i>	46
3.2.	Coeficiente fenólico con respecto a <i>Escherichia coli</i>	48
3.3.	Coeficiente fenólico con respecto a <i>Listeria monocytogenes</i>	49
3.4.	Difusión en placa con respecto al fenol	51
3.5.	Difusión en placa con respecto al amonio cuaternario de quinta generación “Pentaquat”	52
3.6.	Difusión en placa con respecto al desinfectante a base de yodo	53

3.7.	Muestreo in situ (instalaciones de la planta)	53
	CONCLUSIONES	60
	RECOMENDACIONES	61
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1-1: Clasificación de la suciedad según su origen.....	9
Tabla 2-1: Espectro de Acción de los desinfectantes, Antagonismo y Sinergismos.....	27
Tabla 3-1: Resumen de los mecanismos de acción antibacteriana de antisépticos y desinfectantes.....	28
Tabla 4-1: Mecanismo de Resistencia natural o intrínseca de los microorganismos a los desinfectantes.....	29
Tabla 5-1: Métodos de muestreo de superficies.....	34
Tabla 1-2: Equipos en área de producción de Queso Lácteos Santillán Prasol.....	38
Tabla 2-2: Equipos en área de producción de producción de Yogurt Lácteos Santillán Prasol.....	39
Tabla 3-2: Datos de los desinfectantes utilizados en la investigación.....	39
Tabla 4-2: Comportamiento de <i>Staphylococcus aureus</i> con respecto al fenol.....	41
Tabla 5-2: Comportamiento de <i>Escherichia coli</i> con respecto al fenol.....	41
Tabla 6-2: Diluciones de los desinfectantes utilizadas para el estudio.....	42
Tabla 1-3: Comportamiento de <i>Staphylococcus aureus</i> cepa 6538 con respecto al fenol.....	46
Tabla 2-3: Comportamiento de <i>Staphylococcus aureus</i> cepa 6538 con respecto compuesto yodóforo yodóforo “Chemlok I-1.75”.....	46
Tabla 3-3: Comportamiento de <i>Staphylococcus aureus</i> cepa 6538 con respecto al amonio cuaternario de quinta generación “Pentaquat”.....	47
Tabla 4-3: Comportamiento de <i>Escherichia coli</i> cepa 10536 con respecto al fenol.....	48
Tabla 5-3: Comportamiento de <i>Escherichia coli</i> cepa 10536 con respecto compuesto yodóforo.....	48
Tabla 6-3: Comportamiento de <i>Escherichia coli</i> cepa 10536 con respecto al amonio cuaternario de quinta generación “Pentaquat”.....	49
Tabla 7-3: Comportamiento de <i>Listeria</i> 19115 con respecto al fenol.....	49
Tabla 8-3: Comportamiento de <i>Listeria</i> 19115 con respecto compuesto yodóforo.....	49
Tabla 9-3: Comportamiento de <i>Listeria</i> 19115 con respecto al amonio cuaternario de quinta generación “Penataquat”.....	50

Tabla 10-3:	Resultados de difusión en placa para los tres microorganismos con diferentes concentraciones de fenol.....	51
Tabla 11-3:	Resultados de difusión en placa por microorganismo y concentración de Amonio cuaternario de quinta generación.....	52
Tabla 12-3:	Resultados de difusión en placa por microorganismos a diferentes concentraciones del desinfectante a base de yodo.....	53
Tabla 13-3:	Resultados de la validación microbiológica realizada in situ en las áreas de producción queso y yogurt por tres días consecutivos utilizando como desinfectante “Chemlok I 1.75” a 62 ppm.....	54
Tabla 14-3:	Resultados de la validación microbiológica realizada in situ en las áreas de yogurth y queso por tres días consecutivos utilizando como desinfectante un amonio cuaternario de quinta generación “Pentaquat” a 175 ppm.....	56

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1-1: Estructura química amonio cuaternario.....	25
Figura 1-2: Pasos a seguir en el proceso de validación.....	36
Figura 2-2: Ilustración gráfica de la elaboración de pocillos sobre agar sólido.....	42
Figura 3-2: Siembra en placas Compact Dry.....	44
Figura 4-2: Siembra en placas Petrifim.....	45

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Páginas
Gráfico 1-3: Resultados validación microbiológica realizada <i>in situ</i> con “Chemlok I-1.75” a 62 ppm.....	56
Gráfico 2-3: Resultados validación microbiológica in situ utilizando como desinfectante un amonio cuaternario de quinta generación a 175 ppm.....	58

INDICE DE ANEXOS

- Anexo A:** Ficha técnica del desinfectante Chemlok I-1.75
- Anexo B:** Ficha técnica del desinfectante Pentaquat
- Anexo C:** Coeficiente fenólico utilizando *Staphylococcus aureus*
- Anexo D:** Coeficiente fenólico utilizando *Escherichia coli*
- Anexo E:** Coeficiente fenólico utilizando *Listeria monocytogenes*.
- Anexo F:** Difusión en placa con fenol.
- Anexo G:** Difusión en placa con un amonio cuaternario de quinta generación a diferentes concentraciones.
- Anexo H:** Difusión en placa con compuesto yodado a diferentes concentraciones.
- Anexo I:** Inhibición microbiana de la concentración utilizada para los análisis “*in situ*”
- Anexo J:** Fotografías de los resultados microbiológicos *in situ* utilizando el desinfectante yodado.
- Anexo K:** Fotografías de los resultados microbiológicos *in situ* utilizando el desinfectante amonio cuaternario de quinta generación “Penatquat”.
- Anexo L:** Evidencia documentada validación desinfectante Chemlok I-1.75
- Anexo M:** Evidencia documentada validación desinfectante Pentaquat

RESUMEN

Este trabajo tuvo como principal objetivo el evaluar y validar un desinfectante de amonio cuaternario de quinta generación “Pentaquat” y un compuesto yodado “Chemlok I-1.75”, desinfectantes que serán empleados en los procesos de desinfección en las áreas de producción de queso y yogurt como una posible alternativa en caso de que se dé una resistencia a los químicos que se han venido utilizando normalmente en la Empresa de Lácteos Santillán “Prasol”. El coeficiente fenólico (CF) es una técnica oficial de validación para desinfectantes, compara la eficacia bactericida de un desinfectante con relación al fenol, se utilizó como cepas control a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*, realizando diluciones de los desinfectantes e inoculando en tres tiempos 5,10 y 15 minutos. Se seleccionó la mayor concentración que elimina los microorganismos en 10 pero no en 5 minutos sobre los mismos resultados del fenol concluyendo que por su $CF > 1$ cumplen eficazmente con su actividad germicida. La técnica de difusión en placa permitió conocer el poder bactericida de los desinfectantes analizados a distintas concentraciones representado a través de halos de inhibición, formados alrededor de discos de papel filtro impregnados con las concentraciones del desinfectante en un agar que posee una suspensión activa de microorganismos patógenos (0.5 Mc Farland). Mediante análisis de los resultados obtenidos se consideró para “Pentaquat” una concentración de 175 ppm y para “Chemlok I-1.75” 62 ppm como concentraciones ideales capaces de eliminar las cepas bacterianas estudiadas mostrando una alta eficacia. Por último, se empleó la verificación in situ mediante un muestreo microbiológico de las superficies desinfectadas por tres días consecutivos para cada desinfectante, a la concentración idónea encontrada, se analizó los tres tipos de microorganismos antes mencionados con placas colorimétricas deshidratadas y específicas listas para la siembra como fueron Petrifilm y Compact Dry en las cuales no se observó crecimiento, por lo tanto consideramos el 100 % de eliminación, concluyendo así que a las concentraciones validadas los desinfectantes cumplen sin ningún problema con su acción germicida pudiendo ser utilizados sin ningún problema en las instalaciones de la empresa.

Palabras Claves: <VALIDACIÓN>, <VERIFICACIÓN>, <DESINFECTANTES>, <COEFICIENTE FENÓLICO>, <BACTERICIDA>, <GERMICIDA>, <SANITIZACIÓN>.

SUMMARY

This research had as main objective to evaluate and validate a Quaternary Ammonium disinfectant of fifth generation "Pentaquat" and an iodined compound "Chemlok I-1.75", disinfectant that will be employed in the sanitization processes inside the areas of production of cheese and yoghurt as a possible alternative in case of a chemical resistance takes place, which have been normally used in the Dairy product Factory Santillan "Prasol". The phenolic coefficient (PC) is an official technique for disinfectants that compares the bactericide efficacy of the same in relation to the phenol, control strains such as: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*, which were used by making dilutions of the disinfectants and inoculating in three times: 5, 10 and 15 minutes. The bigger concentration was selected, which eliminates in 10 but not in 5 minutes, the microorganism about the same results of phenol; concluding that for its $PC > 1$ accomplishes effectively with its germicide activity. The diffusion technique in laboratory dish permitted to know the bactericide power of the analyzed disinfectant to distinct concentrations representing through the aura inhibitors, formed around de filter paper disc impregnated with the disinfectant concentrations in an agar that owns an active suspension of pathogen microorganisms (0.5 McFarland). By means of an analysis of the obtained results, it was considered to "Pentaquat" a concentration of 175 ppm and for "Chemlok I-1.75" 62 ppm as ideal concentrations able to eliminate the studied strains of bacteria, showing a high efficacy. Finally, the verification *in situ* was applied by using microbiological sampling of the cleaned surfaces for three consecutive days per each cleaning product, to the found suitable concentration, was analyzed the three types of microorganisms mentioned before with dehydrated colorimetric laboratory dishes and specific lists for the sowing as they were Petrifilm and Compact Dry in which no growth was observed, in consequence in considered the 100% of elimination, concluding on this way to the validated concentrations of the disinfectants accomplish with their germicide action being able to be used with no problems within the installations of the factory.

Key words: <VALIDATION>, <VERIFICATION>, <DISINFECTANTS> <PHENOLIC COEFFICIENT>, <BACTERICIDE>, <GERMICIDE>, <SANITIZATION>.

INTRODUCCIÓN

En la industria alimentaria la preparación de los alimentos conlleva seguir un proceso de elaboración rigurosamente estricto, el mismo que se debe encontrar libre de todo tipo de contaminación física, química y microbiana es por eso que las empresas destinadas a estas actividades optan por la implementación de sistemas que ayuden a promover la inocuidad y seguridad alimentaria. (Crespo, 2009, pp 17-18).

Con el aumento masivo de la población vino la demanda de los recursos, eso provocó que se deban tomar precauciones para evitar la proliferación de microorganismo tanto en agua como en alimentos.

La presencia de microorganismos se considera uno de los mayores problemas que tiene que enfrentar toda industria y más aún la de alimentos por esta razón la importancia de adoptar métodos y ensayos de eliminación y prevención de la contaminación, teniendo como único objetivo la calidad del producto para garantizar la salud de quien lo consuma.

Estas verificaciones van a promover la disminución en el porcentaje de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAS) permitiendo la producción de alimentos inocuos, libres de patógenos que afecten a la salud y bienestar humano, las empresas asegurarán un mayor porcentaje de rentabilidad al ofrecer productos de calidad creando posibilidades de expandir el mercado de sus productos.

La limpieza y desinfección es por tal un proceso clave que se debe tomar en cuenta en toda empresa, sistematizándolo y adecuándolo a las necesidades específicas de la industria, el validar un desinfectante es verificar su acción frente a los microorganismos, es comprobar su efectividad para mantener un ambiente libre de patógenos siendo clave para la confiabilidad de los mismos, las empresas asegurarán un mayor porcentaje de rentabilidad al ofrecer productos de calidad creando posibilidades de expandir el mercado de sus productos. (Acosta, I; Valley, M, 2011)

La validación de desinfectantes va a permitir identificar el poder de eliminación de los microorganismo, va a proporcionar un mayor nivel de confianza y saber que si el mismo está cumpliendo con su objetivo es decir si ésta siendo efectivo a un tiempo y concentración dado por el proveedor.

Mediante este estudio se va a permitir sustentar un sistema de calidad a través de la provisión de equipos, materiales, utensilios limpios y desinfectados, además de una clara documentación como registros de interés para la industria.

Considerando la importancia de los productos de limpieza dentro de la industria alimentaria, este trabajo tuvo como principal interés el evaluar o verificar la efectividad de nuevos desinfectantes empleados en los distintos procesos de limpieza y desinfección del lugar, equipos y utensilios de trabajo utilizados para la producción de queso y yogurt como una posible alternativa en caso de que se dé una resistencia a los desinfectantes que se han venido utilizando normalmente en la empresa de lácteos Santillán “Prasol”, la validación se realizó en base a la actividad biocida de un desinfectante de amonio cuaternario de quinta generación y un desinfectante a base de yodo, a través de las técnicas del coeficiente fenólico, difusión en placa y verificaciones microbiológicas en las áreas de producción señaladas en la propia planta.

Además la necesidad de presentar una evidencia documentada que le proporcionará a la empresa confianza al momento de implementar los desinfectantes en sus instalaciones y mayor seguridad dentro de su documentación al momento de presentar una auditoria BPM.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Marco filosófico o epistemológico de la investigación

1.1.1. *Validación*

“Hacer válido, procedimientos de verificación donde los requisitos especificaos son adecuados para su uso previsto.” (JCGM, 2008)

1.1.2. *Verificación*

“Suministro de prueba(s) objetiva(s) de que un elemento dado satisface el (los) requisito(s) especificado(s)”. (JCGM, 2008) Es la comprobación que se realiza de manera experimental para un método establecido y conocer si funciona de acuerdo con las especificaciones, bajo condiciones establecidas. (ISPCH, 2010)

1.1.3. *Desinfectante*

Es un agente químico que permite la eliminación o inactivación de microorganismos tales como bacterias, virus y protozoos. (OMS. 2004)

1.1.4. *Sanitización*

Es la reducción de microorganismo a un mínimo, comprendiendo dos procesos: limpieza más desinfección. (Taboada et al, 2007)

1.1.5. Método Cualitativo

Es un método investigativo que utiliza palabras (presencia o ausencia) más que estadísticas (números). (JCGM, 2008)

1.1.6. Método Normalizado

Es el método específico para el ensayo que es publicado por organismos que normalizan ya sea internacional, nacional o regionalmente por ejemplo: ISO, EN, NM, ASTM, BS, DIN, IRAM, etc. o pueden ser organizaciones reconocidas en diferentes ámbitos por ejemplo: la AOAC (Official Methods of Analysis), la EPA (Environmental Protection agency), USP (Farmacopea Oficial de los Estados Unidos), etc. (ISPCH, 2010)

1.1.7. Bacteriostático

Inhibe el crecimiento microbiano sin embargo el microorganismo aún es viable. (Mirevista médica, 2015)

1.1.8. Bactericida

Produce la muerte del microorganismo. (Mirevista médica, 2015)

1.2. Antecedentes de la investigación

Se han encontrado un sin número de publicaciones sobre la calidad microbiana en alimentos y trabajos sobre implementación de sistemas que garantizan inocuidad en alimentos asociados a la limpieza y desinfección de las industrias.

Internacionalmente instituciones como la OMS (organización mundial de la salud), OPS (Organización Panamericana de la Salud), USAID (Agencia de Estados Unidos para el Desarrollo Internacional) publican trabajos que sirven de guía para una adecuada inocuidad alimentaria incluyen, publicaciones como Validación del proceso de desinfección que muestran como se debe seguir este proceso comprendiendo la puesta en marcha, la verificación o monitoreo del proceso y las cualidades técnicas. (Acosta, I; Valley, M, 2011)

En Barcelona en el 2006 se presentó un trabajo que brinda aportaciones al estudio de la actividad antimicrobiana de los antisépticos y desinfectantes que van a permitir la selección de productos biocidas más eficaces. (Hernández, 2006, pp 64-72)

En países sudamericanos como Chile se ha realizado la investigación *in vitro* de productos desinfectantes en la industria de alimentos donde detalla el uso de los productos más usados como el cloro, yodo, amonios cuaternarios así como sus respectivos derivados, sin embargo, se hace énfasis en productos alternativos como del extracto de toronja, ácido paracético, ácido láctico, etc. Se verifica la efectividad *in vitro* frente a determinadas sepas con los tiempos dados por el fabricante y otros tiempos adicionales, además juegan con las concentraciones para monitorear su efectividad. (López; 2012)

Se han encontrado varias tesis de la universidad de Javeriana en Bogotá donde dan una gran importancia en el tema de validaciones, Torres en el año 2008 habla sobre la evaluación de los desinfectantes utilizados en el proceso de limpieza y desinfección en una empresa de productos fitoterapéuticos como tesis de Microbióloga Industrial donde se permite evaluar los desinfectantes por técnica fenólica a diferentes concentraciones y tiempos, evaluando la carga microbiana presente en cada una de las áreas y equipos de fabricación por medio de las técnicas de sedimentación e hisopado y realiza un análisis microbiano del aire. (Torres, 2008, pp 17-28)

En Cartagena se realiza un trabajo sobre las principales fuentes de contaminación de los alimentos envasados listos para su consumo, aislando diferentes microorganismos de biofilms en superficies de equipos, y estudiando desinfectantes comerciales utilizados en diversas industrias alimentarias como quacide p40, dectocide yo2, dexacide b10, divosanactiv, quacide mc7, limoseat, aseps 150 y destocide. (Taboada et al, 2007)

En nuestro país de igual manera hay varios estudios de universidades que nos brindan grandes conocimientos sobre cuán vital está siendo los diferentes procesos o métodos de desinfección aplicados en las industrias como es el caso estudiado en la universidad del Litoral en Guayaquil que realiza la evaluación de un sistema propuesto de limpieza en frío, seleccionando detergentes y sanitizantes disminuyendo los costos en una empresa. (Crespo, 2009, pp 17-18).

En nuestra Universidad se ha realizado estudios sobre implementación de un sistema de limpieza y desinfección en los criaderos de mantenimiento y maternidad del bioterio de la Facultad de

Ciencias, existen trabajos que han comparado desinfectantes industriales frente a nuevos elaborados en base a extractos de plantas y demostrando igualmente su efectividad. (Chacha, 2014, pp 22-29)

Como se puede observar el estudio y análisis de validaciones tanto de desinfectantes como de métodos de limpieza es la base que toda empresa destinada al área de alimentos necesita para ofrecer un producto que evite las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAS) que garantice calidad y seguridad en la salud de las personas.

1.3. Bases teóricas

1.3.1. *Globalización y Normas de Calidad*

Uno de los más grandes desafíos a nivel mundial es la producción de alimentos inocuos por lo cual se ha visto la necesidad de adoptar normas de calidad que garanticen parámetros de calidad alimentaria sean nacionales o internacionales. (Mahmud, 2007, pp 13-19).

Las ISO desarrolla diversas normas, una de las más importantes es la publicada en 2005 sobre gestión de seguridad alimentaria suministrando además metodologías para implementar APPC.

Éstas normativas facilitan al sector las acreditaciones y base para que cada establecimiento pueda elaborar su propio instructivo adecuando a sus necesidades.

La aparición de las BPM o buenas prácticas de manufactura a través de la introducción de procedimientos sanitizados y acciones preventivas y correctivas, capacitación al personal, y gestión empresarial logran alimentos seguros garantizando un lugar competitivo, seguro dentro del mercado. (Mahmud, 2007).

1.3.1.1. *Buenas Prácticas de Manufactura*

Con el fin de evitar cualquier tipo de riesgo se han optado por la implementación de las Buenas Prácticas de Manufactura garantizando inocuidad en la cadena alimentaria.

Las BPM clasifican todos los criterios higiénicos así:

- Instalaciones
- Equipos y utensilios
- Personal
- Procesos
- Saneamiento de instalaciones y equipos
- Condiciones de almacenamiento, distribución, transporte y comercialización. (Presidencia Gustavo Noboa, decreto 3253, 2002)

1.3.2. Limpieza y desinfección en la industria alimentaria

La sanitización es un proceso que engloba dos conceptos, primeramente la limpieza que es la eliminación de la suciedad visible y su propósito es disminuir los microorganismos y la desinfección que por ayuda de agentes o sustancias va a permitir la eliminación de los microorganismos. En la industria la limpieza y desinfección comprenden dos procesos clave para garantizar inocuidad del proceso siendo así que su objetivo primordial es el eliminar o disminuir la carga microbiana que se localice en equipos, superficies y en las distintas áreas de producción. (Torres, 2008, pp 17-28)

Esta eliminación microbiana viene dada por factores como: las superficies las cuales están directamente relacionadas con el alimento o producto que se procesa y además la eliminación por acción mecánica de restos que queden en los equipos de trabajo. (Torres, 2008, p 17)

En toda empresa de alimentos se deberá establecer un sistema de sanitización (limpieza y desinfección) que deberá ser programado y aplicado de acuerdo a un cronograma que incluya todas las áreas, equipos y materiales teniendo en cuenta el identificar los materiales más críticos para prestarlos una mayor atención y evitar problemas futuros de contaminación. (Latorre, 2013)

El establecer programas de limpieza es de vital importancia en una industria el cual deberá constar la frecuencia, procedimientos, los productos que se utilizarán y el personal a cargo ó responsable de la limpieza. (Latorre, 2013)

Para lograr una sanitización adecuada es necesario conocer todos los aspectos de la empresa, realizar un análisis e identificar las posibles causas de contaminación para de ésta manera poder establecer las medidas correctivas o preventivas así como un adecuado sistema de control dentro de

la institución, entre las principales fuentes de contaminación podemos encontrar principalmente; al personal, aire, agua y elementos utilizados en los propios procesos. (Torres, 2008)

Toda empresa alimentaria tiene la obligación de establecer dichos controles estableciendo que:

- Toda área de trabajo debe estar limpia a la hora de comenzar las labores.
- Todos los utensilios y equipos deben ser utilizados para las actividades designadas y lugares asignados para evitar la contaminación cruzada.
- Que todo producto alimentario no esté susceptible a contaminación durante el tiempo de limpieza.
- Que todas sustancias (detergentes y desinfectantes) no se constituyan en un peligro químico para los alimentos.
- El personal debe conocer sus funciones y como realizarlas. (Fuentes, 2014)

Actualmente existe un sin número de productos tóxicos para eliminar los microorganismos sin embargo la industria alimentaria busca que éstos no se constituyan un peligro para la salud del hombre pero que a su vez su efectividad de remoción de microorganismos sea la necesaria. (Torres, 2008, pp 17-28).

1.3.2.1. *Importancia de la sanitización en la industria*

Es un eje importante para toda industria que desea garantizar inocuidad en sus productos ya que minimiza los posibles riesgos de contaminación durante la etapa de producción, de igual manera por el cuidado que se proporciona permite aumentar la vida útil de los equipos.

Al tener todas las instalaciones debidamente sanitizadas se reduce la infestación de posibles plagas y mejora la imagen de la industria alimentaria aumentando de ésta manera la confianza de los consumidores. (Betelgeux video, 2012)

Desafortunadamente se tiende a menospreciar la importancia de las operaciones higiénicas del sistema de producción lo que a largo plazo puede acarrear altos costos debido a los reclamos y rechazo de varios productos del mercado hacia la empresa, por lo tanto toda industria debe tener un sistema integrado por personal que se encuentre en continúa capacitación y por supuesto debe existir un supervisor con un alto grado de responsabilidad que tenga conocimientos sobre inocuidad

alimentaria y sobre el manejo y uso de productos químicos ya que hay que tomar en cuenta que dependiendo de la suciedad se implementa los químicos en la limpieza por ejemplo:

Las suciedades o restos de grasas y aceites van a requerir productos que contengan hidróxidos y suciedades con alto porcentaje en minerales requiere el uso de productos ácidos, además hay que tener en cuenta la calidad del agua, los procesos industriales y por supuesto los materiales de construcción de los equipos.

Las suciedades que con alto porcentaje en proteínas pueden permitir la formación de los llamados biofilms, aquí las bacterias se incrustaran junto con las proteínas formando capas delgadas siendo la suciedad más peligrosa por ser difícil de detectar.

De aquí la importancia del uso de desinfectantes de alto espectro de acción considerando principalmente amonios cuaternarios, soluciones yodadas o que contengan cloro que poseen un bajo grado de toxicidad y controlan bacterias, hongos, levaduras, protozoos y algas. (Betancourth, 2004, pp 34-39)

1.3.2.2. Tipos de suciedad

Suciedad son todos aquellos residuos que persisten en equipos, utensilios y se trata de restos de alimentos o de sus componentes. (Elika, 2003)

Debemos conocer la composición de los residuos para según eso conocer el tipo de suciedad que puede producir, en la tabla 1-1 presentamos la clasificación de la suciedad teniendo en cuenta el origen en cuanto a los componentes de los alimentos:

Tabla 1-1: Clasificación de la suciedad según su origen.

ORIGEN	SUCIEDAD	COMPONENTES FÍSICO-QUÍMICOS
Vegetales Crudos	Tejidos vegetales Harina Gelificantes Azúcar Aceites vegetales Tierra.	Celulosa Almidón – Poteasa Polisacáridos – Proteina Glúcidos solubles Lípidos
Productos cárnicos y de la pesca	Sangre músculo Grasa Gelatina Minerales	Proteínas Lípidos Colágeno – Poteínas Glúcidos Solubles Lípidos
Poductos Lácticos	Leche, suero, cuajada Nata, materia grasa	Proteínas Lípidos

	Piedra de la leche	Lactosa, proteínas, lípidos, minerales
Ovoproductos	Clara	Proteínas
	Vinos – cerveza Aguas	Azúcares, taninos, fermentos Minerales
Utensilios	Desechos Metales pesados Corrosión - oxidación	Materiales de naturaleza diversa Óxidos minerales Incrustaciones
Polvos	Varios	Minerales y orgánicos

Fuente: Universidad Politécnica de Madrid (<http://ocw.upm.es>)

Considerando el estado de suciedad:

- **La Suciedad libre:** Son los residuos no fijados en las superficies y son fáciles de eliminar.
- **La suciedad adherente:** Son los residuos que se fijan necesitando de la acción mecánica o agentes químicos para desprenderlos completamente.
- **La suciedad incrustada:** Es la suciedad que se impregna en los relieves de la superficie y son difíciles de eliminar. (Elika, 2003)

1.3.2.3. *Biofilms o biopelículas*

Los microorganismos por sí solos no son capaces de producir importantes daños pero éstos al lograr grandes agrupaciones con ellos mismos y con otros materiales o sustancias forman lo que se conoce con el nombre de biopelículas que no es sino una estrategia para sobrevivir.

Las biopelículas son agrupaciones o conjuntos de microorganismos que estarán adheridos sobre superficies, estas agrupaciones al producir una matriz de exopolímeros (polímeros extracelulares) producen resistencias. (Betancourth, 2004, pp 34-39)

Están conformadas por polisacáridos, proteínas y ADN, lo que permitirá su supervivencia ya que poseen protección del entorno y sobretodo constituyéndose en un problema por interferir en la acción de los agentes químicos y desinfectantes.

Se pueden formar en diferentes superficies, en el interior de equipos y tuberías, sistemas CIP (cleaning in place) donde los microorganismos encuentren condiciones óptimas para su crecimiento considerando además los pisos, los desagües, mangueras, incluso se han llegado a formar biopelículas en las evaporadores.

Hay factores que atribuyen la formación de éstas películas, destacando la humedad, la temperatura, tiempo y nutrientes acumulados como grasa, proteínas, carbohidratos, etc. Estos problemas se presentan por malas prácticas de sanitización o por un inapropiado diseño de equipos e instalaciones.

Las principales bacterias patógenas productores de biofilms son: *Salmonella entérica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* y *Bacillus cereus*, entre las principales sin embargo se conoce que cualquier bacteria sea patógena o no tiene la capacidad de producir biopelículas. (Betancourth, 2004, pp 34-39)

1.3.2.3.1. Estrategias para evitar la presencia de biofilms.

Toda empresa debe evitar la acumulación de las biocapas ya que constituyen verdaderos y peligrosos focos de contaminación que pueden ser recurrente en los productos, para evitar estos problemas las empresas optan por:

- Realizan un estudio sobre las instalaciones y equipos dependiendo del producto a elaborar para evitar la existencia de zonas que favorezcan depósitos de materia orgánica y que dificulten los procesos de sanitización. (Fuentes, 2012)
- Implementan sistemas para evitar la contaminación cruzada y otros parámetros como Buenas Prácticas de Higiene (BPH).
- Proporcionan una capacitación continua a los manipuladores y encargados de la limpieza.
- Efectúan métodos abrasivos y agua caliente para remover la matriz de exopolisacáridos del biofilm, uso de detergentes enzimáticos que degradarán la capa de biofilm permitiendo que posteriores desinfectantes cumplan su función.
- Implementan métodos de detección de biopelículas como bioluminiscencia. (Fuentes, 2012)

Además estudios in vivo sobre materiales como acero inoxidable han demostrado que puede ser tan susceptible como otros materiales como el plástico, considerando que la acción del aire o de la humedad presente sobre el acero inoxidable crea una capa de óxido de cromo poco a poco, en éste se va a adherir la suciedad orgánica creándose el sustrato para el hábitat de las bacterias.

