

VALIDACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOCIDA DE SEIS DESINFECTANTES, UTILIZADOS PARA MANTENER LA INOCUIDAD DE LA PLANTA DE UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

Jennifer Andrea Martínez De la Roca

Asesorado por el Ing. William Eduardo Fagiani Cruz

Guatemala, noviembre de 2019

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



VALIDACIÓN DE LA ACTVIVIDAD BIOCIDA DE SEIS DESINFECTANTES, UTILIZADOS PARA MANTENER LA INOCUIDAD DE LA PLANTA DE UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

JENNIFER ANDREA MARTÍNEZ DE LA ROCA

ASESORADO POR EL ING: WILLIAM FAGIANI

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2019

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANA	inga. Aurelia Anabela Cordova Estrada
VOCAL I	Ing. José Francisco Gómez Rivera

VOCAL II Ing. Mario Renato Escobedo Martínez

VOCAL III Ing. José Milton de León Bran VOCAL IV Br. Luis Diego Aguilar Ralón

VOCAL V Br. Christian Daniel Estrada Santizo SECRETARIO Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
EXAMINADORA Inga. Mercedes Esther Roquel Chávez
EXAMINADOR Ing. Pablo Enrique Morales Paniagua
EXAMINADOR Ing. Manuel Gilberto Galván Estrada
SECRETARIA Inga. Lesbia Magalí Herrera López

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

VALIDACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOCIDA DE SEIS DESINFECTANTES, UTILIZADOS PARA MANTENER LA INOCUIDAD DE LA PLANTA DE UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 23 de enero del 2019.

Jennifer Andrea Martínez De la Roca

Ingeniero
Williams Guillermo Álvarez Mejía
DIRECTOR
Escuela Ingeniería Química
Presente.

Estimado Ingeniero Álvarez:

Le saludo cordialmente, deseándole éxitos en sus actividades. Por medio de la presente hago constar que he revisado y aprobado el Informe Final del trabajo de graduación titulado: "VALIDACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOCIDA DE SEIS DESINFECTANTES, UTILIZADOS PARA MANTENER LA INOCUIDAD DE LA PLANTA DE UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA", elaborado por el estudiante de la carrera de Ingeniería Química, Jennifer Andrea Martínez De la Roca, quien se identifica con el registro académico 2013-14494 y con el CUI 2714 39947 0101.

Agradeciendo la atención a la presente, me suscribo de usted,

Atentamente,

William Eduardo Fagiani Cruz

ASESOR

Ingeniero Químico Colegiado activo No. 1734



Edificio T-5, Ciudad Universitaria, Zona 12, Guatemala, Centroamérica EIQD-REG-TG-001

Guatemala, 15 de octubre de 2019. Ref. EIQ.TG-IF.040.2019.

Ingeniero
Williams Guillermo Álvarez Mejía
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Álvarez:

Como consta en el registro de evaluación, correlativo **068-2018**, le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL

Solicitado por el estudiante universitario: Jennifer Andrea Martínez De la Roca. Identificado con número de carné: 2714399470101. Identificado con registro académico: 201314494.
Previo a optar al título de la carrera: Ingeniería Química.
En la modalidad: Informe Final, Seminario de Investigación.

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

VALIDACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOCIDA DE SEIS DESINFECTANTES, UTILIZADOS PARA MANTENER LA INOCUIDAD DE LA PLANTA DE UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por:

William Eduardo Fagiani Cruz, profesional de la Ingeniería Química

Habiendo encontrado el referido trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

AREA TRABAJOS DE GRADUACION

C.c.: archivo

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Dinna Lissette Estrada Moreira Profesional de la Ingeniería Química COORDINADOR DE TERNA

Tribunal de Revisión Trabajo de Graduación









Ref.EIQ.TG.070.2019

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación, de la carrera de Ingeniería Química, del estudiante, JENNIFER ANDREA MARTÍNEZ DE LA ROCA titulado: "VALIDACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOCIDA DE SEIS DESINFECTANTES, UTILIZADOS PARA MANTENER LA INOCUIDAD DE LA PLANTA DE UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA". Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

Ing. Williams G. Álvarez Mejía; M.I.d., M.U.I.

"Id y Enseñad a Todos"

DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química

Guatemala, noviembre de 2019

Cc: Archivo WGAM/ale





Universidad de San Carlos De Guatemala



Facultad de Ingeniería Decanato

Ref. DTG.537-2019

La Decana de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de graduación titulado: VALIDACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOCIDA DE SEIS DESINFECTANTES, UTILIZADOS PARA MANTENER LA INOCUIDAD DE LA PLANTA DE UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA, presentado por la estudiante universitaria: Jennifer Andrea Martínez De la Roca y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, se autoriza la impresión del mismo.

A CARQUE

IMPRÍMASE.

Inga. Aurelia Anabela Cordova Estrada

Decana

Guatemala, Noviembre de 2019

AACE/asga

CC

ACTO QUE DEDICO A:

Dios Todo lo que soy se lo debo a Él.

Mis padres René Martínez y Fabiola De la Roca, por su

amor, apoyo incondicional y la motivación

constante.

Mi hermana Melissa Martínez, por su apoyo y paciencia.

Mi novio Johnattan Butz, por su comprensión y apoyo a

lo largo del proceso.

Mis abuelos maternos Armin De la Roca (q. e. p. d.) y Benilde Quiroa.

Mis abuelos paternos René Martínez (q. e. p. d) y Alba Corado.

Mis tíos Astrid De La Roca, Armin De La Roca, Juan

Pablo De La Roca, Roberth Martínez y William

Martínez.

Mis primos Josué De La Roca, Vanessa De La Roca,

Pedro Pablo De La Roca, Ivanna De La Roca,

Natalie Martínez, Lauren Martínez, Gabriela

Martínez y Daniel Martínez.

AGRADECIMIENTOS A:

Dios Por su misericordia y amor; todo lo que soy se

lo debo a Él.

Mis padres René Martínez y Fabiola De La Roca, por su

cariño y apoyo incondicional a lo largo de mi

vida.

Mi hermana Melissa Martínez, por su apoyo y consejo.

Mi novio Johnattan Butz, por su cariño y motivación.

Asesor Ing. William Eduardo Fagiani Cruz, por el apoyo

en la realización del proyecto y a lo largo de la

carrera.

Laboratorios Lamfer Por abrirme las puertas para la realización del

proyecto.

Universidad de Por enseñarme a jamás darme por vencida y

San Carlos de Guatemala ser perseverante.

ÍNDICE GENERAL

LIST	A DE S	ÍMBOLO:	S		VII
GLO	SARIO				IX
RES	UMEN				XI
OBJ	ETIVOS	3			XIII
INTF	RODUC	CIÓN			XV
1.	ANT	ECEDEN ⁻	TES		1
2.	MAR	CO TEÓF	RICO		3
	2.1.	Desinfe	cción		3
		2.1.1.	Caracterís	ticas del desinfectante ideal	4
		2.1.2.	Clasificaci	ón de los desinfectantes	5
		2.1.3.	Desinfecta	antes químicos utilizados en la industr	ia
			farmacéut	ica	5
			2.1.3.1.	Alcohol	6
			2.1.3.2.	Glutaraldehído 1,5 %	6
			2.1.3.3.	Saniclean 1,5 %	7
			2.1.3.4.	Saniquat 0,6 %	8
			2.1.3.5.	Vortexx 0,25 %	9
	2.2.	Marco r	egulatorio pa	ra desinfectantes	9
		2.2.1.	EPA y FD	A	10
	2.3.	Factore	s que afectai	n la eficiencia de la desinfección	10
		2.3.1.	Número d	e los microorganismos	11
			2.3.1.1.	Escala de McFarland	11
		2.3.2.	Resistenci	ia de los microorganismos	14

		2.3.3.	Concentración y fecha de caducidad del proceso de
			desinfección15
		2.3.4.	Factores físicos y químicos
			2.3.4.1. Condiciones de almacenamiento 16
		2.3.5.	Tiempo de exposición
3.	DISE	ÑO METO	DDOLÓGICO 19
	3.1.	Variable	es
	3.2.	Delimita	ción de campo de estudio20
	3.3.	Recurso	s humanos disponibles20
	3.4.	Recurso	s materiales disponibles20
		3.4.1.	Cristalería20
		3.4.2.	Equipo21
		3.4.3.	Reactivos
		3.4.4.	Medios de cultivo y diluyente
		3.4.5.	Microorganismos de prueba22
	3.5.	Técnica	cuantitativa
	3.6.	Recoled	ción y ordenamiento de la información24
		3.6.1.	Recolección de la información
	3.7.	Análisis	estadístico
		3.7.1.	Distribución Chi cuadrada
4.	RES	ULTADOS	3
	4.1.	Espectro	o de acción de cada desinfectante
	4.2.	Evaluac	ión de fecha de caducidad mediante reducción logarítmica
			30
	4.3.	Estimac	ión de la eficiencia germicida porcentual de cada
		desinfe	ctante
	4.4.	Program	na de rotación de desinfectantes

5.	INTE	RPRETACIÓN DE RESULTADOS		37
	5.1.	Caracterización microbiológica del efecto biocida		37
	5.2.	Espectro de acción de cada desinfectante		38
	5.3.	Evaluación de la fecha de caducidad del proceso de desir	nfec	ción y
		estimación de la eficiencia germicida porcentual	de	cada
		desinfectate		38
	5.4.	Programa de rotación de desinfectantes		40
CON	CLUSIC	ONES		41
RECO	OMEND	DACIONES		43
BIBLI	BIBLIOGRAFÍA45			
APÉN	IDICE.			47

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Tubos de estándares de McFarland	12
2.	Principio de medición de absorbancia utilizando un	
	espectrofotómetro	13
3.	Prueba desafío de desinfectantes	23
4.	Programa de rotación de desinfectantes	36
	TABLAS	
I.	Método nefelométrico para determinar la concentración de bacterias	en
	UFC/mL	14
II.	Variables	19
III.	Valores esperados	27
IV.	Espectro de acción de cada desinfectante	29
V.	Valores esperados de análisis estadístico	30
VI.	Reducción logarítmica de los diferentes microorganismos frente al	
	desinfectante Vortexx	30
/II.	Reducción logarítmica de los diferentes microorganismos frente al	
	desinfectante Saniquat	31
III.	Reducción logarítmica de los diferentes microorganismos frente al	
	desinfectante Saniquat – ROH	31
IX.	Reducción logarítmica de los diferentes microorganismos frente al	
	desinfectante Saniclean	32

Χ.	Reducción logarítmica de los diferentes microorganismos frente al	
	desinfectante Saniclean – ROH	. 32
XI.	Reducción logarítmica de los diferentes microorganismos frente al	
	desinfectante Glutaraldehído	.33
XII.	Eficiencia germicida porcentual de Vortexx frente a diversos	
	microorganismos	. 33
XIII.	Eficiencia germicida porcentual de Saniquat frente a diversos	
	microorganismos	. 34
XIV.	Eficiencia germicida porcentual de Saniquat – ROH frente a diversos	
	microorganismos	. 34
XV.	Eficiencia germicida porcentual de Saniclean frente a diversos	
	microorganismos	. 35
XVI.	Eficiencia germicida porcentual de Saniclean – ROH frente a diversos	
	microorganismos	. 35
XVII.	Eficiencia germicida porcentual de Glutaraldehído frente a diversos	
	microorganismos	. 36

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
N_0	Concentración inicial de microorganismos (UFC/mL).
N_{f}	Concentración final de microorganismos (UFC/mL).
°C	Grados centígrados
mL	Mililitros
nm	Nanómetros

GLOSARIO

Ácido

Desoxirribonucleico

(ADN)

Proteína compleja que se encuentra en el núcleo de las células, el principal constituyente

del material genético de los seres vivos.

Ácido Ribonucleico

(ARN)

Ácido nucleico que participa en la síntesis de las proteínas y realiza la función de mensajero de la

información genética.

Biguanidas Principio activo utilizados como desinfectantes y

sanitizante (Lamfer).

EPA Environmental Protection Agency.

FDA Food and Drug Administration.

FIFRA Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act.

Fungicida Sustancia utilizada para destruir o inactivar los

hongos parásitos.

pH Potencial de hidrógeno.

UFC Unidades formadoras de colonias.

Virucida Sustancia capaz de destruir o inactivar los virus.

Virus lipófilos

Virus con afinidad por sustancias líquidas.

RESUMEN

Con el objetivo de describir la actividad germicida de seis desinfectantes utilizados en la planta de una industria farmacéutica frente a cepas salvajes y de colección, se estimó la eficiencia germicida porcentual, de cada enfrentamiento del microorganismo y desinfectante, en tiempos de cinco y diez minutos de exposición en un intervalo de estudio de dos meses, de forma que se pudo predecir el espectro de acción y la fecha de caducidad del proceso de desinfección, basado en la reducción logarítmica.

Para la ejecución del proyecto, se prepararon las soluciones de cuatro desinfectantes, Saniclean, Saniquat, Glutaraldehído y Vortexx a una concentración volumétrica de 1,5 %, 0,6 %, 1,5 % y 0,25 %, respectivamente. Asimismo, se realizaron las siembras de las cepas *E. coli, S. aureus, P. aeruginosa, A. brasiliensis, Bacillus sp. y Penicillium sp;* a partir de ellas se realizaron suspensiones de bacterias y hongos a 1x10⁸ y 1x10⁶ UFC/mL, respectivamente, utilizando el método de McFarland. Luego se procedió a enfrentar cada suspensión del microorganismo contra el desinfectante, en tiempos de cinco y diez minutos. Finalmente se sembró en una caja de Petri un mililitro de la solución anterior y se incubó, para posteriormente realizar un conteo de UFC. Dicho procedimiento se repitió tres veces durante dos meses.

A partir del conteo se infiere que los desinfectantes con mayor eficiencia germicida porcentual y un amplio espectro de acción son el Glutaraldehído y Vortexx. Por lo tanto, para el programa de rotación ambos desinfectantes deben estar presentes junto con el resto de desinfectantes evaluados para obtener un mayor efecto biocida en las áreas de la planta, con una duración de un mes.

OBJETIVOS

General

Caracterizar, microbiológicamente, el efecto biocida de seis desinfectantes utilizados en la planta de una industria farmacéutica, frente a cepas de colección de *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomona aeruginosa* ATCC 9027, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, y cepas salvajes *Bacillus sp., Penicillium sp.,* utilizando los métodos de vertido en placa y dilución en tubo.

Específicos

- 1. Estimar el espectro de acción de cada desinfectante con las concentraciones establecidas, utilizando el método de dilución en tubo.
- Evaluar la fecha de caducidad del proceso de desinfección durante dos meses y estimar la eficiencia germicida porcentual de cada desinfectante, en tiempos de exposición de 5 y 10 minutos, utilizando el método de vertido en placa.
- 3. Elaborar un programa de rotación de desinfectantes para la planta basado en los espectros de acción y la fecha de caducidad del proceso.

INTRODUCCIÓN

La limpieza y desinfección es un paso fundamental y obligatorio de cualquier proceso farmacéutico que garantiza la calidad de los productos fabricados. Cada empresa debe optimizar sus procesos de desinfección a nivel de elaboración y aplicación, teniendo en cuenta que todo proceso no controlado aumenta el precio de fabricación y disminuye su calidad y seguridad.

El proceso de desinfección reduce inhibe el crecimiento de microorganismos, esto no significa que los elimine totalmente, y lo que se busca es disminuir la población de microorganismos potencialmente perjudiciales de la superficie de los equipos, zonas de exposición y áreas comunes entre los diferentes productos y que son, por tanto, potenciales vectores de transmisión de los residuos de un producto a otro.

El diseño de un proceso de validación implica evaluar una metodología de desinfección, de manera que esta queda absolutamente definida en cuanto a los parámetros críticos del mismo, tales como: tipo de desinfectante y concentración del mismo, volumen de solución, tiempo y temperatura de exposición, fecha de caducidad del mismo, etc. A causa de los estudios que implica, la validación este proceso lleva a una mejor comprensión del mismo, que a su vez permite un mejor control y, como consecuencia, mayor reproducibilidad y eficiencia.

El procedimiento de desinfección se debe repetir al menos tres veces para demostrar su eficacia antes de utilizarlo en rutina en el proceso de fabricación en planta, así se puede garantizar la validez del estado de "limpio" de los equipos y áreas durante un periodo de tiempo estudiado.

1. ANTECEDENTES

Se han realizado diversos estudios relacionados con la validación de la actividad biocida de diversos desinfectantes alrededor del mundo. Entre ellos cabe mencionar los siguientes:

En el 2013, se presentó la tesis de grado Validación concurrente de cuatro tipos de desinfectantes utilizados en el laboratorio de indicadores de calidad de aguas y lodos de la Pontifica Universidad Javeriana, publicada por Laura Isabel Bedoya Salcedo. En este estudio se determinó la carga microbiana que se presenta con mayor incidencia en las superficies y áreas de trabajo, y se aislaron e identificaron los microorganismos. Con el fin de asegurar que los agentes químicos son eficaces en la eliminación o reducción de la carga microbiana utilizó la técnica de dilución en agar evaluando la concentración de cada desinfectante, determinando la concentración mínima inhibidora.

El trabajo de grado en Microbiología Agrícola y Veterinaria de Jenny Carolina Gutiérrez Arcila de la Pontifica Universidad Javeriana, publicada en el 2013; titulada: "Validación del Proceso de Limpieza y Sanitización de un Área de envase de producción de vacunas biológicas", aborda los límites de acción de cada desinfectante utilizando la metodología de petrifilm para los muestreos de bacterias mesofilas, hongos y levaduras.

2. MARCO TEÓRICO

Los programas de limpieza y desinfección deben desarrollarse de manera que sean rentables, seguros, en el menor tiempo posible y con un producto químico de bajo costo; es por esto que un proceso de desinfección adecuado necesita que, factores como la fuerza mecánica o la acción física usada, temperatura, tiempo de contacto, concentraciones de los desinfectantes y vida útil de cada uno sean elegidos cuidadosamente.

Un procedimiento de limpieza y desinfección eficiente consiste en una secuencia de aplicaciones de desinfectantes, en varias combinaciones de concentraciones; en donde el objetivo es reducir la población de la superficie de los microorganismos después de la limpieza y evitar el crecimiento de los mismos en las superficies.

2.1. Desinfección

La desinfección tiene por objeto eliminar a los microorganismos patógenos y garantizar la ausencia de todo germen infeccioso (bacteria, hongo o virus) en las áreas y superficies de equipos dentro de una industria. Al contrario de la esterilización, que permite una destrucción total de los gérmenes presentes, la desinfección puede permitir la presencia de algunos microorganismos banales, sin riesgo para la salud.

Los productos o métodos de desinfección elegidos deberán, según los casos, poseer un efecto bactericida o fungicida que les permitirá destruir gérmenes y, eventualmente, tendrán un efecto remanente que se basa en el

mantenimiento de una concentración del desinfectante utilizado, garantizando así la continuidad de la desinfección en las áreas y superficies evaluadas, limitando al mismo tiempo los riesgos de contaminación hacia el producto elaborado dentro de la industria.

