



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS
DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**TESIS:
EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL DESINFECTANTE
DIOXIDO DE CLORO FRENTE A CEPAS DE *Escherichia
coli* Y *Staphylococcus aureus***

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUIMICO FARMACEUTICO**

**PRESENTADO POR:
CATARI CALCINA, RUSSEL SANTOS**

**ASESOR:
MSC. MALLQUI BRITO, VANIA**

LIMA - PERÚ

2018

DEDICATORIA

Dedico mi trabajo de tesis a mis dos grandes amores: mi esposa Karen y mi hijo Iker que son la fuerza que me dan para lograr mis objetivos y poder cumplir mis metas, a mis padres quienes me brindaron todo el apoyo para poder culminar esta carrera. Depositando su entera confianza en mí. Gracias papá, gracias mamá.

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer primero a Dios porque ha estado conmigo en momentos difíciles aquí en Lima, lejos de mi ciudad Arequipa, cuidándome y dándome fuerza para continuar.

A mi Asesora MSC. Vania Mallqui Brito y la Mg. Karen Quiroz Cornejo, que me dieron su apoyo en todo momento para la realización de esta tesis haciéndome las revisiones pertinentes para hacer de este, un factible proyecto.

A mi hermana Cinthya que me dio las palabras necesarias en el momento exacto cuando me sentía desanimado y sin fuerzas. Gracias hermana.

A mi esposa y a mi hijo que a pesar de la distancia, me llenaron de felicidad, fuerza, ánimo para poder culminar mi carrera profesional.

Y gracias a todos los que me brindaron su apoyo.

ÍNDICE

	Página
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
ÍNDICE.....	iii
ÍNDICE DE TABLAS.....	vii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	viii
ÍNDICE FOTOS.....	ix
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	xiii

CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática.....	15
1.2. Problemas de investigación.....	16
1.2.1 Problema general.....	16
1.2.2 Problemas específicos.....	16
1.3. Objetivos de la investigación.....	17
1.3.1 Objetivos generales.....	17
1.3.2 Objetivos específicos.....	17
1.4. Justificación, importancia y limitaciones de la investigación.....	17

CAPITULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Hipótesis de la investigación.....	20
---	----

2.1.1 Hipótesis general.....	20
2.1.2 Hipótesis específica.....	20
2.2. Variables de la investigación.....	20
2.2.1. Identificación y clasificación de Variables.....	20
2.2.2. Operacionalización de variables.....	21

CAPÍTULO III: MARCO TEÓRICO

3.1. Antecedentes de la investigación.....	22
3.2. Bases teóricas.....	30
3.2.1. Desinfectantes.....	30
3.2.1.1. Factores que influyen en la eficacia de desinfectantes... 30	
3.2.1.2. Mecanismo de acción de los desinfectantes.....	32
3.2.1.3. Clasificación de desinfectantes.....	32
3.2.2. Dióxido de cloro.....	34
3.2.2.1. Características del dióxido de cloro.....	34
3.2.2.2. Mecanismo de acción del dióxido de cloro.....	34
3.2.2.3. Ventajas dióxido de cloro en la industria alimentaria.....	34
3.2.2.4. Preparación y activación del dióxido de cloro.....	42
3.2.3. Enfermedades transmitidas por alimentos.....	42
3.2.4. Coliformes.....	44
3.2.4.1. <i>Escherichia coli</i>	46
A. Características generales.....	46
B. Taxonomía.....	46
C. Patogenicidad.....	47
D. Síntomas.....	47
E. Transmisión de la enfermedad.....	48
3.2.5. <i>Staphylococcus aureus</i>	48
A. Características generales.....	48
B. Taxonomía.....	49

C. Patogenicidad.....	49
D. Síntomas.....	49
E. Transmisión de la enfermedad.....	50
3.2.6. Importancia del uso adecuado de los desinfectantes en relaciona la adaptabilidad bacteriana.....	51
3.2.6.1. Tiempo contacto desinfectante con microorganismos.....	51
3.2.6.2. Adaptabilidad o resistencia bacteriana.....	53
3.2.7. Medios de cultivos.....	54
3.2.7.1. Clasificación de los medios de cultivo.....	54
3.2.7.2. Caldo nutritivo.....	55
3.2.7.3. Agar nutritivo.....	56
3.2.7.4. Agua peptonada.....	56
3.2.8. Evaluación de capacidad y eficacia bactericida desinfectantes ...	56
3.2.8.1. Método de análisis de la AOAC.....	57
3.2.8.2. Prueba de kelsey-sykes.....	57
3.3. Definición de términos.....	58