Por último tomamos en cuenta que una película o biofilm podemos encontrarlo sobre casi cualquier tipo de superficie ya que previamente va a entrar en contacto con materia orgánica que se encuentra

en el agua las cuales van a cambiar las propiedades químicas y físicas de la superficie y mejora las posibilidades de fijación de las bacterias sobre la superficie. (Piera, 2003, pp 17-21)

1.3.2.4. *Tipos de limpieza*

Se puede clasificar en:

- **La limpieza en seco:** Es un tipo de limpieza que se realiza a través de aspiración de los residuos que son removidos con instrumentos como cepillos o rastreadores, se lo realiza en equipos y en superficies que por su diseño o uso no deben ser humedecidos porque se alteraría el producto a realizar.

Generalmente utilizan una corriente de aire aplicando principios aerodinámicos, la aspiración remueve residuos livianos, comprende la separación sólido/sólido. (Beltrán, 2009, pp 28-38).

- **La limpieza húmeda:** En ésta limpieza se utiliza agua como fuente de limpieza siendo el más utilizado en la industria alimentaria, resulta eficaz al eliminar tierra adherida a frutas o verduras, aquí podemos hacer uso de agentes de limpieza como detergentes y desinfectantes que ayudarán a la eliminación de los microorganismos.

Se puede hacer uso del remojo de los materiales y de la materia prima, se puede hacer la limpieza de los equipos por sumersión.

Según el destino de la limpieza:

- La limpieza que se realiza a la instrumentación y a los equipos
- La limpieza de superficies (pisos, paredes y mobiliario) (Beltrán, 2009, pp 28-38).

1.3.2.5. *Métodos de limpieza*

Podemos identificar dos métodos de limpieza, en cada uno de ellos actúan la acción mecánica, química y el tiempo de exposición. Los dos métodos de limpieza son:

La limpieza manual: Aquí los equipos se limpian desarmándolos, se aplica el esfuerzo físico (agitación, restregado, presión, etc) además de materiales o instrumentos de limpieza (escobas, cepillos, etc), comprende un conjunto de pasos ordenados con el fin de eliminar la suciedad, se

puede aplicar calor la solución limpiadora para liberar aún más la suciedad. Una vez q se desintegre la mugre se inicia con la dispersión de la solución limpiadora, se unen para finalmente enjuagar con abundante agua hasta la eliminación total. (Piera, 2003, pp 17-21)

La limpieza en el lugar (CIP): Aquí los equipos se limpian sin desarmarlos, aquí no hay intervención directa del manipulador, se aplica unidades descentralizadas que permiten la circulación del agente limpiador pudiendo ser recuperada para nuevas aplicaciones, resultando ideal para una empresa por su economía. Hay que tener en cuenta que tanto los detergentes y desinfectantes como los equipos deben ser compartibles, Es muy aconsejable la rotación de agentes limpiadores debido a la resistencia microbiana que puede producir. (UNAD, 2000)

Entre los pasos que comprende están:

- 1.- Por unos 5 minutos se debe realizar el prelavado con agua fría.
- 2.- La circulación del agente limpiador es de 15 a 20 minutos a una temperatura de 80° C.
- 3.- Por un tiempo de tres minutos se da el lavado intermedio de igual manera con agua fría.
- 4.- Se procede a la circulación del desinfectante por unos 10 a 12 minutos.
- 5.- Lavar con abundante agua eliminando totalmente residuos de desinfectante (3 min).

También podemos clasificar los métodos de limpieza en físicos y químicos.

Entre los físicos podemos encontrar la utilización del calor, succión y fregado (cepillos, esponjas, mopas, etc), es el arrastre de mugre con agua o aire.

En el método químico hacemos uso de agentes químicos como jabones o los detergentes, eliminando la contaminación por acción radical positiva arrastrando afuera por su característica hidrófoba química del agente. (UNAD, 2000)

Hay que tomar en cuenta que no existe una sustancia limpiadora que remueva absolutamente todo tipo de contaminante ya que entre la mugre puede encontrarse hidrosolubles, insolubles, orgánicas, inorgánicas etc, sin embargo todo agente de limpieza comprende propiedades emulsificadoras y saponificadoras de las grasas, actuar como surfactante y dispersar la mugre, disolver las proteínas entre las principales características. (Delgado, 2006, pp 40-42)

1.3.2.6. *Métodos para desinfectar los equipos y utensilios*

Tanto el calor como los productos químicos se utilizan para desinfectar.

- **Agua caliente o vapor:** La utilización de agua caliente o vapor destruyen los microorganismos, únicamente se sumergen los utensilios en agua caliente si la limpieza es manual siendo recomendable que el agua se encuentre a 77 °C (temperatura constante) por un lapso de treinta segundos. Hay que tomar en cuenta que la temperatura elevada también desnaturalizan la materia orgánica presente y la puede hacer sobre endurecer en la superficie de los equipos por lo tanto es primordial que el equipo esté totalmente limpio para proceder con elevar la temperatura. (Beltrán, 2009, p 28).
- **Productos químicos:** Es el método más utilizado para disminuir o eliminar microorganismos, en el mercado existen gran variedad de productos químicos que eliminan y evitan el crecimiento bacteriano sin embargo hay que saber identificar que desinfectante puede estar en contacto con el alimento y que desinfectante no ya que podrían dañar los equipos y utensilios e incluso pueden quedar impregnados en los alimentos causando una contaminación por agente químico. Éstas son las razones por las cuales las industrias deben utilizar desinfectantes autorizados y con un manejo controlado.

Agentes químicos como el Cloro, Yodo y amonios cuaternarios son los más utilizados en las industrias alimentarias.

Cuando se realiza la desinfección por agentes químicos es importante controlar algunos parámetros como el tiempo de contacto, la temperatura (recomendable de 24 °C a 49° C) y la concentración que varía de acuerdo al tipo de desinfectante. (Beltrán, 2009, p 29).

1.3.3. *Programa de limpieza y desinfección*

Entre sus principales objetivos están:

- Obtener productos inocuos por BPM
- Prolongar la vida útil del alimentos
- Asegurar la calidad
- Ambientes de manipulación seguros

La implementación de los sistemas o programas de limpieza y desinfección cubren las necesidades del proceso de producción del producto específico documentándose los resultados describiendo procedimientos, la frecuencia, todos los productos químicos utilizados con sus cantidades y forma de preparación, responsables de uso.

Para lograr garantía de actividad de los desinfectantes es necesario un buen sistema o métodos de limpieza tomando muy en cuenta que restos de materia orgánica pueden inhibir la actividad de algunos desinfectantes como agentes clorados. (Torres et al, 2002)

Primeramente se debe hacer un análisis de las áreas a trabajar para establecer planes específicos de tiempo, métodos y frecuencia de la limpieza dentro de la industria quedando establecida por escrito y se deben realizar continuas verificaciones o controles de su cumplimiento.

Hay que tomar en cuenta que todo laboratorio requiere de una limpieza diaria, quedando a disposición equipos y materiales limpios y listos para las actividades del día como el control de calidad. (Delgado, 2006, pp 40-42)

Inicialmente se hace una serie de preguntas como por ejemplo, ¿Qué se va a sanitizar?, ¿Cómo lo voy a realizar?, ¿Cuál será la frecuencia mínima de limpieza y desinfección? Y finalmente ¿Quiénes serán los responsables de la sanitización?, (Hernández, 2006, pp 64-72)

Un conjunto de personas que conocen van a definir las áreas, equipos y utensilios que se necesitan limpiar y desinfectar, implementan procedimientos para cada equipo y se los dan a conocer a todo el personal (charlas, capacitaciones) especificando la manera, herramientas y productos químicos, además elaboran horarios de sanitización. Los horarios de sanitización se elaboran conjuntamente con el área de producción para evitar que las dos actividades choquen. (Mahmud, 2007, pp 13-19).

Todo programa de limpieza y desinfección hace énfasis en el personal quien es el que va a ejecutar las actividades de limpieza los cuales deberán recibir un correcto entrenamiento, en el supervisor quien es el encargado de vigilar que todas las tareas se lleven a cabo adecuadamente realizando inspecciones periódicas y por último hace énfasis en la jefatura quienes deben monitorear y validar si el sistema establecido está funcionando adecuadamente y si son éstos idóneos para prevenir la contaminación de los alimentos. (Hernández, 2006)

1.3.3.1. Componentes del programa de limpieza y desinfección

a) Obtención de la información: Es importante considerar que mientras mayor información se obtenga más completo será el programa de limpieza, esta observación será obtenida por observación directa tomando en cuenta características y todas las condiciones en las que se encuentre la empresa, todos los materiales y sustancias utilizadas. (Torres, 2002)

b) Información: Se debe establecer normas las cuales se deben informar a todo el personal que sea responsable (capacitar).

c) Manual de limpieza y desinfección: Guía base para estructurar las normas L y D, incluye normas o disposiciones con el fin de mantener libre a la industria de focos de infección.

d) Normas y disposiciones: Entre las cuales;

- Salud del personal
- El uso adecuado de uniforme y ropas protectoras
- Hábitos de higiene
- Prácticas adecuadas del personal
- Lavado correcto de manos.

e) Capacitación al personal que participará en el programa. (Torres, 2002)

f) La Periodicidad conjuntamente con el compromiso: El sistema de L y D debe exigir supervisión sin embargo todo el personal involucrado debe estar consciente de la importancia de su participación y debe hacer y claro compromiso que garantice que estos procedimientos se estén realizando de la mejor manera.

g) Redacción de la versión definitiva del programa de limpieza y desinfección.

h) Seguimiento: Se debe realizar seguimiento del programa y verificar su funcionamiento o realizar correcciones. (Beltrán, 2009, p 30)

1.3.3.2. Pasos a seguir en la sanitización en industrias de alimentos.

Los procesos higiénicos en toda empresa debe seguir un orden dependiendo del tipo de suciedad a eliminar, la implementación de sistemas como las buenas prácticas de manufactura ha hecho que las empresas entren en un orden y cumplimiento de estas operaciones para asegurar los requerimientos de los productos al mercado, además de ser competitivos son rentables.

Al constituirse el agua en el componente necesario para la limpieza y desinfección es importante y necesaria llevar un control microbiológico del agua a utilizar al menos cada cuatro meses. (Torres, 2002)

Durante estos procesos al utilizar agua con temperaturas a partir de 54 °C se constituye en un problema ya que el agua cocinará las proteínas de la suciedad en la superficie de los equipos y los poros de la gran mayoría de los equipos o materiales se encontrarán abiertos lo que producirá que las grasas, aceites y las proteínas penetren aun más en las superficies lo que en algunos casos con el tiempo dará lugar a la formación de los biofilms. (Piera, 2003, pp 17-21)

La limpieza con vapor (mayor 100 °C) igualmente no es muy recomendada ya que los restos de los alimentos se cocinarán aun más rápidamente lo cual produce la precipitación de minerales y también provoca la formación de carbonatos que van a dejar manchas blancas en la superficies de los equipos.

Hay que tomar en cuenta que la suciedad se puede remover a temperaturas menores sin embargo, el agua caliente y el vapor de agua pueden ser muy efectivos en determinadas aplicaciones. (Piera, 2003, pp 17-21)

Una limpieza básica consta de:

- 1.- La limpieza en seco: Consiste en recoger o retirar todo el sucio visible.
2. Pre-enjuague: Se retirará la materia orgánica sobrante con ayuda del agua lo que provocará que el agente limpiador (desengrasante) tenga un mayor efecto.
3. Utilización del agente químico: Limpiador desengrasante, detergente etc, que se encontrará diluido según la ficha técnica.

4. Restregado: Paso importante para garantizar la sanitización, de éste paso también depende la efectividad del desinfectante.
5. Enjuague total: Consiste en la eliminación del agente químico, se utiliza abundante agua para su eliminación total.
6. Uso del desinfectante o sanitizante: Utilizados para la eliminación de los microorganismos, su uso se rige a la ficha técnica o validaciones realizadas de los mismos, se utilizan desinfectantes en contacto con el alimento y los que no deben entrar en contacto con los alimentos, dependiendo del producto a utilizar algunos requerirán enjuague final o no.
7. Enjuague del sanitizante: Eliminación del mismo con ayuda de abundante agua. (Mahmud, 2007, pp 13-19)

1.3.4. Agentes de limpieza

Son llamados agentes limpiadores y son todas las sustancias empleadas para remover o eliminar la suciedad, entre los más conocidos están los detergentes, los jabones y el agua (para preparar las soluciones utilizadas como diluyente).

La actividad del detergente básicamente es el desprendimiento, disolución y por último la dispersión de la mugre o suciedad, el agua va a facilitar y permitir el arrastre. Podemos encontrar agentes que permitan la desintegración de grasas o pinturas considerándose a estas sustancias de igual manera agentes limpiadores, En el mercado podemos encontrar detergentes bactericidas. El cloro junto con un detergente alcalino elimina proteínas pero no actúa como un agente desinfectante. (Beltrán, 2009, pp 28-38).

1.3.4.1. Componentes de productos de limpieza.

Entre los componentes de los productos de limpieza tenemos:

a) Alcalinos:

Presentan un pH >7 es decir son Básicos.

Limpieza de: Azúcares solubles, Hidratos de Carbono y de proteínas.

Actúan por emulsificación y saponificación.

Corrosivas

Existen de acción fuerte (para grasas), media (diluidos para suciedades livianas)

Ejemplos: Amoniaco, Sosa, Potasa, Bicarbonato de sodio.

b) Ácidos:

Presentan un pH <7.

Limpieza de: Incrustaciones en superficies como óxidos, sales minerales.

Muy corrosivos.

Para limpiezas específicas.

Ejemplos: HCl, Ácido nítrico, Ácido fosfórico, Ácido acético, Ácido paracético, Ácido cítrico.

c) Secuestrantes: Éstos va a impedir que los minerales cristalicen, que precipiten o que se incrusten con los materiales con los cuales tienen contacto. Se encuentran es éste grupo los polifosfatos, los citratos, zeolitas, EDTA, gluconatos. Son costosos.

d) Los desengrasantes: Los desengrasantes son agentes de limpieza que como su nombre lo dice disuelven grasa y aceite, los cuales pueden ser restos naturales o derivados de petróleo como por ejemplo los lubricantes.

Los desengrasantes en su formulación contienen ya sea alcohol o éter: pueden contener dietilenglicol, tolueno, xileno, ácido cítrico, ácido acético.etc. (Troya, 2007, pp 8-14)

e) Tensioactivos (humedecedores): Disminuyen la tensión superficial del agua. Éstos agentes van a desengrasar la mugre de las superficies teniéndolas en suspensión y además facilitan la disolución de las mismas en agua para una limpieza eficaz por arrastre. (Troya, 2007, pp 8-14)

Nos son corrosivos, son de fácil enjuague, son solubles en agua fría.

Entre algunas de las sustancias tensioactivas podemos encontrar:

Aniónicas: Aquilarilsulfonatos / AlquilSulfonatos / Sales de ácidos grasos animales y vegetales.

Catiónicas: Sales de Amonio cuaternario / Alquilimidazolininas / Aminas etaxiladas.

No iónicos: Alcoholes grasos etoxilados / Tambien encontramos derivados de Octilfenol / nonifenol / dinonifenol.

Ánfoterros: Se ubican esn este grupo Acil-aminácidos y sus derivados / N-alkuil-aminoáciods.
(Acosta, I; Valley, M, 2011)

Dependiendo del tipo de suciedad a eliminar se emplea el detergente, se conoce que todo agente de limpieza deberá contener álcalis, secuestrantes y por supuesto surfactantes, incluso algunos agentes poseen un inhibidor de corrosión. (Troya, 2007)

1.3.4.2. Desinfectantes

Se consideran sustancias químicas capaces de disminuir o de eliminar una carga microbiana presente en un área, hay que tomar en cuenta que por la cantidad de materia orgánica que puede estar presente la capacidad del desinfectante puede disminuir debido al efecto diluyente.

Para tener una limpieza eficaz de las instalaciones y equipos es necesario realizar un análisis sobre las posibles formas de contaminación para establecer sistemas de control o prevención. (Marriot, 2003)

De igual manera se deben seleccionar dependiendo el tipo de microorganismo a eliminar teniendo en cuenta la actividad de la empresa ya que cada desinfectante se encuentra formulado dependiendo las exigencias del mercado conociendo claramente los diferentes factores físico-químicos como:

1.- El tiempo de exposición: Es decir el tiempo en el que el desinfectante está en contacto con la superficie a descontaminar, se toma en cuenta la carga microbiana, los tipos de microorganismos presentes, la edad (células jóvenes o viejas), factores fisiológicos. Éstos factores van a permitir la acción sobre los microorganismos deseada de eliminación. El tiempo en contacto varía de acuerdo al desinfectante a utilizar.

2.- La temperatura: La temperatura es otro factor indispensable a tomar en cuenta ya que al aumentar la temperatura se va a favorecer la velocidad de eliminación de la carga microbiana para algunos desinfectantes sin embargo existen excepciones como en el caso del cloro que ha temperaturas sobre los 42 grados pierde su actividad.

3.- El pH: Cada desinfectante tiene su actividad a un determinado valor de pH, ésta actividad variará por cambio mínimos de pH.

4.- La limpieza de los equipos: Hay que tomar en cuenta que los componentes que posea el desinfectante no reaccione con sustancias en la fabricación de los productos, se debe conocer la composición de los desinfectantes y la actividad de la institución que los empleará. Al igual que la

presencia de materia orgánica al momento de colocar el desinfectante ya que la efectividad germicida se reduce y en algunos casos se inactiva como por ejemplo los compuestos clorados y yodados. (Troya, 2007, pp 8-14).

5.- La dureza de agua: Se debe tener presente que compuestos de amonio cuaternario van a ser incompatibles con sales de calcio y magnesio para esto lo recomendable es no usar para la limpieza aguas duras ya que va a disminuir o anular la efectividad del desinfectante.

6.- La adherencia bacteriana: Si se produce este problema significa una mayor resistencia de los microorganismos hacia el Cloro.

7.- Concentración del desinfectante: Tenemos la creencia de que una mayor concentración indicada puede llegar a matar la mayor cantidad de microorganismo pero al igual que sucede con el tiempo de contacto la concentración del desinfectantes llegará a tal punto que por más concentración de desinfectante que exista la acción biocida no aumentará y será simplemente un desperdicio del producto y se producirá un mayor problema al querer eliminarlo del sistema y del medio ambiente.

8.- Por la naturaleza química de las sustancias: Se debe tomar en cuenta la compatibilidad de los ingredientes del desengrasante con las del desinfectante para que no haya interferencias y afecten la eficacia de los mismos. (Troya, 2007, pp 8-14).

1.3.4.3.1. Características de un desinfectante ideal

Entre las características de un desinfectante tenemos:

- La actividad microbiana que presenta, es decir tiene que tener la capacidad de eliminar microorganismos teniendo un amplio espectro de acción sobre los mismos a una baja concentración.
- La solubilidad que presenta será ideal si es soluble en agua como en otros solventes dada una proporción para que cumple el efecto requerido.
- En cuanto a la estabilidad los cambio durante todo el almacenamiento deben ser mínimos y no perder nunca su acción germicida.

- Al momento de prepararlos éste debe ser uniforme u homogéneo de modo que en todas las partes se encuentre el ingrediente activo.
- Los desinfectantes no deben ser tóxicos para los seres vivos como el hombre, las plantas y los animales, sino únicamente para los microorganismos.
- Es importante que cumplan su efecto a la temperatura ambiente para que cuando se los utilice no haya la dificultad de estarlos calentando.
- Tienen que tener capacidad de penetración si se requiere.
- La capacidad desodorante, teniendo el desinfectante inicialmente un olor agradable o simplemente inodoro.
- Se espera que un desinfectante a su vez cumpla como detergente es decir que limpie y desinfecte.
- Debe ser barato.
- No debe tener la capacidad de reaccionar con otras sustancias.
- No debe presentar características corrosivas, así como no debe teñir el material sobre el cual se esté trabajando.
- Lo deseado es que un desinfectante actúe en un tiempo relativamente corto. (Torres, 2008)

1.3.4.3.2. Mecanismo de acción de desinfectantes

Generalmente se seleccionan desinfectantes con actividad selectiva, tomando en cuenta así:

a) Acción de los desinfectantes sobre la membrana externa de los microorganismos.- La composición de la membrana de las bacterias contiene proteínas, fosfolípidos, lipopolisacáridos, estabilizadores como Mg y Ca. Conociendo la composición y según si las moléculas del desinfectante logren atravesar la membrana o no tenemos:

Puede darse que las moléculas apolares logren penetrar la membrana celular y estos logren disolver la fase lipídica. Hay diferencias entre actividades para GRAM positivas y GRAM negativas, se produce variación en la afinidad de los desinfectantes hidrófilos. (Chacha, 2014, pp 22-28)

b) Membrana citoplasmática: Mediante difusión pasiva o por transporte activo una molécula activa puede pasar por la membrana citoplasmática, aquí los desinfectantes fenólicos, derivados de amonio cuaternario, las biguaninas, van a lograr producir rupturas a los componentes de bajo peso molecular produciendo desnaturalización de las proteínas y además lisis celular. (Soler, 2006, pp 4-8)

c) Metabolismo energético: En este caso existen desinfectantes que van a actuar sobre la producción de ATP produciendo un colapso del metabolismo.

d) Citoplasma y Núcleo: Ciertos desinfectantes rompen grupos S-H de enzimas y proteínas, otros pueden combinarse con ADN y con el ARN produciendo inhibición de la acción enzimática así como de la síntesis de ácidos nucleicos. (Soler, 2006, pp 4-8)

1.3.4.3.3. Clasificación de los desinfectantes por agentes químicos.

Tomando en cuenta el agente químico utilizado para la destrucción de los microorganismos los desinfectantes poseen espectros de acción diferentes, clasificándolos así.

a) Ácidos y bases: Estas soluciones se consideran altamente bactericidas, el pH juega un papel importante en la eliminación de microorganismos, facilitan la penetración de ácidos al existir moléculas permeables y no disociadas existiendo una relación directa.

Las sustancias alcalinas pueden ser emulsificantes, saponificantes o faciliten la peptinización, pueden contener cloro, éste último no es considerando un desinfectante. (Soler, 2006, pp 4-8)

b) Sustancias de Cloro: Son germicidas potentes, son halógenos no venenosos y de costo bajo, disminuyen su eficacia al entrar en contacto con materia orgánica.

Su actividad bactericida es la capacidad de oxidar del CL (2CL⁻), en su mecanismo de acción produce cambios en la membrana celular de los microorganismos, depende exclusivamente del pH ya que disminuye en cuanto aumenta, en cambio aumenta su actividad en cuanto se eleva la temperatura.

Destruyen GRAM positivas como GRAM negativas y a determinadas esporas. Se pueden utilizar sin ningún problema con aguas duras, se inactivan en presencia de materia orgánica, hay que tener precaución al momento del enjuague ya que si se dejan residuos se da paso a la corrosión.

Es recomendable su utilización en concentraciones que van desde los 100 a 250 miligramos de CL por cada litro de agua.

Los más utilizados son el hipoclorito de sodio y el hipoclorito de calcio. (Troya, 2007, pp 8-14)

c) Sustancias de amonio cuaternario: Son conocidos como QACs y son las sales de amonio (NH₄) sustituidos por grupos arilo o alquilo, son tensioactivos. Las sustancias de amonio cuaternario con más frecuencia utilizadas son el bromuro de cetiltrimetilamonio y cloruro de laurildimetilbelzilamonio. Tienen gran efectividad sobre GRAM positivas siendo las esporas altamente resistentes a estas sustancias aunque previenen su aparición, las zonas que han sido desinfectadas por amonios cuaternarios presentan una cubierta bacteriostática que va a evitar el desarrollo de las bacterias residuales, su actividad es efectiva a pH mayor a 5, una desventaja es que el agua va a disminuir su actividad.

A diferencia de los compuestos clorados estos no se ven afectados por la materia orgánica, no son agentes corrosivos y además no producen irritación en piel, tiene propiedades detergentes adicionales.

No tienen compatibilidad con jabones o con detergentes que sean aniónicos. (INSHT, 1999)

1.3.4.3.3.1. Clasificación de los desinfectantes de amonios cuaternarios

1.- Amonio Cuaternario de primera generación: En ésta clasificación encontramos al cloruro de Benzalconio (cloruro de nalquil dimetil bencilamonio)

Este compuesto fue mayormente utilizado por los años 50, es la primera generación y la que menor acción biocida presenta, algunos microorganismos ya presentan resistencia a esta sustancia sin embargo aún la utilizan para la fabricación en desodorante en talco para pies, en los hospitales y veterinarias aún se los puede encontrar.

2.- Amonio Cuaternario de segunda generación: Encontrándose en ésta clasificación el cloruro de nalquil dimetil etil bencil amonio, aquí únicamente se ha producido un aumento de un radical etil en el anillo aromático. Este compuesto ya no se encuentra disponible comercialmente.

3.- Amonio Cuaternario de tercera generación: Simplemente es la mezcla de la primera y segunda generación de amonios que resultan con una mayor actividad y disminución en la toxicidad lo cual lo hacía más seguro para los usuarios. (ALDEBARÁN, 2015)

4.- Amonio Cuaternario de cuarta generación: Este grupo también es conocido como Cuaternarios de cadena gemela contienen cadenas dialquílicas lineales y no poseen anillo bencénico, como: cloruro de didecil dimetil amonio, cloruro de dioctil dimetil amonio, cloruro de

octil decil amonio, cada uno aislado. Poseen una excelente actividad germicida, casi no forman espuma, poseen una elevada tolerancia a los residuos de proteína y al agua dura. Poseen baja toxicidad.

5.- Amonio Cuaternario de quinta generación: Son una mezcla de cuarta y segunda generación cloruro de didecil dimetil amonio + cloruro de alquil dimetil bencil amonio + cloruro de alquil dimetiletilbencil amonio + otras variedades según las formulaciones. Los desinfectantes que contienen amonios cuaternarios de quinta generación. La poseen una mayor acción germicida ya sea en condiciones hostiles y su uso es totalmente seguro.

Entre las aplicaciones de los amonios cuaternarios se encuentran el saneamiento de utensilios, equipos, es ampliamente utilizado en hospitales, procesadoras de carne, en plantas de lácteos e industrias afines. Se usa para la desinfección en piscinas y control de algas, se utiliza para el saneamiento de piel y ubres de vacas así como manos del personal durante el ordeño. (ALDEBARÁN, 2015)

1.3.4.3.3.2. Mecanismo de acción de amonio cuaternario

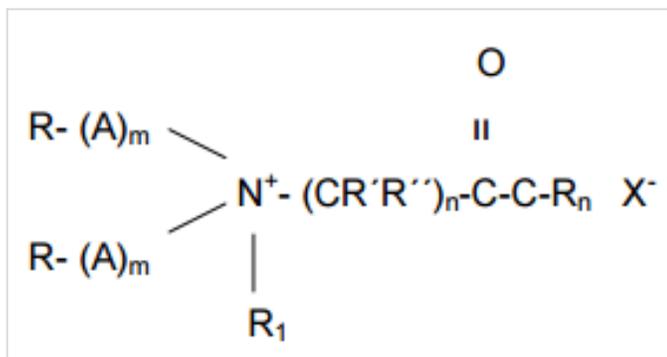


Figura 1-1: Estructura química amonio cuaternario

Fuente: SCFARMCLIN, 2015

R= Grupos alquil o alquenal (lineales o ramificados), poseen de 7 a 24 átomo C.

R1= Grupo alquil (1-4) átomo C.

n= Número comprendido entre el 1 – 4

(R'/R'')= H, alquil, hidroxialquil 1-3 átomos C o grupos OH.

m= 0 ó 1

A= Ester o grupo con función amina

X= Iones Cloruro, Bromuro o yoduro.

Entran en la membrana de las bacterias por medio de las largas cadenas carbonadas que son hidrófobas, el N (Nitrógeno) catiónico que es hidrófilo va a interactuar con los fosfolípidos de la membrana bacteriana lo cual provoca la salida inmediata del citoplasma al exterior, también los amonios cuaternarios van a inhibir la cadena respiratoria y además va a inactivar varias enzimas de crecimiento en el microorganismo. (SCFARMCLIN, 2015)

d) Compuestos que contienen Yodo: Es una mezcla de Yodo más la presencia de un surfactante actuando como transportador de la sustancia bactericida, son considerados detergentes-desinfectantes, en su actividad se parecen a los hipocloritos sin embargo no se inactivan a presencia de materia orgánica a un pH no mayor a 4, son menos sensibles a las esporas en comparación a compuestos clorados.

Son de costo elevado, no corrosivo, no irritan piel, no se consideran tóxicos y presentan un ligero olor. La desventaja esta en presencia de material plástico que es coloreado, se pueden utilizar con aguas duras, no se deben almacenar a temperatura elevadas ya que se produce la pérdida de actividad. (Taboada et al, 2007)

Su efecto es rápido y posee un amplio espectro de acción además que se puede observar visiblemente su eficacia ya que pierden totalmente su color cuando su residuo ya no tiene actividad alguna. No poseen Olor y apenas se aprecia su sabor, los yodóforos pueden ser corrosivos sobre los metales dependiendo de la formulación y nivel de concentración del principio activo.

La ventaja de los compuestos a base de yodo frente a otros desinfectantes es que no les afecta las sales del agua dura, los yodóforos se emplean principalmente en industrias lecheras donde presentan un excelente poder bactericida en concentraciones entre 10 y 100 ppm.