Esta reducción de los gérmenes se puede obtener por métodos de eliminación física, como la coagulación o la filtración (sobre arena, antracita, carbón activado, diatomeas o membranas), o también por métodos químicos de inactivación, recurriendo a reactivos químicos, como los oxidantes o a distintas moléculas de carácter no oxidante.

2.1.1. Características del desinfectante ideal

Todo desinfectante debe cumplir con ciertos requisitos como:

- Debe ser estable a las condiciones de almacenamiento y manipulación.
- La formulación del producto debe ser tal que no tenga efectos perjudiciales para el humano y no ser tóxico.
- Debe ser compatible con el medio ambiente, y aprobado por normas internacionales y certificables, establecidos por la FDA y EPA.

La elección del desinfectante depende del propósito para el que se utiliza y los microorganismos contaminantes, asimismo, la efectividad de un desinfectante depende de los factores intrínsecos, la concentración del desinfectante, el tiempo de contacto, la naturaleza o material de la superficie desinfectada, la cantidad de materiales orgánicos presentes sobre la superficie, el tipo y número de microorganismos presentes y la vida útil del desinfectante.

2.1.2. Clasificación de los desinfectantes

- Bajo nivel: son aquellos que pueden destruir la mayor parte de las formas vegetativas bacterianas, bacterias Gram positivas y negativas, algunos virus con envoltura lipídica y hongos levaduriformes. No son eficaces para microorganismos esporaformadores.
- Nivel intermedio: inactivan todas las formas bacterianas vegetativas, virus con o sin envoltura y hongos filamentosos, pero no destruyen necesariamente las esporas bacterianas.
- Alto nivel: destruyen todos los microorganismos, a excepción de algunas esporas bacterianas.

Muchos desinfectantes son utilizados en combinación con otros o solos; entre ellos se encuentran compuestos clorados, alcoholes, formaldehído, glutaraldehído, peróxido de hidrógeno, compuestos fenólicos y biocidas a base de amonio cuaternario. Muchas de las formulaciones basadas en estos químicos son considerados como productos únicos por lo que deben registrarse con EPA o la FDA. Ciertos productos son diseñados para un propósito específico y debe ser utilizado según el instructivo o manual otorgado por el diseñador. Por lo que se debe seleccionar adecuadamente el desinfectante a utilizar.

2.1.3. Desinfectantes químicos utilizados en la industria farmacéutica

Los estudios demuestran adaptación microbiana frente a diversos desinfectantes, por lo que es necesario realizar estudios de comportamientos de los microorganismos frente a diversos desinfectantes, entre ellos los más utilizados en la industria farmacéutica son:

2.1.3.1. Alcohol

El termino alcohol en la industria, se refiere a dos compuestos solubles en agua alcohol etílico o isopropílico, generalmente poseen altas características germicidas. Su actividad biocida decrece significativamente al diluirlo un 50 % de su concentración, por lo que la concentración óptima debe ser entre 60 % - 90 %.⁵

Por lo general, se tiende a utilizar en la industria a una concentración del 70 % (volumen/volumen), permitiendo la desnaturalización de proteínas. El uso de este reactivo como desinfectante, generalmente, destruye las deshidrogenasas de *Escherichia coli*, por lo que es considerado como desinfectante de nivel medio.

Las soluciones acuosas de Saniclean y Saniquat, pueden realizarse utilizando como solvente agua o alcohol, sin embargo, la sinergia de la solución de alcohol y desinfectante genera mejores resultados debido a su mecanismo de acción.

2.1.3.2. Glutaraldehído 1,5 %

Es un dialdehído saturado, denominado como desinfectante de alto nivel y esterilizante químico, en particular para desinfección a temperatura baja y esterilización de equipo médico. En solución acuosa el glutaraldehído es ácido, poco estable y no posee actividad esporicida. Cuando la solución es alcalina se activa y posee actividad esporicida, por lo que se procede a utilizarse a un pH de 7,2 a 7,6 y es preparado a una concentración de 1,5 % volumen/volumen.

Su actividad biocida se debe a la alteración del ARN, ADN y síntesis de proteínas. El glutaraldehído alcalino al 1,5 % es bactericida, fungicida y virucida, en cortos periodos de tiempo, pero necesita aproximadamente 6 horas de contacto para destruir las esporas bacterianas. Es menos tóxico, no corrosivo y más potente que el formaldehído.

2.1.3.3. Saniclean 1,5 %

Es un producto efectivo para el control de bacterias Gram positivo y Gram negativo. Una de sus principales ventajas son sus componentes biodegradables, lo que lo hace ser un producto versátil y seguro para el medio ambiente. Este tipo de desinfectante no es compatible con otros limpiadores, como el cloro.

Su principio activo son las biguanidas, por lo que posee un amplio espectro de actividad antibacteriana, pero su acción como fungicida y virucida es bastante limitada. Estos compuestos funcionan a un pH determinado, entre 5 y 10. Todos son incompatibles con los detergentes aniónicos y los compuestos inorgánicos.

Por lo general, las biguanidas poliméricas han sido utilizadas extensamente en combinación con otros derivados del amonio cuaternario o detergentes no aniónicos. Su mecanismo de acción se basa en la alteración de la permeabilidad de los microorganismos; se ha comprobado que la membrana externa de las bacterias Gram negativas actúa como una barrera que limita la entrada de varios tipos de desinfectantes, sin relación química, siendo ejemplo de esto la *Pseudomona aeruginosa*.

2.1.3.4. Saniquat 0,6 %

Es un producto formulado con amonio cuaternario de cuarta generación, diseñado para lograr una poderosa acción sanitizante. Es un excelente bactericida, fungicida y bacteriostático, ideal para la eliminación de mohos, hongos, entre otros.

Estos compuestos contienen como estructura básica el ion amonio NH₄, donde cada uno de los hidrógenos está sustituido generalmente por radicales de tipo alquil y aril, y se presentan en forma de sales.

Son compuestos incoloros, inodoros, no irritantes y desodorantes. Poseen una acción desinfectante, son moléculas poco solubles en agua y la presencia de cualquier residuo proteico anula su efectividad.

Su mecanismo de reacción consiste en la lesión de la membrana celular, debido a la desorganización en la disposición de las proteínas y fosfolípidos, liberando metabolitos desde la célula, los cuales interfieren con el metabolismo energético y el transporte activo.

Los derivados del amonio cuaternario son agentes activos catiónicos potentes, en cuanto a su espectro de acción, siendo activos para eliminar bacterias Gram positivas y negativas. Son bactericidas, fungicidas y virucidas, actuando sobre virus lipófilos, pero no sobre los hidrófilos. No tiene acción sobre las microbacterias, ni son esporicidas. Su actividad la desarrollan tanto en medio ácido como alcalino, aunque es más efectivo en medio alcalino.

Los compuestos de amonio cuaternario son utilizados por su alta efectividad y sus buenas propiedades humectantes, tienen la facilidad de

adherirse a la parte hidrofobia de la membrana de los microorganismos, causando la desintegración de esta. Asimismo, son compuestos no tóxicos ni corrosivos, y tienden a inactivarse en pH bajo y por sales (Ca⁺² y Mg⁺²).

2.1.3.5. Vortexx 0,25 %

Es un desinfectante perácido dual, contiene ácidos peroxiacético y peroxi octanoico. Esta combinación de perácidos permite emplear el desinfectante en concentraciones mucho menores que los desinfectantes elaborados únicamente con ácido peracético.

Este tipo de desinfectante es considerado como un buen germicida debido a sus propiedades bactericida y fungicida. La FDA los clasifica como de alto nivel, asimismo, es aprobado por la EPA debido a su rápida descomposición en agua, oxígeno y ácido acético. Una de las principales ventajas es su efectividad en la presencia de materia orgánica y su alto poder esporicida en un rango de temperatura de 4 a 48°C.

Su mecanismo de acción consiste en la desnaturalización de proteínas, lo cual altera la permeabilidad de la pared celular, oxidando las proteínas, encimas y otros metabolitos. Por lo general, este desinfectante inactiva bacterias Gram negativa y positiva, hongos y levaduras en un tiempo de exposición menor a cinco minutos a concentraciones menores de 100 ppm.

2.2. Marco regulatorio para desinfectantes

El marco regulatorio tiene como objetivo controlar que los productos biocidas no impliquen en riesgos para la salud y medio ambiente, sometiéndose a evaluaciones previas a su uso.

2.2.1. **EPA y FDA**

En los Estados Unidos, los germicidas formulados como sanitizantes, desinfectantes o esterilizantes son regulados por la Oficina del programa de pesticidas de la EPA bajo la autoridad de FIFRA, esta establece que cualquier substancia o mezcla de substancias con el fin de prevenir, eliminar, repeler o disminuir cualquier peste (incluidos los microorganismos), debe ser registrada previo a su venta o distribución. Para obtener el registro del desinfectante, es necesario entregar información de seguridad y eficacia de cada producto. Por ejemplo, la EPA solicita la prueba de las formulaciones por métodos o pruebas establecidas en su normativa, las cuales prueban la actividad, estabilidad, y toxicidad del biocida para animales y humanos, entre los métodos de evaluación se puede mencionar la prueba de actividad germicida y desinfectante de los desinfectantes este es la base para la validación de los seis desinfectantes a evaluar en la industria farmacéutica.

Generalmente, EPA regula los desinfectantes y esterilizantes utilizados sobre las superficies ambientales, no los utilizados en equipos y áreas críticas; los cuales son regulados por la FDA. A partir de enero del 2000, la FDA publicó el documento donde establecen los productos que cada entidad posee.

2.3. Factores que afectan la eficiencia de la desinfección

La actividad de los germicidas contra los microorganismos depende de varios factores, algunos de ellos son cualidades intrínsecas del organismo, otras del tipo de químico utilizado y propiedades físicas del ambiente al que se expone.

2.3.1. Número de los microorganismos

El crecimiento microbiano es el incremento ordenado de todos los constituyentes celulares que conduce a un aumento de masa y finalmente a un aumento del número de células. Como ya sabemos esto se logra con el aporte adecuado de nutrientes y de las condiciones necesarias del medio como la temperatura de incubación.

Una vez efectuado el crecimiento de los microorganismos se suele proceder a realizar un conteo para estimar la cantidad de UFC presentes en una determinada muestra, para ello existen diferentes métodos que se pueden diferenciar en dos grandes grupos, métodos de recuento directo, o métodos indirectos/cualitativos, donde se relaciona algún factor con el número de microorganismos como la escala de McFarland.

En condiciones constantes, a mayor número de microorganismos mayor tiempo necesita el desinfectante para eliminarlos. Es necesario reducir el número de microorganismos que deben ser inactivados realizando limpiezas meticulosas y constantes, incrementando el margen de seguridad cuando el desinfectante se utiliza reduciendo el tiempo de exposición requerido para eliminar por completo la carga de microorganismos.

2.3.1.1. Escala de McFarland

La escala de McFarland es uno de los principales métodos cualitativos turbidimétricos utilizados para determinar la concentración de suspensiones de microorganismos. Para ello es necesario saber que cuando una suspensión aparece turbia es debido a que las partículas dispersan la luz incidente.

Cuantas más células haya, más luz se dispersa y más turbia aparece la solución.

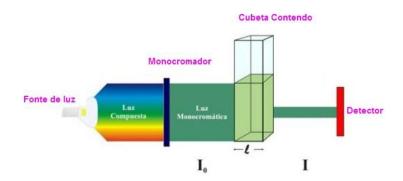
Figura 1. Tubos de estándares de McFarland



Fuente: Estándar de McFarland. wikipedia.org. Consulta: enero de 2019.

Los estándares pueden ser visualmente comparados con suspensiones de bacterias en solución salina estéril o en caldos. Si la suspensión es demasiado turbia, puede añadirse diluyente, y si no es lo suficiente turbia, se puede agregar más bacterias; la ventaja es que no es necesario incubar por lo que el uso de esta escala es más práctica al momento de realizar las suspensiones de microorganismos. Esta turbidez generada por la presencia de células se puede medir con un espectrofotómetro, utilizando el método que el equipo posee.

Figura 2. Principio de medición de absorbancia utilizando un espectrofotómetro



Fuente: CROS, Laura. Espectrofotometría. lauraucros.blogspot.com. Consulta: enero de 2019.

El patrón de 0,5 de McFarland tiene una aplicación especial en la preparación de inóculos bacterianos para la realización de pruebas de sensibilidad antimicrobianas. Este estándar es creado al mezclar soluciones de cloruro de bario al 1 % con ácido sulfúrico al 1 % en volúmenes específicos. Para cada cepa bacteriana hay que establecer la equivalencia entre la turbidez de cada tubo y la masa o la concentración de bacterias (UFC/mL), que genera una turbidez similar. Para este patrón la absorbancia a una longitud de onda de 625nm puede estar entre 0,08 a 0,1 y el conteo de UFC/mL final sería de 1x10⁸.

Tabla I. Método nefelométrico para determinar la concentración de bacterias en UFC/mL

Estándar	H ₂ SO ₄ (0,18M)	BaCl ₂ (0,048M)	Nº Bacterias/ml
0,5	99,5	0,5	1,5*10 ⁸
1	99	1	3*10 ⁸
2	98	2	6*10 ⁸
3	97	3	9*10 ⁸
4	96	4	1,2*10 ⁸
5	95	5	1,5*10 ⁸
6	94	6	1,8*10 ⁸
7	93	7	2,1*10 ⁸
8	92	8	2,4*10 ⁸
9	91	9	2,7*10 ⁸
10	90	10	3*10 ⁸

Fuente: Método nefelométrico. depa.fquim.unam.mx. Consulta: enero de 2019.

2.3.2. Resistencia de los microorganismos

La resistencia de los químicos que poseen los desinfectantes varía según los microorganismos, pueden poseer resistencias intrínsecas y extrínsecas las cuales varían con cada desinfectante. Por ejemplo, las esporas son resistentes a los desinfectantes porque su núcleo y corteza actúan como una barrera, lo mismo sucede con las bacterias Gram negativas, las cuales poseen una membrana externa que actúa como barrera para repeler el desinfectante.

En todos los procesos de desinfección y esterilización se consideran las resistencias de los microorganismos para establecer el tiempo de contacto. Por lo que, para eliminar la mayor cantidad de microorganismos con mayor resistencia (esporas), se deberá utilizar tiempos y concentraciones, del desinfectante, altos. Las esporas poseen la mayor resistencia innata a los

germicidas, seguido de algunos hongos (*Aspergillus, y Cándida*), bacterias vegetativas (*Staphylococcus*, y *Pseudomonas*).

La resistencia de las bacterias Gram positivas y negativas son similares con algunas excepciones (*P. aeruginosa*, esta demuestra mayor resistencia para algunos desinfectantes).

2.3.3. Concentración y fecha de caducidad del proceso de desinfección

Con las demás variables constantes, al aumentar la concentración del desinfectante mayor será su eficiencia y menor tiempo de exposición se requerirá para eliminar a los microorganismos.

Por otro lado, es necesario evaluar el tiempo de caducidad del proceso de desinfección, porque la potencia y eficacia del mismo depende de las interacciones de las moléculas de la mezcla de los reactivos en el desinfectante y su cinética de reacción, esta va disminuyendo en función del tiempo.

2.3.4. Factores físicos y químicos

Los factores fisicoquímicos de los reactivos influyen en los procesos de desinfección, entre ellos se encuentran la temperatura, pH, humedad relativa; y la dureza del agua. En general, la actividad de la mayoría de desinfectantes incrementa al aumentar la temperatura, un incremento significativo de temperatura generalmente degrada y debilita la actividad germicida del desinfectante y altera la estabilidad de algunos poniendo en riesgo la salud del usuario.

Un incremento de pH frecuentemente mejora la actividad biocida en algunos desinfectantes como el glutaraldehído y componentes de amonio cuaternario, pero la disminuye en compuestos clorados y fenólicos. El pH influye en la actividad biocida alterando la molécula del desinfectante o la pared celular.

Finalmente, la dureza del agua reduce el rango de eliminación de algunos desinfectantes provocado por los cationes divalentes, que interactúan con el desinfectante para formar precipitados insolubles.

2.3.4.1. Condiciones de almacenamiento

Bajo condiciones adecuadas, las soluciones acuosas de Vortexx, Glutaraldehído, Saniclean, Saniquat, y sus respectivas soluciones con alcohol, pueden almacenarse durante período prologados sin efectos adversos. El índice de pérdida de actividad será determinado principalmente por las siguientes condiciones de almacenamiento:

- Temperatura
- pH
- Contaminación del producto

Para que el Vortexx sea efectivo es necesario mantenerlo a temperaturas de 4 a 48°C, por otro lado, el glutaraldehído el principal factor que afecta la vida útil de almacenamiento es la temperatura por lo que debe almacenarse a temperatura ambiente o inferior, a fin de minimizar la descomposición.

El pH de las soluciones basadas en glutaraldehído también tiene un impacto importante sobre su vida útil. El material activo es más estable si el pH

es aproximadamente 4,0. Debe evitarse agregar materiales alcalinos a soluciones concentradas, debido a que la vida útil del material disminuye con un pH elevado.

Por otro lado, Saniquat y Saniclean deben ser almacenados a temperatura ambiente (15 a 35°C), en recipientes bien cerrados y en un área ventilada, fuera de la luz solar y calor.

2.3.5. Tiempo de exposición

Los equipos o superficies deben estar en contacto con el desinfectante en el menor tiempo posible, para optimizar el proceso de desinfección dentro del área. Al controlar esta variable es posible modificar la concentración del desinfectante para obtener los resultados deseados.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Variables

Para el desarrollo de la investigación, es necesaria la definición de las variables y características de cada una de ellas.

Tabla II. Variables

Nombre	Definición conceptual	Definición matemática
Eficiencia Germicida	Se refiere a la capacidad de un desinfectante para eliminar el crecimiento de microorganismos y es directamente proporcional a la concentración del mismo.	$EG~(\%) = \frac{N_s}{N_o} x 100~\%$ La eficiencia germicida está en función de la relación del número de microorganismos sobrevivientes a la acción biocida del desinfectante y el número inicial de microorganismos.
Concentración volumétrica	Es la cantidad de unidades volumétricas de un soluto A por cada mililitro de solución.	$C(\%) = \frac{V_A}{V_T} x 100 \%$ La concentración volumétrica se define como el cociente del volumen de desinfectante utilizado y el volumen total de la solución.
Tiempo	Hace referencia a los minutos de contacto entre los microorganismos y el agente desinfectante	T= {5, 10} minutos
Reducción logarítmica	Reducción logarítmica en relación a la concentración del inóculo inicial del microrganismo y la recuperación final de células viables.	$RL = Log_{10}(N_o) - Log_{10}(N_S)$ Se define como reducción logarítmica a la diferencia de logaritmos del número de microorganismos sobrevivientes respecto del número inicial de microorganismos.

3.2. Delimitación de campo de estudio

El estudio se centra en la validación microbiológica de la eficiencia germicida de seis desinfectantes utilizados en el procedimiento de limpieza y desinfección de las áreas y equipos, previamente estandarizado, para mantener la inocuidad de la planta de una industria farmacéutica. Los análisis se realizaron en el laboratorio de microbiología de la empresa.

3.3. Recursos humanos disponibles

- Asistentes de laboratorio
- Coordinadora de microbiología
- Licenciados encargados del área del laboratorio de microbiología
- Directora de calidad

3.4. Recursos materiales disponibles

Los recursos materiales son necesarios para representar un conjunto de valores los cuales repercuten en resultados de los datos de interés.

