

Validación de la efectividad desinfectante de Oxonia Activo ® en el Laboratorio de Microbiología / Pharma Isa.

**Internado II
Universidad de
Valparaíso**

**Autor: Diego Tapia Balaguero
Directora: Sandra Gúmera
Co-directora: Tania Bahamóndez**

Agosto del 2025

Agradecimientos

Personal de aseguramiento de calidad y personal de microbiología de Pharma Isa: Agradezco profundamente al equipo de Aseguramiento de Calidad y Microbiología de Pharma ISA por su invaluable apoyo, disposición y conocimientos técnicos durante mi pasantía

Tania Bahamondez y a todo el profesorado de la Facultad de Química y Farmacia, por brindarme las herramientas académicas y el rigor científico necesarios para enfrentar este desafío.

Matias Tapia Balaguero, Andres Tapia Balaguero, Dominique Tapia Balaguero, Catherine Balaguero Figueroa y Benjamin Tapia Saa: mi familia y los mayores valores que me pudieron dar es la perseverancia y el Esfuerzo, un carácter que siempre tendré por delante , cada uno nunca dejó de trabajar en alcanzar la felicidad y por lo que era correcto , me siento orgulloso de ser su hermano y su hijo

Paulina Salgado Silva, Savka Diaz, Belen Zepeda y Valeria ramirez: realmente no sabia que seria de mi sin ustedes , la persona que soy ahora se vio muy influenciada por ustedes y no puedo estar más contento por eso, realmente terminaria muy demente sin su compañía .

Squichy Tapia Balaguero: Te fuiste muy temprano amiga, pero fuiste mi amiga y compañera toda la pandemia , olías pésimo al igual que yo , te extrañare siempre.

Toñito Salgado Silva: Esta tesis va para ti, idolo.

1.1. Resumen:

Este estudio evaluó la eficacia antimicrobiana de Oxonia Activo® (ácido peracético al 0.5%) en el Laboratorio de Microbiología de Pharma Isa frente a cepas de referencia (ATCC) y flora nativa en superficies de acero inoxidable, PVC y granito. Los métodos estandarizados incluyeron ensayos de provocación con tiempos de contacto de 3, 5 y 7 minutos (min). Los resultados mostraron una reducción microbiana efectiva (>4-log) para todas las bacterias vegetativas y hongos evaluados, cumpliendo con los estándares de Clase B (<5 UFC/placa). El desinfectante presentó un desempeño consistente en diferentes superficies, validando su uso en áreas críticas del laboratorio.

Palabras clave: ácido peracético; desinfectantes; antiséptico, flora bacteriana nativa.

1.2. Abstract:

This study evaluated the antimicrobial efficacy of Oxonia Activo® (0.5% peracetic acid) in the Microbiology Laboratory of Pharma Isa against reference strains (ATCC) and native flora on stainless steel, PVC, and granite surfaces. Standardized methods included microbial challenge tests with contact times of 3, 5, and 7 minutes. Results demonstrated effective microbial reduction (>4-log) for all tested vegetative bacteria and fungi, complying with Class B environmental standards (<5 CFU/plate). The disinfectant showed consistent performance across different surfaces, validating its use in critical laboratory areas.

Keywords: peracetic acid; disinfectants; antiseptic; native bacterial flora

Índice

1.1. Resumen.....	2
1.2. Abstract.....	2
2. Introducción.....	7
2.1. Laboratorio farmacéutico Pharma Isa.....	7
2.1.1 Área de microbiología.....	7
2.2 Oxonia Activo.....	8
2.2.1. Mecanismo de acción.....	9
2.2.2 Espectro de acción.....	9
2.2.3. importancia como desinfectante.....	10
2.2.4. Aspectos del manejo del desinfectante.....	10
3. Planteamiento del problema.....	11
4. Objetivo general.....	13
Objetivos específicos.....	13
4. Metodología.....	14
4.1. Preparación de medios de cultivo.....	16
4.1.1. Agar CASO.....	16
4.1.2. Agar Sabouraud.....	17
4.2. Preparación de materiales estériles.....	17
4.3. Preparación del inóculo.....	18
4.3. Desarrollo de la prueba.....	19
• 4.3.1 Preparación del desinfectante (Oxonia activo 0,5%v/v).....	19
• 4.3.2. Monitoreo Microbiológico de Ambiente Flora Bacteriana Nativa.....	20
• 4.3.2.1. Procedimiento de toma de muestra ambiental.....	21
• 4.3.2.2.Etapa de obtención de cultivo puro.....	21
4.3.2.3. Etapa de identificación de la cepa FBN.....	22
• Microscopia y tinción Gram.....	22
• Prueba de Oxidasa.....	23
• 4.3.2.4. Cuantificación de UFC por medio del método de la escala McFarland.....	24
• 4.3.2.4.1. Metodología de Preparación y Estandarización de Suspensiones Bacterianas para la Promoción de Cultivos con FBN.....	24
• 4.3.2.4.1.1. Ajuste de Turbidez Mediante la Escala de McFarland.....	24
• 4.3.2.4.1.2.Diluciones Seriadas y Reserva de Muestras.....	25

• 4.3.2.4.1.3. Cuantificación Bacteriana Mediante Siembra en Placa...	26
• 4.3.3. Ensayos de provocación superficial	26
5. Resultados	29
5.1. Esterilidad de materiales.....	29
5.2. Monitoreo Microbiológico de Ambiente “FBN”.....	30
5.3. Etapa de obtención de cultivo puro.....	31
5.4. Microscopía y Prueba de Tinción de Gram.....	32
5.5. Prueba de Oxidasa.....	32
5.6. Conteo de carga microbiana por medio de la escala McFarland y por placa.....	33
5.7. Efectividad del neutralizante.....	35
5.8. Control microbiológico superficial.....	37
5.9.1. Prueba de provocación: superficial Área de granito.....	38
5.9.2. Prueba de provocación: superficial Área de plástico PVC.....	42
5.9.3. Prueba de provocación: Superficial Área de acero inoxidable.....	45
6. Discusión	49
7. Conclusión	51
8. Bibliografía	52
9. Anexos	53
9.1. Cálculos de la cantidad de medio.....	53
9.2 cálculos de la cantidad de materiales para la desinfección.....	53
9.2.1 Cálculo de agente neutralizante.....	53
9.4 Datos brutos de prueba de desinfección sobre superficie de granito.....	55
9.5 Datos brutos de prueba de desinfección sobre superficie de plástico PVC.....	58
9.6. Datos brutos de prueba de desinfección sobre superficie de acero inoxidable grado 304.....	61

Índice de tablas

Tabla 1. Composición porcentual de Oxonia Activo.....	8
Tabla 2. Información fisicoquímica.....	9
Tabla 3. Nivel máximo de contaminación microbiana permitido durante la cualificación.....	15
Tabla 4. Composición de los agares usados en el estudio.....	16
Tabla 5. Cepas de referencia bacterianas y fúngicas usadas en este estudio.....	18
Tabla 6. Escala McFarland Pharma Isa.....	25
Tabla 7. Crecimiento microbiano de materiales.....	29
Tabla 8. Cuantificación de UFC para la cepa madre de FBN.....	35
Tabla 9. Eficacia del neutralizante.....	36
Tabla 10. Control microbiológico superficial.....	38
Tabla 11. Prueba de provocación: superficial Área de granito.....	39
Tabla 12. Prueba de provocación: superficial Área de plástico PVC.....	42
Tabla 13. Prueba de provocación: superficial Área de Acero inoxidable.....	46

Índice de figuras

Figura 1.....	11
Figura 2.....	16
Figura 3.....	20
Figura 4.....	28
Figura 5.....	30
Figura 6.....	31
Figura 7.....	32
Figura 8.....	33
Figura 9.....	34
Figura 10.....	37
Figura 11.....	41
Figura 12.....	45
Figura 13.....	48

2. Introducción:

2.1. Laboratorio farmacéutico Pharma Isa

Pharma Isa es un laboratorio farmacéutico especializado en servicios de control de calidad para la industria médica y cosmética. La empresa se distingue por ofrecer soluciones integrales que cumplen con los más altos estándares regulatorios, incluyendo normas GMP, BPL, BPF e ISO 9001:2015. Su infraestructura cuenta con un laboratorio de acondicionamiento para productos farmacéuticos y dispositivos médicos, así como un moderno centro de control de calidad equipado con áreas especializadas en microbiología, análisis físico-químicos y manejo de productos oncológicos.

2.1.1 Área de microbiología

El área de microbiología del laboratorio dispone de instalaciones tecnológicamente avanzadas, incluyendo dos salas de siembra con cabinas de flujo laminar y sistemas de bioseguridad. En este espacio se realizan análisis críticos como recuento de mesófilos aeróbicos, determinación de hongos y levaduras, investigación de microorganismos patógenos, pruebas de esterilidad para productos inyectables, análisis de endotoxinas bacterianas y control de material particulado en formulaciones parenterales. Todos estos procedimientos se ejecutan bajo protocolos estandarizados que garantizan el cumplimiento de las normativas nacionales e internacionales aplicables.

Un equipo multidisciplinario de profesionales, liderado por un jefe de microbiología, se encarga de las operaciones en esta área. Sus funciones principales incluyen la realización de ensayos de esterilidad, identificación microbiológica, pruebas de endotoxinas y monitoreo ambiental, asegurando la calidad de materias primas y productos terminados. Este trabajo es fundamental para mantener los estándares requeridos en la industria farmacéutica.

Además, se llevan a cabo controles microbiológicos en productos, superficies, vestimentas y ambientes controlados, garantizando condiciones seguras y minimizando los riesgos de contaminación, en línea con la Norma Técnica N°180 del Código Sanitario (1).

2.2 Oxonia Activo

En este contexto, Oxonia Activo emerge como un desinfectante de alto rendimiento para aplicaciones críticas en el laboratorio. Este producto es fabricado por ECOLAB SpA y está registrado por el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) bajo el código D-904/24 y por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los Estados Unidos. Está formulado a base de ácido peracético, peróxido de hidrógeno y ácido acético (**Tabla 1**) (2) combinación que le confiere un amplio espectro antimicrobiano. Su mecanismo de acción se basa en la generación de radicales libres que dañan irreversiblemente las estructuras celulares de microorganismos, incluyendo bacterias Gram positivas y negativas, virus, hongos y esporas bacterianas, la información fisicoquímica del desinfectante se refiere en la **tabla 2**.

Tabla 1. Composición porcentual de Oxonia Activo

Oxonia Activo	
Ácido acético	7%
Ácido peracético	<5%
Peróxido de hidrógeno	27%

Tabla 2. Información fisicoquímica

Oxonia Activo	
Apariencia : Olor :	Líquido incoloro. Picante, ácido acético.
Espuma :	No tiene.
pH en solución al 100% :	0,7 - 1,7
Densidad Específica a 20°C :	1,11 - 1,13
Oxígeno disponible (10 ml Solución 1%)	12,9 - 14,3 %p/p

2.2.1. Mecanismo de acción

El mecanismo biocida de Oxonia Activo se fundamenta en la acción oxidativa sinérgica del ácido peracético y el peróxido de hidrógeno, compuestos que generan radicales hidroxilo capaces de inducir daños irreversibles en los componentes estructurales de los microorganismos, incluyendo membranas celulares, sistemas enzimáticos y material genético (3). La naturaleza ácida del ácido acético puede alterar el pH del entorno, lo que dificulta la supervivencia (4).

2.2.2 Espectro de acción

Los estudios de eficacia microbiológica demuestran que Oxonia Activo posee un amplio espectro de acción, mostrando actividad biocida contra bacterias Gram positivas y negativas, hongos filamentosos y levaduras, así como esporas bacterianas.

Notablemente, mantiene su eficacia en condiciones operacionales adversas, incluyendo aguas con alta dureza (hasta 500 ppm de CaCO_3) y a temperaturas reducidas.(3)

2.2.3. importancia como desinfectante

Oxonia Activo adquiere especial importancia en el laboratorio de control de calidad farmacéutico debido a su capacidad para garantizar condiciones asépticas en áreas críticas, donde la validación de métodos analíticos y el control microbiológico requieren ambientes libres de contaminación. Su formulación a base de ácido peracético ofrece un alto poder desinfectante, eficaz contra bacterias, hongos y esporas, lo que lo hace ideal para la sanitización de superficies, equipos de laboratorio y zonas de manipulación de muestras.

Al ser libre de fosfatos y con un perfil ambiental más favorable que los desinfectantes halogenados, cumple con los estándares de sostenibilidad exigidos en la industria farmacéutica, sin comprometer su eficacia (5) Además, su estabilidad en diferentes condiciones de agua y temperatura asegura un desempeño confiable en procesos de limpieza y desinfección de instrumental analítico, cámaras de flujo laminar y otros entornos controlados.(5)

Su uso en el laboratorio contribuye a mantener la integridad de los análisis microbiológicos y fisicoquímicos, previniendo falsos resultados por contaminación cruzada. Esto lo convierte en una herramienta esencial para garantizar la trazabilidad, precisión y cumplimiento normativo (GMP, ISO 9001) en los procesos de control de calidad farmacéutico.