Son efectivos en bajas concentraciones además de poseer un amplio espectro de acción. (Taboada et al, 2007)

1.3.4.3.3.3. Mecanismo de acción desinfectantes yodados

El I₂ (yodo en su forma libre) presenta actividad con un gran poder germicida. Posee una acción rápida y con varias horas de duración. Básicamente el yodo se combina con carbohidratos y lípidos de la membrana de la bacteria y los oxida (por medio de la unión C=C de los ácidos grasos), el yodo también va a precipitar a las proteínas (unión a los enlaces N – H o S – H) y ácidos nucleicos bacterianos y de esta manera mata al microorganismo. (SCFARMCLIN, 2015)

e) Compuestos Fenólicos y relacionados: Generalmente son usados en la desinfección de servicios higiénicos y duchas, el compuesto difenil fenol se usa en las envolturas de frutas cítricas con el objetivo de inhibir o evitar el desarrollo de hongos. Para el cuidado de la madera se utiliza pentaclorofenol como fungicida, sin embargo su uso es restringido por las características del fenol comprendiendo olor fuerte y desagradable, tóxico y asociado a enfermedades. (ISBN, 1999)

Su mecanismo de acción básicamente consiste en la desnaturalización de las proteínas de la membrana plasmática lo cual provoca alteraciones en la permeabilidad produciendo una pérdida continua de materia intracelular, provoca la inactivación de enzimas provocando la lisis celular (bactericida), no se modifica su actividad en presencia de materia orgánica pero ésta si puede aumentar al colocarla junto a jabones. (Lorenzo et al, 2008, 889-890)

En la tabla 2-1 se puede observar un resumen de la actividad que poseen los desinfectantes más utilizados frente a microorganismo así como el sinergismo o antagonismo que presentan frente a determinadas sustancias o propiedades.

Tabla 2-1: Espectro de Acción de los desinfectantes, Antagonismo y Sinergismos.

DESINFECTANTES	MICROORGANISMOS							
	Bacterias Gram +	Gram -	Micro-bacterias	Esporas	Hongos y Levaduras	Virus	Antagonismos	Sinergismos
Aldehídos	+++	+++	++	++	++	++	Amoniaco	Humedad>50%
Compuestos clorados	+++	+++	±	+	++	+	Materia orgánica Tiosulfatos Sulfuros Sales ferrosas	
Compuestos yodados	+++	+++	++	++	+++	+	Materia orgánica Compuestos de Hg Tiosulfato de sodio	Jabones Amonio Cuaternario
Compuestos de amonio cuaternario (catiónicos)	+++	+	±	± discutido	±	±	Materia orgánica	Cresol
Fenoles	+++	±	±	±	++	±	Materia orgánica Amonio cuaternario Ciertos jabones Alcohol para el hexaclorofeno	Sales de sodio y potasio Sales metálicas

Fuente: Tomado de INSHT, España 1999.

1.3.5. Mecanismos de resistencia de los microorganismos a los desinfectantes

La resistencia que presentan los microorganismos a los desinfectantes se debe a una propiedad natural (manera intrínseca) o que puede adquirir por una mutación o adquisición de plásmidos (moléculas de ADN extracromosómico que puede ser lineal o circular que contiene genes selectivos lo cual provoca una resistencia) o transposones. (Forero & Piedrahita, 2008, pp 33-38).

Las mutaciones se darán en los genes blancos (sitios o lugares de inserción de genes que darán resistencia) de los plásmidos de bacterias susceptibles al cambio.

En la tabla 3-1 podemos observar un resumen de mecanismos de acción y los sitios blancos de las bacterias frente a los desinfectantes. (Cabrera et al, 2007, pp 149-158)

Tabla 3-1: Resumen de los mecanismos de acción antibacteriana de antisépticos y desinfectantes.

Sitio blanco	Antiséptico o desinfectante	Mecanismo de acción
Envoltura celular (pared celular, membrana externa)	Glutaraldehído EDTA, otros permeabilizantes	Unión cruzada a proteínas Bacteria gramnegativa: remoción de Mg ⁺⁺ , liberación de algunos LPS
Membrana interna citoplasmática	CAC	Daño generalizado de la membrana que comprometen fosfolípidos de las dos membranas.
	Clorhexidina	Las bajas concentraciones afectan la integridad de la membrana, las altas concentraciones causan congelamiento del citoplasma.
	Diaminas	Inducción a la pérdida de aminoácidos.
	PHMB (mezcla heterodispersa de bioguanidas de polihexametileno), alexidina	Fase de separación y formación de dominios de lípidos de membrana.
	Fenoles	Pérdida, desacople.
Unión cruzada a macromoléculas	Formaldehído Glutaraldehído	Unión cruzada de proteínas, ARN y ADN. Unión cruzada de proteínas de la envoltura celular y en otros sitios celulares.
Intercalación con el ADN	Acridinas	Intercalación de una molécula de acridina entre dos capas de pares de bases en el ADN.
Interacción con grupos tiol	Compuestos con plata	Enzimas que se unen a membrana interacción con grupos tiol
Efectos en el ADN	Halógenos Peróxido de hidrógeno, iones de plata	Inhibición de la síntesis del ADN Ruptura de la hebra de ADN
	Halógenos	Oxidación de los grupos tioles a disulfitos, sulfóxidos o disulfóxidos
Agentes oxidantes	Peroxígenos	Peróxido de hidrógeno: Actividad debida a la formación de radicales libres OH [•] , que oxida a los grupos tioles en enzimas y proteínas; ácido paracético: Inhibición de los grupos tioles en proteínas y enzimas.

Fuente: Revista Colombia Médica. Vol. 38 N° 2, 2007

1.3.5.1. Resistencia intrínseca

La pared celular de las bacterias entre un grupo y otro difiere en su composición, lo que explica la diferencia en cuanto a la actividad germicida de un desinfectante frente a los distintos microorganismos. En la tabla 4-2 se presenta un resumen con algunos ejemplos el mecanismo de resistencia intrínseca.

Tabla 4-1: Mecanismo de Resistencia natural o intrínseca de los microorganismos a los desinfectantes.

TIPO DE RESISTENCIA	EJEMPLOS	MECANISMOS DE RESISTENCIA
Impermeabilidad		
Bacterias GRAM-negativas	Amonios cuaternarios	La membrana impedirá la toma de desinfectantes estando involucrado el Glicocalix.
Micobacterias	Amonios cuaternarios, Clohexidina	La pared celular presentará una cera que va a impedir la entrada del biocida.
Esporas bacteriales	Amonios cuaternarios, Clohexidina, fenólicos.	La cubierta de las esporas y de la corteza se constituye en una barrera a los agentes desinfectantes.
Bacterias GRA-positivas	Clohexidina	El glicocaliz/mucoexopolisacárido va a presentar una barrera que estará asociada con la disminución en la difusión del desinfectante.
Inactivación (Mediada cromosomalmente)	Clohexidina	Se produce el rompimiento de la molécula de Clohexidina lo cual podría ser la causa de la resistencia.

Fuente: Forero & Piedrahita, 2008, pp 33-38

Realizado por: Myriam Morales, 2015

Se ha demostrado una resistencia intrínseca para bacterias Gram (-), para esporas, micobacterianas y algunas especies del género *Staphylococcus*. (Cabrera et al, 2007, pp 149-158)

1.3.5.2. Resistencia por mutación

También llamada resistencia adquirida y se da por mutaciones genéticas, por la formación de los llamados plásmidos o se puede dar por la presencia de transposonas los cuales les van a conferir características de resistencias únicas para algunas bacterias, aquí también entra lo que se conoce como los biofilms o las biopelículas. (Forero & Piedrahita, 2008, pp 33-38).

1.3.6. Validación

La validación consiste en un proceso para confirmar que los resultados sean adecuados para su uso previsto. Los resultados de una validación se pueden utilizar para hacer un juicio de calidad, fiabilidad y reproducibilidad. (Barrera, 2002, pp 4-12)

Es una verificación para convertir algo en válido, da fuerza y cimiento a un proceso cada procedimiento ó método que se desea implementar dentro de un sistema. Dentro de la Calidad en una empresa de alimentos se realizan validaciones de los procesos de limpieza, métodos de elaboración y de los productos ya elaborados validando cada principio activo del que están constituidos, etc. (Forero & Piedrahita, 2008, pp 33-38).

Se constituye uno de los requisitos principales ya que se presenta una evidencia documentada que brinda un elevado grado de seguridad al momento de aplicarlos, los mismos que serán exactos, es decir, con un bajo o casi nulo porcentaje de error y por lo tanto muy confiables. (Barrera, 2002, pp 4-12)

1.3.6.1. Tipos de validación

Entre los tipos de validación según el tiempo o momento, podemos encontrar:

Validación Prospectiva: La validación prospectiva consiste en evaluar productos nuevos que inicia desde su fase experimental y se lleva a cabo antes de la fabricación. De igual manera puede ser aplicado a procesos nuevos o cuando se hayan realizado cambios en los procesos de elaboración ya que puede provocar cambios de una u otra manera en el producto final. (Barrera, 2002, pp 4-12)

Validación Concurrente: La validación concurrente se efectúa durante un proceso común. Permite determinar si un determinado método aplicado va a ser o no el más adecuado y si se cumplen con los propósitos para los cuales está destinado.

Un ejemplo de aplicación de validación concurrente es el aplicar control de los tres primeros lotes en una producción. Éste método realiza un análisis de los aspectos realizados en la etapa de desarrollo por la validación prospectiva.

Validación retrospectiva: Éste tipo de validación va a establecer varias evidencias de un proceso o método que serán documentadas para posteriormente analizar su idoneidad a través de la evaluación de datos que se han acumulado en los procesos. La efectividad de la validación se va a sustentar en

las condiciones y características del producto, del método y del o los equipos utilizados, esperando que no se haya producido ningún cambio el cual pudiera perturbar la evaluación de los resultados. Su finalidad es determinar si el análisis efectuado se encuentra entre los límites ó especificaciones establecidas. (Barrera, 2002, pp 4-12)

La revalidación: La revalidación sirve para determinar si se han producido variaciones en un proceso ó equipo que afecten la calidad del producto, éstas pueden haber sido introducidas de manera intencional o se produjeran como un error.

Podemos diferenciar dos categorías:

- **La revalidación debido a cambios:** Éste tipo de revalidación es aplicada si se ha efectuado algún tipo de modificación que afecte las características normales de un producto. Éste cambio se puede dar en materias primas, se puede dar en el material de envase, de empaque, cambios en equipos, cambios en los métodos de análisis e incluso cambios en los procedimientos de elaboración.
- **La revalidación periódica:** La revalidación periódica se emplea en caso de que no se produjera por errores intencionales, tomando en cuenta que las variaciones pueden hacerse durante un proceso, donde el equipo se encuentra en uso y se pueden producir cambios sin importar la pericia o experiencia del operador que lo maneje. (Fuentes, 2014)

1.3.6.2. Las validaciones microbiológicas

Éste tipo de validaciones van a resultar de gran interés al igual que las validaciones químicas, ya que en un laboratorio existen equipos, materiales y reactivos específicos para el trabajo microbiológico, requiriendo la ejecución de las Buenas Prácticas de Laboratorio llamadas por sus siglas “BPL”. En el laboratorio de microbiología la variabilidad de los resultados puede ser mayor, por esta razón es imprescindible el estandarizar factores y diferentes parámetros que van a intervenir en la aplicación de algún tipo de análisis tales como: los medios de cultivo, los tiempos y diversas temperaturas de incubación, etc.

Hay que tomar en cuenta que se deben analizar y evaluar los criterios de repeticiones del método analítico si se ha obtenido resultados erróneos o no confiables. Tomando en cuenta: (Barrera, 2002, pp 4- 12)

Tiempo: El tiempo necesario para obtener resultados de un análisis ya que resulta mayor que el tiempo de análisis químico, hablando en el laboratorio microbiológico de días y no de horas.

Las repeticiones: que conducen a la variabilidad de datos.

Los procesos de validación son muy importantes e indispensables para garantizar resultados con alto grado de confianza y seguridad, de ésta manera se evitan resultados falsos positivos y repetición de procesos.

Los parámetros a tomar en cuenta en procedimientos microbiológicos: son la exactitud y la precisión, ya que los límites utilizados resultan más amplios. Los demás parámetros como la selectividad van a requerir de procesos demostrativos, en los cuales se utilizan medios de cultivo selectivos que van a permitir el identificar sin dificultad al microorganismo con el cual se va a trabajar o es el objeto de estudio. (Barrera, 2002, pp 4-12)

1.3.7. Métodos para evaluar los desinfectantes

Podemos decir que un desinfectante es ideal al reducir la carga microbiana a niveles seguros a una determinada concentración en el menor tiempo posible. Se considera la eficacia que comprende la remoción mecánica y la eliminación o inactivación de los microorganismos, también toma en cuenta la persistencia antimicrobiana de la efectividad considerada como la prevención de la colonización de microorganismos en el lugar después de haber realizado la sanitización, y por último tenemos las propiedades residuales antimicrobianas en cuanto a la propia formulación. (Torres, 2008, pp 34-36)

Comprende métodos como:

a) Método del coeficiente fenólico: Es una técnica estandarizada de determinación de eficiencia bactericida de una sustancia o compuesto químico con relación al fenol y se encuentra validada por la AOAC (Official Methods of Analysis).

Se debe preparar una concentración de microorganismo conocida, series de concentraciones de desinfectantes a prueba en tubos que contengan 5 mL cada uno, concentraciones de fenol según cada microorganismo a estudio que puede ser 1/100, 1/90 y 1/80, Se preparan tubos con caldo nutritivo para inocularlos cada 5, 10 y 15 minutos para cada concentración de desinfectante y fenol.

Es importante tener en cuenta que esta técnica se efectúa a desinfectantes cuyo mecanismo sea similar al del fenol (el tiempo bactericida se dé en 10 minutos y no menos), algunos de los riesgos podemos anotar; las diferencias en susceptibilidad para el fenol de los microorganismos, la temperatura debe ser diferente a la utilizada normalmente por la limpieza de los desinfectantes. (Torres, 2008, pp 34-36)

Los resultados son cualitativos (crece o no) a cada uno de los tiempos a los cuales fueron expuestos, se expresan los resultados según fórmula:

$$CF = (>\text{dilución del desinfectante que mate los mo en 10 min pero no en 5 min}) / (>\text{dilución del fenol que mate los mo en 10 min pero no en 5 min})$$

b) Técnica de dilución en tubo: En esta técnica se realizan diferentes diluciones del desinfectante a analizar, luego un mismo volumen de cada una de las diluciones se dispersa en tubos estériles, colocamos en cada uno de los tubos una cantidad igual de una suspensión de microorganismos destinados para la prueba. En cierto intervalo de tiempo se transfiere una alícuota de cada tubo a otro tubo que contenga medio de cultivo. Luego se incuban estos tubos a T óptima de crecimiento durante 24 o 48 horas.

El objetivo de este procedimiento es examinar el crecimiento mediante la aparición de turbidez en los tubos y se reporta como positivo o negativo.

EL tubo que no presente turbidez será indicativo de que es la concentración adecuada ideal en la que el desinfectante elimine o mate a los microorganismos. (Troya, 2007, pp 8-14)

c) Susceptibilidad microbiana (medición de la actividad microbiana): Técnica llamada también Baver y Kurby, técnica que se basa en la difusión en agar que presenta un agente antimicrobiano, impregnado en un disco de papel filtro sobre una superficie que contiene agar, utilizando una suspensión de microorganismos semejante al tubo 0.5 de Mc Farland, luego se mezclan 0.001 mL de la suspensión de microorganismos con 9 mL de agar licuado y se coloca en una caja petri que tiene agar nutritivo BHI, luego de 5 min colocamos sobre la superficie del agar los discos impregnados con las concentraciones del desinfectante a analizar, comenzando por la menos concentrada y al final se miden los halos de inhibición alrededor de los discos. (Troya, 2007, pp 8-14)

d) Pruebas in situ en superficie: Esta prueba es muy importante ya que se evalúa la eficacia de cada desinfectante en condiciones reales de una empresa. La prueba consiste en la toma de muestras del proceso de limpieza realizado en la empresa durante tres días consecutivos. (Forero & Piedrahita, 2008, pp 33-38).

1.3.8. Métodos de muestreo

En la tabla 5-1 se detallan los métodos de muestreo y las superficies que nos proponen como recomendación para las tomas en la investigación.

Tabla 5-1: Métodos de muestreo de superficies.

MÉTODO DE MUESTREO	SUPERFICIES A MUESTREAR
Método del Hisopo	Está destinado a utilizarse sobre superficies inertes sean regulares o irregulares. Ejm: pisos, paredes, tablas de picar cuchillas etc.
Método de la Esponja	Se utiliza para tomar muestras en superficies de mayor área.
Método del enjuague	Se utiliza en superficies vivas (por ejemplo en las manos) y objetos pequeños, se puede utilizar también para el muestreo de superficies interiores de envases.

Fuente: Norma Peruana. Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas
Realizado por: Myriam Morales. 2015.

1.3.9. Descripción de los microorganismos en estudio

Escherichia coli , *Staphylococcus aureus* y *Listeria s.p*

a) Coliformes totales: Son un grupo de bacterias conocidas como enterobacterias destacándose *Escherichia coli* que a su vez forma parte de los coliformes termotolerantes, es significado de inocuidad es decir higiene de los alimentos.

Se encuentran en el suelo y agua y es normal en el tracto digestivo, su morfología es bacilar, son bacterias GRAM negativas pueden ser aerobias o anaerobias facultativas, son oxidasas negativas, no forman esporas y fermentan lactosa produciendo ácido y gas. (INAL, 2004)

Es un microorganismo implicado en cuadros diarreicos, se conocen cinco clases de *E.coli* que provocan diarreas, así tenemos: *E. coli enterotoxigénica*, *E. coli enteroinvasiva*, *E. coli*

enterohemorrágica, *E. coli enteropatógena* y *E. coli enteroagregativa*. Se conoce que provoca alrededor de 630 millones de casos de diarrea y un aproximado de 775 000 muertes cuyo mayor grupo se encuentra en la población infantil del tercer mundo. La transmisión es puede ser directa o por alimentos o agua contaminada. (Villalobos, 2003, pp 7-11)

b) *Staphylococcus aureus*: Conocido también como estafilococo dorado, es una bacteria anaerobia facultativa, formado por cocos Gram positiva con diámetros de 0,5 hasta casi 1,5 μm ., es productora de coagulasa, catalasa, es inmóvil, no forma esporas.

Staphylococcus proviene del griego “staphyle” = racimo de uvas, puede producir enfermedades como: infecciones cutáneas, infecciones de las mucosas conjuntivitis, incluso enfermedades de riesgo vital, tales como celulitis, meningitis, sepsis, endocarditis o neumonía. Además, puede afectar al aparato gastrointestinal. Produce infecciones nosocomiales. Habita tanto en mucosas y piel. Pueden ser resistentes a la penicilina. (Cervantes et al, 2014, p 28- 40)

c) *Listeria*: Es una bacteria intracelular que produce Listeriosis, posee una tasa de mortalidad entre un 20% a 30%, *L. monocytogenes* es un bacilo Gram positivo, pequeño (0,4 a 0,5 micrones de ancho x 0,5 a 1,2 de largo) no es ramificado, es anaerobio facultativo prolifera a temperaturas entre 1 °C a 45 °C y es resistente a elevada concentración de sal. Produce catalasa, no es capsulada y no presenta esporas. Posee flagelos peritricos, los cuales se inmovilizan a 37 °C. (INAL, 2004)

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Diseño de investigación

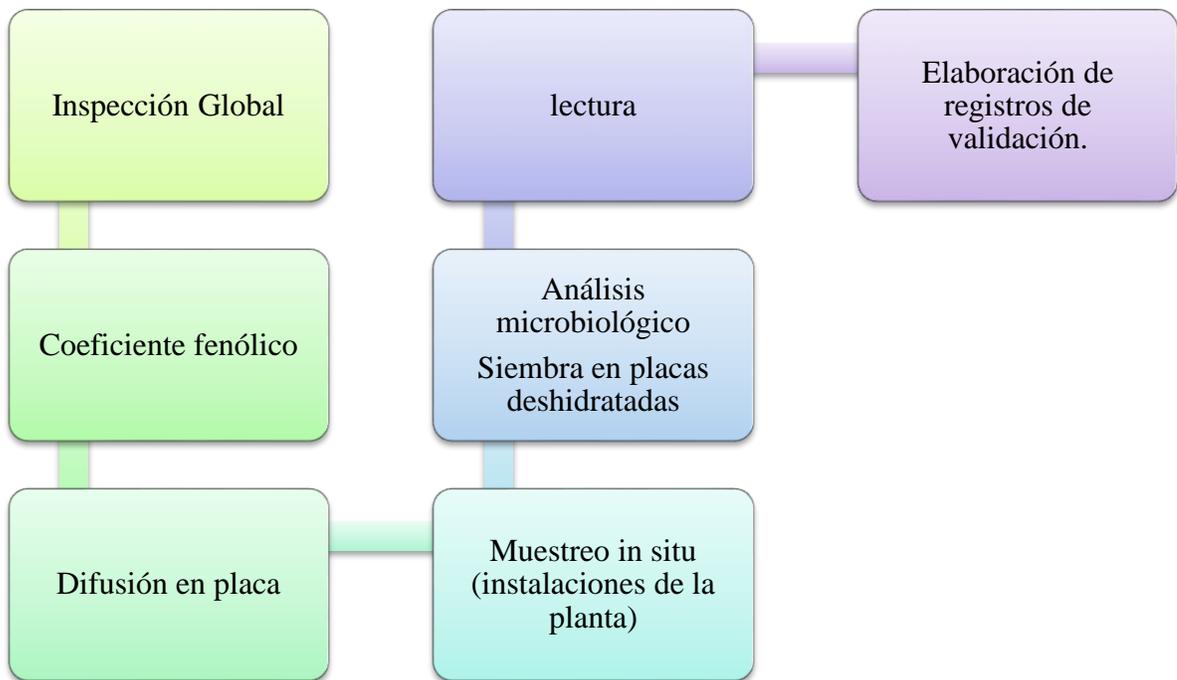


Figura 1-2: Pasos a seguir en el proceso de validación

Realizado por: Myriam Morales, 2015

2.2. Tipo de investigación

Para este estudio se ha tomado en cuenta:

- **Nivel:** De los objetivos la investigación es de tipo:
 - Descriptivo
 - Explicativo

- **Diseño:** Por cómo se utilizará la información será:
Experimental
- **Tipo de datos:** Por el tipo de datos que se va a analizar
Cuali-cuantitativa
- **Temporalización:** Por el período de tiempo de la investigación:
Transversal

2.3 Población y muestra

- **Población:** Los desinfectantes amonio cuaternario de quinta generación “Petanquat” y el compuesto yodado “Yodo I-1,75” en la desinfección en las áreas de producción de queso y yogurt en la empresa de lácteos “Prasol”.
- **Muestra:** Se considera toda la población antes descrita.

2.4. Inspección global: Primeramente se evaluó las condiciones físicas, higiénicas y sanitarias de la empresa de lácteos Santillán “Prasol” tomando aspectos como: infraestructura, aspectos físicos de equipo, utensilios y superficies que se emplean en el área de producción de queso y yogurt.

2.4.1. Datos de la empresa: Empresa de lácteos Santillán “Prasol”

- | | |
|--------------------------------|--|
| - Provincia: Chimborazo | - Dirección: Independencia 35 y Simón |
| - Cantón: Riobamba | Bolívar |
| - Parroquia: San Luis | |

La empresa de lácteos Santillán “Prasol” es una planta procesadora de alimentos dedicada a la pasteurización de leche y fabricación de derivados lácteos. Para ofrecer una mejor calidad de sus productos y dar garantía de los mismos ha implementado las Buenas Prácticas de Manufactura BPM las cuales cumplen satisfactoriamente.

Poseen un método de sanitización validado: Microbiológico y Bioluminiscencia.

Comprende: L + D = Sanitización

Pasos:

Pre – enjuague de la materia orgánica.

Restregado total de superficies con desengrasante.

Enjuague con abundante agua.

Se pasa agua caliente o vapor de agua por 10 min. como mínimo.

Se coloca desinfectante por aspersion sobre las superficies y se deja

Pasado 10 minutos de contacto se procede a enjuagar la superficie en caso de que se vayan a utilizar los equipos caso contrario se deja actuar hasta el día siguiente y se lava con abundante agua. Secar.

(Prasol, 2014)

2.4.2. Materiales de las superficies

Acero inoxidable número 304 grado sanitario y material de plástico.

2.4.3. Equipos

Tabla 1-2: Equipos en área de producción de Queso Lácteos Santillán Prasol

N°	EQUIPOS Y SUPEFICIES	MUESTREO	N°	EQUIPOS Y SUPEFICIES	MUESTREO
1	Selladora al vacío	1	15	Mallas	1
2	Tina de cuajada	2	16	Coche transporte de queso	1
3	Repisas	1	17	Liras	1
4	Olla desinfección	1	18	Gavetas	1
5	Tina salmuera	2	19	Cortinas	1
6	Tanque silo leche	1	20	Paredes	1
7	Escaleras	1	21	Piso	1
8	Olla de 60 L	1	22	Cernidores	1
9	Mesa de moldeado	1	23	Cortadora	1
10	Ventanas	1	24	Techos	1
11	Prensa doble	1	25	Drenaje	1
12	latas de prensa	1	26	TOTAL	27
13	Tacos	1			
14	Tachos plásticos	1			

Realizado por: Myriam Morales, 2015

Tabla 2-2: Equipos en área de producción de producción de Yogurt Lácteos Santillán Prasol

N°	EQUIPOS Y SUPEFICIES	MUESTREO
1	Yoguteras	6
2	Olla yog. poma	3
3	Olla yog. funda	3
4	Tanque de agua	1
5	Tachos Plásticos	1
6	Licuada industrial	1
7	Olla de agua	1
8	Puerta	1
9	Repisa	1
10	Paredes	1
11	Cernidores	1
12	Drenaje	1
13	Gavetas	1
	TOTAL	22

Realizado por: Myriam. Morales, 2015

2.5. Datos de los desinfectantes

Tabla 3-2: Datos de los desinfectantes utilizados en la investigación.

CARACTERÍSTICAS	AMONIO CUATERNARIO 5TA GENERACIÓN	COMPUESTO YODADO
Concentración	10%	1.75%
Principio Activo	n-Alkyl Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride. 5.0 % Dialkyl Dimethyl Ammonium Chloride. 5.0 %	Alpha-(p-nonylphenyl)- omega- hydroxypoly(oxyethylene) Iodine complex (providing 1.75% titratable iodine) 18.05 % Ingredientes inertes 81.95 %
Aspecto	Líquido	Líquido
Color	Incoloro	Obscuro o café rojizo
Olor	Característico	Inodoro
pH	7 – 9.5	3-5.5
Biodegradabilidad	Si	Si

Fuente: Ficha técnica Yodo 1-75 y Pentaquat

La tabla nos muestra los datos de los respectivos desinfectantes de acuerdo a sus fichas técnicas. (ANEXO A y B)

Con respecto al medio ambiente los desinfectantes poseen registros EPA (Environmental Protection Agency) para: compuesto yodóforo N° 6836 - 81 (en USA), para el amonio cuaternario de quinta generación Pentaquat no se ha encontrado en ficha técnica el registro EPA.

El amonio cuaternario presenta pH básico y el yodo ácido los cuales se vuelve ideales en cuanto a resistencias bacterianas ya que se pueden alternar entre los días de la semana. (Torres, 2008, p 34)

Se puede considerar una desventaja el color que presenta el yodo sin embargo por su composición y a la dilución utilizada no presenta problemas de coloración en superficies.

2.6. Método del coeficiente fenólico: Técnica estandarizada que se emplea para comparar el poder desinfectante de un agente frente al fenol. Se considera una técnica de dilución en tubo con ciertas modificaciones, siendo así: (AOAC, 2000)

- Preparar los desinfectantes de acuerdo a la guía del fabricante.
- Se coloca una serie de tubos conteniendo en cada uno 5 mL de diferentes diluciones del desinfectante.
- Se prepara una segunda serie de tubos que contenga diferentes diluciones de fenol.
- Preparar varios tubos que contengan 5 mL de caldo nutritivo.
- Cada tubo de las dos series se inocula con 0,5 mL de una concentración conocida de microorganismo (densidad celular X 10⁸ de 22 a 26 horas e incubados a 35°C)
- A los 5, 10 y 15 minutos se toma una alícuota con 0,5 mL y se inocula en los caldos nutritivos.
- Estos tubos inoculados se incuban durante 24 a 48 horas y se observa el crecimiento del microorganismo. (turbidez)
- La mayor dilución del desinfectante que mate a los microorganismos en 10 minutos pero no mate en 5 minutos se divide por la dilución mayor del fenol que dé los mismos resultados. El número obtenido es el coeficiente fenólico de ese desinfectante. (AOAC, 2000)

Cálculos:

$$\text{CF} = \frac{(>\text{dilución del desinfectante que mate los microorganismos en 10 min pero no en 5 min})}{(>\text{dilución del fenol que mate los microorganismos en 10 min pero no en 5 min})}$$

El resultado se expresa como el valor germicida del desinfectante.