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. Tipo y Nivel de la investigación.....	61
4.1.1. Tipo de investigación.....	61
4.1.2. Nivel de investigación.....	61
4.2. Método y Diseño de la investigación.....	62
4.2.1. Método de investigación.....	62
4.2.2. Diseño de investigación.....	62
4.3. Población y Muestra de la investigación.....	63
4.3.1. Población.....	63
4.3.2. Muestra.....	63
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	63
4.4.1. Técnicas.....	63

4.4.2. Instrumentos.....	63
4.5. Procedimiento de recolección de datos.....	65
A. Activación de las cepas <i>Escherichia coli</i> ACTCC 25922 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	65
B. Método: Enfrentamiento de bacterias con el desinfectante dióxido de cloro	65
C. Control de neutralización del desinfectante.....	65
D. Método de recuento en medio de cultivo.....	65
E. Procesamiento de la variable en estudio.....	66
F. Procesamiento de análisis de datos.....	66

CAPÍTULO V: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

5.1. Análisis de tablas y gráficos.....	67
5.2. Discusión de los resultados.....	74
CONCLUSIONES.....	77
RECOMENDACIONES.....	78
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
ANEXOS.....	83

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: Principales Microorganismos que el dióxido de cloro elimina.....	35
TABLA 2: Dosificación dióxido de cloro en ppm para la industria alimentaria.	37
TABLA 3: Concentración y tiempo de respuesta.....	42
TABLA 4: Ensayos microbiológicos para la recolección de información... .	64
TABLA 5: Resultados del dióxido de cloro frente a cepas de <i>Escherichia coli</i>	67
TABLA 6: Resultados del dióxido de cloro frente a las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>	68
TABLA 7: Acción del dióxido de cloro frente a las cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en los tiempos de exposición.	71
TABLA 8: Acción del dióxido de cloro frente a las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en los tiempos de exposición.....	73

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafico1: Representación gráfica de la actividad germicida del dióxido de cloro a 50 ppm, 25ppm y 10 ppm sobre cepas <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	70
Grafico2: Representación gráfica de la actividad germicida del dióxido de cloro a 50 ppm, 25ppm y 10 ppm sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	72

ÍNDICE FOTOS

Foto 1: Presencia de crecimiento de cepas <i>Escherichia coli</i> en agar nutritivo.....	71
Foto 2: Ausencia de cepas de <i>Escherichia coli</i> después del enfrentamiento con dióxido de cloro.....	71
Foto 3: Presencia de crecimiento de cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> en agar nutritivo.....	73
Foto 4: Ausencia de cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> después enfrentamiento con dióxido de cloro.....	73
Foto 5: Preparación de caldo nutritivo para activación de cepas bacterianas.....	90
Foto 6: Preparación de las placas petri.....	90
Foto 7: Placas petri con medio de cultivo agar nutritivo medio de crecimiento de las cepas bacterianas a estudiar.....	90

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADN: ácido desoxirribonucleico.

AOAC: asociación oficial de análisis químicos de estados unidos.

ATCC: colección estadounidense de cultura tipográfica.

°C: grados centígrados.

DC: dióxido de cloro.

EDAS: enfermedades diarreicas agudas.

EHE-ST: extracto de hojas de eucalipto - semilla de toronja.

EPA: agencia de protección ambiental.

ES-PT: extracto de semilla - pulpa de toronja.

ETAS: enfermedades transmitidas por alimentos.

FDA: administración de *Alimentos* y Medicamentos.

m³: metros cúbicos.

Min: minutos.

ml: mililitros.

OMS: organización mundial de salud.

pH: potencial de hidrogeno.

ppm: partes por millón.

SAG: Servicio Agrícola y Ganadero.

S: segundos.

UFC: unidad formadoras de colonia.

ul: microlitros.

RESUMEN

Introducción: Según la Organización Mundial de la Salud las enfermedades que se transmiten por alimentos (ETAS) se clasifican en infecciones, intoxicaciones y toxiinfecciones. Las bacterias como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, han sido reconocidos como los principales agentes causantes de enfermedades. El dióxido de cloro es un desinfectante sintético de gran importancia en la industria alimentaria por ser un desinfectante químico capaz de destruir bacterias Gram positivas y Gram negativas, creando condiciones sanitarias en los alimentos que se procesan.

Objetivos: Evaluar el efecto de la concentración del desinfectante dióxido de cloro frente a las cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Material y método: Para el enfrentamiento con el desinfectante dióxido de cloro se utilizaron cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Se utilizó el método de dilución Kelsey-Sykes modificado para determinar su actividad germicida; se realizó un estudio de la actividad germicida del dióxido de cloro a diferentes concentraciones, frente a las cepas mencionadas. Se tuvieron en cuenta tres diferentes concentraciones, la aplicada por las industrias alimentarias a 50 ppm y dos concentraciones menores 25 ppm y 10 ppm, durante 5, 10 y 15 minutos.