2.2.4. Aspectos del manejo del desinfectante

El manejo seguro de Oxonia Activo requiere la implementación de estrictos protocolos de seguridad debido a sus propiedades corrosivas, comburentes y potencial tóxico dichas propiedades están graficadas en las alertas de peligro del envase (**Figura 1**). Se prescribe

el uso obligatorio de equipo de protección personal certificado, incluyendo guantes resistentes a químicos (preferentemente de Acetato de polivinilo (PVA) o neopreno), protección ocular completa y vestimenta adecuada. Las condiciones de almacenamiento deben garantizar temperaturas controladas (5-40°C) en envases originales herméticos, evitando toda exposición a fuentes de ignición o materiales incompatibles. Los procedimientos de emergencia ante exposiciones accidentales enfatizan el lavado inmediato con abundante agua en casos de contacto con piel u ojos, y la prohibición absoluta de inducir el vómito en caso de ingestión. La disposición final de los envases debe realizarse conforme a la normativa de residuos peligrosos (DS 148), mediante gestores autorizados.

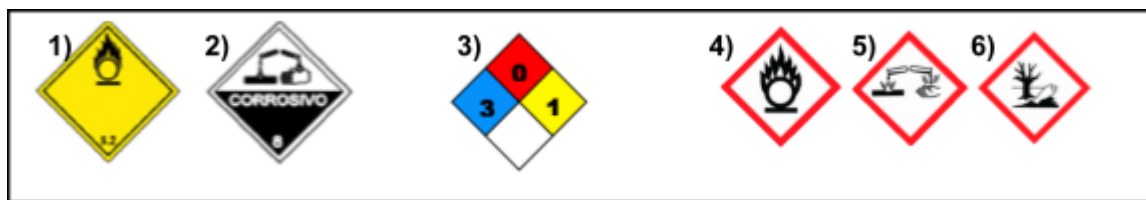


Figura 1: *El Oxonia activo presenta múltiples riesgos representados en seis señales clave: (1-2) Como sustancia comburente (Clase 5.2) libera oxígeno agravando incendios, y como corrosiva (Clase 8) daña tejidos y metales; (3) Su rombo NFPA 704/NCh 1411 muestra inflamabilidad 0 , toxicidad 3 y reactividad 1 ; (4-6) Según el SGA, es comburente, corrosivo y peligro ambiental .*

Uno de los factores clave en la validación de desinfectantes es comprender los elementos que afectan su eficacia. La actividad de un desinfectante depende de múltiples variables, tales como su actividad biocida intrínseca, la concentración utilizada, el tiempo de contacto, la naturaleza de la superficie desinfectada, la dureza del agua usada para su dilución, la cantidad de material orgánico presente en la superficie y la resistencia de los microorganismos presentes (5). La falta de control sobre estas variables puede afectar significativamente los resultados de las pruebas de eficacia.

3. Planteamiento del problema:

Actualmente, Pharma Isa enfrenta una problemática operativa significativa: la falta de un plan de validación formal para evaluar de manera sistemática la actividad antimicrobiana de los desinfectantes y antisépticos utilizados en el área de Microbiología. Esta deficiencia genera brechas importantes en la documentación, ya que no existen protocolos estandarizados, informes detallados ni listas de verificación que regulen y estructuren el proceso. Sin esta base documental, la gestión de cambios, como la selección de nuevas marcas o ajustes en concentraciones, carece de la fundamentación técnica necesaria, comprometiendo la eficacia de los productos utilizados y dificultando la toma de decisiones informada.

La implementación de un plan de validación resulta fundamental para asegurar la efectividad de los desinfectantes y antisépticos bajo las condiciones operativas específicas del laboratorio. La ausencia de dicha validación aumenta el riesgo operativo, ya que cualquier cambio en los productos o concentraciones podría comprometer la efectividad del control microbiológico y afectar la calidad de los productos evaluados. Además, contar con un plan documentado fortalece el respaldo en auditorías y controles regulatorios, alineando las operaciones del laboratorio con los estándares más rigurosos de la industria farmacéutica.

Para validar adecuadamente el uso del Oxonia activo, es fundamental evaluar su efectividad sobre cepas de referencia cuya especie, familia y carga microbiológica es conocida, estas cepas de referencia son las que presenta el laboratorio de microbiología: *Aspergillus niger* (ATCC 16404), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Candida albicans* (ATCC 10231), *Clostridium sporogenes* (ATCC 19404), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Salmonella typhi* (ATCC 14028), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Burkholderia cepacia* (ATCC 25416), *Burkholderia cenocepacia* (ATCC BAA-245) y *Burkholderia multivorans* (ATCC BAA-247).

La flora bacteriana nativa (FBN) del laboratorio, también conocida como flora bacteriana "in-house", está compuesta por las bacterias autóctonas del entorno del laboratorio, que

han desarrollado resistencia y adaptabilidad a las condiciones ambientales específicas del lugar. Dado que estos microorganismos pueden restablecerse rápidamente tras la aplicación de un desinfectante, su identificación y caracterización se vuelve esencial para evaluar con precisión la eficacia del Oxonia activo en condiciones reales de uso.

4. Objetivo general:

Validar la efectividad antimicrobiana del Oxonia activo en el área del laboratorio de Microbiología de Pharma Isa

Objetivos específicos:

- Establecer evidencia documentada que respalde el uso del desinfectante, asegurando la conformidad con las normativas vigentes.
- Evidenciar la efectividad de la actividad bactericida, fungicida del desinfectante utilizado en el laboratorio de microbiología

4. Metodología

El desinfectante Oxonia Activo, fue objeto de una revisión bibliográfica exhaustiva como parte de su proceso de validación. La búsqueda de información se realizará en las principales bases de datos científicas, incluyendo PubMed, Google Scholar, SciELO y Elsevier, para garantizar una cobertura amplia y representativa de la literatura disponible.

Para asegurar la calidad y pertinencia de la información recopilada, se han establecido criterios específicos de selección. En cuanto al idioma, se priorizaron los estudios en español por ser la lengua materna del investigador, lo que facilita una interpretación más precisa de los hallazgos. No obstante, dado que el inglés es el idioma predominante en la comunicación científica, también se incluirán publicaciones en este idioma. Respecto al tipo de fuentes, la validación se basará exclusivamente en investigaciones primarias que aporten datos originales. Las revisiones sistemáticas y meta-análisis sólo se consultarán como herramienta para identificar estudios primarios relevantes, pero no se utilizarán como fuente directa de validación.

El proceso de validación documentará de manera estructurada todos los resultados obtenidos, incluyendo tanto los datos brutos como las metodologías aplicadas en cada estudio consultado. Este registro detallado permitirá garantizar la trazabilidad del proceso y la transparencia en el análisis. Este enfoque metodológico, centrado en evidencia científica primaria y con criterios claros de selección, proporcionará una base sólida para la validación del producto en cuestión.

Con el propósito de garantizar la eficacia de la solución desinfectante del Oxonia activo al 0,5% se llevó a cabo la inoculación controlada de cepas específicas en superficies de uso común del área las cuales son una superficie elevada de acero inoxidable, granito y plástico PVC (policloruro de vinilo) apta para el lavado. La superficie seleccionada se encuentra ubicada dentro del área de microbiología, siendo específico en el área de siembra de producto estéril, un área crítica para la realización de los análisis

microbiológicos (**Figura 2**). Cabe destacar que según la norma de la Farmacopea Europea (PhEur) esta área es de clase B (**Tabla 3**).

Tabla 3. Nivel máximo de contaminación microbiana permitido durante la cualificación

Grado	Muestra de aire UFC/ m^3	Placas de sedimentación (90 mm de diámetro) UFC/4 horas	Placas de contacto (55 mm de diámetro) UFC/placa
A	Sin crecimiento		
B	10	5	5
C	100	50	25
D	200	100	50

Para asegurar la precisión del ensayo, la inoculación se realizará con una carga microbiana dentro de un rango definido de Unidades Formadoras de Colonias (UFC), permitiendo evaluar la efectividad del proceso de desinfección bajo condiciones estandarizadas.



Figura 2: Plano del área de Microbiología del Laboratorio de control de calidad en el Laboratorio Pharma Isa, el área enmarcada en rojo es el área de siembra de productos

estériles, en el cual se realizó la validación del desinfectante y la flecha azul representa la entrada del área de Microbiología .

4.1. Preparación de medios de cultivo:

En el estudio se utilizarán los agares soya tripticasa (CASO) para determinación de bacterias y agar Sabouraud para hongos y levaduras. Su composición y preparación se describe a continuación:

4.1.1. Agar CASO

En el medio de cultivo, la triptefina y la peptona de soya aportan nutrientes ricos en péptidos, aminoácidos libres, bases púricas y pirimídicas, minerales y vitaminas. La peptona de soya además es fuente de hidratos de carbono que estimulan el crecimiento de diversos microorganismos. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el agar es el agente solidificante. Puede ser utilizado como base a la cual se suplementa con nutrientes o con antimicrobianos, logrando un medio enriquecido o selectivo de acuerdo al aditivo **(6)**. Su composición se encuentra en la **tabla 4**. Brevemente, el agar se preparará disolviendo 40 g en 1000 ml de agua purificada y calentando en un baño de agua hirviendo o en corriente de vapor. Se agitó con frecuencia hasta disolución completa. Finalmente se esterilizó en autoclave (15 min a 121°C) y se utilizará según el procedimiento operativo estandarizado de microbiología número 08. **(6-7)**.

Tabla 4. Composición de los agares usados en el estudio.

Componente	Agar CASO	Agar Sabouraud
Peptona de caseína (g)	15	5
Peptona de carne (g)	0	5
Peptona de harina de soya (g)	5	0
Cloruro de sodio (g)	5	0
D-glucosa (g)	0	40

Agar (g)	15	15
Agua destilada (ml) c.s.p.	1000	1000

4.1.2. Agar Sabouraud

Es un medio de cultivo selectivo para el aislamiento de hongos miceliados y levaduras. Su pH ligeramente ácido inhibe el desarrollo de muchas especies de bacterias. La adición de cloranfenicol, penicilina y estreptomicina lo hace aún más selectivo al inhibir el desarrollo de la flora microbiana acompañante. Su composición se describe en la **tabla 4**. El agar será preparado disolviendo 65 g en 1000 ml de agua purificada y calentando en un baño de agua hirviendo o en corriente de vapor. Se agitó hasta su completa disolución y se esterilizó en autoclave (15 min a 121 °C). El agar será utilizado según procedimiento operativo estandarizado de microbiología número 08.(6-7)

Todos los medios de cultivo serán vertidos en su estado líquido en sus respectivas placas tanto del tipo Petri como RODAC, este procedimiento se realizará bajo una campana de bioseguridad en el área de siembra de productos no estériles, área señalada en la **figura 1**.

4.2. Preparación de materiales estériles

La esterilización de los materiales (agua purificada, Oxonia activo al 0,5%, papel absorbente, placas de Petri, micropipetas, puntas para micropipeta, tubos de ensayo, solución buffer con polisorbato 80 (Pol 80) pH 7,3, solución buffer sin Pol 80 pH 7,3, agar CASO y agar Sabouraud) se realizó siguiendo los protocolos establecidos. Los materiales líquidos se envasan en botellas Schott de vidrio de 2 litros, resistentes al calor, y se esterilizan en un autoclave a 121 °C durante 25 min. Las placas de Petri y los tubos de ensayo se sometieron a un proceso de despirogenización en un horno especializado, configurado a 180 °C durante un ciclo de 4 horas. Los instrumentos y materiales sólidos restantes (puntas para micropipeta y papeles) se envolvieron en doble bolsa para esterilización (nombre específico de las bolsas, si lo tienes) y se esterilizaron en el

autoclave bajo las mismas condiciones. Las micropipetas se desmontaron y envolvieron individualmente en doble bolsa para evitar daños. Los medios de cultivo (agar CASO y agar Sabouraud) se prepararon según las indicaciones del fabricante y se esterilizaron en el autoclave.

Para comprobar la efectividad del proceso de esterilización, se realizó un control de esterilidad. Se tomaron muestras de la solución buffer sin polisorbato 80 previamente esterilizada, la cual estuvo en contacto con los materiales e instrumentos esterilizados (excepto los medios de cultivo, ya que no requieren este control). Estas muestras se plaquean en agar CASO y agar Sabouraud, ambos previamente esterilizados, y se incubaron para verificar la ausencia de crecimiento microbiano. Finalizado el proceso, todos los materiales se retiraron, se verificó su integridad y se almacenaron en un área limpia y seca hasta su uso.

4.3. Preparación del inóculo

Las cepas utilizadas para el ensayo se comercializan en formato de pellet (**Tabla 5**). Para garantizar que la carga microbiana se ajuste a los requisitos establecidos, las cepas serán cultivadas en tubos con buffer con o sin Pol 80 según requiera el microorganismo. Posteriormente, se realizará una dilución seriada: Se extraerá una alícuota de 1 ml de cada tubo y se diluirá en 9 ml de caldo de cultivo específico para cada cepa. Este proceso se repetirá para cada dilución sucesiva.

Tabla 5. Cepas de referencia bacterianas y fúngicas usadas en este estudio.

Tipo de acción sobre el microorganismo de referencia	Tinción gram	Cepa de referencia
Bactericida	Gram Negativas	<i>Escherichia coli</i> (E.C.) ATCC 8739
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P.A.) ATCC 9027
		<i>Salmonella typhi</i> (S.T.) ATCC 14028.