Si el $CF > 1$ = Alta efectividad con respecto al fenol.

Si el $CF < 1$ = Baja efectividad con respecto al fenol.

a) Materiales y equipos:

- Tubos de vidrio con tapa rosca
- Gradillas
- Probetas
- Estufa a 35 °C.
- Autoclave
- Asa Calibrada 0.5 µl
- Cronómetro

b) Reactivos

- Solución Stock de fenol al 5%
- Caldo nutritivo (Caldo cerebro corazón); marca Neogen
- Agua estéril

c) Cepas Puras ATCC

- *Escherichia coli* , 10536
- *Staphylococcus aureus* 6538
- *Listeria monocytogenes* 19115

Tabla 4-2: Control de *Staphylococcus aureus* con respecto al fenol.

FENOL	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
1/60	+	-	-
1/70	+	+	+

Fuente: AOAC; Official Methods of Analysis Vol 1, (1990)

Tabla 5-2: Control de *Escherichia coli* con respecto al fenol.

FENOL	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
1/80	+	-	-
1/90	+	+	+

Fuente: Forero & Piedrahita, 2008, pp 33-38.

Tabla 6-2: Diluciones de los desinfectantes utilizadas para el estudio.

DESINFECTANTES	DILUCIONES					
Amonio Cuaternario de quinta generación	200 ppm	175 ppm	150 ppm	125 ppm	100 ppm	75 ppm
Compuesto yodado	75 ppm	62 ppm	50 ppm	25 ppm	20 ppm	--

Realizado por: Myriam Morales, 2015

2.8. Difusión en placa: técnica que se basa en la difusión en agar que presenta un agente antimicrobiano, impregnado en un disco de papel filtro sobre una superficie que contiene agar, utilizando una suspensión de microorganismos semejante al tubo 0.5 de Mc Farland, , luego de 5 min colocamos sobre la superficie del agar los discos impregnados con las concentraciones del desinfectante a analizar o se pueden hacer pocillos (Figura 2-3) a los que añadiremos la concentración de sustrato necesaria , se comienza por la menos concentrada y al final se miden los halos de inhibición alrededor de los discos o pocillos. (Troya, 2007, pp 8-14)

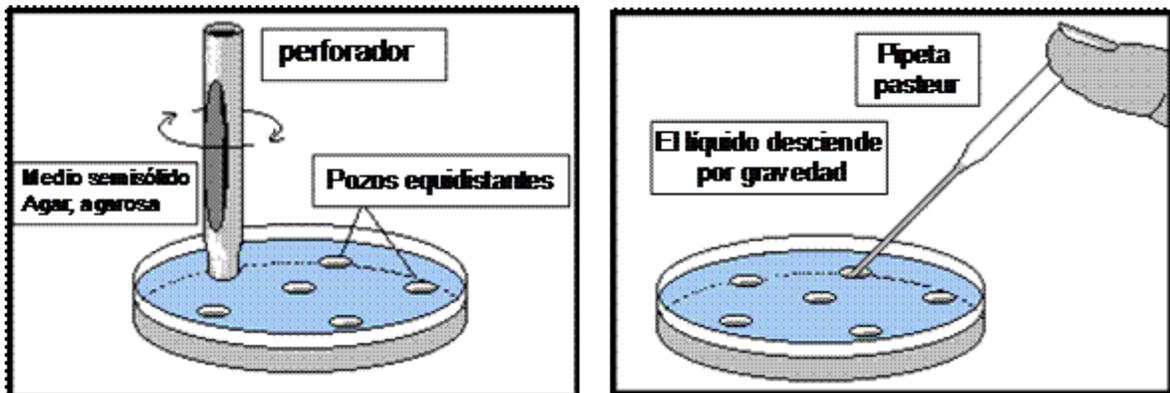


Figura 2-2: Ilustración gráfica de la elaboración de pocillos sobre agar sólido.

Fuente: <http://enfermedadesepidemiologicas.com>

a) Materiales y equipos:

- Tubos de vidrio con tapa rosca
- Isopos estériles
- Gradillas
- Probetas
- Estufa a 35 °C.
- Autoclave

- Erlenmeyer

b) Reactivos

- Cloruro de Sodio 0.85%
- Agua estéril
- Escala Mc Farland
- Agar Mueller Hinton (Neogen)

c) Cepas Puras ATCC

- *Escherichia coli* , 10536
- *Staphylococcus aureus* 6538
- *Listeria monocytogenes* 19115

2.8. Muestreo *in situ* (instalaciones de la planta)

Los puntos de muestreo se basaron al criterio de la empresa, se busco lugares con más probabilidad de llegar a una contaminación en los diferentes equipos encontrados en las áreas de queso y yogurt de la empresa de lácteos Santillán “Prasol”.

2.8.1. Hisopado: Este método de muestreo se realiza sobre equipos, instalaciones e indumentaria usada en los distintos ambientes.

Se realiza al finalizar las actividades, el hisopado lo colocamos en un diluyente adecuado y se realiza el recuento microbiano con la siembra de una alícuota apropiada en un agar nutritivo especificado. (Torres, 2008,p 36)

- 1.- Ubicarse en el equipo a muestrear e identificar el lugar de toma de muestra.
- 2.- El hisopado se realizará en una superficie de 10 cm x 10 cm.
- 4.- Presionamos ligeramente el hisopo sobre la pared del tubo para eliminar el exceso de solución.
- 5.- Inclinaamos el hisopo 30° para el muestreo y procedemos a frotar el hisopo contra la superficie con movimientos circulares, primero horizontalmente, luego verticalmente y por último transversalmente.
- 6.- Inmediatamente procedemos a colocar el hisopo en el contenedor o tubo. (GUÍAS 3M, 2003)

a) Materiales

- Hisopos de muestreo con caldo letheen Compact Dry.
- Gradillas

2.9 Análisis microbiológico por compact Dry *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*

Compact Dry X- SA (Conteo bacterias *Staphylococcus aureus*); Compact Dry EC (Conteo de *Coliformes* y *E. coli*)

Enumeración de bacterias en muestras tomadas con hisopos.

- 1.- Destapar la placa y colocar 1 mL de la muestra en el centro de la placa compact dry.
- 2.- la muestra se dispersará automáticamente y de forma homogénea sobre la superficie, convirtiendo la placa seca en un gel.
- 3.- Tapar la placa y codificarla con la información necesaria en la parte inferior.
- 4.- Se incuban las placas al revés de la siembra.
- 5.- Después del periodo de incubación dependiendo el microorganismo (Placa compact dry específica) se procede a la lectura. (Guías Compact Dry, 2013)



Figura 3-2: Siembra en placas Compact Dry.

Fuente: Guías Compact Dry, 2013.

a) *Staphylococcus aureus*:

- T. incubación: 24+/- 2 horas
- Temperatura: 35+/- 2 °C
- Identificación: coloración azul claro.

b) *Coliformes* y *E. coli*

- T. incubación: 24+/- 2 horas
- Temperatura: 35+/- 2 °C

- Identificación: Coliformes: coloración roja; *E. coli*: coloración azul. (Guías Compact Dry, 2013)

3.9 Análisis microbiológico por Petrifilm 3M para *Listeria*

Enumeración de bacterias en muestras tomadas con hisopos.

- 1.- Tomar la muestra.
 - 2.- Agitamos el tubo muy bien con pequeños toques o con ayuda de un stomacher o vortex por un minuto.
 - 3.- Mantenemos la muestra a temperatura ambiente (entre 20 a 30 °C) durante 1 h, (max: 1,5 h) y mezclamos nuevamente.
 - 4.- Colocamos la placa petrifilm sobre una superficie plana y nivelada. Levantar la película superior.
 - 5.- Colocamos 3 mL en el centro de la película inferior. Pipetear en posición perpendicular a la placa.
 - 6.- Dejamos caer la película superior.
 - 7.- Colocamos el aplicador plástico suavemente abarcando el inóculo de manera que se difunda por toda la placa. Levantar el aplicador y dejar 10 minutos para la formación del gel.
 - 8.- Incubar las placas cara arriba.
- T. incubación: 28+/- 2 horas
Temperatura: 35+/- 2 °C
Identificación: Colonias rojo-violeta intenso.

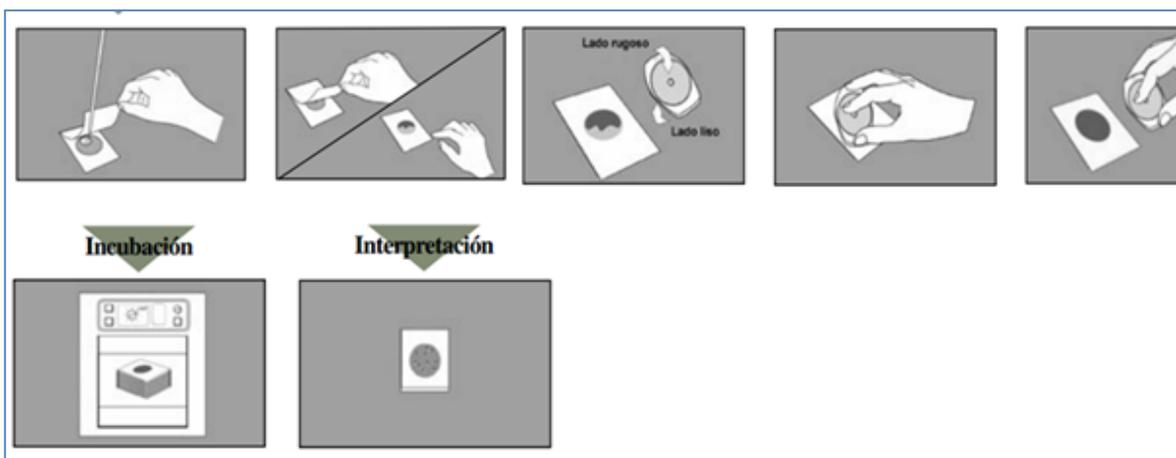


Figura 4.2: Siembra en placas Petrifilm.

Fuente: GUÍAS 3M, 2003

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1. Coeficiente fenólico utilizando *Staphylococcus aureus*.

Tabla 1-3: Comportamiento de *Staphylococcus aureus* cepa 6538 con respecto al fenol.

FENOL	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
1/70	+	-	-
1/80	+	+	+

Realizado por: Myriam Morales, 2015

Se utilizó la cepa *Staphylococcus aureus* 6538 específica para validación la cual nos dio como resultado con respecto a la metodología del coeficiente fenólico la concentración 1/70 ya que no inhibió el crecimiento en 5 minutos pero si en 10 y en la posterior dilución presentó turbidez en los tubos en los tres tiempos (5, 10 y 15 minutos). (ANEXO C)

Tomando en cuenta que la técnica nos señala que los resultados al presentarse en tablas deben aparecer en forma de escalera.

Al comparar los resultados presentados del fenol (1/70) con respecto a los presentados en la técnica AOAC con cepa *Staphylococcus aureus* (1/60) podemos notar que hay diferencia en la dilución resultante, lo cual se explica ya que según ficha técnica el fenol utilizado en ésta investigación posee una pureza del 93% y no garantizamos que sea la misma utilizada en ensayos de la AOAC ya que no se encuentra detallado.

Tabla 2-3: Comportamiento de *Staphylococcus aureus* cepa 6538 con respecto compuesto yodóforo “Chemlok I-1.75”

YODÓFORO	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
25 ppm	+	-	-
20 ppm	+	+	+

Realizado por: Myriam Morales, 2015

Se utilizaron varias concentraciones que fueron desde 75, 62, 50, 25 y 20 ppm, la concentración que utilizaremos para los cálculos será la de 25 ppm de acuerdo al coeficiente fenólico. (ANEXO C)

Para obtener cálculos con respecto al coeficiente fenólico interpretamos los ppm en forma de dilución: 25 ppm = (25/1000000) y aplicamos la fórmula;

CF = (>dilución del desinfectante que mate los microorganismos en 10 min pero no en 5 min) / (>dilución del fenol que mate los microorganismos en 10 min pero no en 5 min)

$$CF = (1000000/(25 \times 70)) = 571,4$$

Lo que significa que el desinfectante estudiado a base de yodo “Chemlok I-1.75” es 571 veces más eficaz que el fenol para eliminar *Staphylococcus aureus* lo que nos indica que cumple satisfactoriamente su actividad altamente germicida y confirma lo encontrado en ficha técnica dada por el proveedor (Anexo A).

Tabla 3-3: Comportamiento de *Staphylococcus aureus* cepa 6538 con respecto al amonio cuaternario de quinta generación “Pentaquat”.

PENTAQUAT	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
100 ppm	+	-	-
75 ppm	+	+	+

Realizado por: Myriam Morales, 2015

Para la validación del amonio cuaternario de quinta generación se utilizaron distintas diluciones (200, 175, 150,125, 100 y 75 ppm) la cual nos dio como resultado con respecto a la metodología del coeficiente fenólico la concentración de 100 ppm ya que no inhibió el crecimiento en 5 minutos pero si en 10 y en la posterior dilución presentó turbidez en los tubos en los tres tiempos (5, 10 y 15 minutos). (ANEXO C)

Para obtener cálculos tenemos que: 100 ppm = (100/1000000) y aplicamos la fórmula;

CF = (>dilución del desinfectante que mate los microorganismos en 10 min pero no en 5 min) / (>dilución del fenol que mate los microorganismos en 10 min pero no en 5 min)

$$CF = (1000000/(100 \times 70)) = 142,8$$

Lo que significa que el desinfectante “Pentaquat” es 143 veces más eficaz que el fenol para eliminar *Staphylococcus aureus* lo que nos indica que el desinfectante a base de un amonio cuaternario de quinta generación cumple con su función de desinfección sin ningún problema.

Al comparar los dos desinfectantes con su CF nos da a notar que el desinfectante cuyo principio activo es el yodo es más efectivo para eliminar *Staphylococcus aureus* que el amonio cuaternario de quinta generación tomando en cuenta la acción del fenol.

3.2. Coeficiente fenólico utilizando *Escherichia coli*.

Tabla 4-3: Comportamiento de *Escherichia coli* cepa 10536 con respecto al fenol.

FENOL	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
1/80	+	-	-
1/90	+	+	+

Realizado por: Myriam Morales, 2015

Para la validación se utilizó la cepa 10536 *Escherichia coli*, los resultados obtenidos para CF fueron de 1/80 es decir que el fenol inhibió el crecimiento a esa concentración a los 10 minutos pero no a los 5 minutos tomando este valor para los posteriores cálculos. (ANEXO D)

Al comparar la tabla 4-3 con la 5-2 podemos notar que las diluciones encontradas en 1/80 coinciden lo cual nos proporciona mayor confianza con respecto a esta cepa y dilución.

Tabla 5-3: Comportamiento de *Escherichia coli* cepa 10536 con respecto compuesto yodóforo.

YODÓFORO	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
25 ppm	+	-	-
20 ppm	+	+	+

Realizado por: Myriam Morales, 2015

Se utilizaron como concentraciones: 75, 62, 50, 25 y 20 ppm, la concentración que utilizaremos para los cálculos será la de 25 ppm de acuerdo al coeficiente fenólico por inhibir el crecimiento en 10 pero no en 5 minutos. (ANEXO D)

Para obtener cálculos con respecto al coeficiente fenólico interpretamos los ppm en forma de dilución: 25 ppm = (25/1000000) y aplicamos la fórmula;

CF = (>dilución del desinfectante que mate los microorganismos en 10 min pero no en 5 min) / (>dilución del fenol que mate los microorganismos en 10 min pero no en 5 min)

$$CF = (1000000/(25 \times 80)) = 500$$

Lo que significa que el yodo es 500 veces más eficaz que el fenol para eliminar *Escherichia coli*.

Tabla 6-3: Comportamiento de *Escherichia coli* cepa 10536 con respecto al amonio cuaternario de quinta generación “Pentaquat”.

PENTAQUAT	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
125 ppm	+	-	-
100 ppm	+	+	+

Realizado por: Myriam Morales, 2015

Se utilizaron diluciones que fueron desde 200, 175, 150,125, 100 hasta 75 ppm, la concentración de 125 ppm la utilizaremos para el CF. (ANEXO D)

Para obtener cálculos tenemos que: 125 ppm = (125/1000000) y aplicamos la fórmula;

CF = (>dilución del desinfectante que mate los microorganismos en 10 min pero no en 5 min) / (>dilución del fenol que mate los microorganismos en 10 min pero no en 5 min)

CF = (1000000/(125x80))= 100

El amonio cuaternario de quinta generación es 100 veces más eficaz que el fenol para eliminar este microorganismo.

Los dos desinfectantes cumplen con su función germicida con respecto a *Escherichia coli*.

3.3. Coeficiente fenólico utilizando *Listeria monocytogenes*.

Tabla 7-3: Comportamiento de *Listeria* 19115 con respecto al fenol.

FENOL	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
1/70	+	-	-
1/80	+	+	+

Realizado por: Myriam Morales, 2015

Se utilizaron distintas diluciones para poder identificar la concentración a la cual el fenol inhibe el crecimiento de *Listeria* en 10 pero no en 5 minutos, la dilución 1/70 cumplió con estas características tomándola sin ningún problema para los cálculos del CF. (ANEXO E)

Tabla 8-3: Comportamiento de *Listeria* 19115 con respecto compuesto yodóforo.

YODÓFORO	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
25 ppm	+	-	-
20 ppm	+	+	+

Realizado por: Myriam Morales, 2015

La concentración que cumple con las condiciones para el coeficiente fenólico fue de 25 ppm para *Listeria* al utilizar el desinfectante que contiene como principio activo el yodo al 1,75%.

Aplicando la fórmula para el coeficiente fenólico tomando en cuenta que:

$$25 \text{ ppm} = (25/1000000);$$

CF = (>dilución del desinfectante que mate los microorganismos en 10 min pero no en 5 min) / (>dilución del fenol que mate los microorganismos en 10 min pero no en 5 min)

$$CF = (1000000/(25 \times 70)) = 571,4$$

Se considera que el Yodo es 571 veces más efectivo que el fenol por su acción germicida frente a *Listeria*.

Tabla 9-3: Comportamiento de *Listeria* 19115 con respecto al amonio cuaternario de quinta generación “Penataquat”.

PENTAQUAT	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
125 ppm	+	-	-
100 ppm	+	+	+

Realizado por: Myriam Morales, 2015

Tras utilizar las concentraciones 200, 175, 150,125, 100 y 75 ppm para esta validación, tomamos 125 ppm por inhibir el crecimiento en 10 y no en 5 minutos y por presentar turbidez a 100 ppm en los tres tiempos dando a conocer que esta es la concentración mínima a la cual el desinfectante cumple con los requerimientos para aplicar la metodología del coeficiente fenólico. (ANEXO E)

Para obtener cálculos tenemos que: 125 ppm = (125/1000000) y aplicamos la fórmula;

CF = (>dilución del desinfectante que mate los microorganismos en 10 min pero no en 5 min) / (>dilución del fenol que mate los microorganismos en 10 min pero no en 5 min)

$$CF = (1000000/(125 \times 70)) = 114,3$$

Lo que significa que el amonio cuaternario de quinta generación es 114 veces más eficaz que el fenol para eliminar *Listeria* a esa concentración.

Podemos decir que en los tres casos de validación (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Listeria*) los dos desinfectantes muestran efectividad presentando un CF mayor a 1.

3.4. Difusión en placa con respecto al fenol

Tabla 10-3: Resultados de difusión en placa para los tres microorganismos con diferentes concentraciones de fenol.

Microorg.	Solución Patrón al 5%	1/100	1/90	1/80	1/70	1/60
<i>Escherichia coli</i>	14 mm 1) 13 • 1,441 2) 15 * 2	--	--	--	3,5 mm 1) 3 • 0,7071 2) 4 * 0,5	11 mm 1) 10 • 1,441 2) 12 * 2
<i>Staphylococcus aureus</i>	4 mm 1) 4 • 0 2) 4 * 0	--	1 mm 1) 1 • 0 2) 1 * 0	3 mm 1) 3 • 0 2) 3 * 0	3,5 mm 1) 3 • 0,70710 2) 4 * 0,5	3,5 mm 1) 4 • 0,70710 2) 3 * 0,5
<i>Listeria</i>	7,5 mm 1) 7 • 0,70711 2) 8 * 0,5	--	--	--	3 mm 1) 3 • 0 2) 3 * 0	4,5 mm 1) 5 • 0,70711 2) 4 * 0,5
[--]= Sin inhibición		[1]= Ensayo 1	[2]=Ensayo 2	[•]=Desviación estándar	[*]=Varianza	

Realizado por: Myriam Morales, 2015

Se puede observar en la tabla 10-3, que la utilización del fenol al 5% es el que mayores halos de inhibición produjeron para los tres microorganismos, sin embargo los halos a diferentes concentraciones de fenol van a depender de la susceptibilidad de cada microorganismo al compuesto, conociendo que el fenol posee un amplio espectro de acción que va desde Gram positivos (*Staphylococcus aureus*, *Listeria*), Gram negativos (*Escherichia coli*), presenta actividad frente a micobacterias, virus lipídicos, virus no lipídicos y hongos.

El fenol se constituye en un bacteriostático a concentraciones bajas y un bactericida a concentraciones altas. (SCFARMCLIN, 2015)

Lorenzo y colaboradores en su libro presentado en el año 2008 señalan que la capacidad biocida del fenol se debe a que a concentraciones entre 0,5-2% el compuesto empieza a desnaturalizar las proteínas de la membrana de las bacterias lo cual conduce a un cambio en la permeabilidad produciendo una pérdida progresiva de materia intracelular, altera acciones enzimáticas y por último ocasiona lisis celular. (Lorenzo et al, 2008, pp 888, 890)

De acuerdo a la desviación estándar podemos observar que no hay mayor diferencia entre las repeticiones realizadas guardando relación entre las mismas.

3.5. Difusión en placa con respecto al amonio cuaternario de quinta generación “pentaquat”

Tabla 11-3. Resultados de difusión en placa por microorganismo y concentración de Amonio cuaternario de quinta generación.

Microorg.	200 ppm	175 ppm	150 ppm	125 ppm	100 ppm
<i>Escherichia coli</i>	8 mm 1) 8 • 0 2) 8 * 0	7,5 mm 1) 7 • 0,70711 2) 8 * 0,5	6,5 mm 1) 8 • 2,1213 2) 5 * 4,5	4 mm 1) 4 • 0 2) 4 * 0	3,25 mm 1) 4,5 • 1,7677 2) 2 * 3,125
<i>Staphylococcus aureus</i>	11 mm 1) 10,5 • 0,7071 2) 11,5 * 0,5	11 mm 1) 11 • 0 2) 11 * 0	9,5 mm 1) 9 • 0,70711 2) 10 * 0,5	10,25 mm 1) 9 • 1,7677 2) 11,5 * 3,125	9 mm 1) 9 • 0 2) 9 * 0
<i>Listeria</i>	10 mm 1) 10 • 0 2) 10 * 0	10 mm 1) 9,5 • 0,70711 2) 10,5 * 0,5	10,25 mm 1) 9 • 1,7677 2) 11,5 * 3,125	9,5 mm 1) 9 • 0,70711 2) 10 * 0,5	7,5 mm 1) 7 • 0,70711 2) 8 * 0,5
[--]= Sin inhibición [1]= Ensayo 1 [2]=Ensayo 2 [•]=Desviación estándar [*]=Varianza					

Realizado por: Myriam. Morales, 2015

Podemos observar en la tabla 11-3 que a diferentes concentraciones el amonio cuaternario de quinta generación tiene la capacidad inhibir el crecimiento de las tres cepas de microorganismos lo cual se refleja en los halos de inhibición producidos, confirmando lo investigado en bibliografía que nos dice que al ser un amonio cuaternario de quinta generación una combinación de amonios de cuarta y segunda generación poseen una mayor acción germicida ya sea en condiciones hostiles y su uso es totalmente seguro. (ALDEBARÁN, 2015)

Los datos obtenidos por J. Rueda y col. nos dice que los amonios cuaternarios posee una mayor actividad frente a Gram positivos (*Staphylococcus aureus*, *Listeria*) en comparación con las bacterias Gram negativas (*Escherichia coli*) lo cual aparece también en nuestros resultados al observar el diámetro de los halos de inhibición que se produjeron. (Rueda, 2003, pp. 1097-1104.)

En la tabla podemos observar que para *Escherichia coli* a una concentración de 150 y 100 ppm existe una mayor variabilidad en cuanto a las repeticiones realizadas para el estudio (varianza 4,5 y 3,125 respectivamente), esto se puede atribuir a cambios en cuanto a la preparación de las soluciones por parte del analista. Lo mismo sucede con la cepa *Staphylococcus aureus* a una concentración de 125 ppm con una varianza de 3,125.

3.6. Difusión en placa con respecto al desinfectante a base de yodo.

Tabla 12-3: Resultados de difusión en placa por microorganismos a diferentes concentraciones del desinfectante a base de yodo.

Microorg.	75 ppm	62 ppm	50 ppm	25 ppm	20 ppm
<i>Escherichia coli</i>	9,5 mm 1) 7 • 3.5355 2) 12 * 12,5	9,25 mm 1) 8 • 1.7677 2) 10,5 * 3,125	9,25 mm 1) 9 • 0,35355 2) 9,5 * 0,25	8 mm 1) 8 • 0 2) 8 * 0	6,5 mm 1) 5 • 2,1213 2) 8 * 4,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	11,75 mm 1) 12 • 0,353 2) 11,5 * 0,125	10,25 mm 1) 11 • 1.060 2) 9,5 * 1,125	9 mm 1) 9 • 0 2) 9 * 0	8,25 mm 1) 7 • 1.7677 2) 9,25 * 3,125	8 mm 1) 9,5 • 2.12132 2) 6,5 * 4,5
<i>Listeria</i>	7 mm 1) 9 • 2,828 2) 5 * 8	7,25 mm 1) 8 • 1.1060 2) 6,5 * 1.125	6 mm 1) 4 • 2,828 2) 8 * 8	5 mm 1) 5 • 0 2) 5 * 0	4 mm 1) 4 • 0 2) 4 * 0
[--]= Sin inhibición [1]= Ensayo 1 [2]=Ensayo 2 [•]=Desviación estándar [*]=Varianza					

Realizado por: Myriam Morales, 2015

Se puede observar en la tabla que el desinfectante yodado presenta alta efectividad frente a las tres cepas utilizadas para la validación conociendo su espectro de acción de elevada eficacia tanto para bacterias Gram positivas como para bacterias Gram negativas a concentraciones que pueden ir desde 10 a 100 ppm lo que concuerda con el trabajo realizado por Taboada y colaboradores en el año 2007.

Observamos en la tabla 12-3 que en las repeticiones hay mayor rango de variabilidad consideramos que, al preparar las soluciones se produjeron errores ya sea en la cantidad medida, la existencia de materia orgánica en el material de vidrio que puede interferir con la eficacia del desinfectante, disminución o aumento en la profundidad del agar, mayor o menos cantidad de microorganismos sembrados, etc.

3.7. Muestreo in situ (instalaciones de la planta)

Para tomar la concentración ideal aplicable para la validación in situ se hizo una relación entre la concentración mínima inhibitoria encontrada por el coeficiente fenólico y los halos de inhibición dados por la técnica de difusión en placa, tomando en cuenta que no se debe utilizar la

concentración límite se tomó concentraciones superiores con la capacidad de eliminar las tres cepas en estudio siendo así

- Amonio cuaternario de quinta generación: 175 ppm
- Desinfectante a base de Yodo: 62 ppm

Se realizó el muestreo microbiológico en los diferentes equipos y utensilios en las áreas de producción de yogurt y queso en la empresa de lácteos Santillán “Prasol” por tres días consecutivos por cada desinfectante dándonos los siguientes resultados. (ANEXO J)

Tabla 13-3: Resultados de la validación microbiológica realizada in situ en las áreas de producción queso y yogurt por tres días consecutivos utilizando como desinfectante “Chemlok I 1.75” a 62 ppm.

AREA DE PRODUCCIÓN	SUPERFICIE/ MUESTRA	UFC/cm2			CUMPLE
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria</i>	
Producción Queso	Selladora al vacío	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Queso	Tina de cuajada	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Repisas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Olla desinfección	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Tina salmuera	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Tanque silo leche	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Escaleras	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Olla de 60 L	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Mesa de moldeado	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Ventanas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Prensa doble	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Queso	latas de prensa	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Queso	Tacos	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Tachos plásticos	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Mallas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Coche transporte de queso	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Liras	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Gavetas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Cortinas	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Queso	Paredes	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Piso	Ausencia	Ausencia	--	ok

Producción Queso	Cernidores	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Cortadora	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Techos	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Drenaje	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Yogurt	Yogutera 1	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 2	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 3	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 4	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 5	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 6	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. poma 1	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. poma 2	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. poma 3	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. funda 1	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. funda 2	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. funda 3	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Tanque de agua	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Tachos Plásticos	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Licudadora industrial	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla de agua	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Puerta	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Repisa	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Paredes	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Cernidores	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Drenaje	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Yogurt	Gavetas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Porcentaje de eliminación		100 %	100 %	100 %	

Realizado por: M.yriam Morales, 2015

Para la desinfección se utilizó “Chemlok I 1.75” a 62 ppm, éste se colocó por aspersion con ayuda de una bomba manual, los resultados reflejan la eficacia del desinfectante dando 100 % de eliminación para cada microorganismo, este procedimiento se lo llevó a cavo por tres días consecutivos.