3.4.1. Cristalería

- Aza calibrada
- Pipetas serológicas de 10 mL
- Cajas Petri
- Celda de cuarzo
- Recipientes estériles
- Tubos de rosca autoclaveados
- Jeringas de 10 MI

3.4.2. **Equipo**

- Impresora
- Cámara digital
- Computador de escritorio
- Contador de bacterias
- Incubadoras
- Vórtex
- Espectrofotómetro UV
- Pipeta automática de 1000 μL
- Puntas de pipetas azules esterilizadas
- Equipo de protección personal
- Gradillas
- Pipeteador automático
- Mechero tipo Fisher
- Encendedor
- Cronómetro
- Autoclave

3.4.3. Reactivos

- Solución salina
- Alcohol al 70 %
- Saniquat 0,6 %
- Saniquat 0,6 % ROH
- Saniclean 1,5 %
- Saniclean 1,5 % ROH
- Glutaraldehído 1,5 %

Vortexx 0,25 %

3.4.4. Medios de cultivo y diluyente

- Agar Tripticasa Soja
- Agar Sabouraud
- Caldo Letheen modificado
- Solución Salina Buffereada

3.4.5. Microorganismos de prueba

- Staphylococcus aureus ATCC 6538
- Bacillus sp. (Cepa aislada en el laboratorio)
- Escherichia coli ATCC 8739
- Pseudomona aeruginosa ATCC 9027
- Aspergillus brasiliensis ATCC 16404
- Penicillium sp. (Cepa aislada en el laboratorio)

3.5. Técnica cuantitativa

La técnica principal a aplicarse en el proyecto fue la experimentación para evaluar los efectos de las variables independientes sobre las dependientes, en una situación controlada. La primera técnica que se utilizó fue la selección del factor que interesa evaluar para poder, posteriormente, plantear la hipótesis que se desea probar.

Luego se determinó el diseño experimental, que está basado en el procedimiento estándar de la EPA y permite la ejecución del experimento. En esta etapa se realiza el enfrentamiento de los desinfectantes con cada tipo de

cepa, ATCC y salvaje, se debe realizar durante dos meses para recolectar los datos necesarios, según la figura No. 3.

Agregar 1 mL de la suspensión del microorganismo (absorbancia de 0.08 - 0.1 a 650 nm 0.5 estándar de Mcfarland) a evaluar a cada tubo previamente rotulado que contiene 9mL de la dilución del sanitizante o Rotular previamente los tubos con nombre del microorganismo, nombre del sanitizante y tiempo a evaluar. Transcurrido el tiempo añadir a cada tubo conteniendo 9 mL de Caldo Letheen, 1 mL de cada tubo de enfrentamiento (sanitizante + suspensión microbiana), homogenizar en Vortex de 7 a 10 segundos e incubar por 48 horas de 30°C a 35°C para bacterias y de 20°C a 25 °C para hongos. 1 ml 1 mL 1 mL Caldo Letheer Posteriormente por la técnica de Vertido en Placa agregar 1 mL de los tubos con caldo Letheen a una caja Petri y agregar de 15 a 20 mL de agar Tritpticasa Soja (bacterias) y agar Sabouraud (hongos) previamente fundido y a una temperatura de 45°C a 50°C. Realizar por duplicado 1 mL

Figura 3. Prueba desafío de desinfectantes

Fuente: elaboración propia, empleando biorender.

3.6. Recolección y ordenamiento de la información

El estudio del presente trabajo se centró en la evaluación de la actividad biocida de cada desinfectante frente a los microorganismos evaluados. A continuación se detallan las metodologías para recopilar la información necesaria para la caracterización correspondiente.

3.6.1. Recolección de la información

- Realizar una visita al laboratorio de microbiología.
- Solicitar procedimiento de la EPA para la determinación de la actividad germicida de los desinfectantes.
- Preparar cepas ATCC de E. coli, S. aureus, P. aeruginosa, A. brasiliensis, Bacillus. Incubar a 36 ± 1 °C durante 24 ± 2 h, y las soluciones de los desinfectantes.
- Identificar los tubos, según el microorganismo, el desinfectante a enfrentar y la concentración del mismo; colocarlos en las gradillas.
- Separar, en las gradillas, los tubos a los que se les agregará el desinfectante de los que poseerán caldo Letheen.
- Desinfectar el área de trabajo y encender el mechero.
- Agregar, con una pipeta serológica, 9 mL de caldo Letheen y desinfectante en sus respectivos tubos. Colocarlos nuevamente en las gradillas.
- Retirar de la incubadora las cepas de los microorganismos preparadas anteriormente.
- Agregar 20 mL de solución salina, en frascos estériles.
- Esterilizar el aza calibrada. Extraer 5 mL de solución salina con una jeringa de 10 mL y agregarlos en la caja Petri de cada cepa.

- Realizar una suspensión microbiana, con ayuda del aza.
- Retirar la aguja de la jeringa y extraer la suspensión con ayuda de la jeringa.
- Preparar el estándar de McFarland de cada microorganismo, agregando gotas de la suspensión microbiana hasta generar turbidez en la solución salina.
- Encender espectrofotómetro UV y cargar el método de McFarland del equipo.
- Medir la absorbancia de cada suspensión, esta debe estar en un rango de 0,08 a 1,00 en una longitud de onda de 650 nm.
- Agregar 1 mL de la suspensión al tubo con desinfectante y agitar.
- Dejar actuar durante 5 y 10 minutos, respectivamente.
- Trasvasar 1 mL al neutralizante Letheen, para detener la acción germicida y agitar.
- Colocar 1 mL de la solución anterior, en una caja Petri y agregar 20 mL de caldo de soja tríptica para las bacterias y dextrosa Sabouraud para los hongos.
- Homogenizar.
- Incubar a 36 ± 1 °C durante 48 ± 2 h para las bacterias, y para los hongos 72 ± 2 h.
- Contar las unidades formadoras de colonias (UFC).
- Determinar la eficiencia porcentual.
- Evaluar la fecha de caducidad de la desinfección basados en el cumplimiento de la reducción logarítmica.
- Diseñar el programa de rotación de desinfectantes para la planta.
- Verificar que el programa de rotación se apague a los procedimientos de limpieza de los equipos y áreas.

NOTA: Realizar el mismo procedimiento con cada desinfectante durante dos meses.

3.7. Análisis estadístico

A continuación, se describen el análisis estadístico realizado para la evaluación de la eficacia de inhibición de los microorganismos respecto al desinfectante utilizado.

3.7.1. Distribución Chi cuadrada

Para analizar la eficacia de la inhibición de los microorganismos respecto del desinfectante utilizado se usó un análisis de distribución chi cuadrado. En el cual se establecen las siguientes hipótesis:

 H_0 : Los desinfectantes no tienen efecto biocida sobre los microorganismos evaluados.

 H_1 : Los desinfectantes tienen efecto biocida sobre los microorganismos evaluados.

Este análisis se utiliza para variables cualitativas, tomando en cuenta los datos observados y esperados. A partir de los cuales se determina la distribución Chi cuadrada utilizando la siguiente ecuación:

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (o_i - e)^2}{e}$$
 Ec. 1

Utilizando un nivel de significancia de 0,05 se determinaron los siguientes valores esperados, evaluando la presencia o ausencia de microorganismos luego de la aplicación de desinfectantes:

Tabla III. Valores esperados

	Saniclean	Saniclean	Saniquat	Saniquat	Vortov	Glutaraldehído	
	1,5 %	1,5 % - ROH	0,6 %	0,6 % - ROH	Vortex	Glutaralderiido	
Presente	5	5	5	5	5	5	
Ausente	25	25	25	25	25	25	
Total	30	30	30	30	30	30	

A partir de la determinación de datos esperados se obtiene, utilizando la ecuación No. 1, el valor de Chi cuadrado para seis grados de libertad:

$$X^2 = 35.2$$

Al verificar la probabilidad de la tabla 5 del libro "Probabilidad y Estadística para Ingenieros", con un valor de significancia de 0,05 y seis grados de libertad muestra el valor crítico se de 12,592. Por lo tanto, se puede rechazar hipótesis nula comprobando estadísticamente la actividad biocida de los desinfectantes sobre los microorganismos.

4. **RESULTADOS**

4.1. Espectro de acción de cada desinfectante

A continuación, se describe la presencia/ausencia de los microorganismos utilizados para la evaluación de los desinfectantes, esta se realizó de forma cualitativa, evaluando la turbidez generada en cada tubo inoculado con el microorganismo y la acción del desinfectante.

Asimismo, se presenta el análisis estadístico de la cantidad de tubos esperados, determinados por medio del análisis de Chi cuadrado, que deberían haber presentado turbidez, para comprobar la hipótesis planteada.

Tabla IV. Espectro de acción de cada desinfectante

	Microorganismo						
Desinfectante	E. coli	S.	P.	Bacillus	A.	Penicillium	
		aureus	aeruginosa	sp.	brasiliensis	sp.	
Vortexx 0,25 %	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	
Saniquat 0,6 %	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	
Saniclean 1,5 %	Ausente	Ausente	Presente	Presente	Presente	Ausente	
Glutaraldehído	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	
1,5 %	Auscrite	Auscrite	Auscrite	Auscrite	Auscrite	Adsonto	
Saniquat – ROH	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	
0,6 %	raconic	raconto	7 tuoonto	1 10001110	710001110	ridoonio	
Saniclean – ROH	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	
1,5 %	, additio	/ tuberite	, additio	1 TOSCINO	/ tabelite	, additio	

Tabla V. Valores esperados de análisis estadístico

	Saniclean	Saniclean	Saniquat	Saniquat	Vortex	Glutaraldehído	
	1,5 %	1,5 % - ROH	0,6 %	0,6 % - ROH	vortex	Glutaralueriluo	
Presente	5	5	5	5	5	5	
Ausente	25	25	25	25	25	25	
Total	30	30	30	30	30	30	

4.2. Evaluación de fecha de caducidad mediante reducción logarítmica

Se evaluó la fecha de caducidad de cada desinfectante, determinando la reducción logarítmica de los microorganismos por el efecto biocida del desinfectante, la cual se realizó en tiempos de 5 y 10 minutos en cada mes. Para aprobar la fecha de caducidad la especificación de reducción logarítmica a cumplir debe ser mayor o igual a cinco ciclos logarítmicos.

Tabla VI. Reducción logarítmica de los diferentes microorganismos frente al desinfectante Vortexx

Microorganismo	Inio	cio	Primer mes Segundo mes			do mes
Microorganismo	5 min	10 min	5 min	10 min	5 min	10 min
E. coli	8	8	8	8	8	8
S. aureus	8	8	8	8	8	8
P. aeruginosa	8	8	8	8	8	8
Bacillus sp.	8	8	8	8	8	8
A. brasiliensis	6	6	6	6	4	4
Penicillium sp.	6	6	6	6	6	6

Tabla VII. Reducción logarítmica de los diferentes microorganismos frente al desinfectante Saniquat

Microorganismo	Inio	cio	Prime	er mes	Segun	do mes
Wildreddigariidine	5 min	10 min	5 min	10 min	5 min	10 min
E. coli	7	8	8	8	8	8
S. aureus	8	8	8	8	8	8
P. aeruginosa	6	8	8	8	8	8
A. brasiliensis	6	6	4	5		4
Penicillium sp.	6	6	5	6	6	6

Tabla VIII. Reducción logarítmica de los diferentes microorganismos frente al desinfectante Saniquat – ROH

Microorganismo	Inio	cio	Prime	r mes	Segundo mes		
Wilchoorganismo	5 min	10 min	5 min	10 min	5 min	10 min	
E. coli	8	8	7	8	8	8	
S. aureus	8	8	8	7	8	8	
P. aeruginosa	7	8	8	8	8	8	
A. brasiliensis	6	6	6	6	6	6	
Penicillium sp.	6	6	5	6	6	6	

Tabla IX. Reducción logarítmica de los diferentes microorganismos frente al desinfectante Saniclean

Microorganismo	Inio	cio	Prime	r mes	Segun	do mes
Wildredayariisine	5 min	10 min	5 min	10 min	5 min	10 min
E. coli	8	8	6	8	4	4
S. aureus	8	8	6	8	4	4
Penicillium sp.	6	6	6	6	4	4

Tabla X. Reducción logarítmica de los diferentes microorganismos frente al desinfectante Saniclean – ROH

Microorganismo	Inio	cio	Prime	r mes	Segun	do mes
Whoroorganiomo	5 min	10 min	5 min	10 min	5 min	10 min
E. coli	8	8	8	8	8	8
S. aureus	8	8	8	8	8	8
P. aeruginosa	8	8	8	8	8	8
A. brasiliensis	6	6	6	6	6	6
Penicillium sp.	6	6	6	6	6	6

Tabla XI. Reducción logarítmica de los diferentes microorganismos frente al desinfectante Glutaraldehído

Microorganismo	Inio	cio	Primer mes Segundo me			do mes
Iviicioorganiisino	5 min	10 min	5 min	10 min	5 min	10 min
E. coli	8	8	8	8	8	8
S. aureus	8	8	8	8	8	8
P. aeruginosa	8	8	8	8	8	8
Bacillus sp.	8	8	8	8	8	8
A. brasiliensis	6	6	6	6	6	6
Penicillium sp.	6	6	6	6	6	6

4.3. Estimación de la eficiencia germicida porcentual de cada desinfectante

La eficiencia germicida porcentual hace referencia a la acción bactericida del desinfectante desarrollada por sus principios activos.

Tabla XII. Eficiencia germicida porcentual de Vortexx frente a diversos microorganismos

Tie	empo			Microorgan	nismo		
Mes	Minuto	Escherichia coli ATCC 8739	Staphylococcus aureus ATCC 6538	Pseudomona aeruginosa ATCC 9027	Bacillus sp	Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	Penicillium sp.
	5	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %
0	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %
4	5	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %
'	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %
2	5	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	99,983 %	>99,999 %
	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	99,994 %	>99,999 %

Tabla XIII. Eficiencia germicida porcentual de Saniquat frente a diversos microorganismos

Tiempo		Microorganismo					
		Escherichia	Staphylococcus	Pseudomona	Aspergillus	Penicillium	
Mes	Minuto	coli ATCC	aureus ATCC	aeruginosa	brasiliensis	sp.	
		8739	6538	ATCC 9027	ATCC 16404	3ρ.	
0	5	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
1	5	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	99,987 %	>99,999 %	
	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
2	5	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %		>99,999 %	
_	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	99,974 %	>99,999 %	

Tabla XIV. Eficiencia germicida porcentual de Saniquat – ROH frente a diversos microorganismos

Tiempo		Microorganismo					
Mes	Minuto	Escherichia coli ATCC	Staphylococcus aureus ATCC	Pseudomona aeruginosa	Aspergillus brasiliensis	Penicillium sp.	
	5	8739 >99,999 %	6538 >99,999 %	ATCC 9027 >99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
0	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
1	5	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
2	5	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	

Tabla XV. Eficiencia germicida porcentual de Saniclean frente a diversos microorganismos

	Tiempo	Microorganismo			
Mes	Minuto	Escherichia coli ATCC 8739	Staphylococcus aureus ATCC 6538	Penicillium sp.	
0	5	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
U	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
1	5	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
'	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
2	5	99,992 %	99,993 %	99,987 %	
2	10	99,997 %	99,997 %	99,991 %	

Tabla XVI. Eficiencia germicida porcentual de Saniclean – ROH frente a diversos microorganismos

Tiempo		Microorganismo					
	Minuto	Escherichia	Staphylococcus	Pseudomona	Aspergillus	Penicillium	
Mes		coli ATCC	aureus ATCC	aeruginosa	brasiliensis		
		8739	6538	ATCC 9027	ATCC 16404	sp.	
0	5	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
1	5	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
2	5	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	

Tabla XVII. Eficiencia germicida porcentual de Glutaraldehído frente a diversos microorganismos

Tiempo		Microorganismo						
Mes	Minuto	Escherichia coli ATCC 8739	Staphylococcus aureus ATCC 6538	Pseudomona aeruginosa ATCC 9027	Bacillus sp	Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	Penicillium sp.	
0	5	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
1	5	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
'	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
2	5	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	
	10	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	>99,999 %	

4.4. Programa de rotación de desinfectantes

El programa de rotación de desinfectantes está basado en el espectro de acción y la evaluación de la fecha de caducidad del proceso de limpieza.

Figura 4. **Programa de rotación de desinfectantes**

Área
Vortexx 0,25 % + Glutaraldehído 1,5 %
Saniquat 0,6 % + Glutaraldehído 1,5 %
Saniclean 1,5 % + Glutaraldehído 1,5 %
Saniclean 1,5 % + Vortexx 0,25 %
Vortexx 0,25 % + Glutaraldehído 1,5 %
Equipos
ROH+ Saniclean + Glutaraldehído
Vortexx 0,25 % + Saniquat 0,6 %
Glutaraldehído + ROH + Saniquat
Vortexx 0,25 % + ROH + Saniclean

5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

5.1. Caracterización microbiológica del efecto biocida

Según los resultados obtenidos los factores que inciden en el proceso de desinfección, de manera significativa son: el tiempo de contacto, tipo de microorganismo presente, efecto final deseado y eficiencia germicida porcentual. Cada variable evaluada y sus respectivos resultados permitieron establecer parámetros para el cumplimiento de especificaciones de un área limpia de una industria farmacéutica.

Teniendo en cuenta los resultados de los análisis realizados durante los dos meses de evaluación y bajo las condiciones evaluadas, se establecieron límites de acción para cada desinfectante, garantizando de esta manera que la combinación de los diferentes desinfectantes utilizados, por sus características intrínsecas, establezcan una clasificación de nivel de acción relativamente alto para los desinfectantes evaluados.

El espectro de acción de cada desinfectante permite delimitar la actividad biocida, para posteriormente, realizar un enfrentamiento entre desinfectantes y microorganismos en un tiempo de acción definido. El resultado obtenido del proceso de desinfección permite determinar la eficiencia germicida porcentual que clasifica el nivel de acción del desinfectante evaluado respecto del microorganismo deseado, y la reducción logarítmica que permitió definir el tiempo de vigencia del proceso desinfección.

5.2. Espectro de acción de cada desinfectante

Según el espectro de acción evaluado, Vortexx y Glutaraldehído son desinfectantes de alto nivel, ya que son efectivos contra todos los microorganismos enfrentados, sin embargo, los desinfectantes preparados con alcohol como solvente, no son adecuados contra *Bacillus sp.*, esto se debe posiblemente a la resistencia que esta cepa salvaje posee. Lo mismo sucede con Saniquat y Saniclean preparados con agua, con la salvedad que el segundo no posee efecto biocida contra *Pseudomona aeruginosa y Aspergillus brasiliensis*, asociado a la resistencia innata del microorganismo a las biguanidas, las cuales son el principio activo del desinfectante.

5.3. Evaluación de la fecha de caducidad del proceso de desinfección y estimación de la eficiencia germicida porcentual de cada desinfectate

Los desinfectantes Vortexx y Glutaraldehído cumplen con una reducción de ocho y seis ciclos logarítmicos para las bacterias y hongos, respectivamente. El Vortexx no cumple la especificación de la reducción logarítmica de *Aspergillus brasiliensis* al segundo mes, por lo que se establece el uso del desinfectante a un mes, para ambos.