Resultados: En el presente estudio se demostró que a las diferentes concentraciones empleadas la actividad germicida del dióxido de cloro fue igual frente a la presencia de cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* mediante ensayos *in vitro*. **Conclusión:** Se logró evaluar el efecto de la concentración del dióxido de cloro relacionado a su actividad germicida donde se demostró que es un desinfectante eficaz a las concentraciones de 50 ppm, 25 ppm y 10 ppm, obteniendo resultados iguales de inhibición frente a cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Palabras clave: concentración, dióxido de cloro, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

Introduction: According to the World Health Organization, diseases transmitted by food (ETAS) are classified as infections, intoxications and toxin infections. Bacteria such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, have been recognized as the main causative agents of diseases. Chlorine dioxide is a synthetic disinfectant of great importance in the food industry as it is a chemical disinfectant capable of destroying Gram positive and Gram negative bacteria, creating sanitary conditions in the foods that are processed. **Objectives:** To evaluate the effect of chlorine dioxide disinfectant concentration against strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Material and method:** *Escherichia coli* strains ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 were used to cope with the chlorine dioxide disinfectant. The modified Kelsey-Sykes dilution method was used to determine its germicidal activity; A study was made of the germicidal activity of chlorine dioxide at different concentrations, compared to the mentioned strains. Three different concentrations were taken into account, that applied by the food industries at 50 ppm and two concentrations lower 25 ppm and 10 ppm, for 5, 10 and 15 minutes. **Results:** In the present study it was demonstrated that at the different concentrations used, the germicidal activity of chlorine dioxide was equal to the presence of strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* through in vitro tests. **Conclusion:** It was possible to evaluate the effect of the concentration of chlorine dioxide related to its germicidal activity where it was shown to be an effective disinfectant at concentrations of 50 ppm, 25 ppm and 10 ppm, obtaining equal inhibition results against strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

Key words: concentration, chlorine dioxide, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

INTRODUCCIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud las enfermedades que se transmiten por alimentos (ETAS) se clasifican en infecciones, intoxicaciones y toxiinfecciones que resulta de la ingestión de alimentos con una cierta carga microbiana, los cuales pueden ocasionar o liberar toxinas una vez que son ingeridos. (1) El número elevado de microorganismos presentes en el medio ambiente y la inadecuada desinfección y sanitización pueden ocasionar enfermedades que se transmiten por alimentos contaminados.

Las bacterias como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, han sido reconocidos como los principales agentes causantes de serias enfermedades, graves infecciones e intoxicaciones alimentarias que pueden causar cuadros diarreicos considerables y en algunas personas la pérdida de la vida. En la industria alimentaria se emplean desinfectantes que a niveles aceptables ayudan a reducir microorganismos viables y logran la eliminación de organismos patógenos.

El dióxido de cloro es un desinfectante sintético que a una concentración determinada puede destruir microorganismos y esporas, es decir, tiene un amplio rango de actividad, no deja residuos y los productos de reacción son inocuos con el medio ambiente. Es de gran importancia en la industria alimentaria por ser un desinfectante químico capaz de destruir bacterias Gram positivas y Gram negativas y así garantizar la inocuidad de los alimentos que se procesan.

Tomando en consideración la importancia que tienen los desinfectantes en la conservación de los alimentos, la presente investigación buscó evaluar el efecto del dióxido de cloro a concentraciones inferiores a lo establecido frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Según lo indicado por la Organización Mundial de Salud, se estima que cada año enferman en el mundo unos 600 millones de personas, casi 1 de cada 10 individuos a causa de ingerir alimentos contaminados y que 420,000 mueren por esta misma causa (2). En el Perú las constantes infecciones por alimentos contaminados han acrecentado notablemente, debido a la presencia de organismos patógenos; solo en Trujillo se dió a conocer que hasta el 20 de febrero de 2016 se han reportado 11 mil 13 casos de enfermedades diarreicas agudas (EDAS) según el área de Vigilancia Epidemiológica de la Gerencia Regional de Salud de La Libertad. El servicio de salud a través de la Declaración Autorizada No. 1062 sobre la autenticidad de los productos alimenticios, tiene por objeto garantizar la inocuidad de los alimentos para el consumo humano con el objetivo de proteger la vida y la salud de las personas, reconociendo y asegurando los derechos de los consumidores (3).