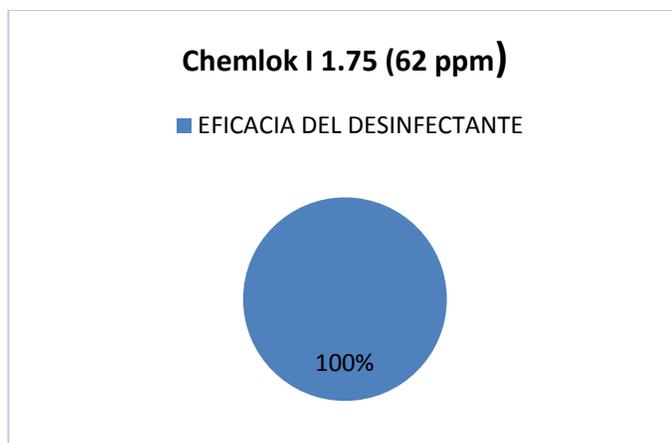


Gráfico 1-3: Resultados validación microbiológica realizada *in situ* con “Chemlok I-1.75” a 62 ppm.

Realizado por: Myriam. Morales, 2015

Como podemos observar en la Gráfico 1-3 una eficacia del 100% de eliminación para los tres microorganismos a estudio, conociendo que el yodo presenta actividad con un gran poder germicida ya que por su mecanismo de acción este compuesto se combina con carbohidratos y lípidos de la membrana de la bacteria y los oxida (por medio de la unión C=C de los ácidos grasos), otra forma de eliminar las bacterias es su poder de precipitar las proteínas (unión a los enlaces N – H o S – H) y ácidos nucleicos bacterianos. (SCFARMCLIN, 2015)

Tabla 14-3: Resultados de la validación microbiológica realizada *in situ* en las áreas de yogurth y queso por tres días consecutivos utilizando como desinfectante un amonio cuaternario de quinta generación “Pentaquat” a 175 ppm.

AREA DE PRODUCCIÓN	SUPERFICIE/ MUESTRA	UFC/cm ²			CUMPLE
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria</i>	
Producción Queso	Selladora al vacío	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Queso	Tina de cuajada	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Repisas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Olla desinfección	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Tina salmuera	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Tanque silo leche	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Escaleras	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Olla de 60 L	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Mesa de moldeado	Ausencia	Ausencia	--	ok

Producción Queso	Ventanas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Prensa doble	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Queso	latas de prensa	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Queso	Tacos	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Tachos plásticos	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Mallas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Coche transporte de queso	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Liras	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Gavetas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Cortinas	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Queso	Paredes	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Piso	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Cernidores	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Cortadora	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Techos	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Drenaje	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Yogurt	Yogutera 1	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 2	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 3	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 4	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 5	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 6	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. poma 1	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. poma 2	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. poma 3	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. funda 1	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. funda 2	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. funda 3	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Tanque de agua	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Tachos Plásticos	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Licuada industrial	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla de agua	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Puerta	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Repisa	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Paredes	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Cernidores	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Drenaje	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Yogurt	Gavetas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Porcentaje de eliminación		100 %	100 %	100 %	

Realizado por: Myriam. Morales, 2015

Se utilizó el amonio cuaternario de quinta generación a 175 ppm por aspersión al igual que el yodo con ayuda de una bomba manual en todas las superficies de queso y yogurt.

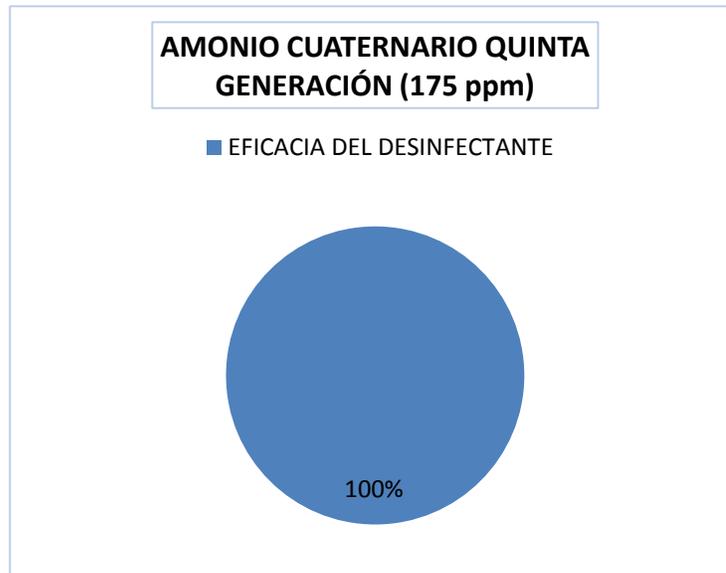


Gráfico 2-3: Resultados validación microbiológica *in situ* utilizando como desinfectante un amonio cuaternario de quinta generación a 175 ppm.

Realizado por: Myriam Morales, 2015

En el gráfico se observa una eficacia del 100 % en la validación *in situ* en la empresa de lácteos Santillán Prasol para el desinfectante a base de sales de amonio cuaternario de quinta generación lo que nos demuestra el poder de estos compuestos de entrar en la membrana de las bacterias por medio de las largas cadenas carbonadas que son hidrófobas, el N (Nitrógeno) catiónico que es hidrófilo y va a interaccionar con los fosfolípidos de la membrana bacteriana lo cual provoca la salida inmediata del citoplasma al exterior, también los amonios cuaternarios van a inhibir la cadena respiratoria y además va a inactivar varias enzimas de crecimiento en el microorganismo. (SCFARMCLIN, 2015)

Con los resultados presentados en la tabla 14-3 para Pentaquat y en la tabla 13-3 para Chemlok I-1.75 se elaboró evidencia documentada que proporcionará a la empresa confianza para la utilización de los mismos dentro de sus instalaciones. (ANEXO L y M).

Hay que tomar en cuenta que no todo va a depender del desinfectante a utilizar sino también del método de limpieza utilizado.

Es importante conocer que los desinfectantes al ser sustancias químicas capaces de disminuir (bacteriostáticos) o de eliminar una carga microbiana (bactericidas) presente en un área depende de varios factores como la cantidad de materia orgánica que puede estar presente la cual puede hacer que disminuya la capacidad germicida como en el caso del yodo. (Betelgeux video, 2012)

El tiempo de exposición es otro factor clave en la desinfección, se toma en cuenta la carga microbiana, los tipos de microorganismos presentes, la edad (células jóvenes o viejas), factores fisiológicos. Éstos factores van a permitir la acción sobre los microorganismos deseada de eliminación. (Troya, 2007, pp 8-14).

Éstos factores serán clave para determinar si hay una resistencia bacteriana ya que de acuerdo a un plan de muestreo de verificaciones de sanitización de superficies se analizan los datos y se concluye si hay concurrencia microbiana y que por más limpieza que se efectúe no se puede eliminar produciéndose daño en los productos, es aquí donde se proceden a cambiar los desinfectantes por otros con mayor espectro de acción, diferente mecanismo de acción y claro está dependiendo del microorganismo resistente.

La temperatura del agua con la que se preparan las diluciones del desinfectante es un factor clave ya que al aumentar la temperatura se va a favorecer la velocidad de eliminación de la carga microbiana para algunos desinfectantes sin embargo existen excepciones como en el caso del yodo que ha temperaturas sobre los 50 grados pierde su actividad lo que no sucede con los amonios cuaternarios. (Rojas, 2007, p 43)

Tenemos la creencia de que una mayor concentración indicada puede llegar a matar la mayor cantidad de microorganismo pero al igual que sucede con el tiempo de contacto la concentración del desinfectantes llegará a tal punto que por más concentración de desinfectante que exista la acción biocida no aumentará y será simplemente un desperdicio del producto y se producirá un mayor problema al querer eliminarlo del sistema y del medio ambiente. (Troya, 2007, pp 8-14).

CONCLUSIONES

Se evaluó y validó un amonio cuaternario de quinta generación “Pentaquat” y un compuesto yodado “Chemlok I 1.75” en la desinfección de las áreas de producción de queso y yogurt en la empresa Prasol Lácteos Santillán, mediante el análisis oficial de validación para desinfectantes conocido como coeficiente fenólico, el cual permite determinar la eficiencia bactericida de una sustancia o compuesto químico con relación al fenol y se encuentra validada por la AOAC (Official Methods of Analysis).

Se aplicó la técnica de difusión en placa la cual nos permitió identificar el poder germicida de los desinfectantes estudiados, mediante la observación de los halos de inhibición identificamos la concentración idónea a la cual los desinfectantes cumplen su acción biocida y guarda relación con el coeficiente fenólico.

La concentración resultante de evaluación para “Pentaquat” fue de 175 ppm y para el desinfectante yodado “ChemlokI-1.75” fue de 62 ppm que mostraron eficacia al eliminar los tres tipos de microorganismos estudiados como son *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* a estas concentraciones.

Al comparar los dos desinfectantes por su CF (coeficiente fenólico) se da a conocer que tanto el amonio cuaternario “Pentaquat” como el desinfectante a base de yodo “Chemlok I-1.75” cumplen eficazmente con su actividad germicida.

Mediante la verificación *in situ* se determinó el porcentaje de eliminación siendo 100 % lo que nos permite decir que los desinfectantes estudiados cumplen su actividad biocida frente *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*.

Se elaboró la evidencia documentada de la validación para los dos desinfectantes estudiados en la empresa de Lácteos Santillán Prasol que les proporcionará confianza al implementarlos en la empresa y seguridad al momento de presentar en auditorías BPMs.

RECOMENDACIONES

Se debe tomar en cuenta que no todo depende del desinfectante a utilizar sino también del método de sanitización ya que de estos procesos dependerá la eficacia del desinfectante.

Si bien es conocido que para algunos desinfectantes el aumento de temperatura puede hacer que aumente su eficacia sin embargo se recomienda prepararlos a temperatura ambiente ya que podemos llegar a elevar demasiado la temperatura ocasionando que se degrade el principio activo o no conocer la naturaleza de la sustancia ocasionando perjudicar la actividad germicida.

Se recomienda realizar un análisis microbiológico exhaustivo en la planta para identificar que otros microorganismos están presentes en las áreas que podrían deteriorar los productos.

En caso de adquirir otros desinfectantes se deberá realizar otras validaciones para garantizar que los químicos vayan a ejercer su efecto deseado y no arriesgar a producir biofilms dando mayor resistencia bacteriana.

Hay que tomar en cuenta que todo equipo por más pequeño e insignificante parezca se le debe dar la limpieza adecuada ya que se podría producir contaminaciones cruzadas y errores al juzgar el problema de contaminación.

BIBLIOGRAFÍA

1. **ACOSTA, I; VALLEY, M.** “Validación de desinfectate”. Congreso brasileño. Asociación brasileña de enfermedades de centro quirúrgico y centro de material esterilizado SOBECC. 2011
2. **ALDEBARÁN.** *Productos químicos para industria de defensa.* [blog]. [Consulta: 29 Mayo 2015]. Disponible en: <http://web.aldebaransistemas.com/index.php/es/contacto/solicitud-de-informacion/13-blog>
3. **AOAC.** Official Methods of analysis of AOAC international. Vol 1. Association of Official Analytic Chemist. 17 ava edición. 2000. pp 133-135.
4. **BARRERA, M.** *Validar la prueba de esterilidad mediante la técnica de filtración por membrana y determinar pirógenos en el producto farmacéutico inyectable “Intravit® 10.000 blispack” de GINSBERG ECUADOR S.A.* (Tesis pregrado). Bioquímico farmacéutico. Escuela Bioquímica. Facultad Ciencias. Ecuador. 2013. pp. 4-12.
5. **BELTRÁN, C.** *Evaluación del sistema de limpieza y desinfección de la empresa Productos de antaño S.A.* (Tesis pregrado). Microbióloga Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad Ciencias. Microbiología Industrial. Bogotá. 2009. pp 28-38.
6. **BETANCOURTH, M; BOTERA, J; RIVERA, S.** “Biopelículas: una comunidad microscópica en desarrollo”. *Revista Colombia Médica*; Vol 35 (Supl 1). (2004). (Colombia). pp. 34- 39
7. **CABRERA, C; GÓMEZ, R; ZÚÑIGA, A.** “La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación”. *Revista Colombia Médica*; Vol. 38 N° 2. (2007). (Colombia). pp. 149-158.
8. **CERVANTES, E; GARCÍA, R; SALAZAR, P.** “Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica*; 61 (1). (2014). pp. 28-40.

9. **CHACHA, E.** *Implementación de un sistema de limpieza y desinfección en los criaderos de mantenimiento y maternidad del bioterio de la Facultad de Ciencias* (Tesis pregrado) Bioquímico Farmacéutico. [en línea]. Escuela de bioquímica y Farmacia. Facultad de Ciencias. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador. 2014. pp 22-29.
10. **CRESPO, L.** *Reingeniería del Sistema de Limpieza y Sanitización por el método CIP para las envasadoras de Bebidas Gaseosas.* (Tesis pregrado). Ingeniero de Alimentos. [en línea]. Facultad ingeniería Mecánica y Ciencias de la producción. Escuela superior politécnica del litoral. Guayaquil. Ecuador. 2009. pp. 16-17. [Consulta: 22 Noviembre 2014]. Disponible en: http://www.cib.espol.edu.ec/Digipath/D_Tesis_PDF/D-39740.pdf
11. **DELGADO, E.** *Elaboración y documentación del programa de limpieza y desinfección de los laboratorios del departamento de microbiología de la Pontificia Universidad Javeriana.* (Tesis pregrado). Microbióloga Industrial. [en línea]. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad Ciencias. Microbiología Industrial. Bogotá. 2006. pp 28-31; 40-42. [Consulta: 22 Diciembre 2014]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis281.pdf>
12. **ELIKA,** *Limpieza y Desinfección.* [en línea] Fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria 2003. [Consulta: 22 Diciembre 2014]. Disponible en http://www.elika.eus/datos/formacion_documentos/Archivo17/14.Limpieza%20y%20desinfecci%C3%B3n.pdf
13. **FORERO, R, & PIEDRAHITA, D.** *Análisis y evaluación de los procesos de limpieza manual de equipos de manufactura en una industria nutracéutica.* (Tesis pregrado) Microbióloga Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad Ciencias. Microbiología Industrial. Florida-Estados Unidos de América. 2008. pp 33-38
14. **FUENTES, F.** *Presencia de Biofilm en la Industria Alimentaria.* [en línea] del portal de la universidad de Mayaguez: Consultorias HACCP asesorías e implementación. [Consulta: 29 Mayo 2015]. Disponible en <http://haccpconsultores.blogspot.com/2012/05/presencia-de-biofilm-en-la-industria.html>

15. **FUENTES, M.** *Limpieza y desinfección de la industria alimentaria.* [en línea]. de Empresa y Limpieza.. [Consulta: 22 Noviembre 2014]. Disponible en: http://empresaylimpieza.com/not/862/limpieza_y_desinfeccion_en_la_industria_alimentaria/
16. **HERNÁNDEZ, A.** *Aportaciones al estudio de la actividad antimicrobiana de los antisépticos y desinfectantes.* (Tesis de doctorado). Biología. [en línea]. Universidad Autónoma de Barcelona. Facultad Ciencias. Departamento de Genética y microbiología. España. Barcelona. 2006. pp. 64-72. [Consulta: 22 Diciembre 2014]. Disponible en: <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/3898/ahr1de1.pdf;jsessionid=78721C0163A0878177FE96D572579964.tdx2?sequence=1>
17. Importancia de la higiene en la industria alimentaria- Betelgeux [videgrabación], España: empresa especializada en la higiene industrial y ganadera, 2012. (5.08 min). [Consulta: 22 Diciembre 2014]. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=8SOyK0NDzE4&hd=1>
18. **INAL** Instituto Nacional de Alimentos. *Guía de Interpretación de Resultados Microbiológicos de Alimentos ANMAT. Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y tecnología médica.* [en línea] 2004. [Consulta: 22 Diciembre 2014]. Disponible en: www.analizacalidad.com/arm2004-4.pdf
19. **INSHT** Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, *Desinfectantes: características y usos más corrientes,* [en línea]. España. 1999. [Consulta: 29 Mayo 2015]. Disponible en: http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/401a500/ntp_429.pdf
20. **ISPCH** Instituto de Salud Pública de Chile. *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición "Aspectos generales sobre la validación de métodos".* [en línea]. Chile. 2010. [Consulta: 29 Mayo 2015]. Disponible en: http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2010/12/Guia%20T%C3%A9cnica%20de%20validaci%C3%B3n%20de%20M%C3%A9todos%20y%20determinaci%C3%B3n%20de%20la%20incertidumbre%20de%20la%20medici%C3%B3n_1.pdf

21. **JCGM** Committee for Guides in Metrology, International Vocabulary for Basic and General Terms in Metrology: 2008
22. **LATORRE, J.** *Limpieza y sanitización de proceso, almacenamiento y servicio de alimentos.* [en línea]. del portal de la universidad de Mayaguez: 2013. [Consulta: 25 Mayo 2014]. Disponible en: <http://www.uprm.edu/cita/iaaa/listeria/media/prac/esp/8%20Limpieza%20Establecimientos%20de%20venta%20al%20detal.pdf>
23. **LÓPEZ, L; ROMERO, J; URETA, F.** “Acción germicida in vitro de productos desinfectantes de uso en la industria de alimentos.” *Revista Scielo.* [en línea], 2002. (Venezuela). V:52 (1). [Consulta: 11 de Enero 2015]. 0004-0622. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222002000100011
24. **LORENZO, P; MORENO, A; LISASOAIN, I; LEZA, C; MORO, M; PORTOLÉS, A.** Velázquez Farmacología Básica y Clínica, 18ava Edición. Editorial Madrid Médica Panamericana. Buenos Aires. 2008. pp 889-890.
25. **MAHMUD, J.** *Normas de Calidad en la industria alimentaria a nivel europeo e internacional. Implantación, problemáticas y desarrollo.* (Tesis de doctorado). Farmacia. [en línea]. Universidad de Granada. Facultad Ciencias. Granada. 2009. pp. 13-19. [Consulta: 22 Diciembre 2014]. Disponible en: <http://hera.ugr.es/tesisugr/16591604.pdf>
26. **MI REVISTA MÉDICA.** *Conceptos generale.* [En línea]. 2015. [Consulta: 2 Mayo 2015]. Disponible en: <http://mirevistamedica.net/Antiinfeciosos.php>
27. **OMS.** *Medicamentos esenciales y productos de Salud.* [en línea]. Portal de información. 2004. [Consulta: 29 Mayo 2015]. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Js5422s/19.html#Js5422s.19.1>
28. **PIERA, G.** *Estudio del Biofilms su Formación y Consecuencias.* [en línea] Escuela de prevención y seguridad industrial. 2003, pp 17-21. [Consulta: 29 Mayo 2015]. Disponible en: http://www.adiveter.com/ftp_public/A1070308.pdf

29. **PRASOL** Empresa lácteos Santillán. Reglamento interno de seguridad laboral. 2014
30. Presidencia Gustavo Noboa Bejarano. Reglamento de buenas prácticas para alimentos procesados. Decreto ejecutivo 3253. 2002.
31. **RESOLUCIÓN MINISTERIAL 571**. Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas. Lima. Perú. 2007.
32. **ROJAS, C.** *Evaluación de cuatro desinfectantes sobre Listeria monocytogenes aisladas de productos cárnicos crudos de una planta de procesados en Bogotá.* (Tesis pregrado). Microbiología Industria. Carrera Microbiología Industrial. Facultad ciencias. Colombia. 2007. p 43.
33. **RUEDA, J; AMIGOT, A; DUCHA, J.** “Evaluación de desinfectantes de amonio cuaternario sobre cepas bacterianas de origen animal”. *Revista Ciencia y tecnología*; Off. int. Epiz., 22 (3). (2003). pp. 1097-1104. [Consulta: 05 Enero 2015]. Disponible en: <http://www.oie.int/doc/ged/d569.pdf>
34. **SCFARMCLIN.** *Compuesto de amonio cuaternario.* [en línea]. Sociedad Catalana de Farmacia Clínica. 2015. [Consulta: 9 Mayo 2015]. Disponible en: <http://www.scfarmclin.org/docs/higiene/part4/434.pdf>
35. **SECRETARIA DE SALUD, SUBSECRETARIA DE REGULACIÓN Y FOMENTO SANITARIO 968-811-132-5.** *Manual de Buenas Prácticas de Higiene y Sanidad,* México D.F. 1999, pp 38-53.
36. **SOLER, J.** *Validación secundaria del método de número más probable y recuento en placa profunda para coliformes totales y fecales en muestras de alimentos basada en la norma ISO NTC 17025.* (Tesis pregrado). Microbióloga Industrial. [en línea]. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad Ciencias. Microbiología Industrial. Bogotá. 2006. pp 4-8. [Consulta: 2 Octubre 2014]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis273.pdf>

37. **TABOADA, A; SÁNCHEZ, E; CAVA, R; LÓPEZ, A.** “Efectividad de desinfectantes de superficies de los equipos en instalaciones de envasado de productos listos para su consumo”, V Congreso iberoamericano de tecnología pos cosecha y agroexportaciones. 2007.
38. **TORRES CABALLERO, A.; PERALTA, O; VALDEZ, T.** “Guía para la confección de programas de limpieza y desinfección en establecimientos de alimentos”. *Revista cubana Alimento Nutricional*; 16 (1). (2002), (Cuba). pp 77-80.
39. **TORRES, N.** *Evaluación de los desinfectantes utilizados en el proceso de limpieza y desinfección del área de fitoterapéuticos en laboratorios Pronabell Ltda.* (Tesis pregrado). Microbióloga Industrial. [en línea]. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad Ciencias. Microbiología Industrial. Bogotá. 2008. pp 17-24; 34-36. [Consulta: 12 Diciembre 2014]. Disponible en: <http://repository.javeriana.edu.co/bitstream/10554/8246/1/tesis232.pdf>
40. **TROYA, J.** *Evaluación de la efectividad de los desinfectantes Divosan Forte y MH en la desinfección de equipos y áreas de trabajo en la empresa procesadora de helados.* (Tesis pregrado). Microbióloga Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad Ciencias. Microbiología Industrial. Bogotá. 2007. pp 8-14. [Consulta: 2 Octubre 2014]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis280.pdf>
41. **UNAD. (2000).** *Limpieza.* [en línea]. , de Uversidad Nacional Abierta y a Distancia. 22 Enero 2014. [Consulta: 22 Noviembre 2014]. Disponible en: http://datateca.unad.edu.co/contenidos/211618/EXELARNING/leccin_5_limpieza.html
42. **UPM.** *Requisitos del APPCC.* [blog]. Universidad Politécnica de Madrid.[Consulta: 2 Mayo 2015]. Disponible en: <http://ocw.upm.es/tecnologia-de-alimentos/seguridad-alimentaria/contenidos/Lecciones-y-Test/Lec-3.1.pdf>
43. **VILLALOBOS, L.** “Caracterización de cepas de *Escherichia coli* enteroinvasiva en un producto cárnico”. *Revista Científica*; Vol. XIII, N° 1. (2003). pp 7-11

ANEXO A: Ficha técnica del desinfectante CHEMLOK I-1,75

CHEMLOK I-1,75

DESCRIPCION

Chemlok I - 1,75 es un complejo desinfectante, limpiador, sanitizante, fungicida, virucida, desodorizante que contiene como ingrediente activo un complejo yodóforo, autorizado por la **FDA (Food and Drug Administration) de USA Ref. 21 CFR 178, 1010**, como aditivo indirecto de alimentos.

Chemlok I - 1,75 posee registro EPA (Environmental Protection Agency) N° 6836 - 81 (en USA)

FORMULA DE COMPOSICION

ALPHA-(P-NONYLPHENYL)-OMEGA-HYDROXPOLY
(OXYETHYLENE) - IODINE COMPLEX

(PROVIDING 1.75% TITRATABLE IODINE)	18,05 %
INGREDIENTES INERTES	81,95 %
	100,00 %

DESINFECCION AGUA DE RIEGO (Aspersión o goteo)

El agua que se utiliza para riego en agricultura, generalmente contiene microorganismos patógenos (procedentes de heces humanas y de animales), que implican mayor uso de plaguicidas. Chemlok I-1.75 disminuye la carga bacteriana con mínimas dosificaciones.

De 5 a 12 ppm. de activo (yodo disponible). Esto significa dosificar 30 a 70 ml. de Chemlok I-1.75 por cada 100 litros de agua de riego.

DESINFECCION DE FRUTAS ANTES DE EMPACAR

Las frutas y hortalizas que se consumen en crudo requieren la reducción de microorganismos a niveles que no perjudiquen la salud humana por lo que se debe aplicar Chemlok I-1.75 que al mismo tiempo incrementa la vida en exhibición o refrigeradora de frutas y hortalizas.

Utilizar un baño de 50 a 100 ml. de Chemlok I-1.75 por cada 100 litros de agua (proporciona 8,75 a 17.5 ppm. de yodo disponible), con la solución en movimiento y por espacio mínimo de 10 minutos (no requiere enjuague). Cuando la solución se torne turbia desecharla y poner una nueva.

Se recomienda en la Hacienda o Granja, mantener un nivel de Limpieza e Higiene que procure un producto de mejor calidad. Para ello se hace necesario disponer de letrinas y los accesorios adecuados (agua, jabón, papel higiénico, etc.) para uso del personal de cultivo y cosecha.

De igual forma los galpones donde se cosecha, las jabas para recoger los productos y los camiones del transporte, deben estar limpios y desinfectados. Asimismo las manos del personal de cosecha y empaque (también los instrumentos de corte de la cosecha) y vestir ropa limpia y desinfectada. Consulte con nuestra Empresa para recomendarle los productos más efectivos y económicos

INSTRUCCIONES EN CASO DE ACCIDENTE

En caso de contacto con los ojos o piel, inmediatamente échese abundante agua durante 15 minutos.

De penetrar mayores cantidades en el ojo, proceda como en el caso anterior y llame a un médico.

En el caso de ingerir el producto beber gran cantidad de leche, clara de huevo o gelatina. De no disponer de lo anterior ingiera gran cantidad de agua. Llamar al médico (nunca ingerir alcohol). La ropa de trabajo contaminada, debe ser removida y lavada antes de volver a usar.

NOTA AL MEDICO: Probable daño mucosal, puede ser contraindicado el uso de lavado gástrico.

Puede ser necesario tomar medidas contra shock circulatorio o depresión circulatoria.

NOTA: La información contenida en esta hoja técnica, ha sido elaborada de acuerdo con la documentación sobre el tema. El fabricante y el vendedor de este producto, garantizan exclusivamente la formulación del

mismo . Por estar fuera del control del fabricante la aplicación del producto, que cada cliente hace de manera individualizada, los resultados son exclusiva responsabilidad del usuario.

Contiene como ingrediente activo un complejo iodoforo, autorizado por la **FDA (Food and Drug Administration de USA) Ref.21 Cfr 178,1010**, como aditivo indirecto de alimentos.

GUARDESE FUERA DEL ALCANCE DE LOS NIÑOS

Registro EPA N° 6836 - 81

Contenido: 4, 20 y 220 kilos

Lote No.: 97134

Fecha de elaboración:

Fecha de expiración:

NORMAS DE PROTECCION:

Al preparar la solución de uso partiendo del producto concentrado, usar gafas para los ojos, guantes de caucho para protección de manos y mascarilla sencilla para la boca. Evite contaminar los alimentos con el producto concentrado

INSTRUCCIONES EN CASO DE ACCIDENTE:

En caso de contacto con los ojos o piel, inmediatamente echese abundante agua durante 15 minutos.

De penetrar mayores cantidades en el ojo, proceda como en el caso anterior y llame a un médico.

En el caso de ingerir el producto beber gran cantidad de leche, clara de huevo o gelatina. De no disponer de lo anterior ingiera gran cantidad de agua. Llamar al médico (nunca ingerir alcohol). La ropa de trabajo contaminada, debe ser removida y lavada antes de volver a usar.

NOTA AL MEDICO: Probable daño mucosal, puede ser contraindicado el uso de lavado gástrico.

Puede ser necesario tomar medidas contra shock circulatorio o depresión circulatoria.

INDUSTRIA ALIMENTICIA

Aplicar con un paño, trapeador, o pulverizador (spray). Cuando se use un pulverizador debe quedar la superficie a tratar completamente húmeda, una solución fresca debe ser preparada a diario o cuando se encuentre visiblemente turbia por el uso intensivo.

AREAS QUE NO TIENEN CONTACTO DIRECTO CON ALIMENTOS: (Desinfección).

Paredes, mesones, fregaderos, cámaras frigoríficas, camiones frigoríficos y otras superficies rígidas y NO porosas.

Si las superficies contienen suciedad, previa la desinfección se procederá a una completa limpieza con un buen detergente . Enjuague con abundante agua y dejar escurrir.