Saniquat con agua se puede usar hasta el primer mes, debido a la reducción de cuatro ciclos logarítmicos de *Aspergillus brasiliensis* dejándolo actuar sobre la superficie deseada durante diez minutos, la caducidad de su actividad germicida se puede extender hasta un mes si este se aplica en conjunto a un desinfectante de alto nivel. Los resultados de la tabla X demuestran la sinergia que el alcohol y amonio cuaternario poseen, al obtener

reducciones logarítmicas mayores a cinco ciclos, validando su uso durante dos meses.

Según la tabla XI, solamente se puede usar Saniclean con agua durante un mes, debido al incumplimiento de la especificación de los ciclos logarítmicos, esto se debe a la resistencia que el microorganismo adquiere al utilizar constantemente dicho desinfectante. Por lo tanto, se hace necesario utilizar Vortexx o Glutaraldehído en conjunto, para reducir la concentración de los microorganismos que los biguanidas no pueden eliminar. Al igual que el Saniquat con alcohol, la tabla XII demuestra el incremento de la inhibición de los microorganismos, generado por la presencia del alcohol en el desinfectante, reduciendo ocho y seis ciclos logarítmicos durante los dos meses evaluados.

A partir de las tablas XIV a la XIX, se infiere que la eficiencia germicida porcentual de cada desinfectante, está relacionada con su concentración y tiempo de acción, siendo esta la variable más importante en el proceso de desinfección. Para una concentración dada de desinfectante la mortalidad aumenta cuanto mayor sea el tiempo de exposición. Este resultado se debe fundamentalmente a la acción bactericida del desinfectante desarrollada por sus principios activos que logran inhibir gran parte de la carga microbiana presente en las superficies; los más importantes son el Vortexx y Glutaraldehído, donde el mecanismo de acción implica una fuerte asociación con las capas externas de las células bacterianas, efecto que podría explicar su acción inhibitoria en el transporte y sistemas enzimáticos, donde no hay acceso de sustrato a las enzimas.

La reducción de la población microbiana en promedio, al usar cada desinfectante es mayor al 99,999 %, con sus respectivas excepciones con *Bacillus sp* y en algunos casos *A. brasiliensis*, con estos resultados se pueden

clasificar el Vortexx y Glutaraldehído como desinfectantes de alto nivel, mientras que, Saniclean, Saniquat y sus derivados son considerados como desinfectantes de medio nivel.

5.4. Programa de rotación de desinfectantes

En lo referente a la cepa salvaje de *Bacillus sp.* es necesario realizar combinaciones entre desinfectantes para poder reducir la carga microbiana de las áreas y superficies de este microorganismo, dándo como resultado el programa de rotación de desinfectantes, de la figura No. 4. La resistencia de *Bacillus sp.* se atribuye a que los microorganismos esporulados forman una barrera de entrada frente a los agentes antimicrobianos ya que las membranas que rodean al núcleo de la endospora actúan como protección contra la penetración del agente químico. Por tanto, es necesario la presencia de un desinfectante de alto nivel en todas las rotaciones que se establecen.

CONCLUSIONES

- Para el Glutaraldehído y Vortexx utilizados a concentraciones de 1,5 % y 0,25 %, respectivamente, el espectro de acción cubre a los seis microorganismos analizados. Sin embargo, Saniclean con agua y alcohol, Saniquat con agua y alcohol, su acción biocida cubre cinco microorganismos, exceptuando Bacillus sp.
- Al validar los desinfectantes frente a los diferentes microorganismos enfrentados se obtiene, el tiempo de uso adecuado de cada desinfectante, asimismo, en promedio, un porcentaje de inhibición mayor o igual al 99.999% en la concentración recomendada durante un mes,
- La presencia de un desinfectante de alto nivel, como Vortexx o Glutaraldehído, es necesaria en todos los esquemas del programa de rotación realizado.
- 4. La fecha de caducidad del proceso de desinfección, utilizando el programa de rotación elaborado, es de un mes.

RECOMENDACIONES

- Validar las modificaciones o cambios importantes en el proceso de limpieza y desinfección en equipos, condiciones de áreas y agentes de desinfección que puedan modificar el mismo.
- Respetar los tiempos de exposición recomendados para garantizar la reducción de los microorganismos a límites permisibles en la industria farmacéutica.
- 3. Garantizar el almacenamiento adecuado de cada desinfectante, utilizando recipientes herméticos en lugares alejados de la luz directa.
- Evitar el uso prolongado de los desinfectantes luego de un mes a partir de su preparación.
- 5. Realizar una caracterización de los microorganismos presentes en las áreas evaluadas, con la finalidad de conocer la carga microbiana propia de los ambientes y superficies, para que de esta manera se proceda a la selección de los agentes desinfectantes y las concentraciones a emplear en un proceso de desinfección.
- 6. Revalidar la actividad biocida de los desinfectantes cada dos años para evaluar si su comportamiento es el mismo.

BIBLIOGRAFÍA

- AOAC International. Methods Committee Guidelines for validation of qualitative and quantitative food microbiological official methods of analysis. Journal of AOAC Int. Vol. 85, No 5, 2002. 535 p.
- DANYER, Sandel, STEWART, Gary. Mechanisms of action of disinfectants. International Biodeterioration and Biodegradation, 1998. 350 p.
- DONNELL, Gustav, RUSSELL, Denver. Antiseptics and disinfectants:
 Activity, action and resistance. Clinical/ Microbiology Reviews,
 1999. 245 p.
- Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs. Standard operating procedure for germicidal and detergent sanitizing action of disinfectants test. SOP Number: MB-27-02, 2016. 13 p.
- ISO17665-1: 2006. Sterilization of health care products Moist heat –
 Part 1: Requirements for development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices, 2006. 15 p.
- MCFARLAND, Joseph. The nephelometer: an instrument for estimating the numbers of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. J. Am. Med. Assoc, 1907. 1200 p.

- 7. MORTON, HE. The relationship of concentration and germicidal efficiency of ethyl alcohol. Ann N.Y. Acad. Sci. 1950. 53:100 p.
- RUSSELL AD, GOULD GW. Resistance of enterobacteriaceae to preservatives and disinfectants. Soc – Appl Bacteriol Symp Ser, 1988. 200 p.
- 9. RUTALA, William, WEBER, David, and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities, 2008. 150 p.
- SANDERS, FT, The EPA's role in the regulation of antimicrobial pesticides in the United States. In: Rutala WA, ed. Disinfection, sterilization and antisepsis: Principles, practices, challenger, and new research. Washington, DC: Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, 2004. 300 p.
- 11. SANZ, Eduardo. Validación de limpieza en la industria farmacéutica.

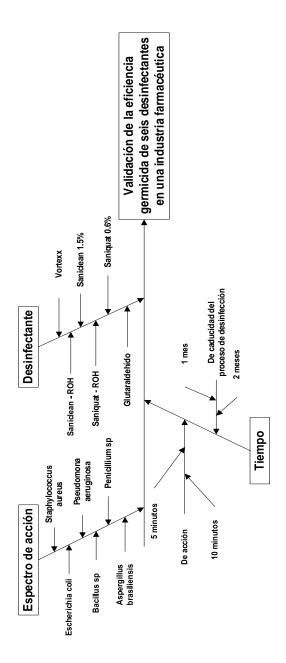
 Johnson & Johnson: McNeil Ibérica S.L.U., 2005. 124 p.

APÉNDICE

Apéndice 1. Requisitos académicos

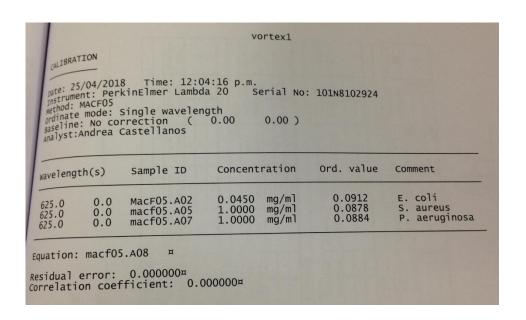
Carrera	Área	Curso	Principio				
		Análisis cualitativo	Métodos cualitativos de presencia y ausencia de turbidez.				
	Química	Química orgánica 2	Nomenclatura y propiedades de compuestos orgánicos.				
ca		Análisis instrumental	Métodos espectrofotométricos.				
Ingeniería Química	Especialización	Microbiología	Siembras de cepas, determinación de UFC/mL utilizando el método de vertido en placa.				
	básicas y compleme	Estadística 2	Análisis estadístico.				
	EPS	Prácticas intermedias	Buenas prácticas de laboratorio y manufactura.				

Apéndice 2. Diagrama de Ishikawa

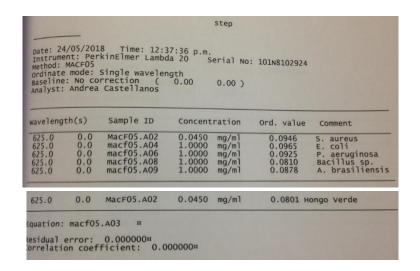


Parámetros necesarios para la validación del uso del desinfectante Vortexx y Glutaraldehído.

Apéndice 3. Absorbancia de suspensiones de cada microorganismo al inicio



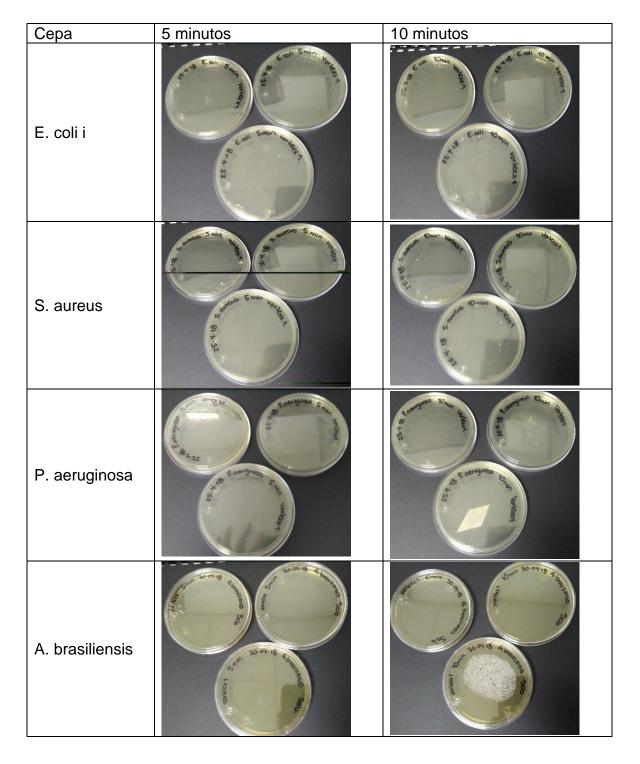
Apéndice 4. Absorbancia de suspensiones de cada microrganismo primer mes



Apéndice 5. Absorbancia de suspensiones de cada microorganismo al segundo mes

method: ordinate	mode:	8 Time: 11:3 kinElmer Lambo Single waveler rrection (Castellanos	ath	erial No:	101n8102924	
aveleng	th(s)	Sample ID	Concent	ration	Ord. value	Comment
625.0	0.0	MacF05.A02	0.0450	mg/m]	0.0815 0.0886	S. aureus E. coli
625.0 625.0	0.0	macf05.A05 macf05.A07	1.0000	mg/ml mg/ml	0.0960	
525.0	0.0	macf05.A09	1.0000	mg/m1	0.0875	Bacillus sp.
	0.0	macf05.A05	1.0000	mg/ml	0.0802	A. brasiliensis
625.0		macf05.A08	1.0000	mq/ml	0.0803	Hongo Verde

Apéndice 6. Reducción de los diferentes microorganismos al inicio



A. brasiliensis us. Vortex 1M

Bacillus sq. Vs. Vortex 1M.

E. coli vs. Vortex 1M

Apéndice 7. Reducción de los diferentes microorganismos al primer mes

Hongo Verde us Vortex 1M

P. aenginosa us. Vortex 1M

S. auteus vs. Vortex 1M.

Backs of va Valva 2 ones

Excell Va Valva 2 ness

Faculty on va Valva 2 ness

Apéndice 8. Reducción de los diferentes microorganismos al segundo mes

Apéndice 9. Datos calculados al inicio para Vortexx

N 41			-			TIEMPO DE E	XPOSICIÓN				
Microorgani	Smo: E. COII			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganisr	no: S. aureus			5 minutos		TIEMPO DE E	XPOSICION		10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganismo	: P. aeruainosa					TIEMPO DE E	XPOSICIÓN				
				5 minutos	1	1		1	10 minutos	1	•
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción Iogarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganism	o: Racillus sa					TIEMPO DE E	XPOSICIÓN				
Wilcioorganism	o. Dacinas sp.			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganismo	: A. brasiliensis					TIEMPO DE E	XPOSICIÓN				
····c· corganismo				5 minutos	1	1		1	10 minutos	1	•
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6,00	С	1	0,00	6,00	6,00	С
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		
Microorganismo	Penicillium sn.					TIEMPO DE E	XPOSICIÓN				
5.00.6051110				5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6,00	С	1	0,00	6,00	6,00	С

Continuación del apéndice 9.

E	FICIENCIA GER	MICIDA			
			EXPOSICIÓN		
Microorganismo: <i>E. coli</i>	5 mir		10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Microcorgonismos Consesso		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Microorganismo: <i>S. aureus</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
National Control of the Control of t		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Microorganismo: <i>P. aeruginosa</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
,	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
			EXPOSICIÓN		
Microorganismo: <i>Bacillus sp.</i>	5 mir		10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
A formation		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Microorganismo: A. brasiliensis	5 mir	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	99,9999 %	1	99,9999 %	
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %	
	1	99,9999 %	1	99,9999 %	
Microorganismo: Banisillium		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Microorganismo: <i>Penicillium sp.</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	99,9999 %	1	99,9999 %	
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %	
	1	99,9999 %	1	99,9999 %	

Apéndice 10. Datos calculados al primer mes para Vortexx

N 41 1						TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Microorgani	smo: <i>E. coli</i>			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganisn	no: S. aureus			5 minutos		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganismo	. D geruginosa					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Wilcioorganismo	. r. deruginosu			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción Iogarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00	_	
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		Ĭ
Microorganism	Dill					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
wiicroorganism	o. Bacillus sp.			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
•		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganismo						TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Wilcroorganismo	. A. Drusiliensis			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6,00	С	1	0,00	6,00	6,00	С
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		
Microorganismo:	Penicillium sn					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
	. c.nemam sp.			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		
		-	0.00	C 00	C 00						_
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6,00	С	1	0,00	6,00	6,00	С

Continuación del apéndice 10.

E	FICIENCIA GER	RMICIDA				
			EXPOSICIÓN			
Microorganismo: <i>E. coli</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos		
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
1	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
Microorganismo: S. aureus		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN			
Wilcroorganismo. 3. dureus	5 mir	nutos	10 mi	nutos		
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
1,002.00	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
			EXPOSICIÓN	230,0000 70		
Microorganismo: <i>P. aeruginosa</i>	5 mir			nutos		
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
1,002:00	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
	_	•	EXPOSICIÓN			
Microorganismo: <i>Bacillus sp.</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos		
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
1,002:00	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
	1	TIEMPO DE				
Microorganismo: <i>A. brasiliensis</i>	5 mir	nutos		nutos		
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado		
	1	99,9999 %	1	99,9999 %		
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %		
1,002.100	1	99,9999 %	1	99,9999 %		
	-		EXPOSICIÓN	33,333370		
Microorganismo: Penicillium sp.	5 mir	nutos		nutos		
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado		
	1	99,9999 %	1	99,9999 %		
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %		
-,00L.00	_	,		/		

Apéndice 11. Datos calculados al segundo mes para Vortexx

						TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		-		•
Microorgani	smo: <i>E. coli</i>			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganism	no: S. aureus			5 minutos		HEMPO DE	EXPOSICIÓN		10 minutos		
				Jillillatos					10111111111103		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganismo	: P. aeruginosa					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
				5 minutos	1	1			10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00	8,00	
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganism	o: Bacillus sp.					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
				5 minutos	1	1		1	10 minutos	1	
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganismo	: A. brasiliensis					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
				5 minutos	1	1		1	10 minutos	1	
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		140	2,15	3,85			20	1,30	4,70		
1,00E+06	6	180	2,26	3,74	4	NC	80	1,90	4,10	4	NC
		190	2,28	3,72			70	1,85	4,15		
Microorganismo:	Penicillium sp.					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
				5 minutos	1	1			10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6,00	С	1	0,00	6,00	6,00	С
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		

Continuación del apéndice 11.

	EFICIENCIA GE	FICIENCIA GERMICIDA						
Adiana anna i 5 . f		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN					
Microorganismo: <i>E. coli</i>	5 mir	nutos	10 m	inutos				
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado				
	1	100,0000 %	1	100,0000 %				
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %				
	1	100,0000 %	1	100,0000 %				
Miero ergenismo. C. guraus		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN					
Microorganismo: <i>S. aureus</i>	5 mir	nutos	10 m	inutos				
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado				
	1	100,0000 %	1	100,0000 %				
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %				
	1	100,0000 %	1	100,0000 %				
Micro over pierro D. monuninae		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN					
Microorganismo: <i>P. aeruginosa</i>	5 mir	nutos	10 m	inutos				
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado				
	1	100,0000 %	1	100,0000 %				
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %				
	1	100,0000 %	1	100,0000 %				
Microorganismo: Pacillus en		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN					
Microorganismo: Bacillus sp.	5 mir	nutos	10 m	inutos				
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado				
	1	100,0000 %	1	100,0000 %				
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %				
	1	100,0000 %	1	100,0000 %				
Naisus sussaisus sus A. Inustition sign		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN					
Microorganismo: <i>A. brasiliensis</i>	5 mir	nutos	10 m	inutos				
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado				
	140	99,9860 %	20	99,9980 %				
1,00E+06	180	99,9820 %	80	99,9920 %				
	190	99,9810 %	70	99,9930 %				
Microorganismo: Denicillium		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN					
Microorganismo: <i>Penicillium sp.</i>	5 mir	nutos	10 m	inutos				
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado				
	1	99,9999 %	1	99,9999 %				
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %				
	1	99,9999 %	1	99,9999 %				

Apéndice 12. Datos calculados al inicio para Glutaraldehìdo

Microorganismo: <i>E. coli</i> 5 minutos TIEMPO DE EXPOSICIÓN 10 m												
Microorgani	smo: <i>E. coll</i>			5 minutos					10 minutos			
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado	
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00			
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С	
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00			
Microorganisr	no: S. aureus			F		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		40			
	I		l	5 minutos	l			l	10 minutos	1	ı	
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado	
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00			
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С	
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00			
Microorganismo	: P. aeruainosa					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN					
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·				5 minutos					10 minutos			
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado	
·		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00			
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С	
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00			
Microorganism	no: Bacillus sn.					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN					
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·			1	5 minutos	1			1	10 minutos			
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado	
·		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00			
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С	
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00			
Microorganismo	: A. brasiliensis					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN					
			1	5 minutos	1			1	10 minutos			
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado	
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00			
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6,00	С	1	0,00	6,00	6,00	С	
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00			
Microorganismo	: Penicillium sp.					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN					
			ı	5 minutos	ı			ı	10 minutos	ı	ı	
	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado	
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (OFC/IIIL)	UFC/IIIL	(0.0,)									
	log 10 (OFC/IIIL)	1	0,00	6,00			1	0,00	6,00			
	6	,			6,00	С	1	0,00	6,00 6,00	6,00	С	

Continuación del apéndice 12.