El dióxido de cloro es un desinfectante de gran importancia en la industria alimentaria debido a su amplia acción biocida, siendo especialmente útil como bactericida y fungicida; actúa por contacto directo como desinfectante de superficies, si se le aplica en la concentración apropiada; es biológicamente muy efectivo en cuanto a su actividad germicida (4).

Cuando la concentración de un desinfectante se encuentra modificada por un intento de reducir costos o porque los equipos empleados no son los adecuados, se producirá una reducción en la eficacia del desinfectante que incrementará el peligro por la presencia de patógenos (5). La administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) y la Agencia de Protección Ambiental (EPA) han reconocido el valor del dióxido de cloro como antimicrobiano (6).

Esta investigación permitió dar a conocer y comparar la actividad germicida del dióxido de cloro a diferentes concentraciones sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

1.2. PROBLEMAS DE INVESTIGACIÓN

1.2.1. Problema General

- ¿Cuál es el efecto de la concentración del desinfectante dióxido de cloro sobre su actividad germicida frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

1.2.2. Problemas Específicos

- ¿Cuál es el efecto de la concentración del desinfectante dióxido de cloro sobre su actividad germicida frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922?

- ¿Cuál es el efecto de la concentración del desinfectante dióxido de cloro sobre su actividad germicida frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1 Objetivo General

- Evaluar el efecto de la concentración del desinfectante dióxido de cloro sobre su actividad germicida frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Determinar el efecto de la concentración del desinfectante dióxido de cloro frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Determinar el efecto de la concentración del desinfectante dióxido de cloro frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

1.4 JUSTIFICACIÓN, IMPORTANCIA Y LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1 Justificación de la investigación

En todo ambiente existe la presencia de microorganismos, incluyendo bacterias patógenas que ocasionan enfermedades al ser humano, por lo tanto las industrias de alimentos, han venido a través del tiempo, mejorando y haciendo más eficaces los controles y procedimientos preventivos de limpieza y desinfección para evitar el ataque progresivo de microorganismos, debido a que

estos alteran y contaminan sus productos, provocando grandes pérdidas a nivel económico y sobre todo una pérdida de credibilidad por parte de los consumidores.

El dióxido de cloro es un desinfectante de gran importancia en la industria alimentaria, debe ser aplicado en la concentración apropiada debido a que puede presentar cambios sobre su actividad germicida por efecto de la concentración, por lo tanto cuando la concentración del desinfectante se encuentra modificada por un intento de reducir costos o porque los distintos factores como la temperatura, pH, sustancias orgánicas, etc afectan la actividad germicida, las empresas elevan la concentración del desinfectante más de lo debido para evitar pérdidas de sus productos, llevando a una alteración en la concentración del desinfectante, además que facilitará la adaptación de los microorganismos a situaciones que incrementaran el peligro de la presencia de patógenos (7).

La importancia que llevó a realizar esta investigación era demostrar que a concentraciones inferiores de lo establecido la actividad germicida del dióxido de cloro será modificado frente a la presencia de cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mediante ensayos *in vitro*.

1.4.2. Importancia de la investigación

El trabajo de investigación será de mucha importancia debido a los múltiples usos del dióxido de cloro en la industria alimentaria, existen estudios que demuestran que el dióxido de cloro puede ser efectivo si se emplea en la concentración apropiada, demostrando su actividad germicida en la desinfección y sanitización general.

Escherichia coli y *Staphylococcus aureus* son causantes de importantes enfermedades diarreicas agudas (EDAS) transmitidas por alimentos contaminados; constituyen un problema de salud pública, sobre todo en los países en desarrollo, en Perú representan una importante causa de morbilidad y la segunda causa de mortalidad en niños menores de 5 años. Por consiguiente, es de suma importancia el empleo de los desinfectantes en el mantenimiento de la higiene y sanitización de las industrias destinadas a los alimentos (8).

Por ello se evaluó las diferentes concentraciones del dióxido de cloro para demostrar si su actividad germicida se modifica o no frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

1.4.3. Limitaciones de la investigación

Este trabajo se desarrolló fuera de las instalaciones de la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas sede Lima, debido a que no contaba con todos los materiales de laboratorio, material biológico y equipos necesarios para la investigación.

Escasez de información bibliográfica sobre el estudio del dióxido de cloro en ensayos *in vitro* frente a cepas bacterianas.

No haber podido realizar el trabajo en ensayos *in vivo*, por la falta de disposición de tiempo de las empresas procesadoras de alimento por sus ocupaciones laborales, como “Molitalia” y “Costa”.