Aplicar CHEMLOK I-1,75 en la proporción de 4 cc. por cada litro de agua (62 ppm. de yodo disponible). La solución deberá PERMANECER POR LO MENOS 10 MINUTOS y permita SECAR al aire. No requiere enjuague final.

AREAS EN CONTACTO DIRECTO CON ALIMENTOS: (Sanitización)

Mesones, equipos y utensilios utilizados en el procesamiento del camarón, pescado, carne, aves, restaurantes y alimentos en general. Limpiar profundamente estos elementos, haciendo uso si es preciso de espátulas, agua a presión, etc.

Aplique CHEMLOK I-1,75 por inmersión o a presión 1,6 cc. por cada litro de agua (25 ppm de yodo disponible) permaneciendo por espacio de 1-2 minutos y dejando secar al ambiente.

No requiere enjuague.

Esta misma solución (25 ppm) puede ser aplicada sin enjuague para:

- Desinfección de pescado al retirarlo de las sentinas del barco.
- Sanitización de manos, mandiles , calzado y guantes del personal que ingresa a la planta
- Desinfección de frutas y verduras que se ingieran crudas (para eliminar las amebas y otros elementos patógenos).

ANEXO B: Ficha técnica del desinfectante Pentaquat.

		FICHA TÉCNICA LIMPIADORES Y DESINFECTANTES		LD-3441
<p>NOMBRE: PENTAQUAT</p> <p>CODIGO: 3441</p> <p>DESCRIPCION: PENTA QUAT es un novedoso sanitizante a base de sales cuaternarias de amonio de <i>Quinta Generación</i> al 10%, formulado para la desinfección de equipos y superficies de contacto directo con el alimento. PENTA QUAT tiene propiedades bactericidas y deodorizantes vanguardistas, siendo muy seguro en su aplicación, versátil con diferentes durezas de aguas y noble al medio ambiente.</p>				
USOS- APLICACIONES		PROPIEDADES FÍSICO QUÍMICAS		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Desinfección de equipos de contacto directo. ▪ Desinfección ambiental. ▪ Desinfección de cuartos fríos. ▪ Desinfección de vehículos. ▪ Activación de charca sanitaria. ▪ Destrucción de bacterias termodúricas. ▪ Deodorizante, ideal para nebulización de ambiente. ▪ Desinfección de metales suaves y aluminio. ▪ Desinfección de guantes. ▪ Remoción de biocapa bacteriana (biofilms). 	ASPECTO	LÍQUIDO		
	COLOR	INCOLORO		
	OLOR	CARACTERÍSTICO		
	PH SOLUCIÓN AL 1%	7.00-9.50		
	ESPUMOSIDAD	MEDIA		
	BIODEGRADABILIDAD	SI		
	FOSFATOS	NO		



Social en su progreso.

FICHA TÉCNICA LIMPIADORES Y DESINFECTANTES

LD-3441

DOSIFICACIONES	MANEJO Y ALMACENAMIENTO
<p>Sin enjuague posterior: 2mL de PENTA QUAT por cada L de agua.</p> <p>Con enjuague posterior: 4mL de PENTA QUAT por cada L de agua.</p>	<p>Almacene en lugar seguro que esté aislado, ventilado, seco, fresco y sombreado. No deje destapado el envase. No lo deje al alcance de los niños.</p> <p>Evite contaminar alimentos, materia prima y material de empaque; tampoco contamine arroyos, ríos, lagos, lagunas, estanques, manantiales, mantos freáticos, mares ni océanos. Los derrames en piso deben absorberse con arena y los remanentes en piso deben neutralizarse con vinagre antes de enjuagarse a alcantarilla. No reutilice el envase. El fabricante no se responsabiliza del mal uso que se le dé al producto</p> <p>Lea cuidadosamente la hoja de seguridad del producto.</p>

HOJA DE SEGURIDAD

1- IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO QUÍMICO Y DE LA COMPAÑÍA MANUFACTURERA

Nombre del producto: PENTA QUAT	Teléfonos para emergencias:
Código del producto: ---	Transportación:
Diken de México	CHEMTREC (800) 422-9300
Av. Ind. Automotriz 3043	Otros asuntos:
	DIKEN 01 (844) 488-2696

2.- COMPOSICIÓN E INFORMACIÓN DE LOS INGREDIENTES

CAS#	Componente:
60424-95-3	n-Alkyl Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride. 5.0 %
60424-85-1	Dialkyl Dimethyl Ammonium Chloride. 5.0 %

3.- PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS

Revisada y aprobada por	Versión: 5
Directora Técnica	Fecha de aprobación: 2011-05-17
Versión N° 5 2009-07-03	FO-ID-20

TECNAS S.A. web: www.tecnas.com.co e-mail: investigacion@tecnas.com.co
 CRA 50G 12 sur – 29 Teléfono: (57)(4) 2654290, (57)(4) 2658290, Fax: (57)(4) 2553608, A.A. 51040
 MEDELLIN-COLOMBIA-SUR AMERICA

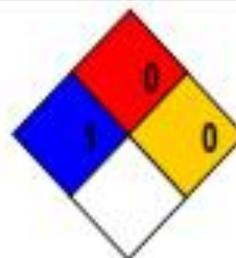


Socios en su progreso.

FICHA TÉCNICA LIMPIADORES Y DESINFECTANTES

LD-3441

Aspecto físico: líquido
 Color: incoloro
 Olor: característico
 Ebullición: 100-120 °C
 Congelación: no determinado
 Solubilidad en agua: completa
 pH@1%w/v: 7.00-9.50
 Gravedad específica: 0.990-0.995
 Presión de vapor: no determinada
 Densidad de vapor: >1
 Grado de evaporación: <1



NOMECLATURA DE LA NATIONAL FIRE PROTECTION AGENCY

ROJO - INFLAMABILIDAD	AZUL - SALUD	AMARILLO - REACTIVIDAD	BLANCO - ESPECIALES
4 Punto flash < 23°C	4 Mortal	4 Detonable	ACID -ácido
3 Punto flash < 23°C y < 38°C	3 Extremadamente peligroso	3 Detonable con golpe de calor	ALC -alcalino
2 Punto flash > 38°C y < 60°C	2 Peligroso	2 Susceptible a cambio brusco	CORP -corrosivo
1 Punto flash > 60°C	1 Levemente riesgoso	1 Inestable si se somete a calor	OXY -oxidante
0 No combustible	0 Insignificadamente riesgoso	0 Estable	P -polimerizable
			W -no usa agua
			* -radioactivo

4.- PARÁMETROS DE MEDICIÓN DE LA INFLAMABILIDAD

Punto flash: no aplica

Medios de extinción: agua, dióxido de carbono, polvo químico seco, espuma.

Procedimientos especiales: siempre que combata el fuego vista traje provisto de su propio suministro de aire.

Riesgos asociados al fuego: liberación de gases de dióxido y monóxido de carbono (tóxicos) y de óxido de nitrógeno (tóxico) durante la combustión.

5.- REACTIVIDAD

Estabilidad: este producto deberá mantener sus características físicas, mientras se almacene en recipiente cerrado y a temperaturas modo entre -2 °C y +40°C.

Riesgo de polimerización: este producto no se polimeriza en condiciones de almacenaje y uso.

Materiales incompatibles: surfactantes aniónicos, oxidantes (especialmente blanqueadores clorados), y alcalinos fuertes.

Productos de descomposición: gases de dióxido y monóxido de carbono (tóxicos), y óxido de nitrógeno (tóxicos), son liberados durante la combustión; gas cloruro de hidrógeno (tóxico por arriba de ciertos límites) se libera con temperatura elevada.

6.- EFECTOS POTENCIALES CONTRA LA SALUD

Ruta de entrada: inhalación / contacto con piel / contacto con ojos / ingestión.

Inhalación aguda / crónica: los ingredientes de este producto son tóxicos cuando son inhalados; Una exposición aguda mas a de lo establecido puede resultar en reacciones alérgicas en individuos susceptibles. Los síntomas varían, pero incluyen el desarrollo de sarpullido, irritación nasal u ocular, mayor sensibilidad ambiental, dificultad para el resuello, fiebre y desorientación.

Contacto agudo / crónico con la piel: al menos uno de los ingredientes de esta formulación puede ser absorbido por el cuerpo humano, aún con una exposición limitada al mismo. El producto concentrado y aún diluido es fuertemente irritante. Pueden ocasionarse quemaduras si la exposición no se mitiga. Exposiciones crónicas contribuyen a la dermatitis o a agravar condiciones de la piel.

Contacto agudo / crónico con los ojos: causa irritación al contacto. Posible daño a la córnea si se alarga el tiempo de exposición.

Ingestión: tóxico al ser ingerido. Dañino y fatal si es deglutido.

7.- PRIMEROS AUXILIOS

Inhalación: aleje del área de exposición. Administre oxígeno si la respiración es trabajosa. Aplique técnica de resucitación en

Revisada y aprobada por	Versión: 5
Directora Técnica	Fecha de aprobación: 2011-05-17
Versión Nº 5 2009-07-03	FO-ID-20

TECNAS S.A. web: www.tecnas.com.co e-mail: investigacion@tecnas.com.co
 CRA 50G 12 sur - 29 Teléfono: (57)(4) 2554290, (57)(4) 2556290, Fax: (57)(4) 2553008, A.A. 51040
 MEDELLÍN-COLOMBIA-SUR AMERICA



Tecnas

Sociedad en su progreso.

**FICHA TÉCNICA
LIMPIADORES Y DESINFECTANTES**

LD-3441

de ser necesario. Consiga ayuda médica de inmediato.

Contacto con la piel: lave rápidamente las áreas afectadas usando jabón si es posible. No vista la ropa que se haya contaminado sin haberla lavado antes. Destruya los zapatos contaminados. Si hay irritación acuda a un facultativo.

Ingestión: no induzca al vómito. Si el paciente está consciente dele a beber leche o agua. Nunca de nada en la boca de una persona inconsciente. Consiga ayuda médica de inmediato.

8.- MEDIDAS EN CASO DE DERRAME ACCIDENTAL

Los derrames de este producto dejan charcos resbalosos. Prevenga la contaminación de comida, alimento y ríos. Intente recuperar en un recipiente limpio, para rehusar producto si es posible. Simultáneamente utilice material absorbente, tal como arcilla, arena o absorbente comercial. Deposite esto en un contenedor específico de desechos. El remanente en el piso puede enjuagado al drenaje.

9.- CONSIDERACIONES DE LAS DISPOSICIONES QUE APLICA PARA EL DESECHO DE LOS RESIDUOS.

Disponga un terreno o espacio acondicionado para ello, que esté de acuerdo a las normas y regulaciones vigentes en la local y también las que sancione el Estado y la Federación.

10.- MANEJO Y ALMACENAMIENTO

No contamine alimento, comida ni fuentes de agua natural; evite contacto con materia orgánica. Mantenga cerrados los recipientes mientras no se usen. Almacene en lugar fresco y seco. El proveedor no se responsabiliza del uso de este producto. No rehus contenedor. Equipe el área con una estación de lavado de ojos y con ducha para casos de emergencia.

11.- CONTROLES A LA EXPOSICIÓN / PROTECCIÓN PERSONAL



Gafas de seguridad



Gaútes Impermeables



Mandil sintético

Revisada y aprobada por	Versión: 5
Directora Técnica	Fecha de aprobación: 2011-05-17
Versión Nº 5 2009-07-03	FO-ID-20

TECNAS S.A. web: www.tecnas.com.co e-mail: investigacion@tecnas.com.co
CRA 50G 12 sur – 29 Teléfono: (57)(4) 2554290, (57)(4) 2556290, Fax: (57)(4) 2553806, A.A. 51040
MEDELLIN-COLOMBIA-SUR AMERICA.

ANEXO C: Coeficiente fenólico utilizando *Staphylococcus aureus*.

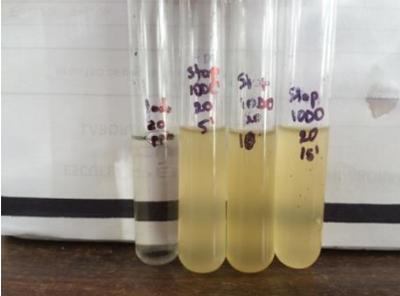
a) Comportamiento de *Staphylococcus aureus* cepa 6538 con respecto al fenol.

FENOL	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
1/70			
1/80			

Realizado por: Myriam Morales, 2015

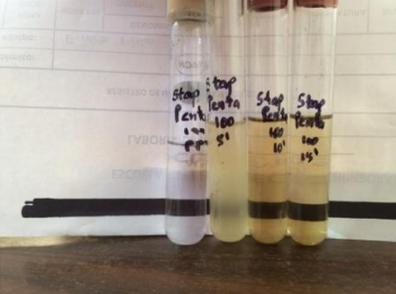
b) Comportamiento de *Staphylococcus aureus* cepa 6538 con respecto compuesto yodóforo “Chemlok I-1.75”

YODÓFORO	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
25 ppm			

20 ppm			
---------------	--	--	--

Realizado por: Myriam Morales, 2015

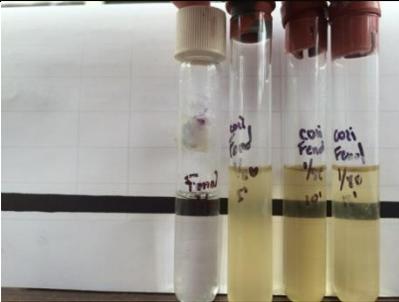
c) Comportamiento de *Staphylococcus aureus* cepa 6538 con respecto al amonio cuaternario de quinta generación “Pentaquat”.

PENTAQUAT	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
100 ppm			
75 ppm			

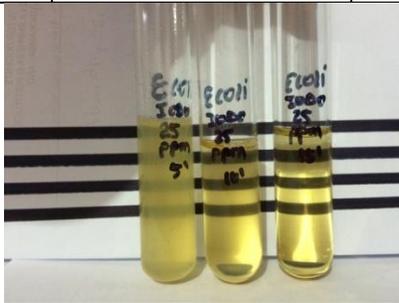
Realizado por: Myriam Morales, 2015

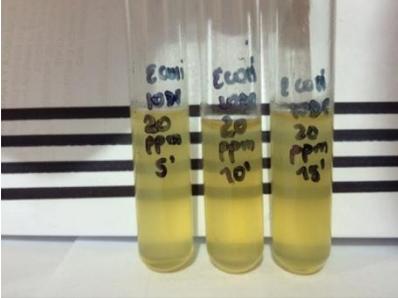
ANEXO D: Coeficiente fenólico utilizando *Escherichia coli*.

a) Comportamiento de *Escherichia coli* cepa 10536 con respecto al fenol.

FENOL	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
1/80			
1/90			

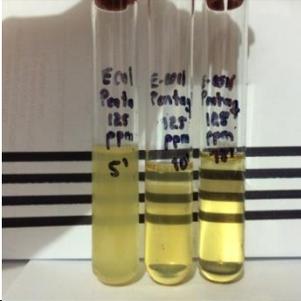
b) Comportamiento de *Escherichia coli* cepa 10536 con respecto compuesto yodóforo.

YODÓFORO	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
25 ppm			

20 ppm	
---------------	--

Realizado por: Myriam Morales, 2015

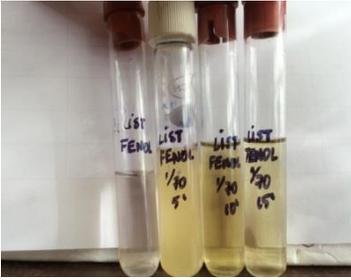
c) Comportamiento de *Escherichia coli* cepa 10536 con respecto al amonio cuaternario de quinta generación “Pentaquat”.

PENTAQUAT	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
125 ppm			
100 ppm			

Realizado por: Myriam Morales, 2015

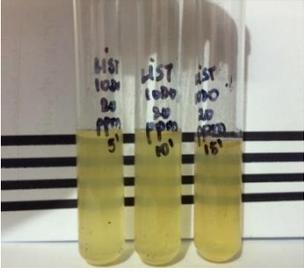
ANEXO E: Coeficiente fenólico utilizando *Listeria monocytogenes*.

a) Comportamiento de *Listeria* 19115 con respecto al fenol.

FENOL	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
1/70			
1/80			

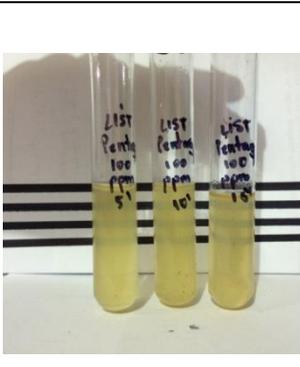
Realizado por: Myriam Morales, 2015

b) Comportamiento de *Listeria* 19115 con respecto compuesto yodóforo.

YODÓFORO	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
25 ppm			
20 ppm			

Realizado por: Myriam Morales, 2015

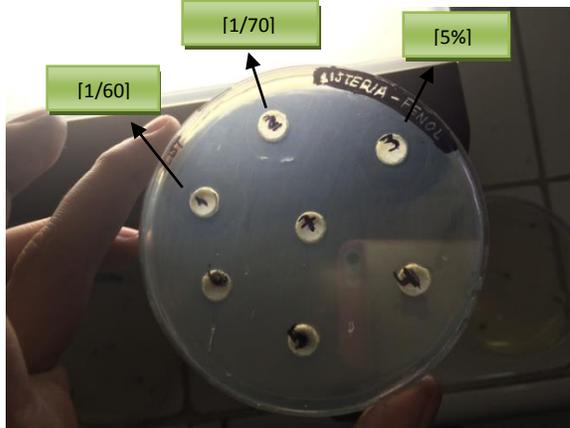
c) Comportamiento de *Listeria* 19115 con respecto al amonio cuaternario de quinta generación “Penataquat”.

PENTAQUAT	5 MINUTOS	10 MINUTOS	15 MINUTOS
125 ppm		 <p>Three test tubes containing a yellowish turbid liquid. The labels on the tubes are: 'LIST Penta 125 ppm 5', 'LIST Penta 125 ppm 10', and 'LIST Penta 125 ppm 15'. The tubes are held against a background with horizontal black lines.</p>	
100 ppm		 <p>Three test tubes containing a yellowish turbid liquid. The labels on the tubes are: 'LIST Penta 100 ppm 5', 'LIST Penta 100 ppm 10', and 'LIST Penta 100 ppm 15'. The tubes are held against a background with horizontal black lines.</p>	

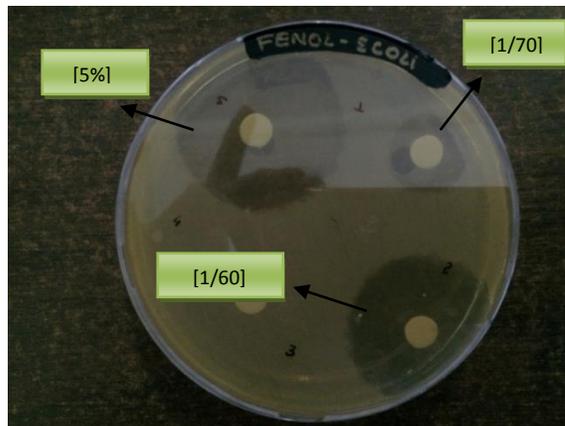
Realizado por: Myriam Morales, 2015

ANEXO F: Difusión en placa con fenol

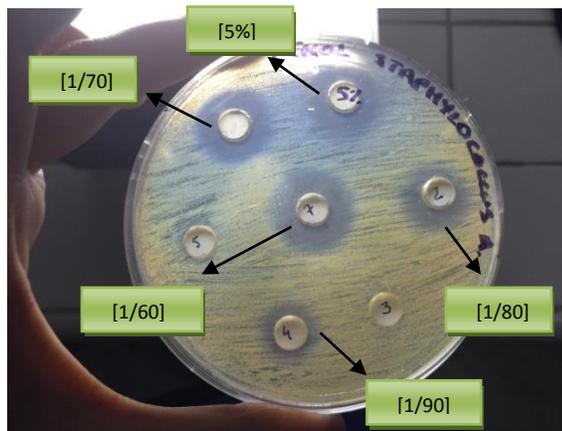
DIFUSIÓN EN PLACA CON FENOL



Listeria



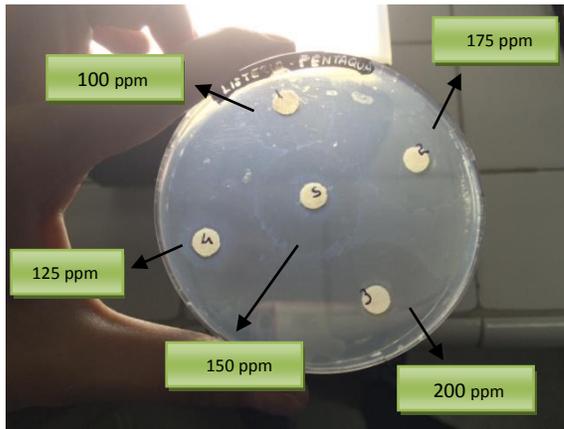
Escherichia coli



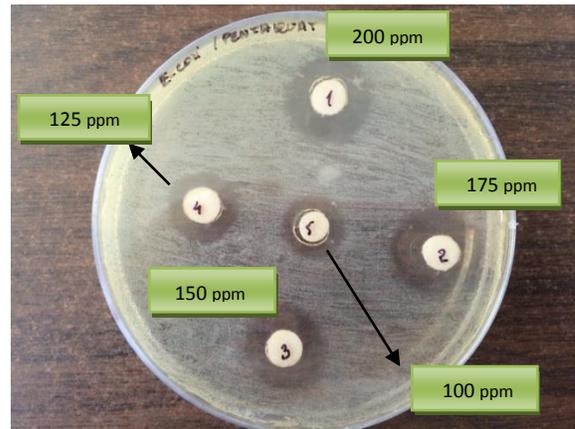
Staphylococcus aureus

ANEXO G: Difusión en placa con un amonio cuaternario de quinta generación a diferentes concentraciones.

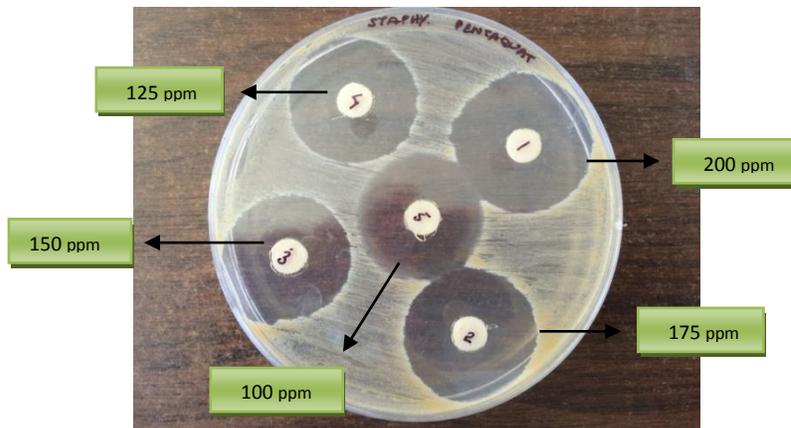
DIFUSIÓN EN PLACA CON UN AMONIO CUATERNARIO DE QUINTA GENERACIÓN A DIFERENTES CONCENTRACIONES.



Listeria



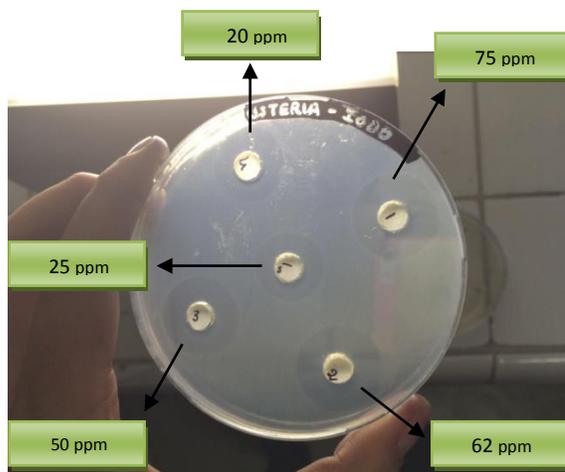
Escherichia coli



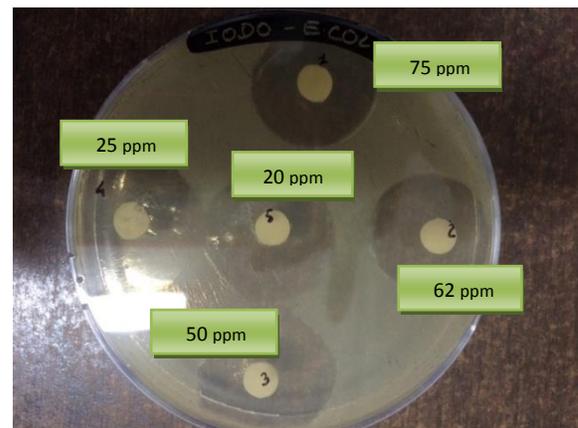
Staphylococcus aureus

ANEXO H: Difusión en placa con compuesto yodado a diferentes concentraciones.

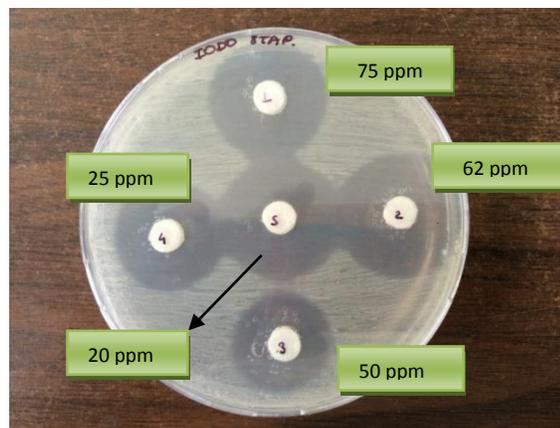
DIFUSIÓN EN PLACA CON COMPUESTO YODADO A DIFERENTES CONCENTRACIONES.