E	FICIENCIA GER	MICIDA				
Minus aura di aura Estadi		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN			
Microorganismo: <i>E. coli</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos		
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
Ndiana anna inna a G		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN			
Microorganismo: <i>S. aureus</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos		
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
·	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
	1		EXPOSICIÓN	•		
Microorganismo: P. aeruginosa	5 mir	nutos	10 mi	nutos		
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
·	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN			
Microorganismo: <i>Bacillus sp.</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos		
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
		TIEMPO DE	EMPO DE EXPOSICIÓN			
Microorganismo: A. brasiliensis	5 mir	nutos	10 mi	nutos		
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado		
	1	99,9999 %	1	99,9999 %		
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %		
	1	99,9999 %	1	99,9999 %		
		,	EXPOSICIÓN			
Microorganismo: <i>Penicillium sp.</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos		
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado		
	1	99,9999 %	1	99,9999 %		
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %		
	1	99,9999 %	1	99,9999 %		

Apéndice 13. Datos calculados al primer mes para Glutaraldehido

						TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Microorgani	smo: E. COII			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganisr	no: S. aureus	5 minutos			TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		10 minutos			
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganismo	: P. aeruginosa					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
0				5 minutos		1			10 minutos	1	1
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganism	o: Bacillus sp.					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
				5 minutos		1			10 minutos	1	1
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganismo	: A. brasiliensis					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
	1			5 minutos		1			10 minutos		1
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6,00	С	1	0,00	6,00	6,00	С
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		
Microorganismo	Penicillium sn					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Wilcioorganismo	r ememum sp.			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6,00	С	1	0,00	6,00	6,00	С
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		

Continuación del apéndice 13.

E	FICIENCIA GER	RMICIDA			
		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Microorganismo: <i>E. coli</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Micro organismo. C gurgous		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Microorganismo: S. aureus	5 mir	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Microcranismo. B. roweiness		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Microorganismo: <i>P. aeruginosa</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Naisura aura niana a Baraillea an		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Microorganismo: Bacillus sp.	5 mir	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Niena anno viena a A buscilio cata		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Microorganismo: A. brasiliensis	5 mir	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	99,9999 %	1	99,9999 %	
1,00E+06					
	1	99,9999 %	1	99,9999 %	
		99,9999 % 99,9999 %	1		
Microorganismo: Daniellium	1	99,9999 %		99,9999 %	
Microorganismo: <i>Penicillium sp.</i>	1	99,9999 % TIEMPO DE	1	99,9999 %	
Microorganismo: <i>Penicillium sp.</i> Recuento inicial UFC/mL	1 1	99,9999 % TIEMPO DE	1 EXPOSICIÓN	99,9999 %	
	1 1 5 mir Recuento	99,9999 % TIEMPO DE nutos	1 EXPOSICIÓN 10 mi Recuento	99,9999 % 99,9999 % nutos	
	1 1 5 mir Recuento final UFC/mL	99,9999 % TIEMPO DE nutos Resultado	1 EXPOSICIÓN 10 mi Recuento final UFC/mL	99,9999 % 99,9999 % nutos Resultado	

Apéndice 14. Datos calculados al segundo mes para Glutaraldehido

Minner						TIEMPO DE E	XPOSICIÓN				
Microorgani	Smo: E. COII			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganisr	no: <i>S. aureus</i>		<u> </u>	5 minutos	<u> </u>	TIEMPO DE E	XPOSICION	<u> </u>	10 minutos	<u> </u>	
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción Iogarítmica	Promedio	Dictamen C/NC
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganismo	: P. aeruainosa					TIEMPO DE E	XPOSICIÓN				
			1	5 minutos	1				10 minutos	1	
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción Iogarítmica	Promedio	Dictamen C/NC
1,00E+08		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganismo: Bacillus sp.						TIEMPO DE E	XPOSICIÓN				
			1	5 minutos	1			1	10 minutos	1	1
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción Iogarítmica	Promedio	Dictamen C/NC
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,00	С	1	0,00	8,00	8,00	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganismo	· A. hrasiliensis					TIEMPO DE E	XPOSICIÓN				
····c·corgams····c			1	5 minutos	1			•	10 minutos	1	
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción Iogarítmica	Promedio	Dictamen C/NC
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6,00	С	1	0,00	6,00	6,00	С
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		
Microorganismo	Penicillium sp.					TIEMPO DE E	XPOSICIÓN				
			1	5 minutos	1			1	10 minutos	T	1
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción Iogarítmica	Promedio	Dictamen C/NC
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6,00	С	1	0,00	6,00	6,00	С
		1	0,00	6,00	1		1	0,00	6,00	ī	

Continuación del apéndice 14.

EF	ICIENCIA GERI	MICIDA			
Micro organismo: F. zali		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Microorganismo: <i>E. coli</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Microorganismo: <i>S. aureus</i>		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Wilcroongariisinio. 3. uureus	5 mir	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento	Resultado	Recuento	Resultado	
Recueitto illiciai orc/ill	final UFC/mL	Resultado	final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Microorganismo: <i>P. aeruginosa</i>		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Wilchool gariishio. 1. acraginosa	5 mir	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Microorganismo: Bacillus sp.		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Wilchoofganismo. Bucillus sp.	5 mir	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Microcygoniamo, A byzailianaia		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Microorganismo: A. brasiliensis	5 mir	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+06	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Microorganismo: Benicillium		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Microorganismo: Penicillium sp.	5 mir	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
4 005 06	4	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+06	1	100,0000 %	т	100,0000 /6	

Parámetros necesarios para la validación del uso del desinfectante Saniclean y Saniclean – ROH.

Apéndice 15. Absorbancia de suspensiones de cada microrganismo al inicio

nstrume ethod: ordinate aseline	MACF05 mode:	8 Time: 02:4 kinElmer Lambd Single wavelen rrection (Castellanos	a 20 S		: 101n8102924	
aveleng	th(s)	Sample ID	Concent	ration	Ord. value	Comment
625.0 625.0 625.0	0.0	macf05.A04 macf05.A07 macf05.A08	1.0000 1.0000 1.0000	mg/ml mg/ml mg/ml	0.0931 S. 0.0981 E. 0.0910 P.	
NAME OF TAXABLE PARTY.	0.0	macf05.A04	1.0000	mg/m7		acillus sp
625.0		macf05.A03	1.0000	mq/m1	0.0911	Hongo verde

Fuente: elaboración propia, empleando laboratorio de microbiología, Lamfer.

Apéndice 16. Absorbancia de suspensiones de cada microorganismo al primer mes

Instrument Method: Mordinate	MACF05 mode:	8 Time: 01:5 kinElmer Lambd Single wavelen rrection (castellanos	ath	ial No:	101N810292	4
avelengt	h(s)	Sample ID	Concentra	tion	ord. value	e Comment
625.0 625.0 525.0	0.0 0.0 0.0	MacF05.A01 macf05.A04 macf05.A05 macf05.A06	1.0000 m 1.0000 m	ng/ml ng/ml ng/ml ng/ml	0.0896	s. aureus E. coli P. aeruginosa A. brasiliensis
525.0						

Apéndice 17. Absorbancia de suspensiones de cada microorganismo al segundo mes

Method: Ordinate Baseline	MACFOS e mode:	18 Time: 10: rkinElmer Lambo Single waveler prrection (a Castellanos	da 20 S	Serial No: 0.00)	101N8102924
waveleng	ith(s)	Sample ID	Concent	tration	ord. value Comment
625.0	0.0	macf05.A03	1.0000	mg/ml	0.0981 S. aureus
625.0	0.0	macf05.A04	1.0000	mg/ml	0.0986 E. coli
625.0	0.0	macf05.A06	1.0000	mg/ml	0.0995 P. aeruginosa
625.0	0.0	MacF05.A02	0.0450	mg/ml	0.1005 A. brasiliensis
625.0	0.0	macf05.A06	1.0000	mg/m1	0.0962 Penicillium sp

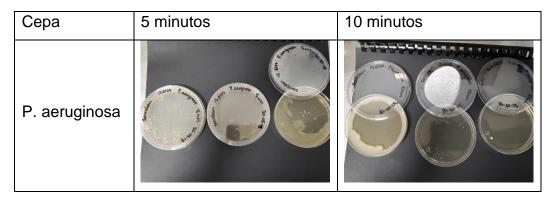
Apéndice 18. Absorbancia de suspensión de Pseudomona aeruginosa a los quince días

Method: MACF05	ednala wavelen	0:00 p.m. la 20 Serial No	: 101N8102924	
Ordinate mode: Baseline: No co Analyst: Andrea wavelength(s)	Castellanos Sample ID	Concentration	ord. value	Comment
625.0 0.0	MacF05.A02	0.0450 mg/ml	0.0833	P. aeruginosa
quation: macf0:	5.A03 ¤	00000¤		

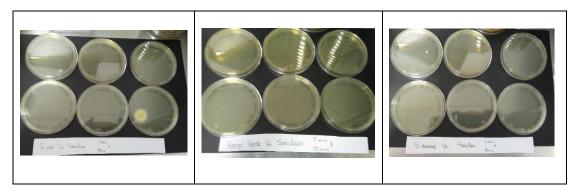
Apéndice 19. Reducción de los diferentes microorganismos al inicio utilizando Saniclean

Сера	5 minutos	10 minutos
E. coli i		
S. aureus		
P. aeruginosa		
Bacillus sp.	Constitution of the second of	
A. brasiliensis		
Penicillium sp.		

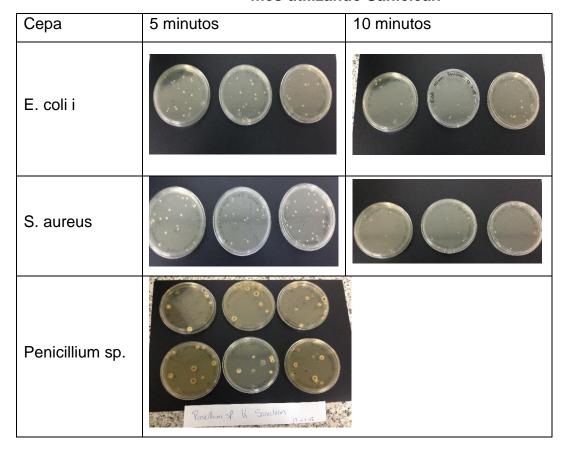
Apéndice 20. Reducción de Pseudomona aeruginosa a los quince días utilizando Saniclean



Apéndice 21. Reducción de los diferentes microorganismos al primer mes utilizando Saniclean



Apéndice 22. Reducción de los diferentes microorganismos al segundo mes utilizando Saniclean



Apéndice 23. Reducción de los diferentes microorganismos al inicio utilizando Saniclean – ROH

Сера	5 minutos	10 minutos
E. coli i		
S. aureus		
P. aeruginosa		
Bacillus sp.		
A. brasiliensis		
Penicillium sp.		

Apéndice 24. Reducción de los diferentes microorganismos al primer mes utilizando Saniclean – ROH



Apéndice 25. Reducción de los diferentes microorganismos al segundo mes utilizando Saniclean – ROH



Apéndice 26. Datos calculados al inicio para Saniclean

Microorgani	smo: E coli			•		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		•		
Wilcioorgani	31110. L. CO 11			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción Iogarítmica	Promedio	Resultado
		20	1,30	6,70			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8	С	1	0,00	8,00	8	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganisr	no: S. aureus						EXPOSICIÓN				
		5 minutos						10 minutos			
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		50	1,70	6,30			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	20	1,30	6,70	7	С	1	0,00	8,00	8	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganismo: P. aeruginosa						TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
c. corganismo		5 minutos						10 minutos			
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		20	1,30	6,70			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8	С	1	0,00	8,00	8	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
Microorganismo	Penicillium sn					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Wilcidongumamo	r ememani sp.			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6	С	1	0,00	6,00	6	С
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		

Continuación del apéndice 26.

	EFICIENCIA GEI	RMICIDA	,		
NAissa sussaissas E. sali		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Microorganismo: <i>E. coli</i>	5 mii	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	20	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Microorganismo: S. aureus		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
iviicioorganismo. 3. dureus	5 mii	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	50	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+08	20	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Micro organismo. B. governosa		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Microorganismo: <i>P. aeruginosa</i>	5 mii	nutos	10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	20	100,0000 %	1	100,0000 %	
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Microorganismo: Penicillium sp.		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Microorganismo. Penicinum sp.	5 mii	nutos	10 mi	nutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	99,9999 %	1	99,9999 %	
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %	
	1	99,9999 %	1	99,9999 %	

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 27. Datos calculados a los quince días para Saniclean

Microorganismo	. D. goruginosa		TIEMPO DE EXPOSICIÓN								
Wilcroorganismo	. P. deruginosu	5 minutos				10 minutos					
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
1,00E+08	8	35000 35000	4,54 4,54	3,46 3,46	3	NC	35000 1800	4,54 3,26	3,46 4,74	4	NC
		35000	4,54	3,46			4000	3,60	4,40		

Apéndice 28. Datos calculados al primer mes para Saniclean

						TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Microorgani	smo: <i>E. coli</i>			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		310	2,49	5,51			1	0,00	8,00		С
1,00E+08	8	350	2,54	5,46	6	С	1	0,00	8,00	8	
		20	1,30	6,70			1	0,00	8,00		
Microorganisa	no: S aureus		TIEMPO DE EXPOSICIÓN								
Microorganismo: S. aureus		5 minutos						10 minutos			
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		230	2,36	5,64			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	140	2,15	5,85	6	С	1	0,00	8,00	8	С
		340	2,53	5,47			1	0,00	8,00		
Microorganismo	Panicillium en					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Wilcioorganismo	remamum sp.			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6	С	1	0,00	6,00	6	С
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		

EFICIENCIA GERMICIDA										
	TIEMPO DE EXPOSICIÓN									
Microorganismo: <i>E. coli</i>	5 mi	nutos	10 mi	nutos						
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado						
	310	99,9997 %	1	100,0000 %						
1,00E+08	350	99,9997 %	1	100,0000 %						
	20	100,0000 %	1	100,0000 %						
Miero ergonismo. C. guraus		TIEMPO DE E	XPOSICIÓN							
Microorganismo: <i>S. aureus</i>	5 mi	nutos	10 mi	nutos						
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado						
	230	99,9998 %	1	100,0000 %						
1,00E+08	140	99,9999 %	1	100,0000 %						
	340	99,9997 %	1	100,0000 %						
Micro organismo. Denisillium en		TIEMPO DE E	XPOSICIÓN							
Microorganismo: <i>Penicillium sp.</i>	5 mi	nutos	10 mi	nutos						
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado						
	1	99,9999 %	1	99,9999 %						
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %						
	1	99,9999 %	1	99,9999 %						

Apéndice 29. Datos calculados al segundo mes para Saniclean

N 45						TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Microorgan	ismo: <i>E. coli</i>	5 minutos					10 minutos				
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		10400	4,02	3,98			4550	3,66	4,34		
1,00E+08	8	5850	3,77	4,23	4,1	NC	2340	3,37	4,63	4,5	NC
		7800	3,89	4,11			2600	3,41	4,59		
Microorganis	mo: S. aureus					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Iviiciooigailis	mo. 5. dareas	5 minutos					10 minutos				
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		7800	3,89	4,11			4550	3,66	4,34		
1,00E+08	8	7150	3,85	4,15	4,1	NC	2600	3,41	4,59	4,5	NC
		6800	3,83	4,17			1950	3,29	4,71		
Microorganicme	: Penicillium sp.	TIEMPO DE					EXPOSICIÓN				
Wilcroorganismo	. Penicinium sp.			5 minutos			10 minutos				
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		110	2,04	3,96			100	2,00	4,00		
1,00E+06	6	140	2,15	3,85	3,9	NC	50	1,70	4,30	4,1	NC
		130	2,11	3,89			110	2,04	3,96		

EFICIENCIA GERMICIDA										
Microorganismo: <i>E. coli</i>	TIEMPO DE EXPOSICIÓN									
Microorganismo. E. Coll	5 mir	nutos	10 mi	nutos						
Recuento inicial UFC/mL	Recuento	Resultado	Recuento	Resultado						
Recuento iniciai OFC/IIIL	final UFC/mL	Resultado	final UFC/mL	Resultado						
	10400	99,990 %	4550	99,995 %						
1,00E+08	5850	99,994 %	2340	99,998 %						
	7800	99,992 %	2600	99,997%						
Microorganismo: S. aureus		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN							
Microorganismo. 3. dureus	5 mir	nutos	10 mi	nutos						
Recuento inicial UFC/mL	Recuento	Resultado	Recuento	Resultado						
Recuento iniciai OFC/IIIL	final UFC/mL	Resultado	final UFC/mL							
	7800	99,992 %	4550	99,995 %						
1,00E+08	7150	99,993 %	2600	99,997 %						
	6800	99,993 %	1950	99,998 %						
Microorganismo: <i>Penicillium sp.</i>		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN							
When our garnismo. Pernemiam sp.	5 mir	nutos	10 mi	nutos						
Paguanta inicial UEC/ml	Recuento	Posultado	Recuento	Docultado						
Recuento inicial UFC/mL	final UFC/mL	Resultado	final UFC/mL	Resultado						
	110	99,989 %	100	99,990 %						
1,00E+06	140	99,986 %	50	99,995 %						
	130	99,987 %	110	99,989 %						

Apéndice 30. Datos calculados al inicio para Saniclean – ROH

Microorganismo: <i>E. coli</i>						TIEMPO DE	EXPOSICIÓN			•					
iviicioorgan	151110. E. COII	5 minutos					10 minutos								
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado				
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00						
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,0	С	1	0,00	8,00	8,0	С				
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00						
Microorganic	mo: S. aureus		TIEMPO DE EXPOSICIÓN												
Wilcidoliganis	ino. 5. dareas			5 minutos					10 minutos						
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción Iogarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción Iogarítmica	Promedio	Resultado				
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00						
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8,0	С	1	0,00	8,00	8,0	С				
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00						
Microorganismo	. D geruginosa					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN								
Wiicioorganisiiic	o. r. ueruginosa			5 minutos					10 minutos						
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción Iogarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción Iogarítmica	Promedio	Resultado				
	8	1	0,00	8,00	8,0		1	0,00	8,00	8,0	С				
1,00E+08		1	0,00	8,00		С	1	0,00	8,00						
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00						
			TIEMPO DE EXPOSICIÓN												
Microorganismo	o: A. brasiliensis			5 minutos			10 minutos								
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado				
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00						
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6	С	1	0,00	6,00	6	С				
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00						
Microorganismo	· Donicillium en					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN								
Wilcroorganismo	. Femcimum sp.			5 minutos					10 minutos						
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado				
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00						
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6	С	1	0,00	6,00	6	С				
	ı ı	1	0,00	6,00			1	0,00	6,00	1					

Continuación del apéndice 30.