CAPITULO II

HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1. Hipótesis general

La concentración del desinfectante dióxido de cloro modifica la actividad germicida frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2.1.2. Hipótesis específica

- La concentración del desinfectante dióxido de cloro modifica la actividad germicida frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.
- La concentración del desinfectante dióxido de cloro modifica la actividad germicida frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2.2. VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

2.2.1. Identificación y clasificación de Variables

- **Variable independiente:** Concentración del desinfectante dióxido de cloro.
- **Variable dependiente:** Actividad germicida.

2.2.2. Operacionalización de variables

Variable independiente	Indicadores	Unidad de medida
Concentración del desinfectante dióxido de cloro.	Diluciones a diferentes concentraciones.	10 ppm 25 ppm 50 ppm
	Tiempo	5 minutos 10 minutos 15 minutos

Fuente: Elaboración propia. 2018

Variable dependiente	Indicadores	Unidad de medida
Actividad germicida.	Recuento de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .	UFC/ml

Fuente: Elaboración propia. 2018

CAPÍTULO III

MARCO TEORICO

3.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.1. A nivel Nacional

En la investigación realizada por **Sánchez V., Raúl, Silva J., Marcial, Jiménez A., Ronald, Zea M., Otto**, titulada **EFFECTO DE DESINFECTANTES QUÍMICOS Y EXTRACTOS DE PLANTAS SOBRE LA CARGA BACTERIANA EN CARCASAS DE CUYES (*Cavia porcellus*) (2015)**, para obtener el título de Licenciado en Veterinaria, en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, tuvieron como objetivo evaluar la efectividad del dióxido de cloro (DC), extracto de hojas de eucalipto - semilla de toronja (EHE-ST) y extracto de semilla - pulpa de toronja (ES-PT) en distintas concentraciones (ppm) sobre la reducción de recuentos promedios de bacterias aerobias mesófilas, *Escherichia coli* y coliformes totales en carcasas de cuyes (*Cavia porcellus*).

Utilizaron un diseño factorial completamente aleatorizado con siete tratamientos: T1 = Control, T2 = DC 20 ppm, T3 = DC 30 ppm, T4 = EHE-ST 3000 ppm, T5 = EHE-ST 5000 ppm, T6 = ES-PT 400 ppm y T7 = ES-PT 800 ppm, con 5 repeticiones (carcasas) cada uno, excepto para T1 (n = 6).

Las soluciones desinfectantes se aplicaron mediante el método de pulverización que consiste en aplicar la solución en forma de llovizna, para ello, con una mano se sostuvo la carcasa y, utilizando un pulverizador a una distancia de 20 cm, la carcasa se desinfectó con un volumen aproximadamente de 60 ml del desinfectante. La pulverización para las envolturas del grupo de control solo contenía agua potable.

Las muestras se tomaron antes y después de la desinfección. Para esto, utilizaron el método de enjuague de la carcasa descrito por el Servicio Agrícola y Ganadero de Chile (SAG, 2010), utilizando 400 ml de agua peptonada amortiguada. El tiempo transcurrido desde la toma de la muestra anterior a la desinfección y la aplicación del desinfectante fue de 1 minuto.

Las muestras se procesaron usando la metodología de la placa Petrifilm™. Los resultados del estudio demostraron que todos los tratamientos fueron eficaces en reducir los recuentos de bacterias aerobias mesófilas en las carcasas con respecto al control (T1) ($p < 0.05$). En la reducción de *Escherichia coli*, T5 fueron más eficaces con respecto a T1 ($p < 0.05$), y en la reducción de coliformes totales, T3, T5, T6 y T7 fueron más eficaces con respecto a T1 ($p < 0.05$). Concluyeron que el uso de DC30 ppm y EHT-ST 5000 ppm favorecen las reducciones de recuentos promedios de bacterias en carcasas de cuyes (9).

En la investigación realizada por **Baca A., Rosa**, titulada **EFFECTO DEL DESINFECTANTE ÁCIDO PERACÉTICO SOBRE LA SUPERVIVENCIA DE *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* (2013)**, para obtener el título de Biólogo-Microbiólogo, en la Universidad Nacional de Trujillo, tuvieron como objetivo la evaluación de la eficacia del ácido peracético a concentraciones de 60, 80 y 100 ppm debido a que es un desinfectante de alto nivel a concentraciones bajas. El estudio del desinfectante lo realizaron mediante la técnica del Hisopado cada 2 horas por un lapso de 0 a 12 horas en dos tipos diferentes de superficies contaminadas experimentalmente. Trabajaron con 4 unidades de mayólicas, así mismo con una tabla de picar; simulando las mesas de trabajo y las superficies en contactos con los pollos en los mercados; ambas superficies fueron esterilizadas y luego sumergidas en una tina que contenía inóculo de *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* a la concentración bacteriana (3.0×10^8 bacterias/ml) por comparación con el tubo N°1 de la escala de Mc Farland, luego retiraron ambas superficies y se dejaron secar por espacio de 24 horas; se empleó el desinfectante en tres concentraciones diferentes, se frotó con un hisopo estéril previamente humedecido al área determinada en el muestreo para su posterior sembrado.