Tipo de acción sobre el microorganismo de referencia	Tinción gram	Cepa de referencia
		<i>Burkholderia cepacia</i> (B.C.) ATCC 25416,
		<i>Burkholderia cenocepacia</i> (B.C.N.) ATCC BAA-245,
		<i>Burkholderia multivorans</i> (S.T) ATCC BAA-247
	Gram Positivas	<i>Staphylococcus aureus</i> (S.A.) ATCC 6538
		<i>Bacillus subtilis</i> (B.S.) ATCC 6633,
		<i>Clostridium sporogenes</i> (C.S) ATCC 19404
Fungicida	No aplica	<i>Candida albicans</i> (C.A.) ATCC 10231
		<i>Aspergillus niger</i> (A.N.) ATCC 16404

- **ATCC: American Type Culture Collection**

4.3. Desarrollo de la prueba

- **4.3.1 Preparación del desinfectante (Oxonia activo 0,5%v/v)**

Se preparará una solución desinfectante de Oxonia activo al 0,5% a partir de una concentración inicial de 5%, equivalente a 50.000 ppm de Oxonia activo (4). Una vez calculada la cantidad requerida, se medirá el Oxonia activo y el agua purificada en una probeta volumétrica.

- 100 ml de Oxonia activo al 5%
- 900 ml de Agua purificada

Tanto el agua purificada como el Oxonia activo concentrado, así como la solución final, serán sometidos a esterilización para garantizar su calidad. Previamente, el agua purificada será filtrada mediante un paso por membrana de 0,22 µm, y luego se homogeniza la mezcla en un recipiente adecuado. Esta solución se agregará al aspersor previamente desinfectado con una solución de Oxonia activo al 0,5%, y se preparará el número de aspersores necesarios según la cantidad requerida. Cada aspersor será rotulado con la etiqueta "Identificación Desinfectante y/o

Antiséptico" (**Figura 3**). La solución de Oxonia activo tendrá una duración mensual, y su tiempo de contacto será de al menos 3 min.

IDENTIFICACIÓN DESINFECTANTE Y/O ANTISÉPTICO

Fecha de preparación: _____ Fecha Vence: _____

Lote preparacion: _____ Lote proveedor: _____

Desinfectante y/o Antiséptico: _____

Concentración: _____ Volumen preparado: _____

Condiciones de Almacenamiento: _____

Área de uso: _____

Responsable: _____

VºBº

Figura 3. Identificación Desinfectante y/o Antiséptico

Registrar la preparación del desinfectante y/o antiséptico en el Formulario: *Registro de Preparación desinfectante/Antiséptico del Área de Microbiología*, donde registrará los siguientes datos:

- Fecha: Día de la preparación del desinfectante y/o antiséptico.
- Desinfectante y/o antiséptico: Nombre del producto preparado.
- Lote proveedor: Lote de origen del producto.
- Lote Interno: Lote asignado por el Jefe de Microbiología.
- Concentración desinfectante y/o antiséptico: Identificar la concentración preparada.
- Volumen Preparado: Cantidad de desinfectante y/o antiséptico preparado.
- Vence: Asignado según el tipo de desinfectante. (Cloro; 30 días, Alcohol; 1 semana, Amonio cuaternario; 30 días)
- Filtrado Si/no: Informar si el producto fue filtrado.
- Área a utilizar: El lugar donde se ocupará el producto.
- Firma de la persona que preparó el producto.
- Firma del Jefe de Microbiología.

Al término de cada hoja, el Jefe de Control de Calidad deberá fechar y firmar.

- **4.3.2. Monitoreo Microbiológico de Ambiente Flora Bacteriana Nativa**

El objetivo de esta prueba es identificar la FBN presente en el entorno del laboratorio de microbiología, con el fin de segregar y comparar estas cepas con las cepas a inocular en estudios posteriores. Para ello, se empleó el método de muestreo ambiental utilizando exclusivamente agar CASO como medio de cultivo para la identificación de mesófilos aerobios.

El muestreo se realizó por duplicado en dos días distintos, obteniendo un total de cuatro placas de Petri. Las áreas seleccionadas para la toma de muestras corresponden a puntos críticos dentro de la sala de siembra estéril, donde es más probable la presencia de microorganismos ambientales.

- **4.3.2.1. Procedimiento de toma de muestra ambiental**

Exposición de las placas: Se destapó cada placa de Petri con agar CASO y se dejó expuesta al ambiente durante 4 horas en los puntos críticos seleccionados.

Transporte e incubación: Posteriormente, las placas se taparon con cuidado y se transportaron al área de incubación. Las placas se incubaron a una temperatura de $32,5 \pm 2,5$ °C durante 48 horas.

- **4.3.2.2. Etapa de obtención de cultivo puro**

La obtención de un cultivo puro se lleva a cabo mediante la técnica conocida como "aislamiento por agotamiento en estrías". Este procedimiento consiste en extraer una por una las colonias que presenten diferencias físicas con las demás. Las cepas que se emplean en este proceso provienen de las cepas, donde se realizó la impresión de la superficie de la sala de siembra de productos no estériles.

Cada cepa obtenida de la placa será sometida al aislamiento por agotamiento en estrías, que consiste en sembrar el microorganismo en un

medio sólido en placa, de forma que las bacterias formen colonias separadas. Cada colonia se origina de una única célula, por lo que el cultivo descendiente de una colonia será un cultivo puro. Este método es rápido y sencillo, y se basa en un agotamiento progresivo y continuo del inóculo sobre la superficie del medio sólido contenido en una placa Petri. El objetivo es reducir el número de bacterias hasta lograr una distribución individualizada en la superficie de la placa, de modo que, al incubarse, cada bacteria origine una colonia.

El proceso comienza tomando un asa o aguja de siembra del cultivo inicial y sembrando sobre el agar en la placa mediante sucesivas tandas de estrías. Entre cada tanda, el asa debe ser esterilizada para asegurar que las estrías siguientes arrastren solo una pequeña cantidad de microorganismos de la anterior. De este modo, se consigue que el número de células que se arrastran disminuya progresivamente en cada estría. Posteriormente, se incuba la placa a una temperatura de 30-35°C durante 48 horas.

Tras la incubación, la placa mostrará una proliferación de bacterias, con colonias perfectamente aisladas en las últimas estrías. En esta zona se selecciona una colonia aislada y se transfiere a una nueva placa Petri, obteniendo así el cultivo puro.

4.3.2.3. Etapa de identificación de la cepa FBN

Luego de Obtener el cultivo puro se realizarán 3 pruebas de identificación: Microscopia, tinción gram y test de oxidasa

- **Microscopia y tinción Gram**

En un portaobjetos limpio, colocar una gota de agua purificada. Luego, desinfectar el asa de platino mediante la llama del mechero hasta que adquiera un color rojo y, después de enfriar en las

paredes del tubo o en la placa Petri que contiene el cultivo, pasar suavemente el asa sobre una colonia, extendiendo el inóculo sobre el portaobjetos y mezclándolo con la gota de agua. Fijar el frotis al calor, evitando sobrecalentar. Es importante esterilizar el asa después de cada uso y no dejarla contaminada sobre el mesón. A continuación, colorear el frotis durante un minuto con Cristal Violeta, asegurándose de que el colorante cubra toda la preparación, y luego eliminar el exceso de colorante lavando rápidamente con agua, manteniendo el portaobjetos inclinado. Cubrir el frotis con Lugol durante 60 segundos y luego lavarlo nuevamente con agua. En la etapa crítica de decoloración, aplicar alcohol de 95° sobre el frotis hasta que no se libere más colorante. Posteriormente, lavar con agua. Teñir con safranina, cubriendo el frotis con la solución y dejándola actuar por 10 segundos, luego lavar con agua. Secar cuidadosamente con papel absorbente, sin restregar, o dejar que se seque al aire. Colocar una gota de aceite de inmersión sobre el frotis sin cubreobjeto y observar al microscopio óptico con el objetivo de 100x.

- **Prueba de Oxidasa**

El test de oxidasa Bactident se utiliza para identificar si una bacteria produce la enzima citocromo c oxidasa. Consiste en aplicar una muestra bacteriana sobre una tira que contiene el reactivo tetrametil-p-fenilendiamina. Si la bacteria es oxidasa positiva, la enzima reacciona con el reactivo, produciendo un cambio de color de transparente a morado o azul. Si no hay cambio, la bacteria es oxidasa negativa. Tras realizar la prueba de oxidasa utilizando el reactivo Bactident, los resultados obtenidos fueron negativos. No se observó cambio en el color de la tira reactiva, lo que indica que la

muestra bacteriana no presenta la actividad enzimática de la citocromo c oxidasa, clasificándose como oxidasa negativa.

- **4.3.2.4. Cuantificación de UFC por medio del método de la escala McFarland**

La escala McFarland es un sistema utilizado en microbiología para estimar la concentración de bacterias en una suspensión líquida. Se utiliza principalmente para calibrar la turbidez de la suspensión bacteriana, lo que facilita la preparación de concentraciones estandarizadas. Este método consiste en una serie de tubos de ensayo herméticamente cerrados, los cuales contienen distintas densidades ópticas originadas por la aparición de un precipitado de sulfato de bario resultante de la reacción entre el cloruro de bario y el ácido sulfúrico. Esta turbidez puede interpretarse ópticamente o por métodos espectrofotométricos y cada una de ellas corresponderá a una concentración conocida de UFC/ml. La finalidad es establecer una relación entre una precipitación química y una suspensión bacteriana, para lo cual, se crearán 11 estándares y por medio de espectrofotometría se realizará una curva de linealidad patrón, de forma de poder detectar la concentración de nuestras diluciones bacterianas según se muestra en la **tabla 3**, cabe destacar que se realizó la medición por espectroscopia de los estándares con y sin esterilizar.

- **4.3.2.4.1. Metodología de Preparación y Estandarización de Suspensiones Bacterianas para la Promoción de Cultivos con FBN**

- **4.3.2.4.1.1. Ajuste de Turbidez Mediante la Escala de McFarland**

Para garantizar una concentración bacteriana reproducible, se estandarizó la suspensión de la cepa aislada y purificada de FBN ajustando su turbidez al estándar 0,5 de la escala de McFarland, el cual equivale teóricamente a una carga bacteriana de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml (**Tabla 6**). Para ello, se recolectó la biomasa bacteriana mediante raspado de colonias aisladas en placa de agar utilizando un asa de platino estéril, seguido de resuspensión en buffer sin Pol 80. La homogeneización se realizó mediante vortex hasta lograr una

suspensión uniforme, verificando visualmente que la turbidez coincidiera con el estándar de referencia.

Tabla 6. Escala McFarland Pharma Isa						
Estándar	$BaCl_2$ 0,048M (ml)	H_2SO_4 0,36M (ml)	Volumen final (ml)	Lectura de Absorbancia esterilizada esterilizar 560 nm	Lectura de Absorbancia sin esterilizar 560 nm	N° de UFC
0	0	10	10	0	0	0
0,5	0,05	9,95	10	0,566	0,782	$1,5 \times 10^8$
1	0,1	9,9	10	0,705	0,825	3×10^8
2	0,2	9,8	10	0,912	1,299	6×10^8
3	0,3	9,7	10	1,135	1,439	9×10^8
4	0,4	9,6	10	1,255	1,664	12×10^8
5	0,5	9,5	10	1,482	1,829	15×10^8
6	0,6	9,4	10	1,596	1,888	18×10^8
7	0,7	9,3	10	1,685	1,967	21×10^8
8	0,8	9,2	10	1,749	1,995	24×10^8
9	0,9	9,1	10	1,889	2,105	27×10^8
10	1	9	10	2,093	2,265	30×10^8

• 4.3.2.4.1.2. Diluciones Seriadas y Reserva de Muestras

Posterior al ajuste de turbidez, se realizó una dilución inicial 1:10 (1 ml de suspensión bacteriana en 9 ml de buffer sin Pol 80), obteniendo una concentración teórica de 10^7 UFC/ml. Esta dilución se almacenó a 4 °C como reserva para posibles análisis posteriores. A continuación, se efectuó una serie de cinco diluciones decimales sucesivas

(1:10), transfiriendo 1 ml de la suspensión previa a 9 ml de buffer sin Pol 80 en cada paso. Tras la quinta dilución, la carga bacteriana esperada fue de 10^2 UFC/ml (100 UFC/ml), considerando una reducción logarítmica en cada etapa.

- **4.3.2.4.1.3. Cuantificación Bacteriana Mediante Siembra en Placa**

Para validar la concentración bacteriana real, se realizó el método de conteo en placa sembrando alícuotas de cada dilución en placas de Petri con 15 ml de agar Caso. Las placas se incubaron bajo condiciones óptimas para el crecimiento bacteriano (temperatura y tiempo dependientes de la cepa utilizada). Tras el período de incubación, se identificaron las UFC en aquellas diluciones que generaron un rango contable (30–300 colonias por placa). Los resultados se expresaron en UFC/ml, permitiendo la verificación de la concordancia entre los valores teóricos y experimentales.

- **4.3.3. Ensayos de provocación superficial**

Se evaluará la eficacia del desinfectante aplicado sobre superficies típicas de entornos de trabajo, como acero inoxidable de grado 304, plástico (PVC) y granito, simulando su uso real mediante la inoculación de microorganismos con carga conocida ya distintos tiempos de contacto con el desinfectante. Primero, se limpiarán meticulosamente las áreas designadas utilizando un paño esterilizado humedecido con una solución desinfectante de Oxonia activo al 0,5%. Posteriormente, se categorizó cada superficie, asignando un área específica para cada tipo de cepa inoculada y tiempo de contacto del desinfectante, además de mantener un área adicional por cada cepa como muestra control (sin desinfectante) y un área blanca que no estará inoculada ni se le aplicará desinfectante.