Listeria

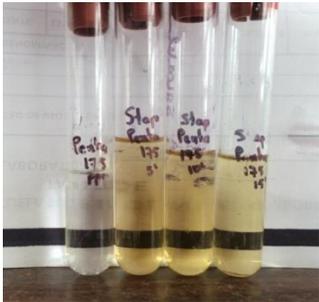
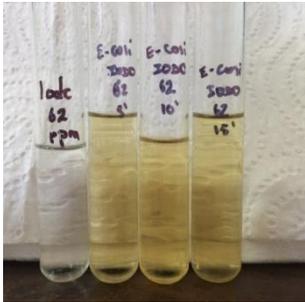
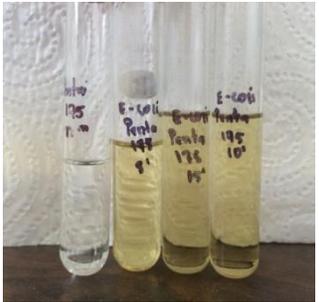
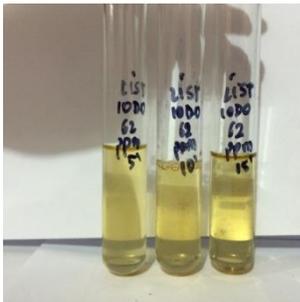
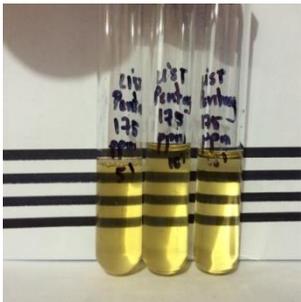


Escherichia coli



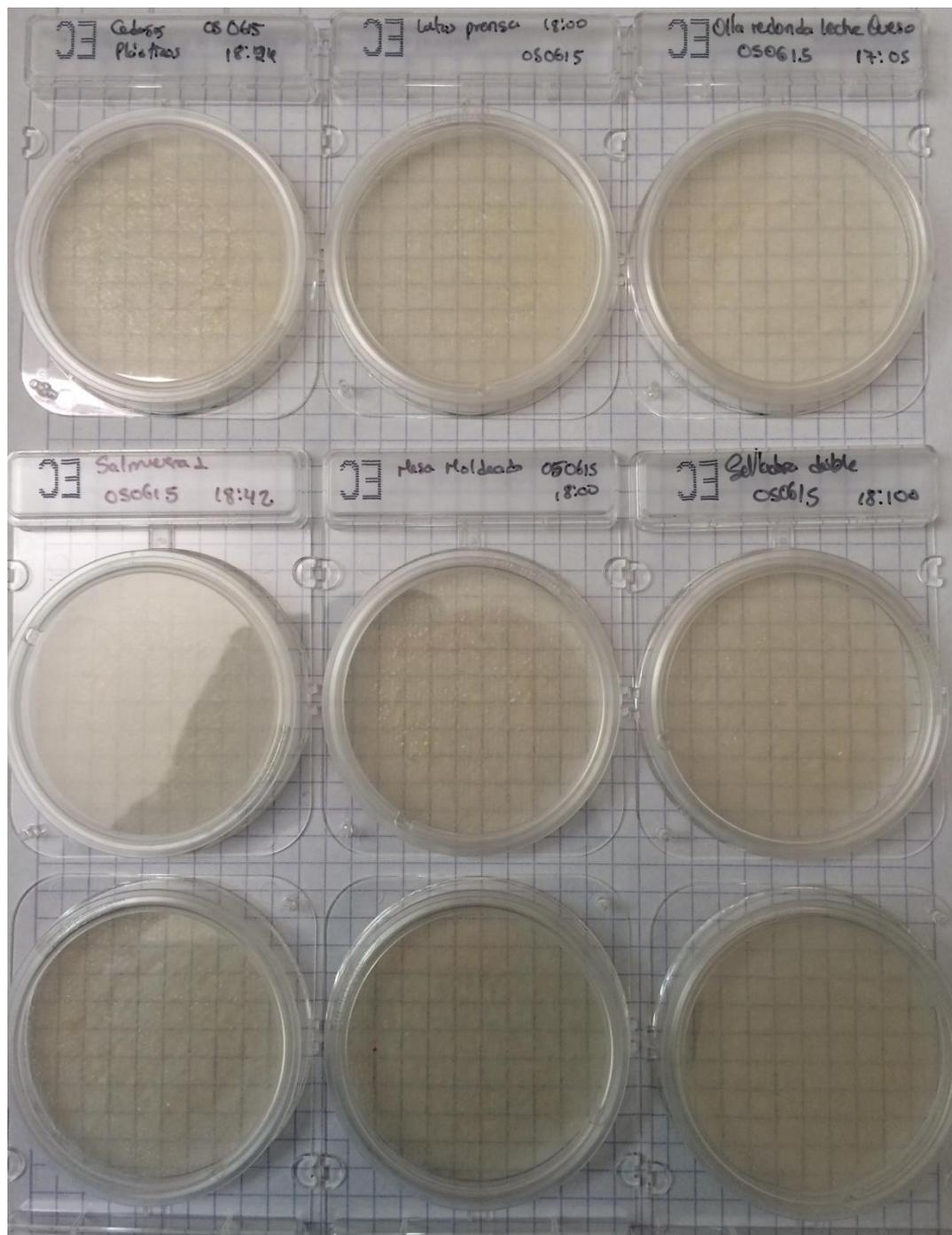
Staphylococcus aureus

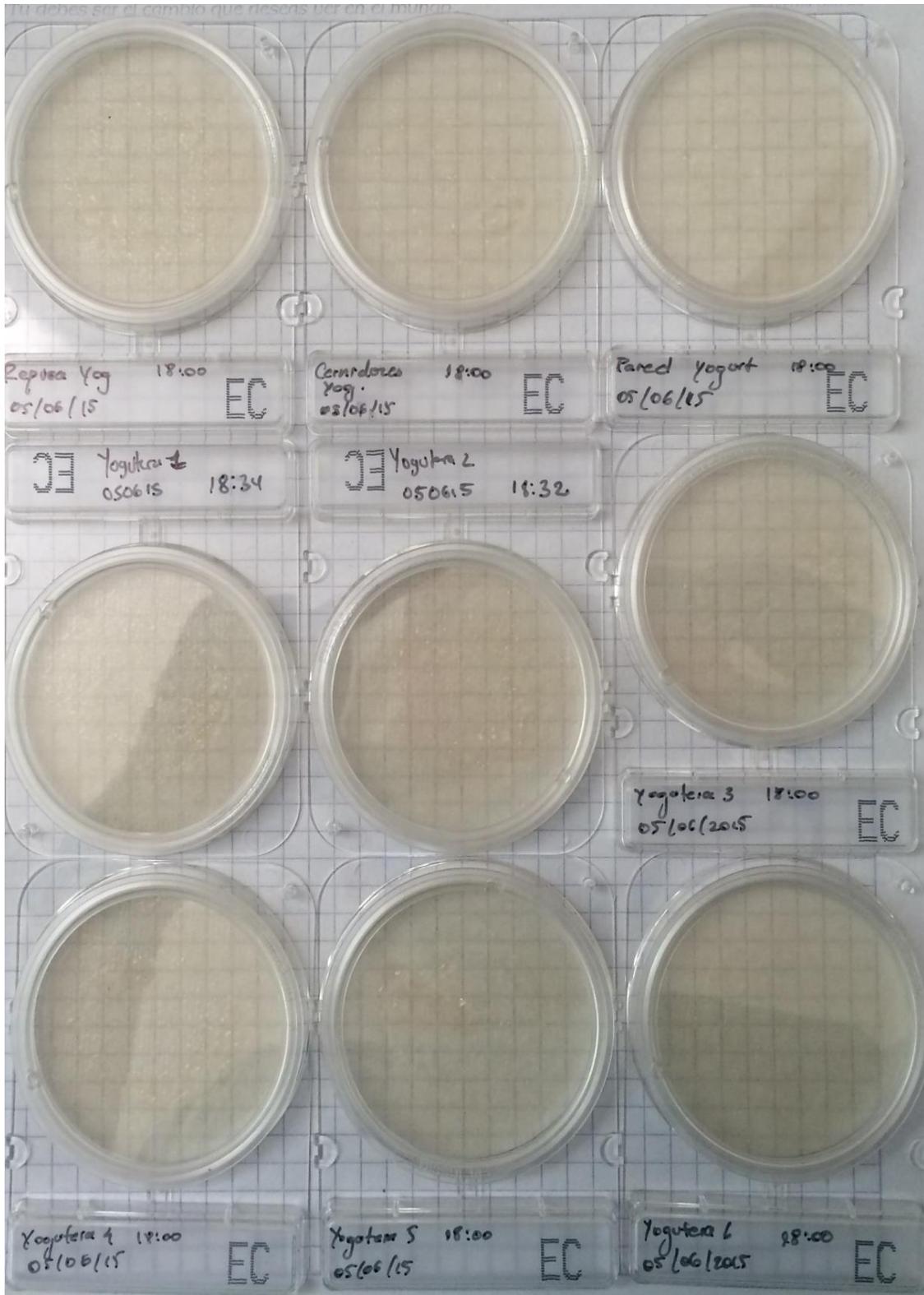
ANEXO I: Inhibición microbiana de la concentración utilizada para los análisis *sin situ*.

[] desinf microor.	Chemlock i-1.75 62 ppm	Pentaquat 175 ppm
<i>Staphylococcus aureus</i>		
<i>Escherichia coli</i>		
<i>Listeria</i>		

ANEXO J: Fotografías de los resultados microbiológicos *in situ* utilizando el desinfectante yodado.

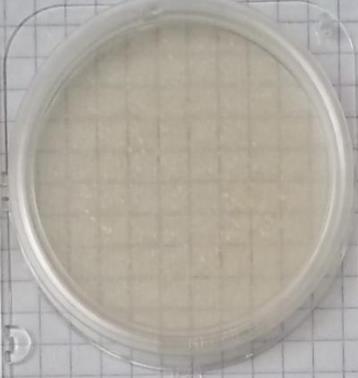
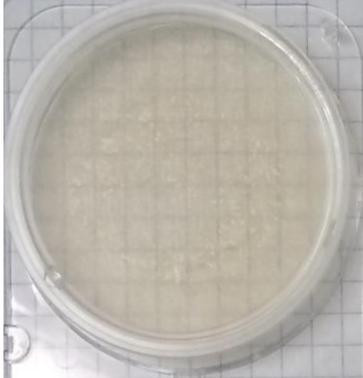
a) Para *Escherichia coli*





Tú debes ser el cambio que deseas ver en el mundo.

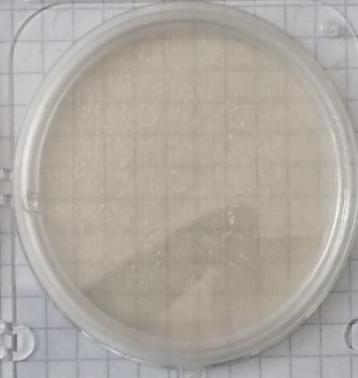
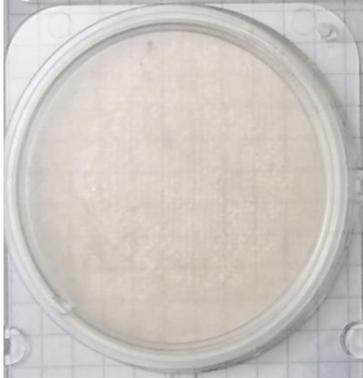
Tachos Plásticos
030615 18:12



Puerta Yogurt 18:00
05/06/15 EC

Licuatador Industrial 18:00
06/05/15 EC

Olla Yog. funda 3
050615 17:07

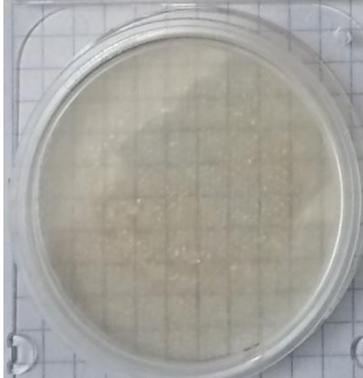


Yog funda 2 18:00
05/06/15 EC

Olla funda 2 18:45
05/06/15 EC

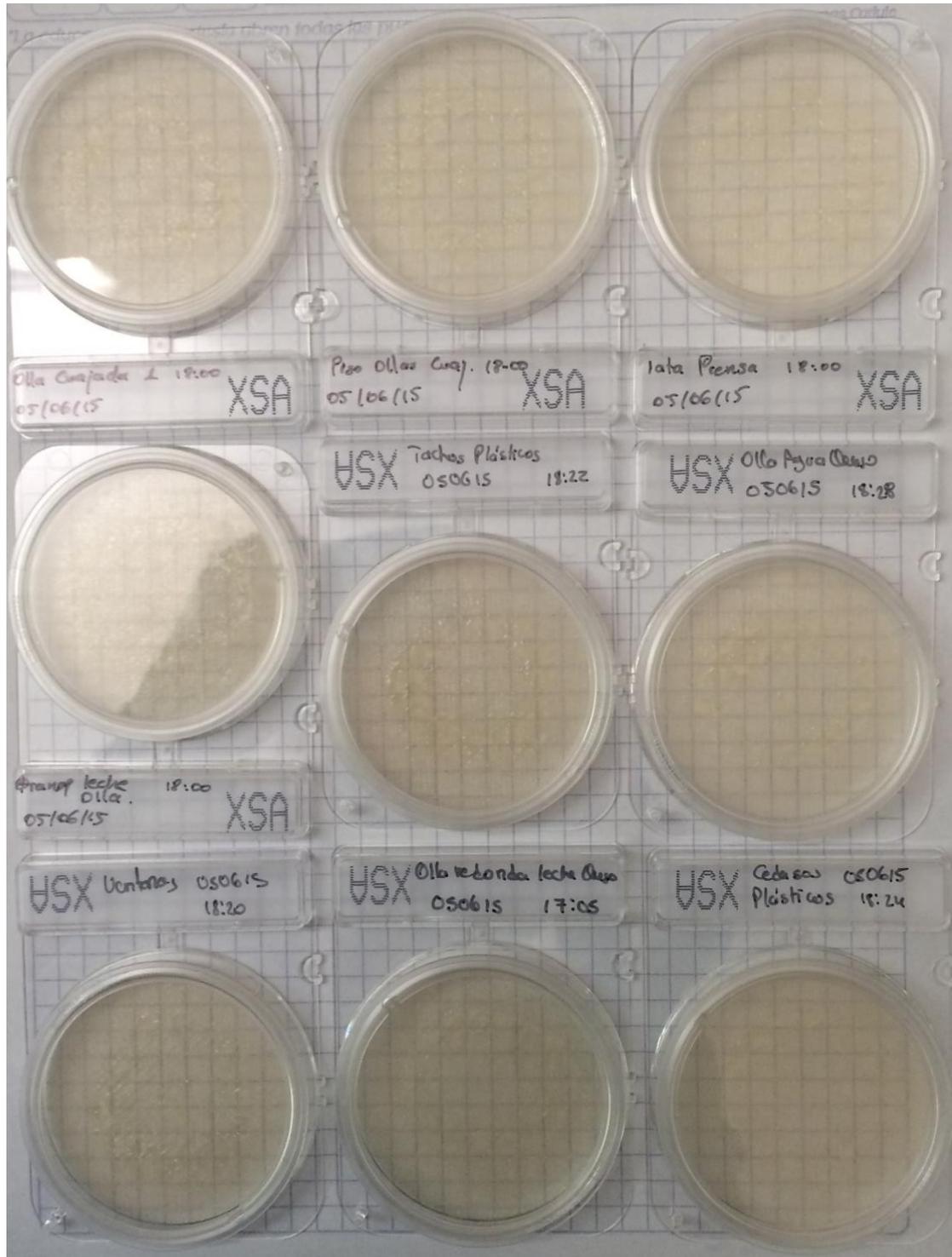
Yogurt Poma 2
060615 18:30

Yogurt Poma 3
050615 18:40



Yog Poma 1 18:00
05/06/15 EC

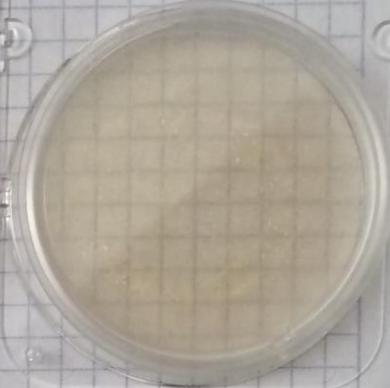
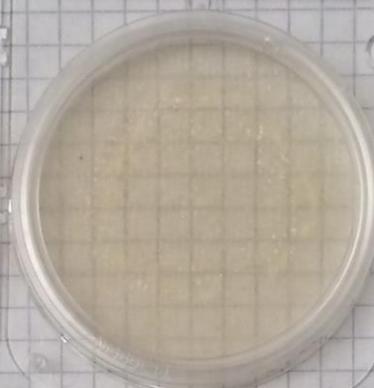
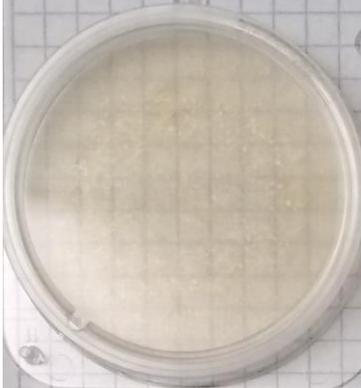
b) *Staphylococcus aureus*



HSX Cortados Separados 18:00

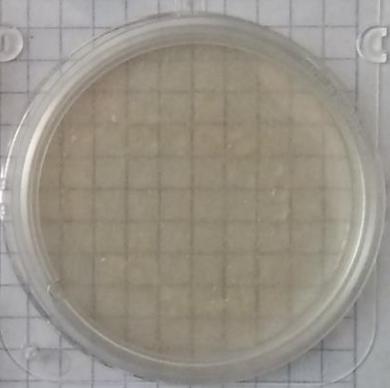
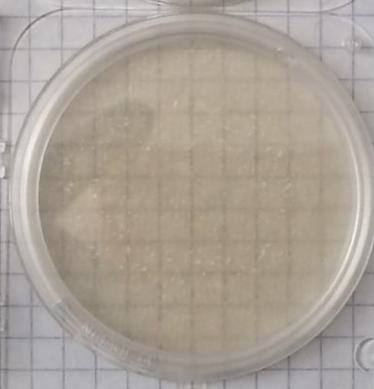
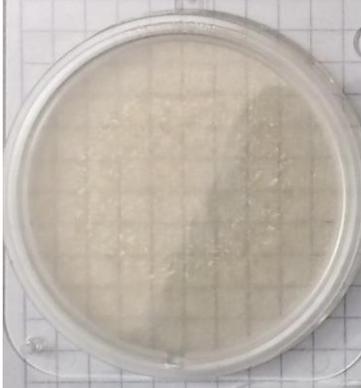
HSX Selladonas doble 050615 18:10