EFICIENCIA GERMICIDA									
	TIEMPO DE EXPOSICIÓN								
Microorganismo: <i>E. coli</i>	5 mii	nutos	10 mi	nutos					
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	1	100 %	1	100 %					
1,00E+08	1	100 %	1	100 %					
	1	100 %	1	100 %					
Microorganismo: C gurous		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN						
Microorganismo: S. aureus	5 mii	nutos	10 mi	nutos					
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	1	100 %	1	100 %					
1,00E+08	1	100 %	1	100 %					
	1	100 %	1	100 %					
Microorganismo: B. goruginosa	TIEMPO DE EXPOSICIÓN								
Microorganismo: <i>P. aeruginosa</i>	5 mii	nutos	10 mi	nutos					
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	1	100 %	1	100 %					
1,00E+08	1	100 %	1	100 %					
	1	100 %	1	100 %					
Microorganismo: A brasiliansis		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN						
Microorganismo: A. brasiliensis	5 mii	nutos	10 minutos						
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	1	100 %	1	100 %					
1,00E+06	1	100 %	1	100 %					
	1	100 %	1	100 %					
Microorganismo: Penicillium sp.		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN						
Wilchoofganismo. Penicilium sp.	5 mii	nutos	10 mi	nutos					
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	1	100 %	1	100 %					
1,00E+06	1	100 %	1	100 %					
	1	100 %	1	100 %					

Apéndice 31. Datos calculados al primer mes para Saniclean – ROH

						TIEMPO DE	EXPOSICIÓN							
iviicroorgan	ismo: <i>E. coli</i>	5 minutos					10 minutos							
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado			
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00					
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8	С	1	0,00	8,00	8	С			
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00					
Microorganic	mo: S. aureus		TIEMPO DE EXPOSICIÓN											
Wilcioorganis	ino. <i>3. dureus</i>			5 minutos					10 minutos					
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado			
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00					
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8	С	1	0,00	8,00	8	С			
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00					
N 41						TIEMPO DE	TIEMPO DE EXPOSICIÓN							
Microorganismo). P. ueruginosu			5 minutos					10 minutos					
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado			
,	8	1	0,00	8,00	8		1	0,00	8,00	8	С			
1,00E+08		1	0,00	8,00		С	1	0,00	8,00					
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00					
Minungan	. A hunsiliansia					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN							
iviicroorganismo	o: A. brasiliensis	5 minutos					10 minutos							
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado			
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00					
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6	С	1	0,00	6,00	6	С			
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00					
Microorganismo	· Donicillium en					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN							
Wilchoorgamsino	. rememum sp.			5 minutos					10 minutos					
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado			
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00	6	С			
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6	С	1	0,00	6,00					
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00					

Continuación del apéndice 31.

EFICIENCIA GERMICIDA									
Nieus auganiama. E. aali	TIEMPO DE EXPOSICIÓN								
Microorganismo: <i>E. coli</i>	5 m	ninutos	10 m	inutos					
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
Microorganismo: C gurous		TIEMPO DE E	XPOSICIÓN						
Microorganismo: <i>S. aureus</i>	5 m	ninutos	10 m	inutos					
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
Microorganismo: <i>P. aeruginosa</i>	TIEMPO DE EXPOSICIÓN								
Wilcioorganismo. P. deruginosu	5 m	ninutos	10 minutos						
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
	TIEMPO DE EXPOSICIÓN								
Microorganismo: A. brasiliensis	5 m	ninutos	10 minutos						
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	1	99,9999 %	1	99,9999 %					
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %					
	1	99,9999 %	1	99,9999 %					
Microorganismo: Panisillium en		TIEMPO DE E	XPOSICIÓN						
Microorganismo: <i>Penicillium sp.</i>	5 m	ninutos	10 m	inutos					
Paguanta inicial LIEC/ml	Recuento	Resultado	Recuento	Pocultado					
Recuento inicial UFC/mL	final UFC/mL	nesultado	final UFC/mL	Resultado					
	1	99,9999 %	1	99,9999 %					
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %					
	1	99,9999 %	1	99,9999 %					

Apéndice 32. Datos calculados al segundo mes para Saniclean – ROH

Microorganismo: <i>E. coli</i>						TIEMPO DE	EXPOSICIÓN	•						
		5 minutos					10 minutos							
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado			
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00					
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8	С	1	0,00	8,00	8	С			
		10	1,00	7,00			1	0,00	8,00					
Microorganisn	oo: C aurauc		TIEMPO DE EXPOSICIÓN											
Wilchoolganish	iio. <i>3. uureus</i>			5 minutos					10 minutos					
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado			
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00					
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8	С	1	0,00	8,00	8	С			
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00					
Microorganismo	· D. garuginasa					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN							
Wilcioorganismo	. r. ueruginosu	5 minutos						10 minutos						
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado			
,	8	1	0,00	8,00		С	1	0,00	8,00	8	С			
1,00E+08		1	0,00	8,00	8		1	0,00	8,00					
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00					
	A . b		TIEMPO DE EXPOSICIÓN											
Microorganismo	A. brasiliensis	5 minutos					10 minutos							
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado			
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00					
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6	С	1	0,00	6,00	6	С			
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00					
Microorganismo	Donicillium en					TIEMPO DE	DE EXPOSICIÓN							
Microorganismo: Penicillium sp.				5 minutos					10 minutos					
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado			
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00	6	С			
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6	С	1	0,00	6,00					
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00					

Continuación del apéndice 32.

	EFICIENCIA GE	RMICIDA							
A 1	TIEMPO DE EXPOSICIÓN								
Microorganismo: <i>E. coli</i>	5 mi	inutos	10 mi	nutos					
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
	10	99,9999 %	1	100,0000 %					
Microorganismo: <i>S. aureus</i>		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN						
iviicioorganismo. 3. dureus	5 mi	nutos	10 mi	nutos					
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
Microorganismo: <i>P. aeruginosa</i>	TIEMPO DE EXPOSICIÓN								
iviicioorganiisino. F. deruginosu	5 mi	inutos	10 mi	nutos					
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
	1	100,0000 %	1	100,0000 %					
Micro organismo. A brasilionsis	TIEMPO DE EXPOSICIÓN								
Microorganismo: <i>A. brasiliensis</i>	5 mi	nutos	10 mi	nutos					
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	1	99,9999 %	1	99,9999 %					
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %					
	1	99,9999 %	1	99,9999 %					
Microorganismo, Donicillium en		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN						
Microorganismo: <i>Penicillium sp.</i>	5 mi	nutos	10 mi	nutos					
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	1	99,9999 %	1	99,9999 %					
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %					
	1	99,9999 %	1	99,9999 %					

Parámetros necesarios para la validación del uso del desinfectante Saniquat.

Apéndice 33. Absorbancias de suspensiones de cada microorganismo al inicio

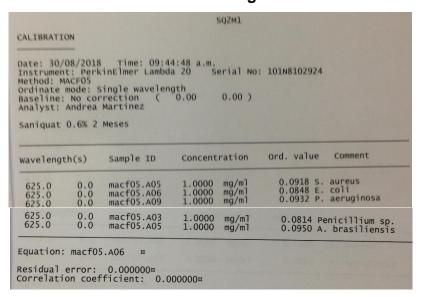
Instrumer Method: M Ordinate	MACFO5 mode: S	R Time: 11:0 kinElmer Lambd Single wavelen rrection (Castellanos	a 20 So	o.00)	: 101n8102924
vavelengt	th(s)	Sample ID	Concent	ration	Ord. value Comment
625.0	0.0	MacF05.A01	0.0900	mg/ml	0.0887 s. aureus
625.0	0.0	macf05.A03	1.0000	mg/ml	0.0883 E. coli
625.0	0.0	macf05.A05	1.0000	mg/ml	0.0984 P. aeruginosa
625.0	0.0	macf05.A03	1.0000	mg/ml	0.0894 B. subtilis
625.0	0.0	macf05.A07	1.0000	mg/ml	0.0802 A. brasiliensis
625.0	0.0	macf05.A09	1.0000	mg/ml	0.0987 Hongo Verde

Fuente: elaboración propia, empleando laboratorio de microbiología, Lamfer.

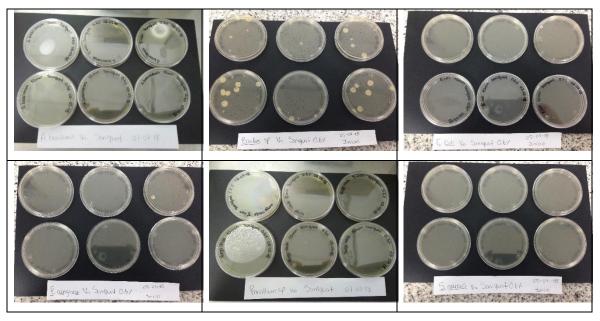
Apéndice 34. Absorbancias de suspensiones de cada microorganismo al primer mes

Instrume Method: Ordinate Baseline	nt: Per MACF05 mode: : No co	8 Time: 10:3 kinElmer Lambo Single waveler rrection (Castellanos	da 20 Serial N	o: 101n8102924
Saniquat Bronidox				
Bronidox				
waveleng	th(s)	Sample ID	Concentration	Ord. value Comment
waveleng	0.0	MacF05.A01	O.0900 mg/ml	Ord. value Comment 0.0902 S. aureus
				- Commerce
625.0	0.0	MacF05.A01	0.0900 mg/ml	0.0902 S. aureus
625.0	0.0	MacF05.A01 macf05.A03	0.0900 mg/ml 1.0000 mg/ml	0.0902 S. aureus 0.0982 E. coli

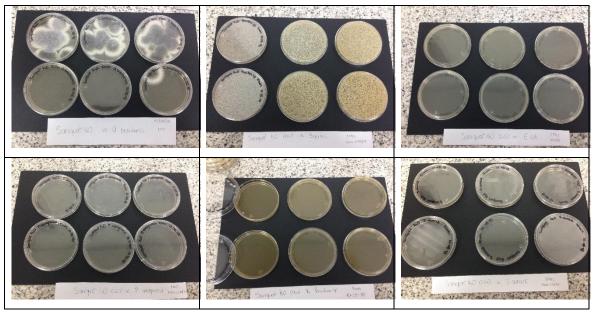
Apéndice 35. Absorbancias de suspensiones de cada microorganismo al segundo mes



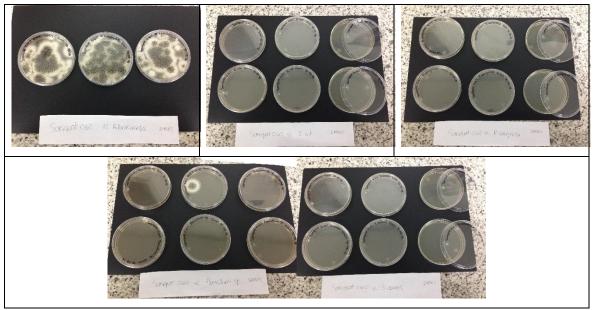
Apéndice 36. Reducción de los diferentes microorganismos al inicio.



Apéndice 37. Reducción de los diferentes microorganismos al primer mes



Apéndice 38. Reducción de los diferentes microorganismos al segundo mes



Apéndice 39. Datos calculados al inicio

Minner						TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				-
Microorganis	Smo: E. coll			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		10	1,00	7,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	7	С	1	0,00	8,00	8	С
		30	1,48	6,52			1	0,00	8,00		
Microorganisn	no: S aureus					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Wilcidorgailisi	no. 5. dureus			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		10	1,00	7,00			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8	С	1	0,00	8,00	8	С
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00		
N 41	. D					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Microorganismo	: P. aeruginosa			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		30	1,48	6,52			1	0,00	8,00		
1,00E+08	8	40	1,60	6,40	6	С	1	0,00	8,00	8	С
		60	1,78	6,22			10	1,00	7,00		
Microorganismo	. A bracilionsis		TIEMPO DE EXPOSICIÓN								
IVIICIOOIgailisiilo	. A. Drusilielisis			5 minutos			10 minutos				
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6	С	1	0,00	6,00	6	С
		10	1,00	5,00			1	0,00	6,00		
Microorganismo:	Denicillium en					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Wilcioorganismo.	r ememum sp.			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
_		1	0,00	6,00			20	1,30	4,70		
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6	С	1	0,00	6,00	6	С
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00		

Continuación del apéndice 39.

F	FICIENCIA GER	MICIDA	•						
N. diamana and a same and a same a		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN						
Microorganismo: <i>E. coli</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos					
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	10	100 %	1	100 %					
1,00E+08	1	100 %	1	100 %					
	30	100 %	1	100 %					
NA:		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN						
Microorganismo: S. aureus	5 mir	nutos	10 mi	nutos					
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	10	100 %	1	100 %					
1,00E+08	1	100 %	1	100 %					
	1 100 % 1		1	100 %					
Microorganismo, D. governosa		TIEMPO DE EXPOSICIÓN							
Microorganismo: <i>P. aeruginosa</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos					
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	30	100 %	1	100 %					
1,00E+08	40	100 %	1	100 %					
	60	99,9999 %	10	100 %					
		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN						
Microorganismo: A. brasiliensis	5 mir	nutos	10 minutos						
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	1	99,9999 %	1	99,9999 %					
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %					
	10	99,9999 %	1	99,9999 %					
A		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN						
Microorganismo: <i>Penicillium sp.</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos					
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado					
	1	99,9999 %	20	99,9980 %					
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %					
	1	99,9999 %	1	99,9999 %					

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 40. Datos calculados al primer mes

N 41						TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Microorgani	Silio. E. Coli			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70		
5,00E+07	7,70	1	0,00	7,70	8	С	1	0,00	7,70	8	С
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70		
Microorganisr	no: S aureus					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Wilchoolganisi	iio. 3. uureus			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70	8	С
5,00E+07	7,70	1	0,00	7,70	8	С	1	0,00	7,70		
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70		
N4:	. 0					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Microorganismo	: P. aeruginosa			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70		С
5,00E+07	7,70	1	0,00	7,70	8	С	1	0,00	7,70	8	
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70		
						TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Microorganismo	: A. brasiliensis			5 minutos			10 minutos				
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		50	1,70	4,00			1	0,00	5,70		
5,00E+05	5,70	70	1,85	3,85	4	NC	1	0,00	5,70	5	С
		70	1,85	3,85			10	1,00	4,70		
Microorganismo	. Donicillium en					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Wilcioorganismo	remamum sp.			5 minutos					10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado
		10	1,00	4,70			1	0,00	5,70		
5,00E+05	5,70	1	0,00	5,70	5	С	1	0,00	5,70	6	С
		1	0,00	5,70			1	0,00	5,70		

Continuación del apéndice 40.

E	FICIENCIA GER	MICIDA						
Migra organismo. F. coli		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN					
Microorganismo: <i>E. coli</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos				
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado				
	1	100 %	1	100 %				
5,00E+07	1	100 %	1	100 %				
	1	100 %	1	100 %				
Ndiana anamiana a Carana		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN					
Microorganismo: S. aureus	5 mir	nutos	10 mi	nutos				
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado				
	1	100 %	1	100 %				
5,00E+07	1	100 %	1	100 %				
	1	100 %	1	100 %				
Micro organismo. D. governos		TIEMPO DE EXPOSICIÓN						
Microorganismo: <i>P. aeruginosa</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos				
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado				
	1	100 %	1	100 %				
5,00E+07	1	100 %	1	100 %				
	1	100 %	1	100 %				
		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN					
Microorganismo: <i>A. brasiliensis</i>	5 mir	nutos	10 minutos					
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado				
	50	99,9900 %	1	99,9998 %				
5,00E+05	70	99,9860 %	1	99,9998 %				
	70	99,9860 %	10	99,9980 %				
NAI		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN					
Microorganismo: <i>Penicillium sp.</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos				
Recuento inicial UFC/mL	Recuento	Resultado	Recuento	Resultado				
	final UFC/mL		final UFC/mL					
	10	99,9980 %	1	99,9998 %				
5,00E+05	1	99,9998 %	1	99,9998 %				
	1	99,9998 %	1	99,9998 %				

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 41. Datos calculados al segundo mes

N. di aura a umana i						TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		,		,		
Microorgani	Smo: E. Coll			5 minutos					10 minutos				
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción Iogarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado		
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70				
5,00E+07	8	1	0,00	7,70	8	С	1	0,00	7,70	8	С		
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70				
Microorganism	no: S aureus					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN						
Wilcioorganisi	110. 3. uureus			5 minutos					10 minutos				
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado		
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70				
5,00E+07	8	1	0,00	7,70	8	С	1	0,00	7,70	8	С		
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70				
M	. D		TIEMPO DE EXPOSICIÓN										
Microorganismo	: P. aeruginosa			5 minutos					10 minutos				
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado		
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70				
5,00E+07	8	1	0,00	7,70	8	С	1	0,00	7,70	8	С		
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70				
Microorganismo	. A bracilionsis					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN						
iviicroorganismo	: A. brasiliensis			5 minutos			10 minutos						
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado		
			#¡NUM!	#¡NUM!	/		120	2,08	3,62				
5,00E+05	6		#¡NUM!	#¡NUM!	#¡NUM!		150	2,18	3,52	4	NC		
			#¡NUM!	#¡NUM!			120	2,08	3,62				
Microorganismo:	Penicillium sn					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN						
wiici oorganisiilo.	. r cinciliani sp.			5 minutos					10 minutos				
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado		
_	_	1	0,00	5,70			1	0,00	5,70				
5,00E+05	6	1	0,00	5,70	6	С	1	0,00	5,70	6	С		
		1	0,00	5,70			1	0,00	5,70				

Continuación del apéndice 41.

	EFICIENCIA G	SERMICIDA			
Naissa sussai 5 #		TIEMPO DI	E EXPOSICIÓN		
Microorganismo: <i>E. coli</i>	5 mi	nutos	10 r	minutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
5,00E+07	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Microorganismo: 5 gurous		TIEMPO DI	E EXPOSICIÓN		
Microorganismo: S. aureus	5 mi	nutos	10 r	minutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
5,00E+07	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Microorganismo: B. goruginosa		TIEMPO DI	E EXPOSICIÓN		
Microorganismo: <i>P. aeruginosa</i>	5 mi	nutos	10 r	ninutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
5,00E+07	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
DA:		TIEMPO DI	EXPOSICIÓN		
Microorganismo: A. brasiliensis	5 mi	nutos	10 minutos		
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	0	100,0000 %	120	99,9760 %	
5,00E+05	0	100,0000 %	150	99,9700 %	
	0	100,0000 %	120	99,9760 %	
Microorganismo: Devicilling		TIEMPO DI	E EXPOSICIÓN		
Microorganismo: <i>Penicillium sp.</i>	5 mi	nutos	10 r	ninutos	
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado	
	1	99,9998 %	1	99,9998 %	
5,00E+05	1	99,9998 %	1	99,9998 %	
	1	99,9998 %	1	99,9998 %	

Fuente: elaboración propia.

Parámetros necesarios para la validación del uso del desinfectante Saniquat – ROH.