A continuación, se procederá con la **inoculación de las superficies**, contaminadas intencionalmente con 1 ml de una suspensión de microorganismos estándar (bacterias como *Aspergillus niger* (ATCC 16404), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Candida albicans* (ATCC 10231), *Clostridium sporogenes* (ATCC 19404), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 9027), *Salmonella typhi* (ATCC 14028), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Burkholderia cepacia* (ATCC 25416), *Burkholderia cenocepacia*

(ATCC BAA-245) , *Burkholderia multivorans* (ATCC BAA-247) y una cepa de FBN, con una carga microbiana dada por el proveedor, con excepción de la FBN debido a que estará a una carga de $1,5 \times 10^7$ UFC/ml. Luego, se desinfectaron las áreas inoculadas con el Oxonia activo al 0,5% utilizando una micropipeta, asegurando que el desinfectante mantenga el contacto durante 3, 5 y 7 min, este es el tiempo de contacto dado los procesos operativos estandarizados internos del laboratorio “Análisis microbiológico de sanitizantes y/o desinfectantes”. Para asegurar que el desinfectante acabe con su exposición se agregara una solución neutralizante de bicarbonato de sodio sobre la superficie.

Después de estos tiempos de contacto, las superficies serán limpiadas meticulosamente con un paño esterilizado seco y posteriormente se lavará la superficie con papel absorbente esterilizado humedecido con agua purificada y esterilizada. Se realizará una toma de muestra con hisopo, siguiendo un procedimiento detallado que incluye la humectación del hisopo con una solución buffer pH 7,2 y un agente neutralizador, para inactivar cualquier desinfectante residual. Se procederá con el muestreo utilizando el método de hisopado, recolectando muestras de las superficies en duplicado para obtener resultados más representativos, ahora bien para contrastar los resultados obtenidos con y sin solución neutralizante se realizará una prueba anexa que conlleva inocular en superficie de granito 1 ml de cepa de FBN con la acción desinfectante de 1 ml de Oxonia Activo .

La muestra será transferida a un frasco estéril y procesada mediante diluciones seriadas en placas de Petri con agar Caso (para mesófilos aerobios) y agar Sabouraud (para hongos y levaduras) (**Figura 4**). Posteriormente, se incubaron las placas a las temperaturas indicadas y se analizaron los resultados para calcular la reducción de la carga microbiana. Finalmente, se verificará la eliminación de los restos de medio de cultivo mediante una limpieza adicional de las superficies muestreadas con la solución desinfectante de Oxonia activo al 0,5%

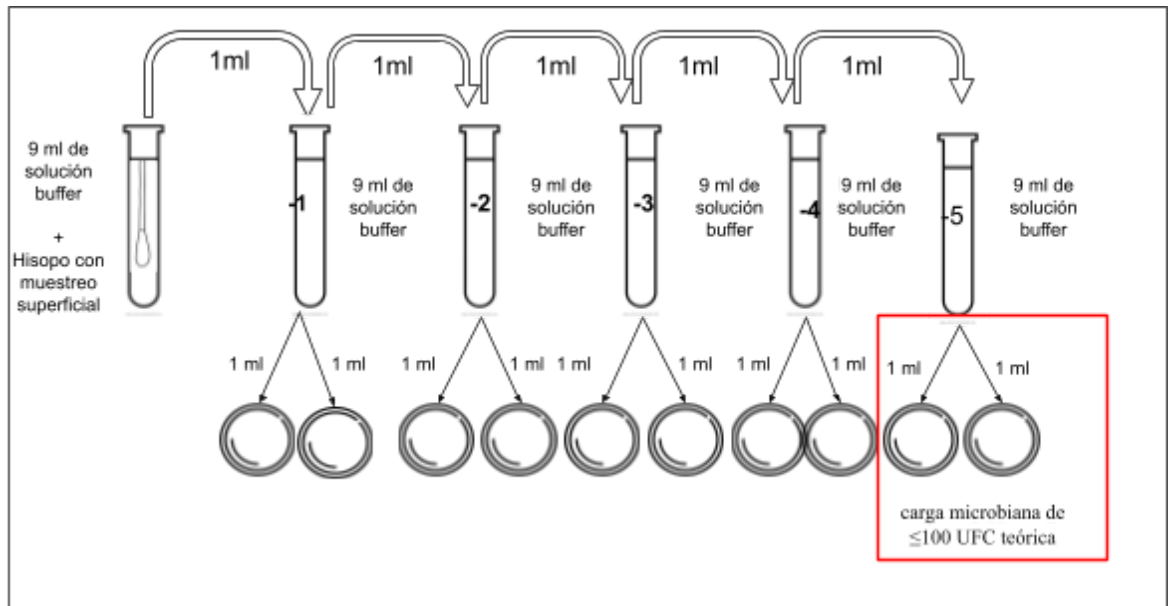


Figura 4: Representación gráfica del Método de dilución seriada para el conteo de UFC en muestra de hisopo. Se muestra la preparación de diluciones decimales (1 ml de muestra en 9 ml de diluyente) hasta 10^{-5} , y la posterior siembra en placas de Petri para obtener un recuento de UFC ≤ 100 en las placas.

Cada placa y tubo de ensayo deberán estar etiquetado con la siguiente información:

- Cepa
- Tiempo de contacto
- Superficie
- Número de dilución
- Número de duplicado (Solo para placas)

Para el conteo de UFC en placa, se realiza mediante inspección visual marcando cada colonia con un marcador, en el caso que sea una cantidad de colonias incontable (superior a 300 UFC), se extrapola el valor de una dilución seriada decimal anterior.

5. Resultados

5.1. Esterilidad de materiales

Todos los materiales utilizados en el estudio (placas de Petri, tubos de ensayo, hisopos, medios de cultivo y soluciones) demostraron ausencia de crecimiento microbiano en los controles de esterilidad (**Tabla 7**). Esto validó que los resultados obtenidos no fueron afectados por contaminación externa, cumpliendo con los requisitos para pruebas en áreas críticas Clase B (<1 UFC/placa).

Tabla 7 : Crecimiento microbiano de materiales		
	Si	No
Placas		X
Tubos de ensayo		X
Hisopo		X
Papel absorbente		X
Micropipeta 10-1000µL		X
Puntas para pipeta		X
Medios de cultivo		X
Agua purificada,		X
Ácido peracético al 0,5%		X
Solución de bicarbonato al 1%		X
Agar Caso		X
Agar sabouraud		X

5.2. Monitoreo Microbiológico de Ambiente “FBN”

El monitoreo de la flora bacteriana nativa se llevó a cabo dos días no consecutivos por duplicado, utilizando placas de Petri con agar CASO expuestas durante un período de 4 horas. Para garantizar la confiabilidad de los resultados, el muestreo se realizó por duplicado en cada fecha.

Los resultados obtenidos indicaron la presencia de sedimentación microbiana en ambas fechas. El día 12 de febrero, se observó 1 UFC en cada una de las placas duplicadas, lo que sugiere una baja carga bacteriana en el ambiente durante ese día. Por otro lado, el día 14 de febrero, se registró un incremento en la sedimentación microbiana, con un total de 3 UFC en las placas expuestas.

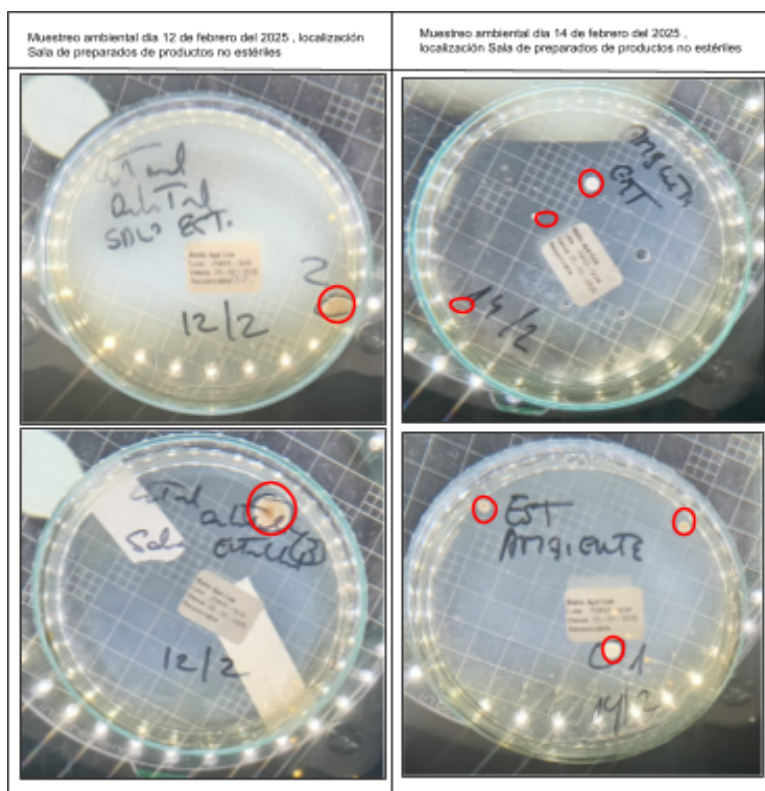


Figura 5: Placas Petri con 15 ml de agar CASO utilizadas para monitorear el sedimento de FBN del área de siembra de productos no estériles en dos días no consecutivos .

Estos resultados reflejan variaciones en la carga bacteriana ambiental dentro del laboratorio durante los días evaluados, lo que podría estar asociado a factores como la actividad humana, las condiciones ambientales o los protocolos de limpieza implementados.

5.3. Etapa de obtención de cultivo puro

Como parte del proceso de identificación de la flora bacteriana nativa, se procedió a la obtención de cultivos puros a partir de las muestras recolectadas durante el monitoreo ambiental. Para ello, se seleccionó una placa representativa de cada día de muestreo (12 y 14 de febrero de 2025).

La etapa de aislamiento y purificación de los microorganismos se llevó a cabo con éxito, logrando obtener cultivos puros a partir de las UFC observadas en las placas de agar CASO. Estos cultivos puros representan un paso fundamental para la posterior identificación y caracterización de las bacterias presentes en el ambiente del laboratorio.

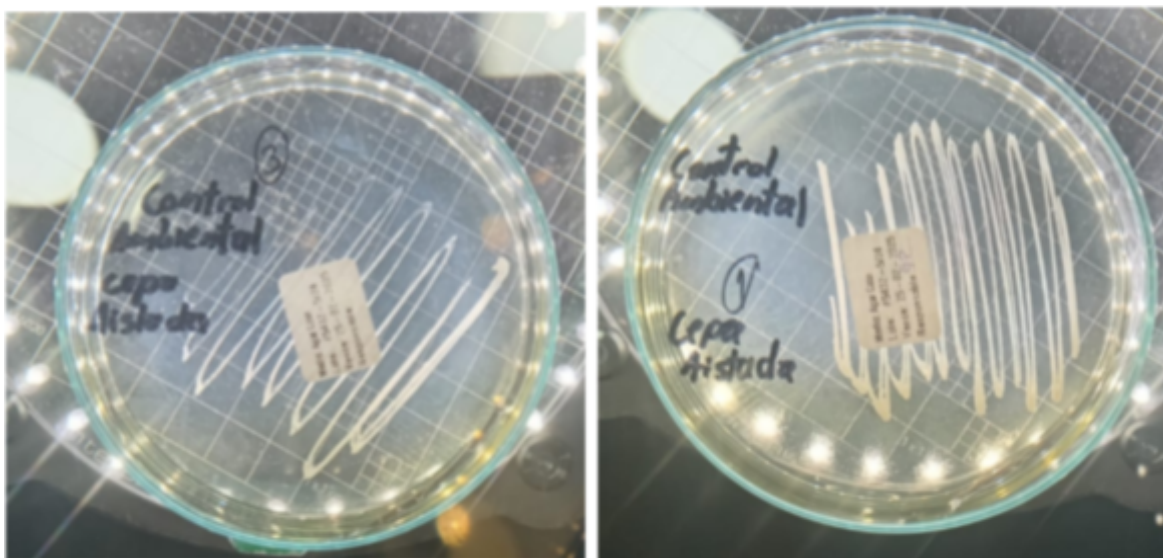


Figura 6: Placas Petri con 15 ml de agar CASO utilizadas para aislar por agotamiento de estrías con asa de platino una cepa representativa del monitoreo por el sedimento de FBN del área de siembra de productos no estériles en dos días no consecutivos .

5.4. Microscopía y Prueba de Tinción de Gram

Para la caracterización preliminar de los microorganismos aislados, se realizó la técnica de tinción de Gram, seguida de observación microscópica. Los resultados obtenidos indicaron que las bacterias presentes en los cultivos puros son Gram positivas. Además, se observó que estas bacterias presentan una morfología característica de cocos.