HSX Miso Multigrano 050615 18:00

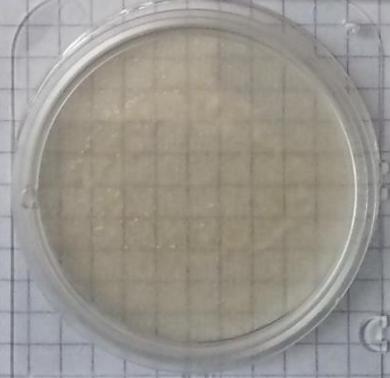


HSX Tawos 050615 18:50

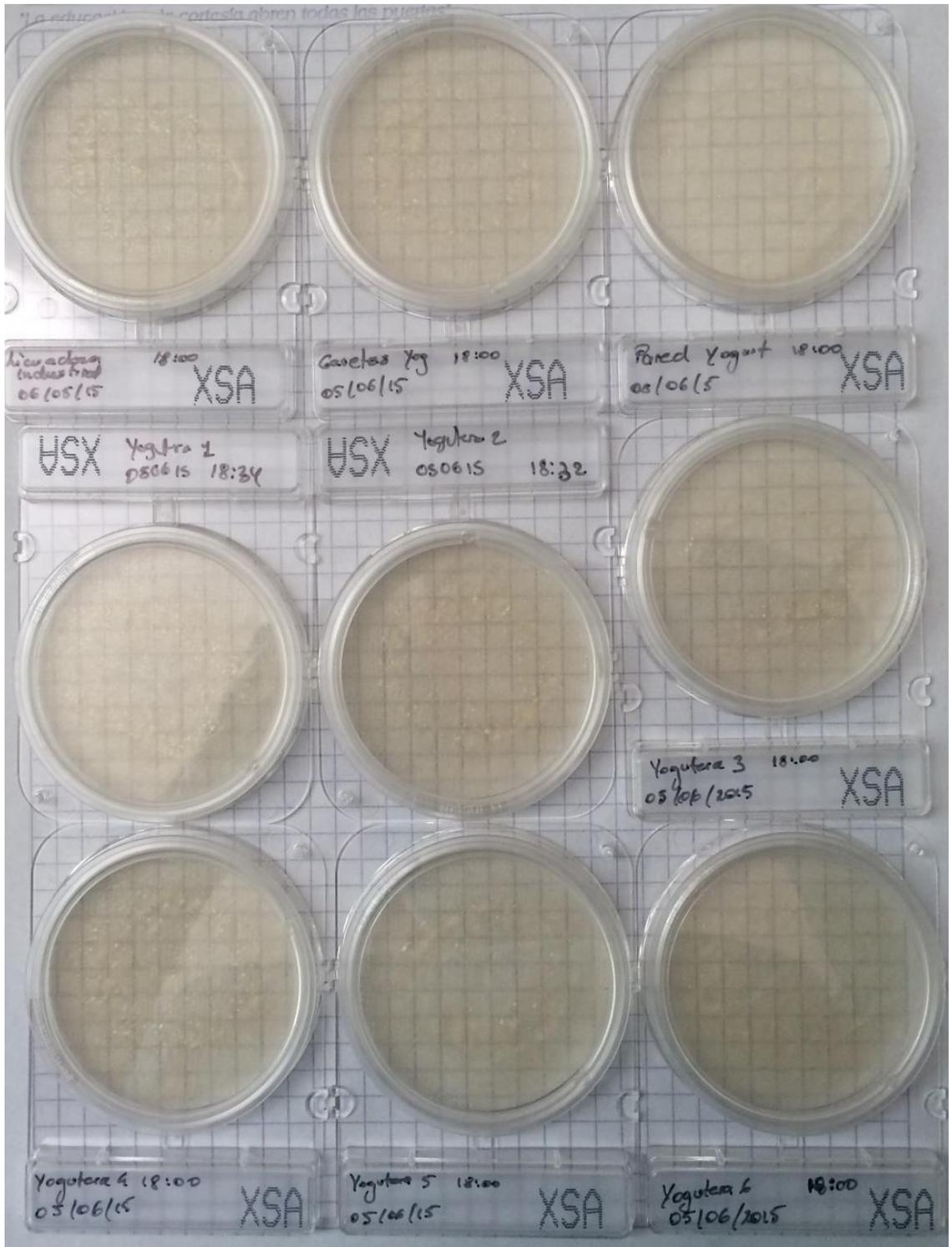
HSX Pared 050615 18:55

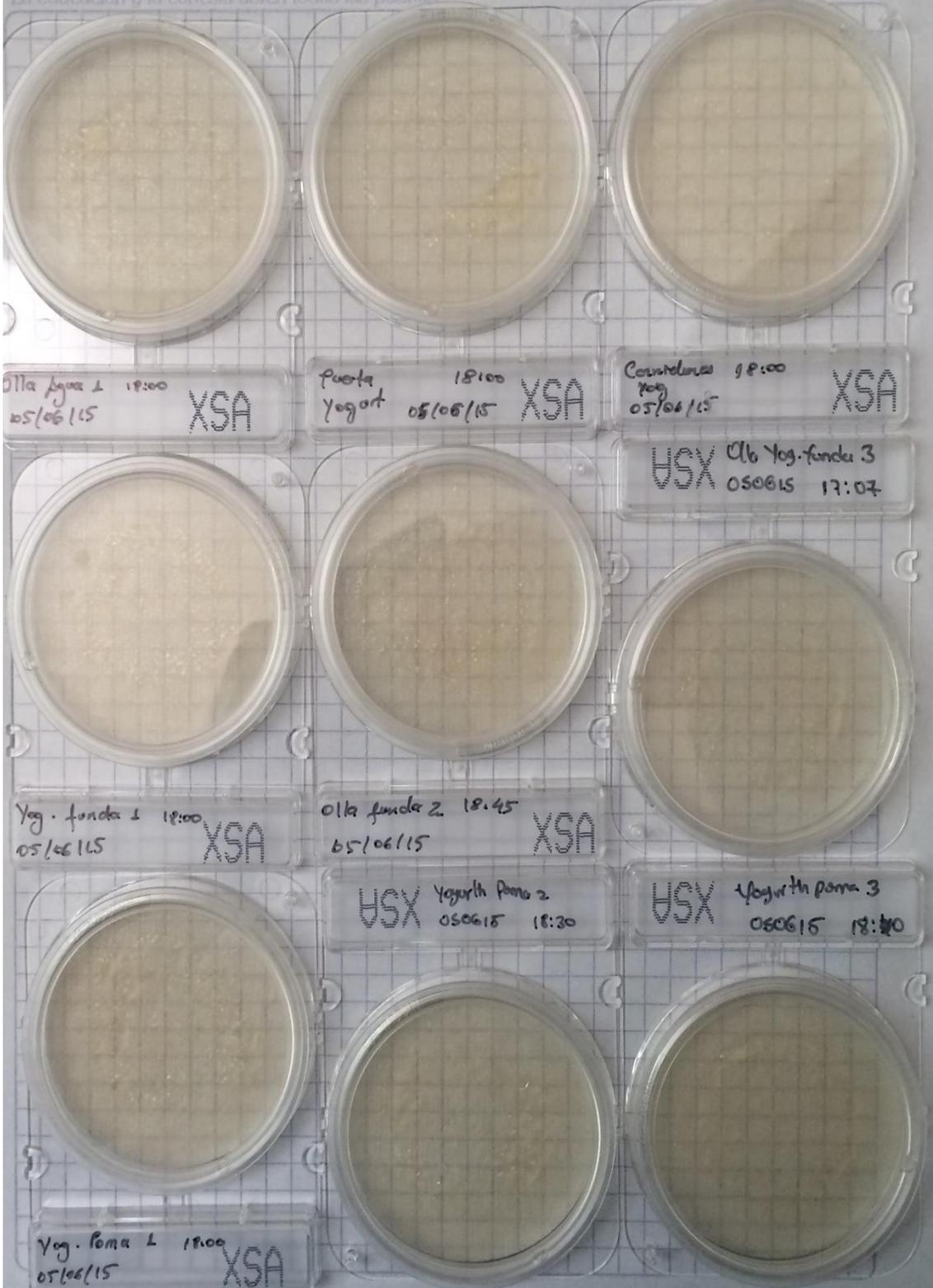


Continuo 18:30 05/06/15 XSA

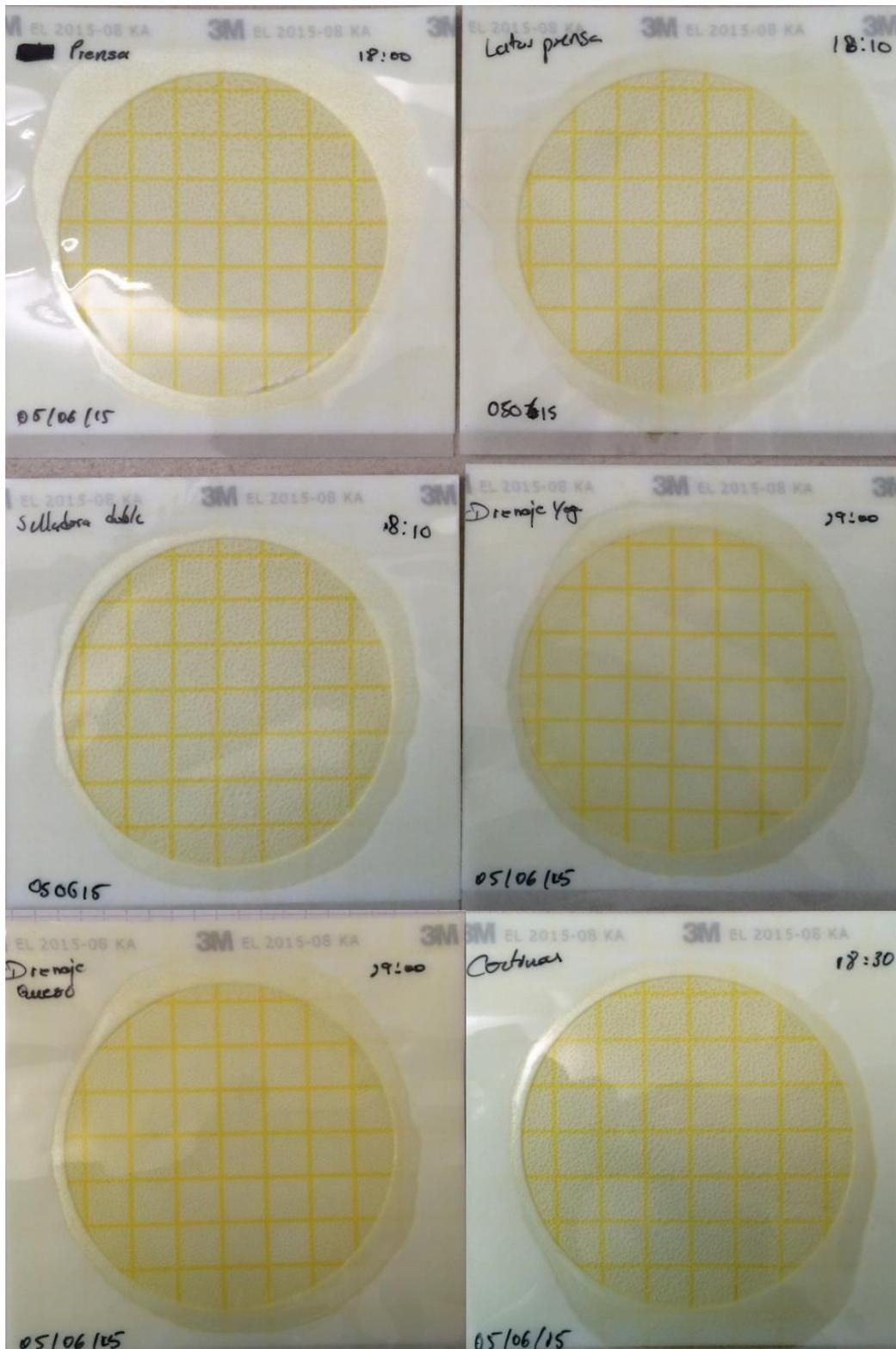


Salmuera 2 # 18:00 05/06/15 XSA



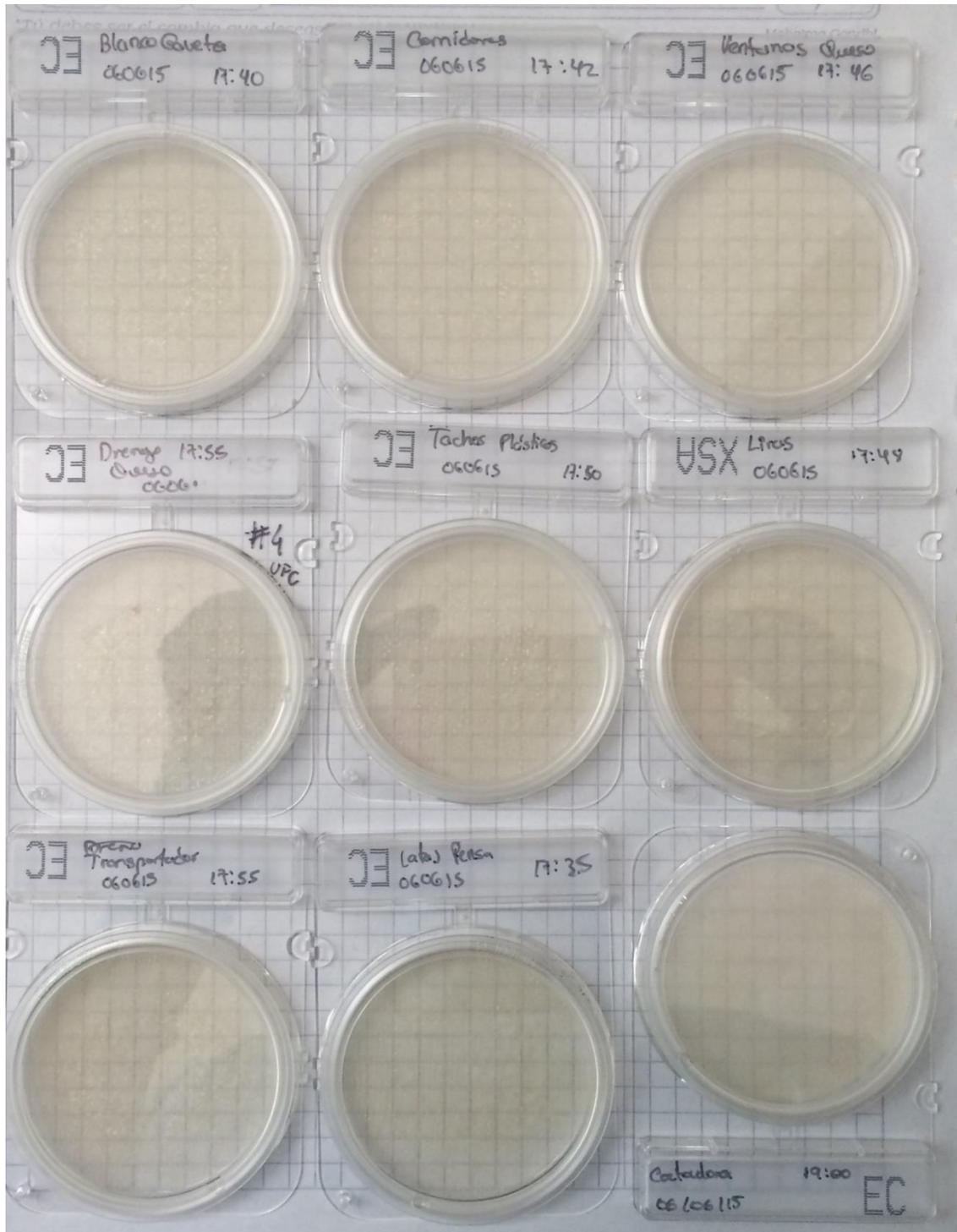


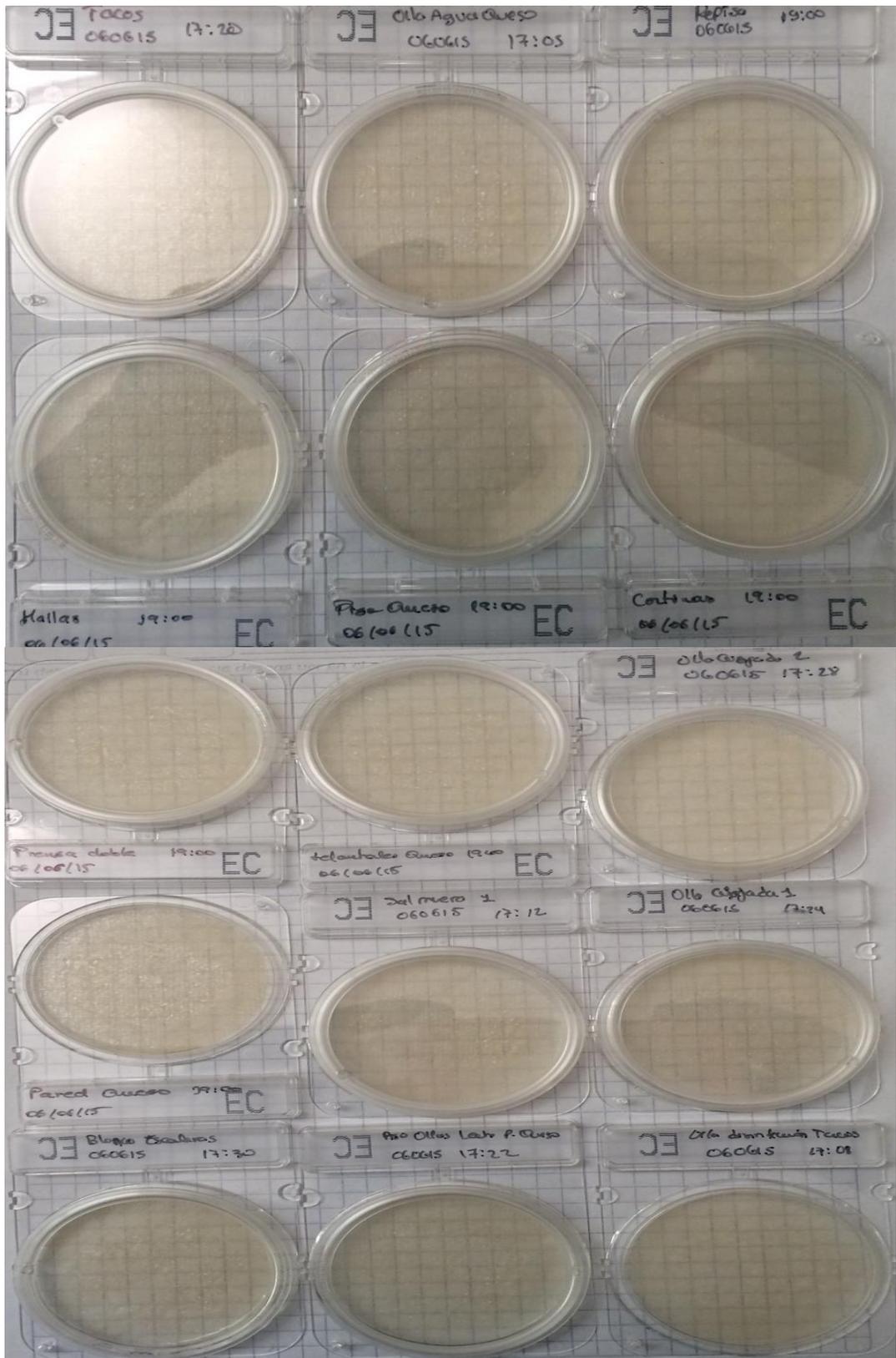
c) *Listeria*



ANEXO K: Fotografías de los resultados microbiológicos *in situ* utilizando el desinfectante amonio cuaternario de quinta generación “Penatquat”.

a) Para *Escherichia coli*





"La educación y la ciencia abren todas las puertas"

Olla Agua Yoghurt
06/06/15 17:07

Activación Indes. 19:00
06/06/15 EC

Ceruidosa Yog 19:00
06/05/15 EC

Bared Yog. 19:00
06/06/15 EC

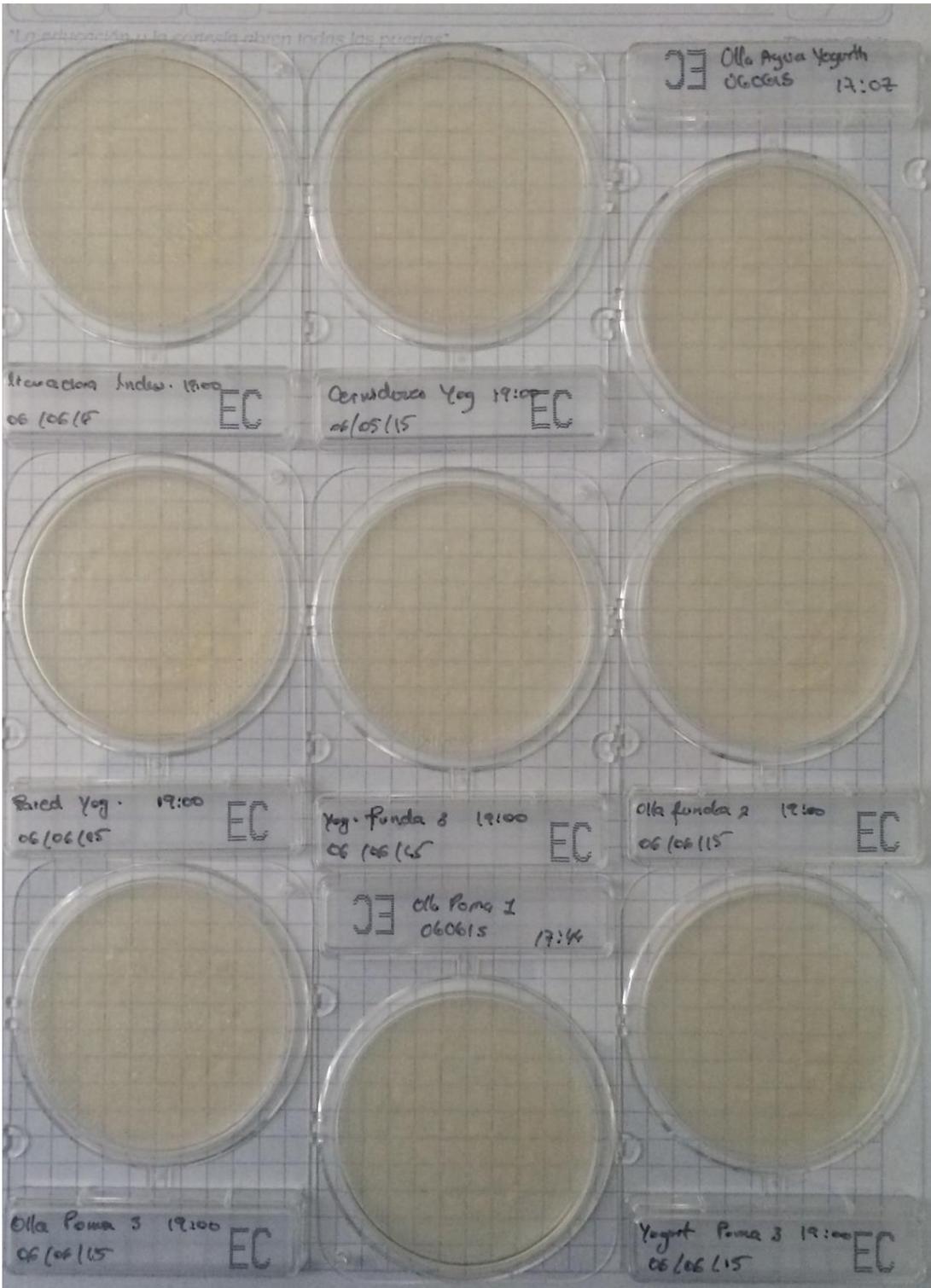
Yog. Funda 3 19:00
06/06/15 EC

Olla funda 2 19:00
06/06/15 EC

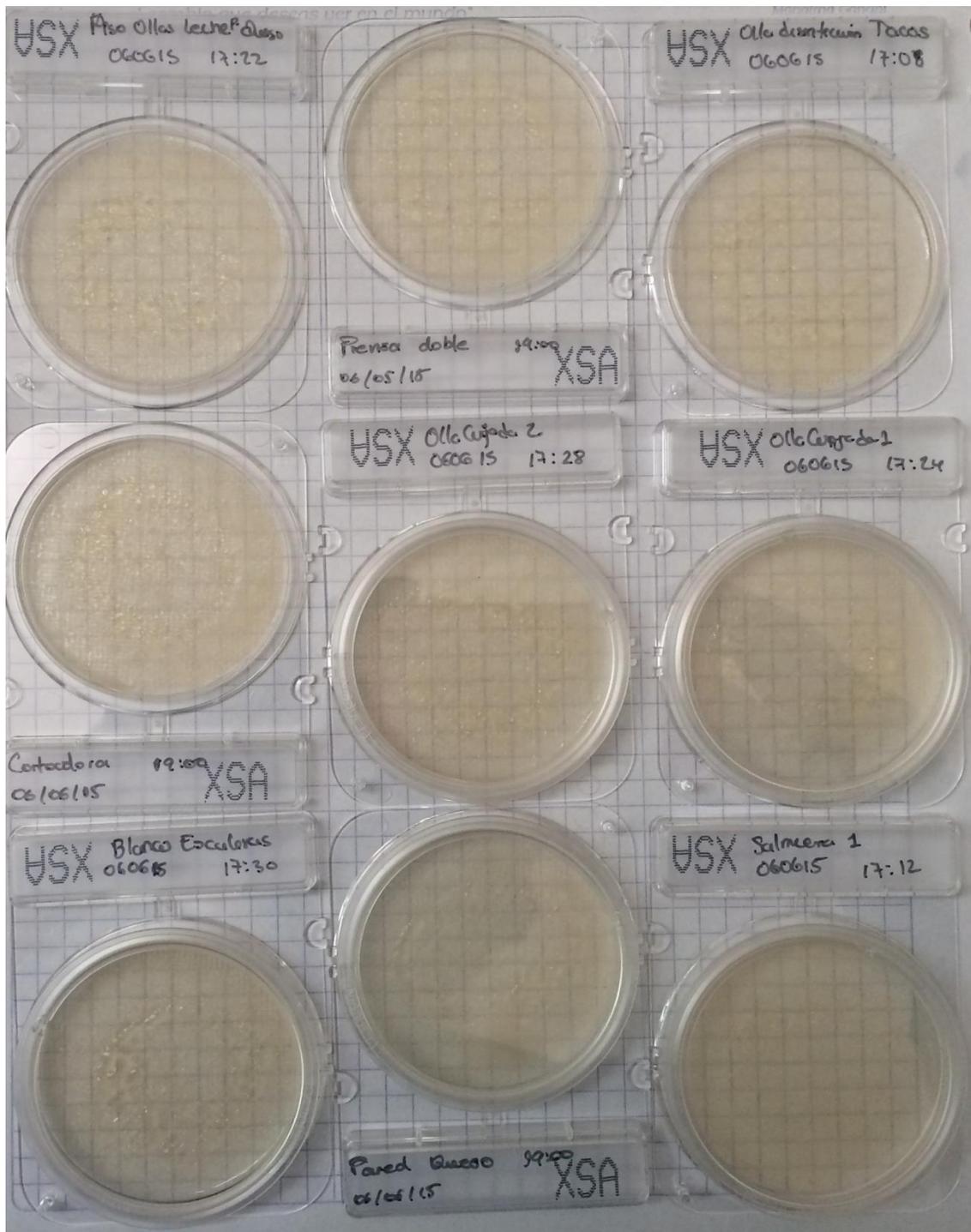
Olla Poma 1
06/06/15 17:16

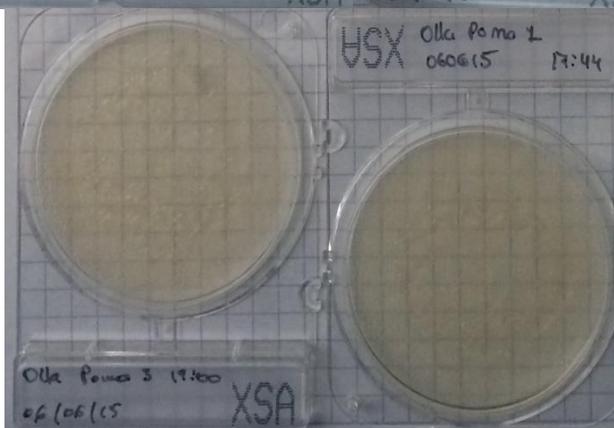
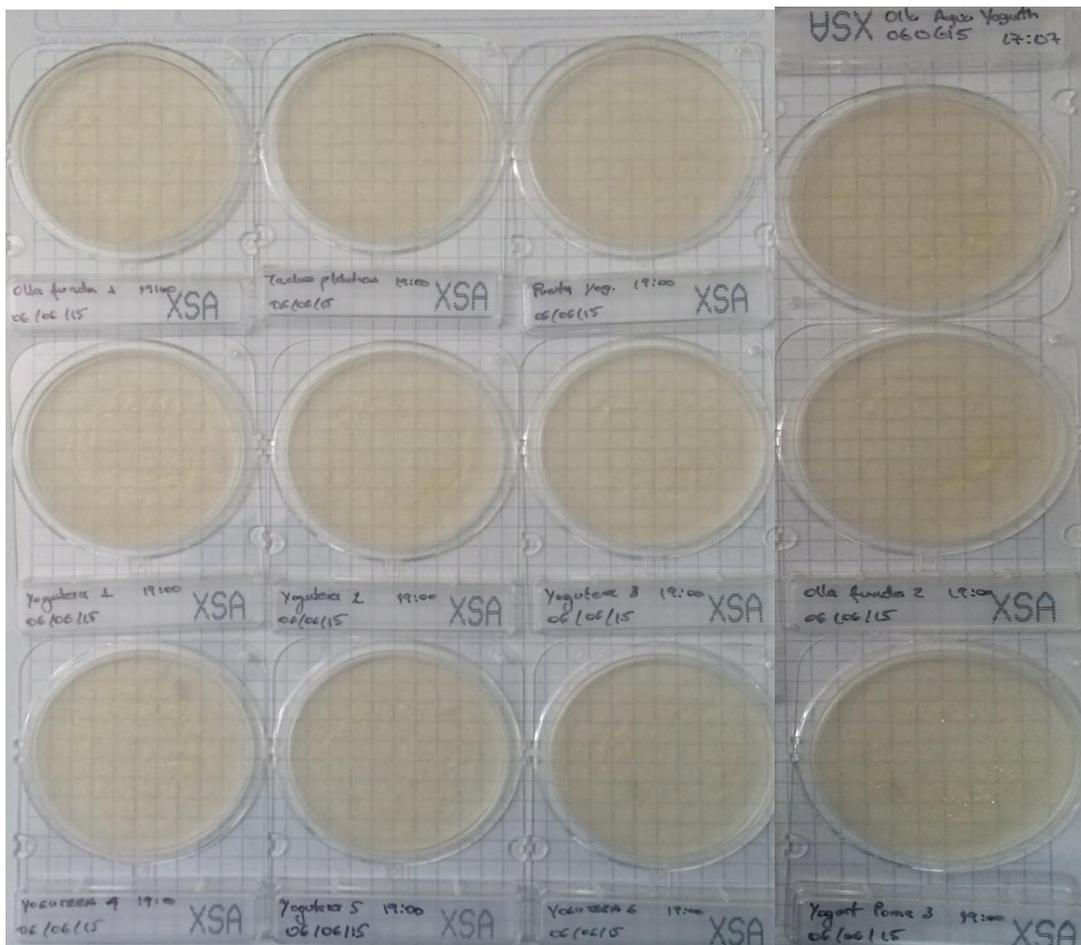
Olla Poma 3 19:00
06/06/15 EC

Yogurt Poma 3 19:00
06/06/15 EC

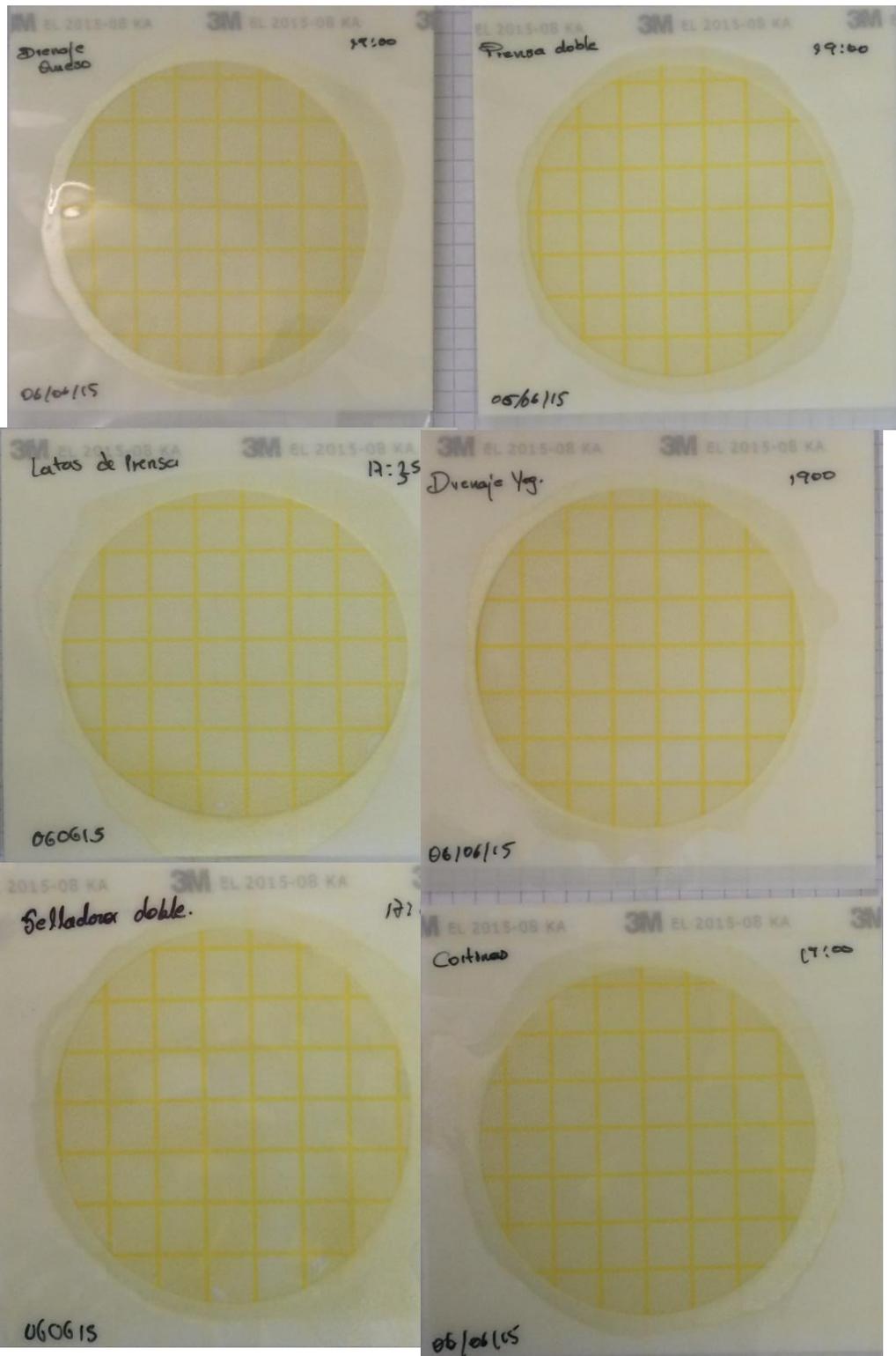


b) *Staphylococcus aureus*





c) *listeria*.



ANEXO L: Evidencia documentada de la validación del desinfectante Chemlok I-1.75.

RESULTADOS VALIDACIÓN MICROBIOLÓGICA					
CONTROL MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES			DESINFECTANTE: Chemlock I-1.75% 62 ppm		
AREA DE PRODUCCIÓN	SUPERFICIE/ MUESTRA	UFC/cm ²			CUMPLE
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria</i>	
Producción Queso	Selladora al vacío	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Queso	Tina de cuajada	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Repisas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Olla desinfección	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Tina salmuera	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Tanque silo leche	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Escaleras	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Olla de 60 L	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Mesa de moldeado	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Ventanas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Prensa doble	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Queso	latas de prensa	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Queso	Tacos	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Tachos plásticos	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Mallas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Coche transporte de queso	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Liras	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Gavetas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Cortinas	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Queso	Paredes	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Piso	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Cernidores	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Cortadora	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Techos	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Drenaje	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Yogurt	Yogutera 1	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 2	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 3	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 4	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 5	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 6	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. poma 1	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. poma 2	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. poma 3	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. funda 1	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. funda 2	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. funda 3	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Tanque de agua	Ausencia	Ausencia	--	ok

Producción Yogurt	Tachos Plásticos	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Licuada industrial	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla de agua	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Puerta	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Repisa	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Paredes	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Cernidores	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Drenaje	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Yogurt	Gavetas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Porcentaje de eliminación		100%	100%	100%	

REFERENCIA: Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con los Alimentos y Bebidas

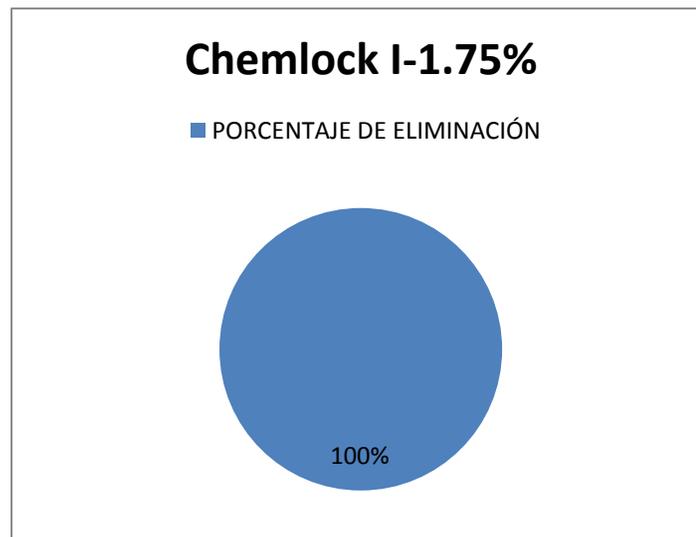
LÍMITES MICROBIOLÓGICOS:

Staphylococcus: Ausencia

Listeria: Ausencia

E.coli Ausencia/ superficie muestreada cm²

Resultados de la validación microbiológica realizada *in situ* en las áreas de yogurt y queso por tres días consecutivos utilizando como desinfectante un amonio cuaternario de quinta generación "Chemlock I-1.75%" a 62 ppm.



La validación se realizó por el método oficial de la AOAC para desinfectantes del coeficiente fenólico dándonos la concentración a emplear de 62 ppm
 Se corroboró los resultados con la técnica de difusión en placa observando el poder germicida a esta concentración
 Por último se realizó el muestreo microbiológico de las superficies en la planta LS dándonos como resultado 100% de eliminación microbiana

NOTAS:

Dejar actuar el desinfectante de 10 a 30 minutos y enjuagar con abundante agua.

ANEXO M: Evidencia documentada de la validación del desinfectante Pentaquat.

RESULTADOS VALIDACIÓN MICROBIOLÓGICA					
CONTROL MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES			DESINFECTANTE: PENTAQUAT a 175 ppm		
AREA DE PRODUCCIÓN	SUPERFICIE/ MUESTRA	UFC/cm ²			CUMPLE
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria</i>	
Producción Queso	Selladora al vacío	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Queso	Tina de cuajada	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Repisas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Olla desinfección	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Tina salmuera	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Tanque silo leche	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Escaleras	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Olla de 60 L	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Mesa de moldeado	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Ventanas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Prensa doble	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Queso	latas de prensa	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Queso	Tacos	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Tachos plásticos	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Mallas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Coche transporte de queso	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Liras	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Gavetas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Cortinas	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Queso	Paredes	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Piso	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Cernidores	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Cortadora	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Techos	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Queso	Drenaje	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Yogurt	Yogutera 1	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 2	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 3	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 4	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 5	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Yogutera 6	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. poma 1	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. poma 2	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. poma 3	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. funda 1	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. funda 2	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla yog. funda 3	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Tanque de agua	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Tachos Plásticos	Ausencia	Ausencia	--	ok

Producción Yogurt	Licadora industrial	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Olla de agua	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Puerta	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Repisa	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Paredes	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Cernidores	Ausencia	Ausencia	--	ok
Producción Yogurt	Drenaje	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ok
Producción Yogurt	Gavetas	Ausencia	Ausencia	--	ok
Porcentaje de eliminación		100%	100%	100%	

REFERENCIA: Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con los Alimentos y Bebidas

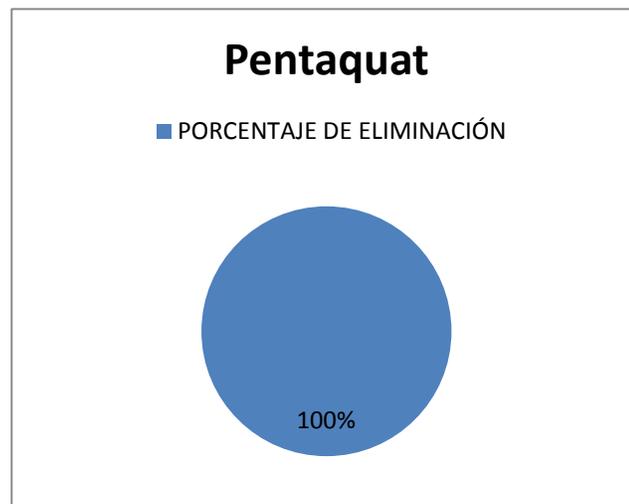
LÍMITES MICROBIOLÓGICOS:

Staphylococcus: Ausencia

Listeria: Ausencia

E.coli Ausencia/ superficie muestreada cm²

Resultados de la validación microbiológica realizada in situ en las áreas de yogurt y queso por tres días consecutivos utilizando como desinfectante un amonio cuaternario de quinta generación "Pentaquat" a 175 ppm.



La validación se realizó por el método oficial de la AOAC del coeficiente fenólico dándonos la concentración a emplear de 175 ppm
 Se corroboró los resultados con la técnica de difusión en placa observando el poder germicida a esta concentración
 Por último se realizó el muestreo microbiológico de las superficies en la planta LS dándonos como resultado 100% de eliminación microbiana

NOTAS:

Dejar actuar el desinfectate mínimo por 10 minutos o en su defecto dejar toda la noche y enjuagar al siguiente día