Apéndice 42. Absorbancias de suspensiones de cada microorganismo al inicio

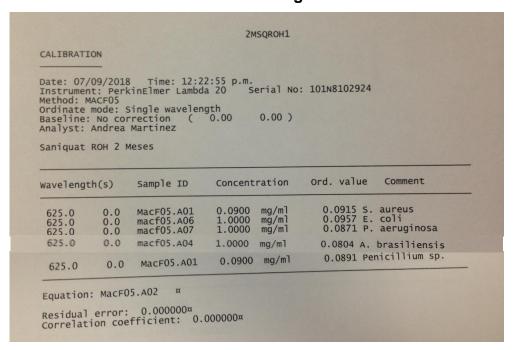
Instrum Method: Ordinat Baselin	MACF05 e mode: e: No co	18 Time: 10: rkinElmer Lambo Single waveler orrection (a Castellanos	da 20 s		: 101n8102924	
Waveleng	gth(s)	Sample ID	Concent	ration	Ord. value	Comment
625.0	0.0	MacF05.A02	0.0450	mg/ml	0.0973	S. aureus
625.0	0.0	macf05.A04	1.0000	mg/ml	0.1001	E. coli
625.0	0.0	macf05.A05	1.0000	mg/ml	0.0939	P. aeruginosa
625.0	0.0	macf05.A08	1.0000	mg/ml	0.1001	Bacillus sp.
625.0	0.0	MacF05.A02	0.0450	mg/ml	0.0898	A. brasiliensis
525.0	0.0	macf05.A05	1.0000	mg/ml	0.0820	Penicillium sp.

Fuente: elaboración propia, empleando laboratorio de microbiología, Lamfer.

Apéndice 43. Absorbancias de suspensiones de cada microorganismo al primer mes

nstrume ethod: rdinate aseline	nt: Per MACF05 mode: : No co Andrea	Single wavelen rrection (Castellanos	a 20 Serial	No: 101N8102924
		Sample ID	Concentratio	n Ord. value Comment
625.0	0.0	MacF05.A01	0.0900 mg/m	1 0.0921 S. aureus
625.0	0.0	MacF05.A02	0.0450 mg/m	1 0.1000 E. coli
	0.0	macf05.A05	1.0000 mg/m	1 0.0848 P. aeruginosa
625.0		macf05.A08	1.0000 mg/m	0.0909 A. brasiliensis
625.0 625.0	0.0	macros.Aoo		

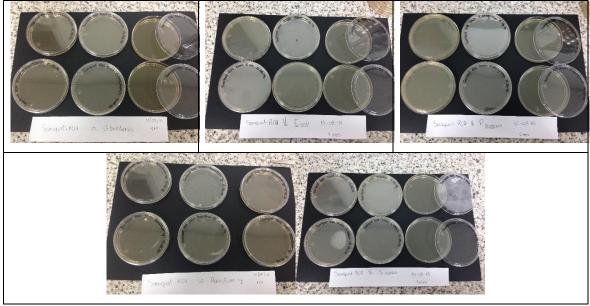
Apéndice 44. Absorbancias de suspensiones de cada microorganismo al segundo mes



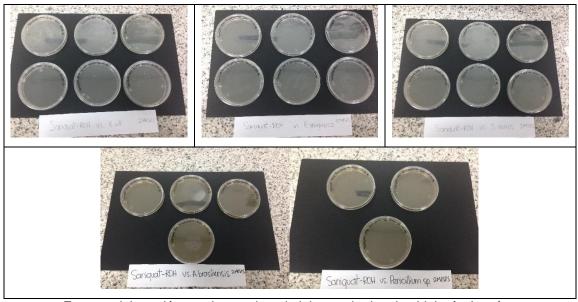
Apéndice 45. Reducción de los diferentes microorganismos al inicio

Сера	5 minutos	10 minutos
E. coli i	Sortgood Riff to East on conf	Sortgod-154 to Ecolic access
S. aureus	Sound S. J. States	Smachrill Licence
P. aeruginosa	Cooper 408 V. Passar p	Season for Warriages and
Bacillus sp.	Congret V Backs of	Section 11 Carties or
A. brasiliensis	Surgest foll II. A bookening	Town of FOR IV. All broadwards
Penicillium sp.	Casquit 200 V. Reason gr	Consultal V. Basker of

Apéndice 46. Reducción de los diferentes microrganismos al primer mes



Apéndice 47. Reducción de los diferentes microorganismos al segundo mes



Apéndice 48. Datos calculados al inicio

	- "				1	TEMPO DE E	XPOSICIÓN					
Microorgani	smo: <i>E. coll</i>			5 minutos					10 minutos			
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado	
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00			
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8	С	1	0,00	8,00	8	С	
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00			
Microorganis					1	TEMPO DE E	XPOSICIÓN					
Wiichoorganisi	110. 3. uureus			5 minutos			10 minutos					
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado	
		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00			
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	8	С	1	0,00	8,00	8	С	
,		1	0,00	8,00			1	0,00	8,00			
			TIEMPO DE EXPOSICIÓN									
Microorganismo	: P. aeruginosa			5 minutos					10 minutos			
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado	
		10	1,00	7,00			1	0,00	8,00			
1,00E+08	8	1	0,00	8,00	7	С	1	0,00	8,00	8	С	
		10	1,00	7,00			1	0,00	8,00			
		TIEMPO DE EXPOSICIÓN										
Microorganismo	: A. brasiliensis			5 minutos			10 minutos					
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado	
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00			
1,00E+06	6	1	0,00	6,00	6	С	1	0,00	6,00	6	С	
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00			
Microorganismo	. Donisillium sn				1	TEMPO DE E	XPOSICIÓN					
Wilchoorganismo	. Penicinium sp.			5 minutos					10 minutos			
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado	
1,00E+06	6	1 10	0,00 1.00	6,00 5,00	6	С	1 1	0,00	6,00 6,00	6	С	
1,002.00		1	0,00	6,00	1 ~		1	0,00	6,00	1 ~		
			0,00	0,00				0,00	0,00			

Continuación del apéndice 48.

	EFICIENCIA GEF	RMICIDA	-			
NA: and a manufacture of the little of the l		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN			
Microorganismo: <i>E. coli</i>	5 min	utos	10 mir	nutos		
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
Microcarpaicaco		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN			
Microorganismo: <i>S. aureus</i>	5 min	utos	10 mir	nutos		
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
Microorganismo: B. garuginosa	TIEMPO DE EXPOSICIÓN					
Microorganismo: <i>P. aeruginosa</i>	5 min	utos	10 minutos			
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado		
	10	100,0000 %	1	100,0000 %		
1,00E+08	1	100,0000 %	1	100,0000 %		
•	10	100,0000 %	1	100,0000 %		
	TIEMPO DE EXPOSICIÓN					
Microorganismo: <i>A. brasiliensis</i>	5 min		10 minutos			
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado		
	1	99,9999 %	1	99,9999 %		
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %		
	1	99,9999 %	1	99,9999 %		
NA:		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN			
Microorganismo: <i>Penicillium sp.</i>	5 min	utos	10 minutos			
Degraphe initial LIFC (ast	Recuento final	ما معاليه ما م	Recuento final	Dooultada		
Recuento inicial UFC/mL	UFC/mL	l Resultado		Resultado		
	1	99,9999 %	1	99,9999 %		
1,00E+06	10	99,9990 %	1	99,9999 %		
	1	99,9999 %	1	99,9999 %		

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 49. Datos calculados al primer mes

Microorganismo: <i>E. coli</i>				<u>-</u>		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN	i	·			
wiicroorgani	SIIIO. L. COII	5 minutos			10 minutos							
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70			
5,00E+07	8	10	1,00	6,70	7	С	1	0,00	7,70	8	С	
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70			
Microorganis	mo: S aureus					TIEMPO DE	EXPOSICIÓN	I				
Wilcidorgamsi	110. 3. dareas			5 minutos					10 minutos			
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70			
5,00E+07	8	1	0,00	7,70	8	С	1	0,00	7,70	7	С	
		1	0,00	7,70			10	1,00	6,70			
N 41 1			TIEMPO DE EXPOSICIÓN									
Microorganismo): P. aeruginosa	5 minutos				10 minutos						
Recuento inicial	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	
,	8	1	0,00	7,70	8	С	1	0,00	7,70			
5,00E+07		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70	8	С	
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70			
N di auga auga mi auga	. A bunciliancia	TIEMPO DE EXPOSICIÓN										
Microorganismo	: A. prasiliensis		5 minutos					10 minutos				
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	
		1	0,00	5,70			1	0,00	5,70			
5,00E+05	6	1	0,00	5,70	6	С	1	0,00	5,70	6	С	
		1	0,00	5,70			1	0,00	5,70			
Microorganismo: Penicillium sp.						TIEMPO DE	EXPOSICIÓN	I				
				5 minutos					10 minutos			
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	
		1	0,00	5,70			1	0,00	5,70			
5,00E+05	6	10	1,00	4,70	5	С	1	0,00	5,70	6	С	
		1	0,00	5,70			1	0,00	5,70			

Continuación del apéndice 49.

	EFICIENCIA GEI	RMICIDA					
Microorganismo: <i>E. coli</i>		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Wilchoofganismo. E. Con	5 minutos		10 mi	nutos			
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado			
	1	100,0000 %	1	100,0000 %			
5,00E+07	10	100,0000 %	1	100,0000 %			
	1	100,0000 %	1	100,0000 %			
N 4:		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Microorganismo: <i>S. aureus</i>	5 mir	nutos	10 mi	nutos			
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado			
	1	100,0000 %	1	100,0000 %			
5,00E+07	1	100,0000 %	1	100,0000 %			
	1	100,0000 %	10	100,0000 %			
Micro organismo. D. manusinosa	TIEMPO DE EXPOSICIÓN						
Microorganismo: <i>P. aeruginosa</i>	5 mir	nutos	10 minutos				
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado			
	1	100,0000 %	1	100,0000 %			
5,00E+07	1	100,0000 %	1	100,0000 %			
	1	100,0000 %	1	100,0000 %			
Nicona companiante de la constitución	TIEMPO DE EXPOSICIÓN						
Microorganismo: A. brasiliensis	5 minutos		10 minutos				
Recuento inicial UFC/mL	Recuento final UFC/mL	Resultado	Recuento final UFC/mL	Resultado			
	1	99,9998 %	1	99,9998 %			
5,00E+05	1	99,9998 %	1	99,9998 %			
	1	99,9998 %	1	99,9998 %			
Micro organismo: Bonicillium en		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN				
Microorganismo: <i>Penicillium sp.</i>	5 mir	nutos	10 minutos				
Recuento inicial UFC/mL	Recuento	Resultado	Recuento	Resultado			
needelite illicial of cyllic	final UFC/mL		final UFC/mL				
	1	99,9998 %	1	99,9998 %			
5,00E+05	10	99,9980 %	1	99,9998 %			
	1	99,9998 %	1	99,9998 %			

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 50. Datos calculados al segundo mes

Microorgani	smor F seli				1	TEMPO DE	EXPOSICIÓ	N					
Microorgani	Microorganismo: <i>E. coli</i>		5 minutos					10 minutos					
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado		
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70				
5,00E+07	8	1	0,00	7,70	8	С	1	0,00	7,70	8	С		
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70				
Microorganisi	mo: C aurauc		TIEMPO DE EXPOSICIÓN										
Wilcioorganisi	no. <i>3. dureus</i>			5 minutos					10 minutos	i			
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado		
		1	0,00	7,70			1	0,00	7,70				
5,00E+07	8	1	0,00	7,70	8	С	1	0,00	7,70	8	С		
		1	0,00	7,70	Ī		1	0,00	7,70				
N. 41			TIEMPO DE EXPOSICIÓN										
Microorganismo	: P. aeruginosa			5 minutos			10 minutos						
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado		
	8	1	0,00	7,70		С	1	0,00	7,70	8			
5,00E+07		1	0,00	7,70	8		1	0,00	7,70		С		
		1	0,00	7,70	Ť		1	0,00	7,70				
		TIEMPO DE EXPOSICIÓN											
Microorganismo	: A. brasiliensis	5 minutos					10 minutos						
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado		
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00				
1,00E+06	6,00	1	0,00	6,00	6,00	С	1	0,00	6,00	6,00	С		
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00				
Minne a manifesta a Deministrativa an					7	TEMPO DE	EXPOSICIÓ	N					
Microorganismo: Penicillium sp.				5 minutos					10 minutos				
Recuento inicial UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Recuento UFC/mL	- 0	Reducción logarítmica	Promedio	Dictamen C/NC	Recuento UFC/mL	log 10 (UFC/mL)	Reducción logarítmica	Promedio	Resultado		
		1	0,00	6,00			1	0,00	6,00				
1,00E+06	6,00	1	0,00	6,00	6,00	С	1	0,00	6,00	6,00	С		
		1	0,00	6,00	<u> </u>		1	0,00	6,00				

Continuación del apéndice 50.

EFICIENCIA GERMICIDA					
Microorganismo: <i>E. coli</i>		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN	l	
Wile Tool gariistiio. E. Con	5 m	inutos	10 minutos		
	Recuento		Recuento		
Recuento inicial UFC/mL	final	Resultado	final	Resultado	
	UFC/mL		UFC/mL		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
5,00E+07	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Naisus sugarismos C. muraus		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN	J	
Microorganismo: <i>S. aureus</i>	5 m	inutos	10 m	ninutos	
	Recuento		Recuento		
Recuento inicial UFC/mL	final	Resultado	final	Resultado	
	UFC/mL		UFC/mL		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
5,00E+07	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN	I	
Microorganismo: <i>P. aeruginosa</i>	5 minutos		10 minutos		
	Recuento		Recuento		
Recuento inicial UFC/mL	final	Resultado	final	Resultado	
	UFC/mL		UFC/mL		
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
5,00E+07	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
	1	100,0000 %	1	100,0000 %	
Microorganismo: <i>A. brasiliensis</i>	TIEMPO DE EXPOSICIÓN				
iviicioorganismo. A. brusiiiensis	5 minutos		10 minutos		
	Recuento		Recuento		
Recuento inicial UFC/mL	final	Resultado	final	Resultado	
	UFC/mL		UFC/mL		
	1	99,9999 %	1	99,9999 %	
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %	
	1	99,9999 %	1	99,9999 %	
NA:		TIEMPO DE	EXPOSICIÓN		
Microorganismo: <i>Penicillium sp.</i>	5 m	inutos	10 minutos		
	Recuento		Recuento		
Recuento inicial UFC/mL	final	Resultado	final	Resultado	
	UFC/mL		UFC/mL		
	1	99,9999 %	1	99,9999 %	
1,00E+06	1	99,9999 %	1	99,9999 %	
	1	99,9999 %	1	99,9999 %	

Fuente: elaboración propia.

ANEXO

Anexo 1. Metodología utilizada

US Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs



Office of Pesticide Programs

Microbiology Laboratory

Environmental Science Center, Ft. Meade, MD

Standard Operating Procedure for Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Test

SOP Number: MB-27-02

Date Revised: 10-28-16

SOP Number	MB-27-02
Title	Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Test
Scope	This SOP describes the methodology used to determine the efficacy of food contact sanitizers against <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Escherichia coli</i> . The methodology is based on AOAC method 960.09 - Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants – revision date 2013.
Application	For product evaluations under the Antimicrobial Testing Program (ATP), a study protocol is developed which identifies the specific test conditions for a test chemical sample including contact time, dilution, and neutralizer.

	Approval	Date	
SOP Developer:			
			l
	Print Name:		<u>-</u>
SOP Reviewer			·
	Print Name:		
Quality Assurance Unit			
	Print Name:		
Branch Chief			
	Print Name:		-
Data SOP issued:			
Controlled copy number:			
Date SOP withdrawn:			

TABLE OF CONTENTS

Con	<u>tents</u>	Page Number
1.	DEFINITIONS	3
2.	HEALTH AND SAFETY	3
3.	PERSONNEL QUALIFICATIONS AND TRAINING	3
4.	INSTRUMENT CALIBRATION	3
5.	SAMPLE HANDLING AND STORAGE	3
6.	QUALITY CONTROL	3
7.	INTERFERENCES	3
8.	NON-CONFORMING DATA	3
9.	DATA MANAGEMENT	3
10.	CAUTIONS	3
11.	SPECIAL APPARATUS AND MATERIALS	3
12.	PROCEDURE AND ANALYSIS	7
13.	DATA ANALYSIS/CALCULATIONS	12
14.	FORMS AND DATA SHEETS	12
15.	REFERENCES	13

1	Definitions	Abbreviations/definitions are provided in the text.
		-
	Health and Safety	Follow procedures specified in SOP MB-01, Laboratory Biosafety. The Study Director and/or lead analyst should consult the Material Safety Data Sheet for specific hazards associated with test chemicals.
3.	Personnel Qualifications and Training	Refer to SOP ADM-04, OPP Microbiology Laboratory Training.
4.	Instrument Calibration	Refer to SOPs EQ-01 (pH meter), EQ-02 (Thermometer), EQ-03 (Weigh Balance), and EQ-05 (Timers) for details on method and frequency of calibration.
5.	Sample Handling and Storage	Refer to SOP MB-22, Disinfectant Sample Preparation, and SOP COC-01, Chain of Custody Procedures.
6.	Quality Contro	For quality control purposes, the required information is documented on the appropriate form(s) (see section 14). It is critical to maintain the highest standards of good laboratory practices and aseptic technique during all manipulations and handling of stock cultures.
7.	Interferences	No contamination is acceptable in the treated or numbers control plates.
	Non- conforming Data	 Sterility and/or viability controls do not yield expected results. The mean log density for numbers control plates falls outside the specified range of 7.0 – 8.0 logs₁₀/mL. Manage non-conforming data as specified in the study protocol; procedures are consistent with SOP ADM-07, Non-Conformance Reports.
9.	Data Management	Data will be archived consistent with SOP ADM-03, Records and Archives.
10.	Cautions	 Strict adherence to the protocol is necessary for the validity of the test results. Plating should be completed within 1 hour after the initiation of serial dilutions. For spread plating: ensure that the entire surface of the agar plate is dry before adding inoculum. If necessary, leave the agar plates uncovered in the biological safety cabinet (BSC) until the moisture has been completely absorbed into the medium. Use diluted test chemical within three hours of preparation unless specified otherwise.
11.	Special Apparatus and Materials	1. Test organisms. Escherichia coli (ATCC No. 11229) and Staphylococcus aureus (ATCC No. 6538) obtained directly from a reputable supplier (e.g., ATCC).