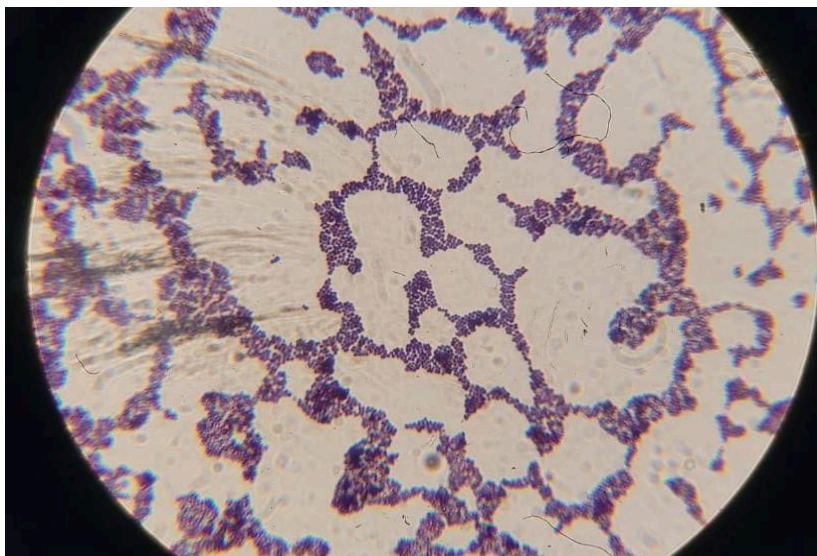


Figura 7: Fotografía obtenida por microscopía óptica de una cepa representativa, preparada mediante tinción de Gram. La imagen muestra las características morfológicas y tintoriales (coloración Gram-positiva o Gram-negativa) de la muestra, utilizada en el estudio de validación del desinfectante Ácido Peracético.

5.5. Prueba de Oxidasa

Para complementar la caracterización bioquímica de los microorganismos aislados, se realizó la prueba de oxidasa utilizando tiras reactivas. Los resultados obtenidos fueron negativos, lo que indica que las bacterias analizadas no poseen la enzima citocromo c oxidasa.

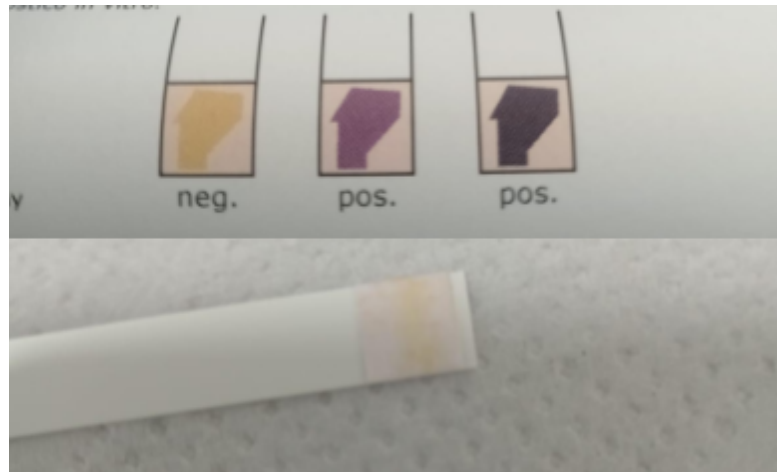


Figura 8: Resultados de la prueba de la tira reactiva Bactident® Oxidasa para la detección de la enzima citocromo oxidasa en microorganismos. La imagen muestra la reacción colorimétrica (positiva/negativa) en las colonias analizadas

5.6. Conteo de carga microbiana por medio de la escala McFarland y por placa

Para garantizar una concentración bacteriana reproducible, se estandarizó la suspensión de la FBN ajustando su turbidez al estándar 0.5 de McFarland ($\sim 1.5 \times 10^8$ UFC/ml), recolectando biomasa con asa estéril y resuspendiendo en 10 ml de buffer sin Pol 80, seguido de homogeneización en vortex y verificación visual de turbidez.

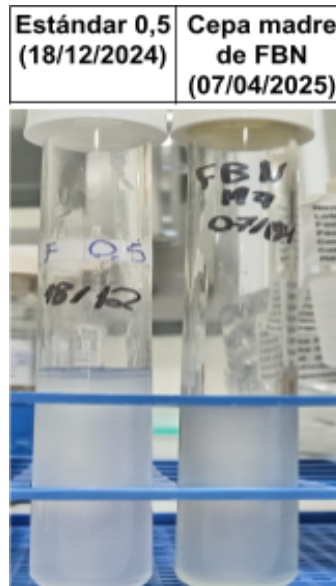


Figura 9: Cepa madre de Flora Bacteriana Nativa (FBN) con turbidez ajustada al estándar 0.5 de la escala de McFarland. La imagen muestra el inóculo bacteriano utilizado en los ensayos de validación del desinfectante Ácido Peracético, garantizando una concentración celular aproximada de 1.5×10^8 UFC/ml para pruebas de eficacia antimicrobiana

Se realizó una serie de diluciones seriadas decimal (1:10) en seis pasos, de la suspensión estandarizada (1.5×10^8 UFC/ml) con el fin para que la dilución -6 este en un rango contable (1–300), donde la dilución -1 alcanzó teóricamente 1.5×10^7 UFC/ml, reservándose esta cepa para futuros análisis con el desinfectante. De cada dilución ((-1) - (-6)) se extrajo 1 ml, el cual se sembró en placas con 15 ml de agar CASO por duplicado, siguiendo el protocolo para validar la carga microbiana mediante recuento de colonias.

Tabla 8. Cuantificación de UFC para la cepa madre de FBN					
FBN Concentración inicial teorica 1,5x10 ⁷ UFC/ml	dilución	Placas			
		1 (UFC/ml)		2 (UFC/ml)	
		Conteo inicial	Conteo por extrapolación	Conteo inicial	Conteo por extrapolación
	-1	Incontable	9,2x10 ⁶	Incontable	1,1x10 ⁷
	-2	Incontable	9,2x10 ⁵	Incontable	1,1x10 ⁶
	-3	Incontable	9,2x10 ⁴	Incontable	1,1x10 ⁵
	-4	Incontable	9,2x10 ³	Incontable	1,1x10 ⁴
-5	Incontable	9,2x10 ²	Incontable	1,1x10 ³	
-6	92		110		
Promedio de placas (UFC/ml)	1,01x10 ⁷				

La cepa madre de FBN presentó una concentración de 1.01×10^7 UFC/ml, valor determinado mediante recuento en placa según protocolos estandarizados. Esta suspensión bacteriana se empleó como inóculo de referencia para los ensayos de validación del desinfectante, asegurando la trazabilidad y reproducibilidad de los resultados.

5.7. Efectividad del neutralizante

La solución de bicarbonato de sodio al 1% (0.55 ml) demostró un efecto neutralizante efectivo sobre el Oxonia activo al 0.5%, inactivando su acción residual. Esta neutralización se evidenció al comparar los recuentos microbianos con y sin el uso del neutralizante, donde se observó una diferencia significativa en la recuperación de UFC. La ausencia de inhibición del crecimiento microbiano en las placas tratadas con bicarbonato confirmó su

eficacia, asegurando que los resultados reflejen únicamente la acción desinfectante y no artefactos por residuos químicos. Este paso fue crítico para validar la confiabilidad de los ensayos de provocación superficial.

La implementación del agente neutralizante evidenció una reducción significativa en la carga microbiana residual, cuantificada en una diferencia de 1 unidad logarítmica ($1 \log_{10}$) entre las muestras tratadas y no tratadas.

Tabla 9: Eficacia del neutralizante												
Superficie de Granito												
FBN Concentración inicial 1,01x10 ⁷ UFC/ml	Solución buffer sin polisorbato 80 con neutralizante											
	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	1,01x10 ⁵	1,39x10 ⁵	0	12	14	0	<1	<1	0	<1	<1
	-1	1,01x10 ⁴	1,39x10 ⁴	-1	<1	<1	-1	<1	<1	-1	<1	<1
	-2	1,01x10 ³	1,39x10 ³	-2	<1	<1	-2	<1	<1	-2	<1	<1
	-3	101	139	-3	<1	<1	-3	<1	<1	-3	<1	<1
	-4	19	31	-4	<1	<1	-4	<1	<1	-4	<1	<1
	-5	1	<1	-5	<1	<1	-5	<1	<1	-5	<1	<1
	Solución buffer sin polisorbato 80 sin neutralizante											
	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	2,31x10 ⁵	1,11x10 ⁵	0	<1	<1	0	<1	<1	0	<1	<1
	-1	2,31x10 ⁴	1,11x10 ⁴	-1	<1	<1	-1	<1	<1	-1	<1	<1
	-2	2,31x10 ³	1,11x10 ³	-2	<1	<1	-2	<1	<1	-2	<1	<1
	-3	231	111	-3	<1	<1	-3	<1	<1	-3	<1	<1
	-4	53	21	-4	<1	<1	-4	<1	<1	-4	<1	<1
	-5	6	11	-5	<1	<1	-5	<1	<1	-5	<1	<1

Efectividad del neutralizante

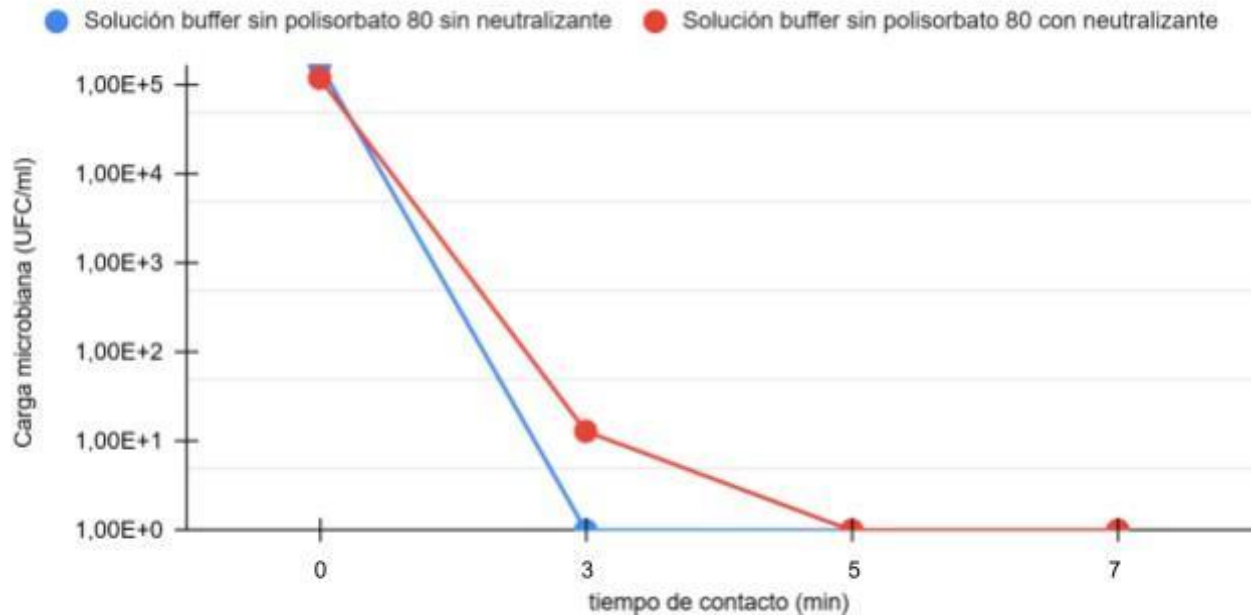


Figura 10: Efectividad del neutralizante en la evaluación del Ácido Peracético. El gráfico compara la carga microbiana (UFC/ml) a diferentes tiempos de contacto (0, 3, 5, 7 min) entre dos condiciones: solución buffer sin polisorbato 80 sin neutralizante (línea roja) y solución buffer sin polisorbato 80 con neutralizante (línea azul). Los controles se indican como referencia. La escala logarítmica (1.00E+5 a 1.00E+0) destaca la reducción microbiana en función del tiempo.

5.8. Control microbiológico superficial

Las superficies designadas (acero inoxidable, PVC y granito) fueron sometidas a un protocolo de limpieza y desinfección previo, verificando mediante controles microbiológicos que cumplieran con los criterios de aceptación establecidos (<5 UFC/25 cm²).

Tabla 10. Control microbiológico superficial								
Fecha	Área (Clase)	Superficie	Placa con Agar CASO	Resultados		Límite Microbiano en 25cm ² (UFC/4 horas)	Requisitos	
				Aerobios Mesófilos	Promedio		Cumple	No cumple
06/03/2025	B	Acero Inoxidable	1	<1 UFC	<1 UFC	5	Si	No
			2	<1 UFC				
06/03/2025	B	Plástico	1	<1 UFC	<1 UFC	5	Si	No
			2	<1 UFC				
06/03/2025	B	Granito	1	2 UFC	2 UFC	5	Si	No
			2	2 UFC				

Este estado asegura que la carga microbiana ambiental no interfirió en los resultados de la validación, garantizando que la reducción microbiana observada fuera atribuible exclusivamente a la acción del desinfectante en estudio.