Los resultados del estudio demostraron que el desinfectante evaluado a la concentración de 100 ppm fue efectivo sobre las cepas de *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli*, obteniendo un porcentaje de inhibición de 100 %. Las concentraciones de 60 ppm y 80 ppm fueron efectivas en el decrecimiento logarítmico de las colonias, de acuerdo al tipo de superficie contaminada. Concluyeron que existe eficacia del ácido peracético a concentraciones de 60, 80 y 100 ppm debido a que es un desinfectante de alto nivel a concentraciones bajas (10).

3.1.2. A nivel internacional

En la investigación realizada por **Yasufumi, S., Ayumi, M., Masashi, U., Yoshihiro, I., Toshiaki, H.**, titulada **ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES DEL GAS ClO₂ COMO FUMIGANTE (Japón) (2016)**, en una sala de ensayo llevaron a cabo experimentos usando varias cantidades de solución de clorito de sodio (0.25 ml/m³ a 20.0 ml/m³); para evaluar adicionalmente las propiedades del gas ClO₂, el experimento lo realizaron en una sala de pruebas (87 m³) con las dimensiones de 5.5 m de ancho, 6.1 m de largo y 2.6 m de altura. La concentración de gas aumentó en un volumen dependiente del volumen de clorito sódico y alcanzó valores pico de 0.8 ppm a 40.8 ppm a 2 h - 3 h, y luego disminuyó gradualmente. Los experimentos lo llevaron a cabo usando diversas cantidades de solución de clorito sódico que varía de 0.25 ml/m³ a 20.0 ml/m³ (cantidades reales: 21.8 ml a 1.740 ml).

Instalaron dos circuladores de aire en la esquina de la sala para promover la circulación y mezclar el gas. Inmediatamente después de iniciar la generación de gas, la puerta de entrada se selló con cinta adhesiva desde el exterior para limitar la fuga de gas en la habitación adyacente. Como microorganismos modelo, seleccionaron ambos Gram positivos *Staphylococcus aureus* y Gram negativos *Escherichia coli*. Colocaron bacterias en superficies de disco de papel en 6 sitios y lo expusieron durante 24 h a gas de ClO₂ a los volúmenes de solución de clorito sódico de 0.25, 1.0 y 4.0 ml/m³ en condiciones de alta humedad.

La formación de colonias de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* fueron completamente inhibidas por la exposición al gas ClO₂ a 1.0 ml/m³ de solución de clorito sódico (concentración máxima media de

3,0 ppm). La exposición a 4.0 ml/m^3 de solución de clorito de sodio (concentración máxima media de 10,6 ppm) logró la inactivación completa de las esporas de *Bacillus atrophaeus*. Aunque la exposición a niveles más bajos de gas ($0,25 \text{ ml/m}^3$, concentración media máxima de 0,8 ppm) no resultó en inactivación completa (11).

En la investigación realizada por **Lara P., Alexandra**, titulada **EVALUACIÓN DEL DIÓXIDO DE CLORO COMO PRESERVANTE EN LA CONSERVACIÓN DE POLLOS DE ENGORDE FAENADOS EN LA EMPRESA H & N (Ecuador) (2014)**, para la obtención del título de Médico Veterinaria Zootecnista, en la Universidad Técnica de Ambato, tuvieron como objetivo determinar el nivel de contaminación de la carne de pollo que está destinada al consumo humano comparando y evaluando como conservantes al dióxido de cloro como producto nuevo e hipoclorito de sodio como producto ya utilizado en la planta de faenamamiento Cripollo. Usaron en cada tratamiento 3 dosis: 50 ppm, 100ppm y 150 ppm de dióxido de cloro estableciendo así el tiempo de aplicación en cada tratamiento con 3 tiempos diferentes: 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos respectivamente; el tiempo de conservación lo evaluaron en días según los tratamientos en el periodo establecido de monitoreo según el grado de contaminación tenga la muestra; el nivel de contaminación lo midieron a través de análisis microbiológico con placas petrifilm tomando 30 muestras diferentes teniendo en cuenta que las bacterias más importantes a identificarse fueron: Coliformes/ *Escherichia Coli*, como resultado obtuvieron en todos los tratamientos eficacia, incluyendo la muestra; observaron crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*, siendo el tratamiento T3D1 (T: 30 minutos D: 50ppm) la más eficaz y el testigo siendo el menos eficiente.