- 2. *Culture media*. Note: Commercial dehydrated media made to conform to the recipes provided in AOAC Method 960.09 may be substituted, unless indicated otherwise.
 - a. *Trypticase Soy Agar (TSA)*. Prepare according to manufacturer's instructions. Used for the generation of frozen stock cultures for *S. aureus*.
 - b. *Tryptic Soy Broth (TSB)*. Prepare according to manufacturer's instructions. Used for the generation of frozen stock cultures for *S. aureus*
 - c. *Nutrient broth*: Boil 5 g beef extract (powder), 5 g NaCl, and10 g peptone (anatone) in 1 L H₂O for 20 minutes and dilute to volume with de-ionized water; adjust to pH 6.8 ± 0.1. Filter through paper (Whatman No. 4, or equivalent), place 10 mL portions in 20 × 150 mm test tubes, and steam sterilize 20 min at 121°C. Used for the preparation of Nutrient agar plates.
 - d. *Nutrient agar (AOAC)*: Dissolve Bacto agar to 1.5% (w/v) in nutrient broth and adjust to pH 7.2-7.4. Steam sterilize for 20 min at 121°C. Dispense into plates. Used for the generation of frozen stock cultures for *E. coli*.
 - e. Nutrient agar A (NA-A): Boil 3 g beef extract, 5 g peptone and 15 g salt free agar in 1 L de-ionized water. Do not use premixed dehydrated medium. Dispense 10 mL portions in 20 × 150 mm tubes or 20 mL portions in 25 × 150 mm tubes and steam sterilize for 20 min at 121°C. Slant tubes after sterilization and let cool. Used for daily transfers of test cultures.
 - f. Nutrient agar B (NA-B): Boil 3 g beef extract, 5 g peptone and 30 g salt free agar in 1 L de-ionized water. Do not use premixed dehydrated medium. Steam sterilize for 20 min at 121°C. Temper medium prior to dispensing 20-30 mL portions into sterile Petri dishes. Used for development of the final test culture.
- 3. *Subculture media*: choose the appropriate recovery agar and neutralizer to inactivate the test chemical, for example:
 - a. Tryptone glucose extract agar plus Neutralizer (TGEA-N): Combine 24 g of dehydrated medium with 975 mL de-ionized water and 25 mL stock neutralizer if necessary. Steam sterilize for 15 min at 121°C. Used for the recovery of test organisms from treated samples.
 - b. *Tryptone glucose extract agar (TGEA):* Prepare according to the manufacturer's instructions. Used for the enumeration of numbers

control samples.

4. General Media and Reagents:

- a. TSB with 15% [v/v] glycerol (Cryoprotectant solution). Suspend 7.5 g tryptic soy broth in 212.5 mL de-ionized water. Add 37.5 g glycerol and stir until dissolved; boil to dissolve completely. Dispense into bottles and steam sterilize for 15 minutes at 121°C. Used for the preservation of frozen stock cultures.
- b. Neutralizer Stock Solution (NSS): Mix 40 g Lecithin, 280 mL polysorbate 80 and 1.25 mL 0.25 M phosphate buffer stock solution.
 Dilute with de-ionized water to 1 L and adjust pH to 7.2. Dispense in 100 mL portions and steam sterilize for 20 min at 121°C.
- c. Neutralizer blanks (NB): For use with ≤ 200ppm quaternary ammonium compounds. Mix 100 mL neutralizer stock solution, 25 mL 0.25 M phosphate buffer stock solution, and 1675 mL of deionized water. Dispense into appropriate size vessel and steam sterilize for 20 min at 121°C. Alternate neutralizers may be used as necessary.
- d. *Phosphate buffer stock solution (PBSS)*: 0.25M. Dissolve 34 g KH₂PO4 in 500 mL de-ionized water in 1 L volumetric flask. Adjust pH to 7.2 with 1 N NaOH, and dilute to 1 L volume mark. Sterilize by filtration.
- e. *Phosphate buffer solution (PBS)*. Add 1.25 mL of phosphate buffer stock solution and 8.75 g of NaCl to a volumetric flask; fill with deionized water to the 1000 mL mark and mix. A pH of approximately 7.0 is desirable. Sterilize by either filtration or steam sterilization at 121°C for 15-20 min. Alternative PBS formulations with the same pH may be used (e.g., dilute commercially prepared 10× PBS solution to 1× using de-ionized water).
- f. Phosphate buffer dilution water stock solution (PBDW-SS). Dissolve 34.0 g of potassium dihydrogen phosphate (KH₂PO₄) in 500 mL deionized water. Adjust pH to 7.2 ± 0.2 with 0.1 N NaOH or 0.1 N HCl and bring to 1000 mL with de-ionized water. Alternative phosphate buffers with the same pH may be used (e.g., commercially prepared 10X PBS solution).
- g. *Phosphate buffer dilution water (PBDW)*: Add 1.25 mL of 0.25 M phosphate buffer stock solution to 1 L de-ionized water. Dispense into appropriate size vessel and steam sterilize for 20 min at 121°C. Used for numbers control assay and dilution blanks.

- h. Tween-80 (polysorbate 80).
- i. *PBS* (1×) with 0.1% Tween 80 (*PBS* + *T80*): Add 100 mL PBS 10× solution and 1 mL Tween 80 to a volumetric flask; fill with de-ionized water to the 1000 mL mark and mix thoroughly. Sterilize by filtration.
- j. Sterile water. Use reagent-grade water free of substances that interfere with analytical methods. Any method of preparation of reagent-grade water is acceptable provided that the requisite quality can be met. Reverse osmosis, distillation, and deionization in various combinations all can produce reagent-grade water when used in the proper arrangement. See Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater and SOP QC-01, Quality Assurance of Purified Water for details on reagent-grade water.
- k. *Blood Agar (BAP)*. Commercially purchased plates. Used for the presumptive identification of the test microbes.
- Mannitol Salt Agar (MSA). Combine 111 g of dehydrated medium with 1 L de-ionized water and mix thoroughly. Steam sterilize for 15 min at 121°C. Used for the presumptive identification of the test microbes. Xylose lysine deoxycholate agar (XLD). Commercially purchased plates. Used for the presumptive identification of the test microbes.
- 5. Equipment and Glassware. For sanitizer efficacy and numbers control, use 250 mL wide mouth Erlenmeyer flasks. For measuring sanitizers and dilution blanks use 100 mL graduated cylinders. For glassware used to prepare test chemical, refer to SOP MB-22.
 - a. Petri dishes. Sterile plates, 20 mm × 100 mm in size.
 - b. Recirculating chiller unit. For maintaining specified temperature of the test chemical (capable of maintaining $25 \pm 1^{\circ}$ C).
 - c. Test tube racks. Any convenient style.
 - d. Transfer loops. Make 4 mm ID single loop at end of 50–75 mm (2–3 in.) Pt or Pt alloy wire No. 23 B&S gage or 4 mm loop fused on 75 mm (3 in.) shaft (available from Johnson Matthey, West Chester, PA 19380, USA). Fit other end in suitable holder. Bend loop at 30° angle with stem. Commercially available 4 mm ID transfer loops may also be used. Volumetric transfer devices may be used instead of transfer loops (e.g., micro volume pipette).
 - e. *Timer*. For managing timed activities, any certified timer that can display time in seconds.

	f. Micropipettes. For performing culture transfers and serial dilutions.
	g. Whatman No. 2 filter paper. Sterile.
	h. <i>Gram stain kit</i> .
	i. Vitek 2 Compact. For microbe identification and confirmation.
12. Procedure and Analysis	Prior to testing, perform the neutralization assay to determine if the prescribed neutralizer is appropriate for the test chemical.
12.1 Culture Preparation	Refer to Attachment 2-A1 for preparation of the frozen stock cultures. Refer to MB-02: Tracking of Test Microorganisms, Section 12 for the tracking and transfer notations for the test microbes. Reinitiate new frozen stock cultures every 18 months with a new lyophilized culture.
	a. Defrost a single cryovial of frozen stock culture at room temperature and briefly vortex to mix. Streak one loopful of the thawed frozen stock onto a NA – A slant and incubate at $36 \pm 1^{\circ}$ C for 24 ± 2 h. Only one daily transfer is required prior to the initiation of the final test culture.
	 b. For the final test culture, add 5 mL of PBDW to a NA – A slant (daily culture). Using a sterile loop, dislodge growth from agar surface. Collect mixture and transfer to a flask containing 99 mL of PBDW. Mix throughly. Add 200 μL of the mixture to inoculate a minimum of 5 NA – B plates to create a bacterial lawn. Incubate at 36 ± 1°C for 24 ± 2 h.
	c. Record all culture transfers on the Organism Culture Tracking Form (see section 14).
12.2 Test Culture Harvesting	 a. After incubation, add a minimum of 5 mL of PBS + Tween 80 to each plate. Using a sterile rod, gently dislodge culture from agar surface, avoid disrupting agar. Combine culture from all plates and mix thoroughly.
	b. Filter culture through sterile Whatman No. 2 filter paper using a vacuum source; collect filtered test culture into a sterile vessel.
	c. Standardize the filtered test culture, as necessary using PBDW to achieve a final test culture microbe titer between $1.0 \times 10^9\text{CFU/mL}$ and $1.0 \times 10^{10}\text{CFU/mL}$ (9-10 log ₁₀ /mL).
12.3 Test chemical Sample	 a. Prepare test chemical sample per SOP MB-22 (Disinfectant Product).
Preparation	 Ready-to-use test chemicals are tested as received; no dilution is required.

	2) If hard water is required as the diluent, prepare synthetic hard water as described in SOP MB-22 (Disinfectant Product).
	b. Equilibrate water bath and allow it to come to $25 \pm 1^{\circ}$ C or the temperature specified (1C). Prepare the test chemical dilutions within 3 h of performing the assay.
	c. Dispense 99 mL aliquots of the diluted test chemical or ready-to-use test chemical into sterile wide mouth Erlenmeyer flasks. Prepare one flask per test microbe for each germicide to be tested.
	d. Place flasks in the equilibrated water bath for approximately 10 min to allow test solution to come to specified temperature.
	e. Record the temperature of the water bath and recirculating chiller before and after testing on the Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Method Test Information and Culture Preparation Sheet (see section 14).
	f. In addition, prepare a similar flask containing 99 mL of PBDW to use for numbers control for each organism (see section 12.5)
12.4 Treated Sample Test	Flasks containing test culture × test chemical are referred to as the treated samples.
Procedure	a. Add 1 mL of test culture to the test flask as follows:
	 Whirl flask, stopping just before suspension is added, creating enough residual motion of liquid to prevent pooling of suspension at the point of contact with test sample.
	c. Add suspension midway between center and the inner edge of the flask with tip of pipette slightly immersed in test solution. Avoid touching the neck or side of flask during addition. Swirl flask to thoroughly mix contents.
	d. At 30 ± 3 seconds after addition of the test culture, transfer a 1 mL aliquot from the test flask (test culture × test chemical) to a tube containing 9 mL neutralizer blank and mix well. This corresponds to 10 ⁻¹ dilution tube. Record timed events on the Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Method Time Recording Sheet for Transfers (see section 14).
	e. <i>Treated samples plating</i> . — From 10 ⁻¹ tube (i.e., 9 mL neutralizer tube inoculated with 1 mL of exposed culture), plate four 1 mL aliquots and four 0.1 mL aliquots onto TGEA – N plates, for a total of 8 plates per treated sample. This will result in 10 ⁻¹ and 10 ⁻² dilutions respectively. Incubate plates at 36±1°C for 24-30 hours.

	f. Following incubation, count colonies on TGEA-N plates. Counts
	over 300 are recorded as TNTC. Record plate counts on the Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Method Results Sheet (see section 14).
12.5 Numbers Control	Flask containing 99 mL of PBDW is used for the numbers control procedure and referred to as the numbers control sample.
Procedure	Numbers control assay should be conducted within 5 minutes of completion of treated samples.
	b. In a sterile 250 mL wide mouth Erlenmeyer flask containing 99 mL sterile PBDW – numbers control sample, add 1 mL of the test culture (same test culture used for the treated samples) as follows:
	c. Whirl flask, stopping just before suspension is added, creating enough residual motion of liquid to prevent pooling of suspension at the point of contact with test sample.
	d. Add suspension midway between center and the inner edge of the flask with tip of pipette slightly immersed in test solution. Avoid touching to the neck or side of flask during addition. Swirl flask to thoroughly mix contents.
	e. Numbers control plating. — Within 30 seconds of addition of test culture, transfer 1 mL aliquot from the test flask (test culture × PBDW) into a tube containing 9 mL of neutralizer and mix well. This corresponds to 10 ⁻¹ dilution tube. Make serial 10-fold dilutions in 9 mL PBDW, out to 10 ⁻⁶ .
	f. Plate four 1 mL aliquots and four 0.1 mL aliquots from the 10 ⁻⁶ dilution tube onto TGEA plates, for a total of 8 plates per numbers control sample. This will result in 10 ⁻⁶ and 10 ⁻⁷ dilutions, respectively.
	g. Incubate plates at 36±1°C for 24-30 hours.
	h. Following incubation, count colonies on TGEA plates. Counts over 300 are recorded as TNTC. Record plate counts on the Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Method Results Sheet (see section 14).
	i. For a valid test, the numbers control must fall between $7.0-8.0 \log_{10}/\text{mL}$.
12.6 Sterility	a. Neutralizer blank plate 1 mL from a previously unopened tube onto a TGEA plate.
controls	b. Test chemical – Plate 1 mL of the test chemical used in the assay

		onto a TGEA plate.
	c.	Diluent – Plate 1 mL of the diluent, if necessary onto a TGEA plate.
	d.	Incubate all plates at 36±1°C for 24 - 30 hours, record results.
	e.	To be considered valid, no growth should be observed on any of the sterility controls.
12.7 Neutralization Confirmation Test	a.	A neutralization confirmation test should be performed prior to or concurrently with the sanitizer evaluation assay. The neutralization assay must demonstrate the recovery of a low level test organism population (e.g., 10-100 CFU/mL) in the recovery media (i.e. TGEA-N and TGEA).
	b.	Test Culture Titer (TCT).— Add 0.1 mL of the test organism, which has been serially diluted to target between 10-100 CFU/mL to 10 mL of PBDW and mix thoroughly. Dilutions 10 ⁻⁴ and 10 ⁻⁵ should provide the range of 10-100 CFU/mL. Hold the mixture for a minimum of two minutes. Plate 0.1 mL aliquots in duplicate onto TGEA. Incubate plates at 36±1°C for 24-30 hours and record number of colonies.
	c.	Neutralization Confirmation Treatment (NCT).— Add 1 mL of the test chemical to 9 mL of the prescribed neutralizer and mix thoroughly. Within 30 seconds, inoculate the sample with 0.1 mL of the test organism used for the TCT. Mix thoroughly. Hold the mixture for a minimum of two minutes. Plate 0.1 mL aliquots in duplicate onto TGEA-N. Incubate plates at 36±1°C for 24-30 hours and record number of colonies.
	d.	Neutralization Toxicity Treatment (NTT).—Add 0.1 mL of the test organism used for the TCT to 10 mL of the prescribed neutralizer and mix thoroughly. Hold the mixture for a minimum of two minutes. Plate 0.1 mL aliquots in duplicate onto TGEA-N. Incubate plates at 36±1°C for 24-30 hours and record number of colonies.
	e.	Plates that have colony counts over 300 are reported as TNTC. Record the counts on the Neutralization Confirmation Assay Results Sheet (see section 14).
	f. >300 as	Neutralization Results and Calculations.— In order to demonstrate effective neutralization of the sanitizer, differences between treatments should not exceed 1.0 log (e.g., TCT minus NCT). Use counts of 0 to 300 for calculation purposes. Score counts TNTC (too numerous to count).
		A spreadsheet will be used for data analysis and calculations ed with the neutralization confirmation assay.

12.8 Results	a. For a valid test, numbers control counts must fall between $7.0-8.0$ logs.		
	 For the test chemical to be considered efficacious, a mean ≥ 5 log reduction is required with a contact time of 30 seconds. 		
	c. <i>Retesting guidance</i> : For tests where the test chemical meets the performance standard and the numbers control mean \log_{10} density value is above 8.0, no retesting is necessary. For tests where the test chemical fails to meet the performance standard and the numbers control mean \log_{10} density is below 7.0, no retesting is necessary.		
12.9 Confirmatory Steps for Test Microbes	 a. Presumptive identification of the test microbes will be conducted when results are indicative of a failing efficacy evaluation or when results are inconclusive. 		
	b. Representative growth from one plate per treatment sample should be confirmed by Gram stain and growth characteristics on general and selective media.		
	c. Gram stains are performed on smears taken from the treatment sample plates. For the additional confirmatory tests, a smear of culture from each selected treatment sample plate is streaked onto BAP and selective media appropriate for the test organism and incubated for 18-24 hours at $36 \pm 1^{\circ}$ C. See Attachment 1 for Gram stain reactions, cell morphology, and colony characteristics on solid media.		
	d. If characteristics on general and/or selective media are unusual, then further confirmation will be conducted by VITEK, see SOP-QC-22: VITEK 2 Compact: Use, Maintenance and Quality Control Procedures for details.		
	e. If confirmatory testing determines that the identity of the organism was not the test organism, the entry on the results sheet must be		

13. Data Analysis/ Calculations	Calculations will be computed using a Microsoft Excel spreadsheet (see section 14). Both electronic and hard copies of the spreadsheet will be retained. To calculate CFU/mL, use the following equation. CCCCCC/m {(cccccc ffffff 10^-xx)+ (cccccc ffffff 10^-yy)} mmm = where 10^-x and 10^-y are the dilutions plated. Four plates per dilution are plate for treated samples and numbers control samples. Use counts of 0 to 300 for calculation purposes. Score counts >300 as TNTC (too numerous to count). a. Calculate the mean log10 density (LD) for number control plates b. Calculate the mean log10 density (LD) for treated samples plates. c. Calculate the log10 reduction (LR) for treated samples:		
14. Forms and Data	Log ₁₀ reduction = mean log ₁₀ numbers control – mean log ₁₀ treated sample NOTE: If zeros are observed for treated sample, substitute 0.5 for the zero at the lowest (least dilute) dilution and account for the dilution factor in the calculations. 1. Attachment 1: Typical Growth Characteristics of strains of <i>S. aureus</i> and		
Sheets	E. coli		
	2. Attachment 2: Culture Initiation Flow Chart for <i>S. aureus</i> and <i>E. coli</i>		
	3. Test Sheets. Test sheets are stored separately from the SOP under the following file names:		
	Organism Culture Tracking Form	MB-27-02_F1.docx	
	Test Microbe Confirmation Sheet (Quality Control)	MB-27-02_F2.docx	
	Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Method: Test Information and Culture Preparation Sheet	MB-27-02_F3.docx	
	Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Method: Serial Dilution/Plating Tracking Form	MB-27-02_F4.docx	
	Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Method: Titer of Final Test culture Form	MB-27-02_F5.docx	

Germicidal	and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Method: Results Sheet
	Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Method: Time Recording Sheet for Transfers
	Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Method: Test Microbe Confirmation Sheet
	Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Method: Neutralization Confirmation Assay – Neutralization Confirmation Control
	Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Method: Neutralization Toxicity Control
	Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Method: Neutralization Confirmation Assay – Test culture Control
	Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Method: Neutralization Confirmation Assay Results Sheet
15. References	1. Official Methods of Analysis. 2013. 18 th Ed., AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD. Method 960.09: Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants. Revised First Action 2013.
	 Package Insert – Gram Stain Kit and Reagents. Becton, Dickinson and Company. Part no. 882020191JAA. Revision 07/2011.
	 Package Insert – Catalase Reagent Droppers. Becton, Dickinson and Company. Part no. L001237. Revision 06/2010.
	 Package Insert – Staphaurex Plus*. Remel. Part no. R30950102. Revised 11/23/07.
	5. Package Insert – Rapid Indole Reagent Droppers. Becton, Dickinson and Company. Part no. L001237. Revision 06/2010.

Fuente: Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs. Standard operating procedure for germicidal and detergent sanitizing action of disinfectants test.