5.9.1. Prueba de provocación: superficial Área de granito

Oxonia Activo® logró reducciones >4-log para bacterias Gram negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Burkholderia* spp.) y hongos (*C. albicans*, *A. niger*) en 3–5 min. Para *S. aureus* (Gram positivo) se requirieron 7 min para alcanzar 3-log (**Tabla 11, Figura 11**)

Tabla 11. Prueba de provocación: superficial Área de granito						
Organismo evaluado	Duración del contacto (Min)	Placa	Promedio por placa (UFC/ml)	Reducción logarítmica	Cumple criterio (Si/ No)	Observación
Escherichia coli, ATCC 8739	3	1	< 1	4	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento , a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	4	Si	
		2				
	7	1	< 1	4	Si	
		2				
S. aureus, ATCC 6538	3	1	68	3	Si	Se detectaron UFC tras el tratamiento
		2				
	5	1	15	3	Si	
		2				
	7	1	11	3	Si	
		2				
P. aeruginosa, ATCC 9027	3	1	37	5	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 5.
		2				
	5	1	< 1	6	Si	
		2				
	7	1	< 1	6	Si	
		2				
B. multivorans, ATCC BAA-247	3	1	< 1	5	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	5	Si	
		2				
	7	1	< 1	5	Si	
		2				
B. cepacia, ATCC 25416	3	1	< 1	5	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	5	Si	
		2				
	7	1	< 1	5	Si	
		2				

Tabla 11. Prueba de provocación: superficial Área de granito						
Organismo evaluado	Duración del contacto (Min)	Placa	Promedio por placa (UFC/ml)	Reducción logarítmica	Cumple criterio (Si/ No)	Observación
B. cenocepacia, ATCC BAA-245	3	1	< 1	4	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento , a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	4	Si	
		2				
	7	1	< 1	4	Si	
		2				
S. typhi, ATCC 14028	3	1	< 1	4	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	4	Si	
		2				
	7	1	< 1	4	Si	
		2				
C. sporogenes, ATCC 19404	3	1	< 1	3	Si	Se detectaron UFC tras el tratamiento
		2				
	5	1	2	3	Si	
		2				
	7	1	1	3	Si	
		2				
B. subtilis, ATCC 6633	3	1	410	2	No	Se detectaron UFC tras el tratamiento
		2				
	5	1	100	2	No	
		2				
	7	1	2	4	Si	
		2				
C. albicans, ATCC 10231	3	1	860	2	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 7.
		2				
	5	1	28	3	Si	
		2				
	7	1	< 1	4	Si	
		2				

Tabla 11. Prueba de provocación: superficial Área de granito						
Organismo evaluado	Duración del contacto (Min)	Placa	Promedio por placa (UFC/ml)	Reducción logarítmica	Cumple criterio (Si/ No)	Observación
A. niger, ATCC 16404	3	1	78	3	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 5.
		2				
	5	1	< 1	4	Si	
		2				
	7	1	< 1	4	Si	
		2				
FBN	3	1	13	4	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 5.
		2				
	5	1	< 1	5	Si	
		2				
	7	1	< 1	5	Si	
		2				

Desafío de desinfectante sobre granito

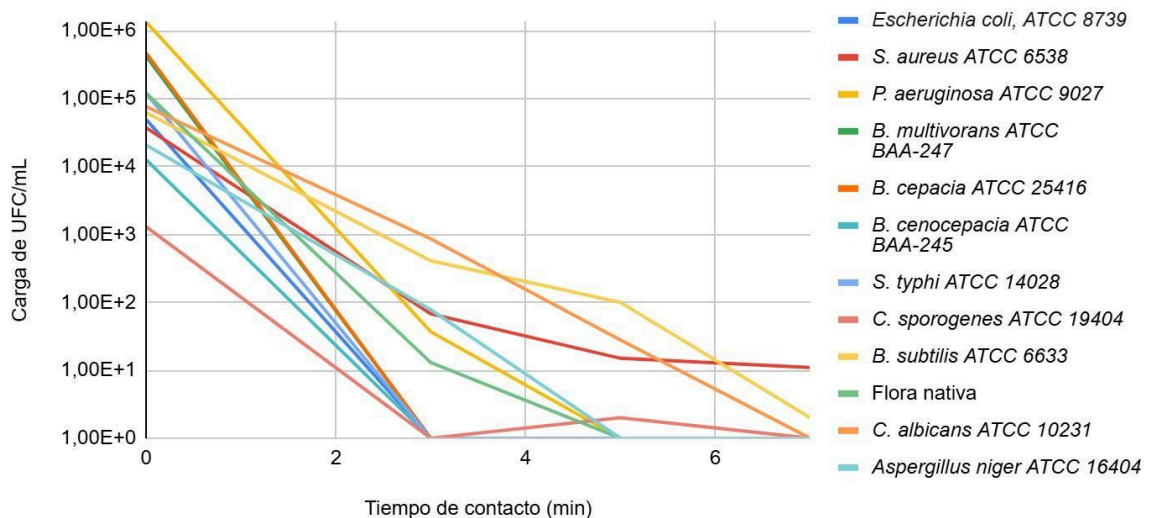


Figura 11: Eficacia del desinfectante Ácido Peracético sobre superficies de granito frente a diversos microorganismos, incluyendo bacterias gram negativas, gram positivas,

hongos. El gráfico muestra la reducción logarítmica de la carga microbiana (UFC/ml) en función del tiempo de contacto (min) con el desinfectante.

5.9.2. Prueba de provocación: superficial Área de plástico PVC

Mostró menor eficacia contra esporas bacterianas (*B. subtilis*, *C. sporogenes*), con reducciones de solo 2-log incluso a 7 min. Para el resto de cepas, cumplió con >3-log a 5 min (Tabla 12, Figura 12).

Tabla 12. Prueba de provocación: superficial Área de plastico PVC						
Organismo evaluado	Duración del contacto (Min)	Placa	Promedio por placa (UFC/ml)	Reducción logarítmica	Cumple criterio (Si/ No)	Observación
Escherichia coli, ATCC 8739	3	1	< 1	4	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento , a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	4	Si	
		2				
	7	1	< 1	4	Si	
		2				
S. aureus, ATCC 6538	3	1	< 1	3	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	3	Si	
		2				
	7	1	< 1	3	Si	
		2				
P. aeruginosa, ATCC 9027	3	1	2	5	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 7.
		2				
	5	1	1	5	Si	
		2				
	7	1	< 1	5	Si	
		2				
B. multivorans, ATCC BAA-247	3	1	< 1	6	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del
		2				
	5	1	< 1	6	Si	
		2				

Tabla 12. Prueba de provocación: superficial Área de plástico PVC						
Organismo evaluado	Duración del contacto (Min)	Placa	Promedio por placa (UFC/ml)	Reducción logarítmica	Cumple criterio (Si/ No)	Observación
	7	1	< 1	6	Si	minuto 3.
		2				
<i>B. cepacia</i> , ATCC 25416	3	1	< 1	6	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	6	Si	
		2				
	7	1	< 1	6	Si	
		2				
<i>B. cenocepacia</i> , ATCC BAA-245	3	1	< 1	6	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento , a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	6	Si	
		2				
	7	1	< 1	6	Si	
		2				
<i>S. typhi</i> , ATCC 14028	3	1	15	3	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento,a partir del minuto 5.
		2				
	5	1	< 1	4	Si	
		2				
	7	1	< 1	4	Si	
		2				
<i>C. sporogenes</i> , ATCC 19404	3	1	3	2	No	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 7.
		2				
	5	1	1	2	No	
		2				
	7	1	< 1	2	Si	
		2				
<i>B. subtilis</i> , ATCC 6633	3	1	610	2	Si	Se detectaron UFC tras el tratamiento
		2				
	5	1	440	2	Si	
		2				

Tabla 12. Prueba de provocación: superficial Área de plastico PVC						
Organismo evaluado	Duración del contacto (Min)	Placa	Promedio por placa (UFC/ml)	Reducción logarítmica	Cumple criterio (Si/ No)	Observación
	7	1	61	3	Si	
		2				
<i>C. albicans</i> , ATCC 10231	3	1	8	3	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 5.
		2				
	5	1	< 1	3	Si	
		2				
	7	1	< 1	3	Si	
		2				
<i>A. niger</i> , ATCC 16404	3	1	7	3	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 5.
		2				
	5	1	< 1	3	Si	
		2				
	7	1	< 1	3	Si	
		2				
FBN	3	1	< 1	4	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	4	Si	
		2				
	7	1	< 1	4	Si	
		2				

Desafío de desinfectante sobre plástico PVC

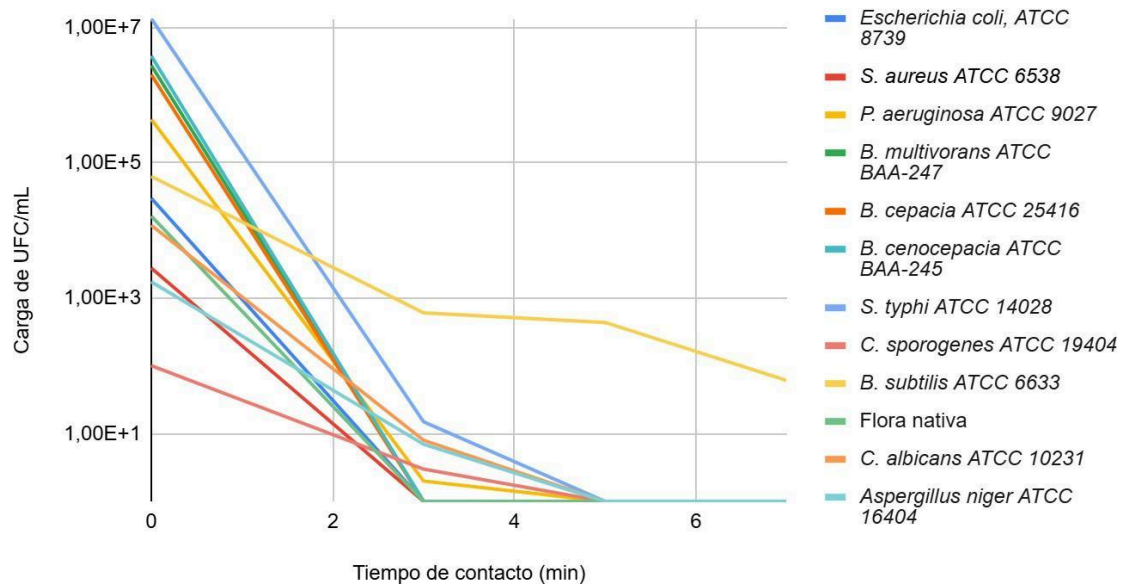


Figura 12. Evaluación de la eficacia del desinfectante Ácido Peracético sobre superficies de plástico PVC frente a diversos microorganismos. El gráfico muestra la reducción en UFC de bacterias gram negativas, gram positivas, y hongos, en función del tiempo de contacto (min).

5.9.3. Prueba de provocación: Superficial Área de acero inoxidable

Superficie con mejor desempeño: eliminó el 100% de UFC en todas las cepas vegetativas (incluyendo FBN) en ≤3 min, excepto *B. subtilis* (3-log a 7 min) (**Tabla 13, Figura 13**).

Tabla 13. Prueba de provocación: Superficial Área de acero inoxidable						
Organismo evaluado	Duración del contacto (Min)	Placa	Promedio por placa (UFC/ml)	Reducción logarítmica	Cumple criterio (Si/ No)	Observación
<i>Escherichia coli</i> , ATCC	3	1	< 1	6	Si	Se

Tabla 13. Prueba de provocación: Superficial Área de acero inoxidable						
Organismo evaluado	Duración del contacto (Min)	Placa	Promedio por placa (UFC/ml)	Reducción logarítmica	Cumple criterio (Si/ No)	Observación
8739		2				detectaron UFC tras el tratamiento
	5	1	< 1	6	Si	
		2				
	7	1	4	6	Si	
		2				
S. aureus, ATCC 6538	3	1	< 1	3	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	3	Si	
		2				
	7	1	< 1	3	Si	
		2				
P. aeruginosa, ATCC 9027	3	1	1	7	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 5.
		2				
	5	1	< 1	7	Si	
		2				
	7	1	< 1	7	Si	
		2				
B. multivorans, ATCC BAA-247	3	1	< 1	6	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	6	Si	
		2				
	7	1	< 1	6	Si	
		2				
B. cepacia, ATCC 25416	3	1	< 1	6	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	6	Si	
		2				
	7	1	< 1	6	Si	
		2				
B. cenocepacia,	3	1	< 1	7	Si	No se

Tabla 13. Prueba de provocación: Superficial Área de acero inoxidable						
Organismo evaluado	Duración del contacto (Min)	Placa	Promedio por placa (UFC/ml)	Reducción logarítmica	Cumple criterio (Si/ No)	Observación
ATCC BAA-245		2				detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 3.
	5	1	< 1	7	Si	
		2				
	7	1	< 1	7	Si	
		2				
S. typhi, ATCC 14028	3	1	< 1	4	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	4	Si	
		2				
	7	1	< 1	4	Si	
		2				
C. sporogenes, ATCC 19404	3	1	2	1	No	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 5.
		2				
	5	1	< 1	1	Si	
		2				
	7	1	< 1	1	Si	
		2				
B. subtilis, ATCC 6633	3	1	< 1	6	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	6	Si	
		2				
	7	1	< 1	6	Si	
		2				
C. albicans, ATCC 10231	3	1	< 1	3	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	3	Si	
		2				
	7	1	< 1	3	Si	
		2				

Tabla 13. Prueba de provocación: Superficial Área de acero inoxidable						
Organismo evaluado	Duración del contacto (Min)	Placa	Promedio por placa (UFC/ml)	Reducción logarítmica	Cumple criterio (Si/ No)	Observación
A. niger, ATCC 16404	3	1	< 1	3	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	3	Si	
		2				
	7	1	< 1	3	Si	
		2				
FBN	3	1	< 1	4	Si	No se detectaron UFC tras el tratamiento, a partir del minuto 3.
		2				
	5	1	< 1	4	Si	
		2				
	7	1	< 1	4	Si	
		2				