Observaron que los tratamientos propuestos para la variable coliformes no presentan ninguna variación. Al realizar las pruebas de laboratorio y evaluar el efecto del dióxido de cloro encontraron que este mantiene en óptimas condiciones la carne de pollo durante 20- 25 días teniendo en cuenta que a los 30 días la carne de pollo empezó su estado de descomposición al igual que con el hipoclorito que se usa como preservante en la carne de pollo en la empresa H & N actualmente (12).

En la investigación realizada por **Villaroel G., PABLO**, titulada **ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD GERMICIDA DEL DIÓXIDO DE CLORO Y DEL HIPOCLORITO DE SODIO FRENTE A LA CONTAMINACIÓN NATURAL DE LECHUGA COSTINA (Chile) (2015)**, para la obtención del título de Ingeniero en Alimentos, en la Universidad de Chile, realizaron un estudio comparativo *in vivo* e *in vitro* de la actividad germicida del dióxido de cloro y del hipoclorito de sodio frente a la contaminación natural presente en lechuga de la variedad costina (*Lactuca sativa* var. *longifolia*), en venta en los supermercados de Santiago, durante el periodo comprendido entre abril y noviembre de 2015.

Determinaron la contaminación inicial presente en la hortaliza sin lavar y lavada con agua potable corriente, controlando el recuento total de aerobios mesófilos y recuento de enterobacterias.

La aplicación del desinfectante *in vivo* lo realizaron sobre la lechuga lavada, y las pruebas *in vitro* se realizaron sobre las cepas aisladas de las lechugas, determinando la eficiencia germicida y los tiempos de reducción decimal de los desinfectantes frente a los mismos indicadores microbiológicos, a las concentraciones y tiempos de acción recomendados por los fabricantes, así como también a valores

mayores a los recomendados. Los valores de contaminación inicial fueron elevados y no cumplieron con lo establecido por el Reglamento Sanitario de los Alimentos para productos en condiciones similares.

Luego del lavado se observó una reducción de la microflora presente en 0,8 y 0,4 log para aerobios mesófilos y enterobacterias, respectivamente. En el estudio *in vivo* no registraron mayores diferencias en el recuento de aerobios mesófilos y de enterobacterias, eficiencia y tiempos de reducción decimal de los desinfectantes, donde el dióxido de cloro presentó una mayor eficacia que el hipoclorito de sodio a la concentración de 100 ppm luego de 10 minutos de acción.

Sobre las enterobacterias, esta diferencia significativa se observó a las concentraciones recomendadas y 50 ppm a partir de los 20 minutos de acción, y a 100 ppm luego de 10 minutos. En el estudio *in vitro* observaron una gran diferencia entre la acción germicida de los desinfectantes en todo el rango de concentraciones y tiempos de acción probados, siendo más efectivo el hipoclorito de sodio que el dióxido de cloro, lo cual comprobaron con los porcentajes de eficiencia y tiempos de reducción decimal.

En comparación con el estudio *in vivo*, el hipoclorito de sodio presentó *in vitro* una mayor eficiencia germicida, a diferencia del dióxido de cloro en el cual no se observó diferencia, demostrando que la materia orgánica influye negativamente la acción germicida del hipoclorito de sodio y no así la del dióxido de cloro (13).

En la investigación realizada por **Nieto C., Catalina**, titulada **DETERMINACION DE DIÓXIDO DE CLORO COMO PRESERVANTE DE LECHE CRUDA Y EFECTOS SOBRE CARACTERISTICAS FÍSICO-QUÍMICAS (Ecuador) (2014)**, para obtener el título de

Doctora en Química y Farmacia, en la Universidad De Guayaquil, tuvieron como objetivo determinar la forma en que son afectadas las características físico-químicas de una leche, cuando ésta es sometida a una conservación no autorizada con dióxido de cloro en las concentraciones de 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm y 1000 ppm, tal como se indica en la última revisión de la Norma INEN 9 para Leche Cruda en el país; así también establecieron una comparación de sus efectos bactericidas frente otro oxidante como es el peróxido de hidrógeno.

Para el efecto, la cantidad de leche que utilizaron fue entre 50 a 100 ml para cada ensayo, la muestra de leche la obtuvieron de la Hacienda San Joaquín, que se encuentra afincada en la costa ecuatoriana, la cual aporta con el 1% de leche para proceso a INDUSTRIAS LACTEAS S.A.