Desafío de desinfectante sobre Acero inoxidable

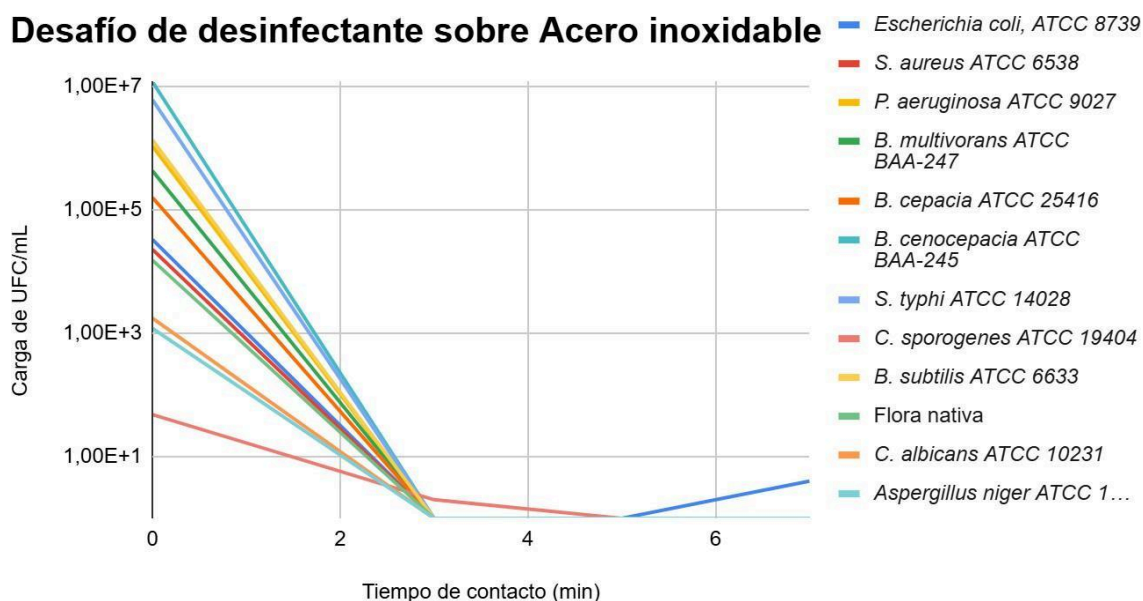


Figura 13. Eficacia del desinfectante Ácido Peracético sobre superficies de acero inoxidable frente a 12 microorganismos, incluyendo bacterias gram negativas, gram positivas y hongos. El gráfico muestra la reducción logarítmica en UFC en función del tiempo de contacto (min).

6. Discusión

Los resultados de este estudio demuestran que el área evaluada cumple estrictamente con los requisitos de la Farmacopea Europea para zonas Clase B, presentando niveles menores a 5 UFC en placas de sedimentación de 90 mm expuestas durante 4 horas. Este hallazgo es fundamental para validar las condiciones ambientales del laboratorio, particularmente cuando se considera que la selección de cepas de referencia siguió rigurosamente los lineamientos de las farmacopeas internacionales. La inclusión de cepas exigidas por USP <60> (*Burkholderia cepacia* complex), USP <71> (esterilidad), USP <51> (hongos y levaduras) y USP <62> (microorganismos específicos) permitió una

evaluación integral del desinfectante Oxonia Activo® demostrando su eficacia con reducciones logarítmicas >4 unidades en bacterias vegetativas y hongos (8).

Respecto al ensayo de provocación superficial todo el material utilizado se encuentra inocuo y no presenta microorganismos que podrían alterar los resultados, se destaca que, si bien el método de hisopado es ampliamente utilizado para la recuperación de microorganismos desde superficies, este presenta una eficiencia de recuperación variable, lo que implica que no siempre se logra cuantificar la totalidad de la carga microbiana inoculada. Esta limitación metodológica se manifiesta en la reducción logarítmica observada en los controles positivos, donde se evidencia pérdida de carga bacteriana atribuible a la técnica de muestreo más que al efecto del desinfectante. No obstante, este comportamiento no es uniforme, ya que algunas cepas como *Salmonella typhi* sobre superficie plástica, granito y acero; *Burkholderia cenocepacia* en acero; *Salmonella tiphy* en acero, *Pseudomonas aeruginosa* en acero; *Bacillus subtilis* en acero; *Clostridium sporogenes* conservan una alta carga microbiana en los controles, evidenciando una menor pérdida asociada al hisopado. Esto podría atribuirse a diferencias en la adherencia superficial, la producción de biopelículas o características estructurales de la membrana celular que favorecen la persistencia sobre ciertos materiales

El desempeño del desinfectante mostró variaciones significativas según el tipo de superficie evaluada. En acero inoxidable se observó la mayor eficacia, atribuible a su superficie lisa y no porosa, mientras que en PVC y granito se detectó menor actividad, especialmente contra esporas bacterianas (*Bacillus subtilis* ATCC 6633 y *Clostridium sporogenes* ATCC 19404). Esta diferencia resalta la importancia de considerar las propiedades físicas de los materiales en la validación de desinfectantes. Cabe destacar que el uso de agua desmineralizada esterilizada en la preparación del desinfectante fue crucial, ya que la dureza del agua podría haber interferido con la actividad del Oxonia activo, particularmente contra cepas desafiantes como las del complejo *Burkholderia cepacia* (*Burkholderia cenocepacia* ATCC BAA-245, *Burkholderia multivorans* ATCC BAA-247).

La caracterización de la FBN mediante técnicas convencionales (tinción de Gram, oxidasa) identificó cocos Gram positivos, posiblemente *Staphylococcus* o *Micrococcus*. Si bien estos métodos fueron adecuados para el estudio actual, la implementación futura de técnicas moleculares (MALDI-TOF, secuenciación 16S rRNA) o sistemas API permitiría una identificación más precisa, especialmente para cepas ambientales persistentes. La estandarización del inóculo mediante escala de McFarland, aunque práctica y ampliamente utilizada, mostró las limitaciones inherentes a su subjetividad visual. En este contexto, la incorporación de Pol 80 siguiendo recomendaciones de USP 30 (Pruebas Microbiológicas, pág. 97) fue particularmente valiosa para mejorar la dispersión de microorganismos hidrofóbicos como *Aspergillus niger* ATCC 16404.

Durante la etapa de aislamiento de la flora nativa, se observó que todas las cepas recuperadas del monitoreo ambiental presentaban características morfológicas y de tinción homogéneas, siendo cocos Gram positivos. Considerando esta uniformidad, se seleccionó una única cepa representativa para las pruebas posteriores, con el fin de evitar redundancias y facilitar la trazabilidad experimental.

No obstante, debido a las variables observadas durante la validación, se recomienda el uso de 1 ml de ácido peracético durante un tiempo de contacto de 7 min para superficies de 25 cm². Para extrapolar esta recomendación a una superficie de 1 m², se requiere aplicar aproximadamente 400 ml del desinfectante, manteniendo el mismo tiempo de contacto, con el fin de asegurar una cobertura homogénea y una efectividad antimicrobiana adecuada.

Entre las limitaciones del estudio se destaca la no evaluación del desinfectante en presencia de materia orgánica, variable crítica en condiciones operativas reales. Futuras investigaciones deberían considerar:

- Validación con matrices orgánicas que simulan condiciones de uso
- Evaluación de concentraciones mayores (1%) para cepas esporuladas
- Estudios de estabilidad del desinfectante preparada
- Combinaciones y comparación de efectividad con otros agentes para áreas críticas

7. Conclusión

.El estudio demostró que Oxonia Activo® (0.5% de ácido peracético) es un desinfectante eficaz en el laboratorio de microbiología, logrando reducciones >4-log para bacterias vegetativas (Gram positivas y negativas) y hongos en tiempos de 3-7 min, dependiendo del tipo de superficie. El acero inoxidable mostró la mayor eficacia (3 min para la mayoría de cepas), seguido del granito (5 min) y el PVC (7 min), siendo las esporas bacterianas (*Bacillus subtilis* ATCC 6633 y *Clostridium sporogenes* ATCC 19404) las más resistentes. La FBN, identificada como cocos Gram positivos, presentó una sensibilidad similar a *Staphylococcus aureus*. Estos resultados validan el uso de Oxonia Activo® en áreas críticas Clase B, aunque se recomienda ajustar los tiempos de contacto según el material superficial y considerar concentraciones mayores (1%) para el control de esporas. El estudio proporciona una base documental sólida para cumplir con normativas GMP, ISO 9001 y farmacopeas internacionales, garantizando condiciones asépticas en el laboratorio.

8. Bibliografía

1. Norma técnica 180 : buenas prácticas de laboratorio de microbiología. Ispch.cl. Recuperado el 5 de noviembre de 2024, de https://www.ispch.cl/sites/default/files/NT%20180_BPL_Lab.de-Microbiologia-Farmaceutica.pdf
2. Ficha técnica de Oxonia Activo , Ecolab®.
3. Desinfectantes, 4. 1. Definición. (s/f). 4. *DESINFECTANTES DE USO HOSPITALARIO*. Sefh.es. Recuperado el 15 de noviembre de 2024, de <https://www.sefh.es/bibliotecavirtual/antisepticos/4desinfectantes.pdf>
4. Espitia, J. J. C., Lozano, L. C., & Suárez, D. M. T. (2022). Efecto bactericida del ácido acético presente en el vinagre, una alternativa a desinfectantes sintéticos o químicos. Revisión sistemática. Revista Boletín Redipe, 11(1), 440-451.
5. Kyanko, María V, Russo, Mara L, Fernández, Mariela, & Pose, Graciela. (2010). Efectividad del Acido Peracético sobre la reducción de la carga de Esporas de Mohos causantes de Pudrición Poscosecha de Frutas y Hortalizas. Información

tecnológica, 21(4), 125-130.
<https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642010000400016>

6. (S/f). Britanialab.com. Recuperado el 3 de noviembre de 2024, de
https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6054e7678b1e3.pdf
7. Farmacopea de los Estados Unidos de América. volumen 1, USP 30 NF25. p. 91.
8. USP <60> (Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for *Burkholderia cepacia* Complex)

9. Anexos

9.1. Cálculos de la cantidad de medio

agar CASO: 15ml x 2(duplicado)x 6 (Diluciones) x 4(tiempo de contacto) x 9 cepas bacterianas x 3 superficies

- Cantidad a utilizar: **19,44 L de agar CASO**

agar Sabouraud: 15 ml x 2(duplicado)x 6 (Diluciones) x 4(tiempo de contacto) x 2 cepas bacterianas x 3 superficies

- Cantidad a utilizar: **4,32 L de agar Sabouraud**

Buffer sin Pol 80: 10 ml x 4 tiempo de contacto x 9 cepas x 3 superficies
 + 9 ml x 5 diluciones x 4 tiempo de contacto x 9 cepas x 3 superficies

- Cantidad a utilizar: **5,94 L de Buffer sin Pol 80**

Buffer con Pol 80: 10ml x 4 tiempo de contacto x 2 cepas x 3 superficies

+ 9 ml x 5 diluciones x 4 tiempo de contacto x 2 cepas x 3 superficies

- Cantidad a utilizar: **1,32 L de Buffer con Pol 80**

9.2 cálculos de la cantidad de materiales para la desinfección

Oxonia: 1 ml x 6 (Diluciones) x 4 (tiempo de contacto) x 9 cepas bacterianas x 3 superficies

- cantidad a utilizar: **648 ml de Oxonia al 0,5%**

Agua Purificada: 1 Litro (uso indefinido)

Papel : 2 x 6 (Diluciones) x 4 (tiempo de contacto) x 9 cepas bacterianas x 3 superficies

- Número de hojas: 1296 hojas de papel absorbente

9.2.1 Cálculo de agente neutralizante

Determinar la concentración de Oxonia activo en moles por litro (M): El Oxonia activo está al 0,5%, lo que significa que hay 0,5 gramos de Oxonia activo en 100 ml de solución.

- Para 1 ml de solución, la cantidad de Oxonia activo es:

$$0,5 \text{ g}/100 \text{ ml} \times 1 \text{ ml} = 0,005 \text{ g}$$

- La masa molar del Oxonia activo ($\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$) es aproximadamente 76,05 g/mol, Convertir gramos a moles:

$$0,005 \text{ g}/76,05 \text{ g/mol} \approx 6,57 \times 10^{-5} \text{ moles}$$

Calcular la cantidad de bicarbonato de sodio necesaria:

- Dado que la reacción es 1:1, se necesitan $6,57 \times 10^{-5}$ moles de NaHCO_3 .

La masa molar del bicarbonato de sodio (NaHCO_3) es de aproximadamente 84,01 g/mol.

Convertir moles a gramos

- $6,57 \times 10^{-5} \text{ moles} \times 84,01 \text{ g/mol} \approx 0,00552 \text{ g}$

Necesita aproximadamente 0,00552 gramos de bicarbonato de sodio para neutralizar 1 ml de Oxonia activo al 0,5%.

De manera anexa se prepara una 1 litro de solución de bicarbonato de sodio al 1%. Para **1 litro (1000 ml)** de solución, la cantidad de bicarbonato de sodio necesaria es:

- Cantidad de $\text{NaHCO}_3 = 1 \text{ g} / 100 \text{ ml} \times 1000 \text{ ml} = 10 \text{ g}$

Cálculo del volumen de solución de bicarbonato de sodio necesario:

- Moles de NaHCO_3 necesarios: $6,57 \times 10^{-5}$ (moles).
- Concentración molar = $10 \text{ (g/L)} / 84,01 \text{ (g/mol)} = 0,119 \text{ (moles/L)}$:
- Volumen (L) = $6,57 \times 10^{-5} \text{ (moles)} / 0,119 \text{ (moles/L)} \approx 0,000552 \text{ (L)}$
- Convertimos a mililitros (ml):
- $0,000552 \text{ L} \times 1000 \text{ ml/L} = 0,552 \text{ (ml)}$.

9.4 Datos brutos de prueba de desinfección sobre superficie de granito

Superficie: Granito												
SA Concentraci3n inicial $6,2 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$4,19 \times 10^4$	$3,24 \times 10^4$	0	60	75	0	17	13	0	14	8
	-1	$4,19 \times 10^3$	$3,24 \times 10^3$	-1	19	13	-1	7	3	-1	<1	<1
	-2	419	324	-2	7	2	-2	1	<1	-2	<1	<1
	-3	23	57	-3	3	<1	-3	1	<1	-3	<1	<1
	-4	19	3	-4	<1	<1	-4	<1	<1	-4	<1	<1
	-5	1	<1	-5	1	<1	-5	1	<1	-5	<1	<1
PA Concentraci3n inicial $6,0 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$1,04 \times 10^6$	$1,64 \times 10^6$	0	30	44	0	<1	<1	0	<1	<1
	-1	$1,04 \times 10^5$	$1,64 \times 10^5$	-1	8	12	-1	<1	<1	-1	<1	<1
	-2	$1,04 \times 10^4$	$1,64 \times 10^4$	-2	1	2	-2	<1	<1	-2	<1	<1
	-3	$1,04 \times 10^3$	$1,64 \times 10^3$	-3	1	<1	-3	<1	<1	-3	<1	<1
	-4	104	164	-4	1	<1	-4	<1	<1	-4	<1	<1
	-5	18	22	-5	<1	<1	-5	<1	<1	-5	<1	<1
EC Concentraci3n inicial $5,6 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$4,2 \times 10^4$	$5,6 \times 10^4$	0	<1	<1	0	<1	<1	0	<1	<1
	-1	$4,2 \times 10^3$	$5,6 \times 10^3$	-1	<1	<1	-1	<1	<1	-1	<1	<1
	-2	42	56	-2	<1	<1	-2	<1	<1	-2	<1	<1
	-3	13	3	-3	<1	<1	-3	<1	<1	-3	<1	<1
	-4	1	<1	-4	<1	<1	-4	<1	<1	-4	<1	<1
	-5	<1	<1	-5	<1	<1	-5	<1	<1	-5	<1	<1
AN Concentraci3n inicial $7,3 \times 10^6$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$2,14 \times 10^4$	2×10^4	0	58	98	0	<1	<1	0	<1	<1
	-1	$2,14 \times 10^3$	2×10^3	-1	16	5	-1	<1	<1	-1	<1	<1
	-2	214	200	-2	<1	<1	-2	<1	<1	-2	<1	<1
	-3	42	1	-3	<1	<1	-3	<1	<1	-3	<1	<1
	-4	<1	<1	-4	<1	<1	-4	<1	<1	-4	<1	<1
	-5	2	<1	-5	<1	<1	-5	<1	<1	-5	<1	<1

CA Concentracion inicial $6,3 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$2,66 \times 10^4$	$3,1 \times 10^4$	0	660	1060	0	43	13	0	<1	<1
	-1	$2,66 \times 10^3$	$3,1 \times 10^3$	-1	190	106	-1	<1	<1	-1	<1	<1
	-2	266	310	-2	<1	<1	-2	<1	<1	-2	<1	<1
	-3	147	78	-3	<1	<1	-3	<1	<1	-3	<1	<1
	-4	<1	<1	-4	<1	<1	-4	<1	<1	-4	<1	<1
	-5	<1	<1	-5	<1	<1	-5	<1	<1	-5	<1	<1
BS Concentracion inicial $3,0 \times 10^6$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$7,28 \times 10^4$	$5,2 \times 10^4$	0	380	440	0	80	120	0	2	<1
	-1	$7,28 \times 10^3$	$5,2 \times 10^3$	-1	111	99	-1	72	43	-1	<1	<1
	-2	728	522	-2	7	3	-2	9	11	-2	<1	<1
	-3	128	111	-3	<1	<1	-3	<1	<1	-3	<1	<1
	-4	20	12	-4	<1	<1	-4	<1	<1	-4	<1	<1
	-5	8	3	-5	<1	<1	-5	<1	<1	-5	<1	<1
FBN Concentracion inicial $1,01 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$1,01 \times 10^5$	$1,39 \times 10^5$	0	12	14	0	<1	<1	0	<1	<1
	-1	$1,01 \times 10^4$	$1,39 \times 10^4$	-1	<1	<1	-1	<1	<1	-1	<1	<1
	-2	$1,01 \times 10^3$	$1,39 \times 10^3$	-2	<1	<1	-2	<1	<1	-2	<1	<1
	-3	101	139	-3	<1	<1	-3	<1	<1	-3	<1	<1
	-4	19	31	-4	<1	<1	-4	<1	<1	-4	<1	<1
	-5	1	<1	-5	<1	<1	-5	<1	<1	-5	<1	<1
BC Concentracion inicial $4,6 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$3,5 \times 10^5$	$5,9 \times 10^5$	0	<1	<1	0	<1	<1	0	<1	<1
	-1	$3,5 \times 10^4$	$5,9 \times 10^4$	-1	<1	<1	-1	<1	<1	-1	<1	<1
	-2	$3,5 \times 10^3$	$5,9 \times 10^3$	-2	<1	<1	-2	<1	<1	-2	<1	<1
	-3	$3,5 \times 10^2$	$5,9 \times 10^2$	-3	<1	<1	-3	<1	<1	-3	<1	<1
	-4	35	59	-4	<1	<1	-4	<1	<1	-4	<1	<1
	-5	13	2	-5	<1	<1	-5	<1	<1	-5	<1	<1

BM Concentracion inicial $6,8 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$4,5 \times 10^5$	$3,9 \times 10^5$	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	$4,5 \times 10^4$	$3,9 \times 10^4$	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	$4,5 \times 10^3$	$3,9 \times 10^3$	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	450	390	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	18	36	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	2	6	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
BCN Concentracion inicial $6,3 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$7,6 \times 10^3$	$1,76 \times 10^4$	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	$7,6 \times 10^2$	$1,76 \times 10^3$	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	76	176	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	9	33	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	2	4	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
ST Concentracion inicial $6,5 \times 10^4$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$1,1 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	$1,1 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	110	130	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	20	30	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
CS Concentracion inicial $7,0 \times 10^3$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$1,0 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$	0	< 1	< 1	0	< 1	4	0	< 1	1
	-1	101	155	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	20	8	-2	1	1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	2	< 1	-3	5	2	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1

9.5 Datos brutos de prueba de desinfección sobre superficie de plástico PVC

Superficie: Plastico PVC												
SA Concentracion inicial $6,2 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$1,5 \times 10^3$	$2,1 \times 10^3$	0	< 1	< 1	0	1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	153	213	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	9	4	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	2	1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
PA Concentracion inicial $6,0 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$4,4 \times 10^5$	$1,2 \times 10^5$	0	2	3	0	2	< 1	0	< 1	< 1
	-1	$4,4 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$	-1	1	2	-1	1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	$4,4 \times 10^3$	$1,2 \times 10^3$	-2	0	1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	444	124	-3	1	2	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	154	88	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	49	23	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
EC Concentracion inicial $5,6 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$4,8 \times 10^4$	$3,8 \times 10^4$	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	$4,8 \times 10^3$	$3,8 \times 10^3$	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	$4,8 \times 10^2$	$3,8 \times 10^2$	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	48	38	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	11	9	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	1		-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
AN Concentracion inicial $7,3 \times 10^6$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$1,5 \times 10^3$	2×10^3	0	5	9	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	148	202	-1	1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	19	23	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	4	7	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1

CA Concentracion inicial $6,3 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$1,4 \times 10^3$	1×10^3	0	8	4	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	141	99	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	4	4	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
BS Concentracion inicial $3,0 \times 10^6$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$6,4 \times 10^4$	$6,2 \times 10^4$	0	720	500	0	419	461	0	91	31
	-1	$6,4 \times 10^3$	$6,2 \times 10^3$	-1	72	50	-1	131	11	-1	5	3
	-2	638	618	-2	15	11	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	170	11	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	60	44	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	7	2	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
FBN Concentracion inicial $1,01 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$1,11 \times 10^4$	$2,15 \times 10^4$	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	$1,11 \times 10^3$	$2,15 \times 10^3$	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	111	215	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	27	15	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	1	3	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
BC Concentracion inicial $4,6 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$2,1 \times 10^6$	$1,9 \times 10^6$	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	$2,1 \times 10^5$	$1,9 \times 10^5$	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	$2,1 \times 10^4$	$1,9 \times 10^4$	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	$2,1 \times 10^3$	$1,9 \times 10^3$	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	$2,1 \times 10^2$	$1,9 \times 10^2$	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	21	19	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1

BM Concentracion inicial $6,8 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$2,6 \times 10^6$	$2,9 \times 10^6$	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	$2,6 \times 10^5$	$2,9 \times 10^5$	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	$2,6 \times 10^4$	$2,9 \times 10^4$	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	$2,6 \times 10^3$	$2,9 \times 10^3$	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	257	291	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	11	16	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
BCN Concentracion inicial $6,3 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$4,6 \times 10^6$	3×10^6	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	$4,6 \times 10^5$	3×10^5	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	$4,6 \times 10^4$	3×10^4	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	$4,6 \times 10^3$	3×10^3	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	460	300	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	22	44	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
ST Concentracion inicial $6,5 \times 10^4$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$1,01 \times 10^4$	$1,69 \times 10^4$	0	11	19	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	$1,01 \times 10^3$	$1,69 \times 10^3$	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	101	169	-2	12	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	44	53	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	15	21	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	4	1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
CS Concentracion inicial $7,9 \times 10^3$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	102	99	0	2	4	0	1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	7	11	-1	5	5	-1	< 1	1	-1	< 1	< 1
	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1

9.6. Datos brutos de prueba de desinfección sobre superficie de acero inoxidable grado 304.

Superficie: Acero inoxidable												
SA Concentraci3n inicial $6,2 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$2,31 \times 10^3$	$2,25 \times 10^3$	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	231	225	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	91	40	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	12	6	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
PA Concentraci3n inicial $6,0 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$4,16 \times 10^7$	4×10^7	0	1	1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	$4,16 \times 10^6$	4×10^6	-1	< 1	1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	$4,16 \times 10^5$	4×10^5	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	$4,16 \times 10^4$	4×10^4	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	$4,16 \times 10^3$	4×10^3	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	416	400	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
EC Concentraci3n inicial $5,6 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$3,3 \times 10^6$	$5,9 \times 10^6$	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	5	3
	-1	$3,3 \times 10^5$	$5,9 \times 10^5$	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	$3,3 \times 10^4$	$5,9 \times 10^4$	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	$3,3 \times 10^3$	$5,9 \times 10^3$	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	$3,3 \times 10^2$	$5,9 \times 10^2$	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	33	59	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	3
AN Concentraci3n inicial $7,3 \times 10^6$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$1,29 \times 10^3$	$1,11 \times 10^3$	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	129	111	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	19	23	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	1	11	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1

CA Concentracion inicial 6,3x10 ⁷ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	2,31x10 ³	1,19x10 ³	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	231	119	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	20	4	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
BS Concentracion inicial 3,0x10 ⁶ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	1,33x10 ⁶	1,39x10 ⁶	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	1,33x10 ⁵	1,39x10 ⁵	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	1,33x10 ⁴	1,39x10 ⁴	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	1,33x10 ³	1,39x10 ³	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	133	139	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	11	25	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
FBN Concentracion inicial 1,01x10 ⁷ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	1,2x10 ⁴	1,86x10 ⁴	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	1,2x10 ³	1,86x10 ³	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	120	186	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	9	17	-3	13	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	1	3	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
BC Concentracion inicial 4,6x10 ⁷ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	1,28x10 ⁶	1,88x10 ⁶	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	1,28x10 ⁵	1,88x10 ⁵	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	1,28x10 ⁴	1,88x10 ⁴	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	1,28x10 ³	1,88x10 ³	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	128	188	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1

BM Concentracion Inicial $6,8 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$1,33 \times 10^6$	$1,27 \times 10^6$	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	$1,33 \times 10^5$	$1,27 \times 10^5$	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	$1,33 \times 10^4$	$1,27 \times 10^4$	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	1	< 1
	-3	$1,33 \times 10^3$	$1,27 \times 10^3$	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	133	127	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	11	5	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
BCN Concentracion Inicial $6,3 \times 10^7$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	$9,9 \times 10^6$	$1,39 \times 10^7$	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	$9,9 \times 10^5$	$1,39 \times 10^6$	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	$9,9 \times 10^4$	$1,39 \times 10^5$	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	$9,9 \times 10^3$	$1,39 \times 10^4$	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	$9,9 \times 10^2$	$1,39 \times 10^3$	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	99	139	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
ST Concentracion Inicial $6,5 \times 10^4$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	4×10^4	$8,2 \times 10^3$	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	4×10^3	$8,2 \times 10^2$	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1	-1	< 1	< 1
	-2	4×10^2	82	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	40	11	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	6	2	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1
CS Concentracion Inicial $7,0 \times 10^3$ UFC/ml	c+	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	3 min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	5min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)	7min	1 (UFC/ml)	2 (UFC/ml)
	0	60	36	0	2	1	0	< 1	< 1	0	< 1	< 1
	-1	4	7	-1	< 1	< 1	-1	< 1	1	-1	< 1	< 1
	-2	< 1	< 1	-2	< 1	< 1	-2	1	< 1	-2	< 1	< 1
	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1	-3	< 1	< 1
	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1	-4	< 1	< 1
	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1	-5	< 1	< 1