Los resultados que obtuvieron indican que algunos de los parámetros físicos-químicos de la leche más utilizados en la rutina analítica, como indicadores de aceptación o rechazo de leche cruda no muestran modificación alguna en presencia de dióxido de cloro.

En cambio los que tienen relación con el potencial Redox como es el caso del peróxido de hidrogeno sí son sensiblemente afectados. Por otro lado demostraron la excelente conservación y superior eficacia bactericida del dióxido de cloro frente a otra de comparables características biocidas (14).

3.2. BASES TEÓRICAS

3.2.1. Desinfectantes

Agente químico que destruye o inhibe los microorganismos patógenos que pueden estar presentes en los alimentos, mediante el uso de equipos o sustancias químicas. Los desinfectantes se aplican sobre objetos y materiales inanimados, como instrumentos, superficies, para tratar y prevenir infecciones.

En la industria alimentaria, la desinfección de las superficies, es un factor fundamental para garantizar la inocuidad de los alimentos y evitar que puedan causar toxiinfecciones. El producto biocida utilizado para la desinfección debe conseguir, la eliminación de los microorganismos patógenos y la reducción de los microorganismos alterantes hasta niveles considerados aceptables (15).

3.2.1.1. Factores que influyen en la eficacia de los desinfectantes.

La eficacia de los desinfectantes puede ser influenciado por múltiples factores tales como:

A. Agua Las aguas “duras” contienen calcio y magnesio, por lo que los desinfectantes como los compuestos de amonio cuaternario son incompatibles (16).

B. pH: La actividad de los desinfectantes tiene lugar dentro de una zona concreta de pH, por lo que dicha actividad puede verse influida por cambios relativamente pequeños de pH (16).

C. Temperatura: Al aumentar la temperatura favorece la velocidad de destrucción de los microorganismos; estas oscilan entre los 5 °C y los 55 °C como máximo (16).

D. Tiempo de contacto La carga microbiana y la diversa sensibilidad de la población bacteriana al desinfectante, debido a la edad, formación de esporas y otros factores fisiológicos determinan el tiempo requerido para que el desinfectante sea eficaz (16).

E. Concentración: La mayor parte de los desinfectantes necesitan una concentración básica, esencial para la desinfección productiva; al aumentar la concentración por encima de ese mínimo, mejora el efecto desinfectante pero con unos rendimientos cada vez menores y con costos cada vez mayores, por lo que hay una concentración óptima que debe buscarse en condiciones comerciales (16).

F. Limpieza del equipo: Algunos compuestos clorados, yodados y otro tipo de desinfectantes pueden reaccionar con los compuestos orgánicos provenientes de la suciedad que no hayan sido eliminados, debido a que una limpieza deficiente puede reducir la eficacia de un desinfectante (16).

G. Condiciones de crecimiento y tipo de microorganismos: Un desinfectante debe tener un amplio espectro contra bacterias, hongos, virus y esporas. Las formas microbianas más resistentes son las esporas, seguidas por los hongos, los bacilos Gram negativos, los cocos y los bacilos Gram positivos (16).

3.2.1.2 Mecanismo de acción de los desinfectantes

Actúan como desnaturizante de proteínas, inhiben las enzimas y causan muerte celular. Son más potentes, rápidos y termoestables que los antisépticos. Algunos son más tóxicos (17).

La acción de los desinfectantes se pretende explicar por cuatro mecanismos (17).

- Daño a la pared celular.
- Alteración de la permeabilidad de las células.
- Alteración de la naturaleza coloidal del protoplasma.
- Inhibición de la actividad enzimática.

Estas sustancias destruyen la permeabilidad selectiva de la membrana y permiten que se escapen algunos nutrientes vitales, como el nitrógeno y el fósforo (17).

En el primer paso sería la interacción del agente con la superficie del microorganismo (paso 1), con el propósito de penetrar al mismo para alcanzar el blanco de la acción (paso 2), causando daño bioquímicos diversos y/o causando alteraciones metabólicas, cuyo resultado final sea la destrucción microbiana (paso 3) (18).

3.2.1.3 Clasificación de desinfectantes

A. Desinfectantes de bajo nivel: Pueden destruir la mayor parte de las formas vegetativas bacterianas, tanto Gram positivas como Gram negativas, algunos virus con envoltura lipídica y hongos levaduriformes, pero no *Mycobacterium spp*, ni las esporas de bacterias (19).

Dentro de este grupo se encuentran:

- Compuestos de amonio cuaternario.
- Compuestos mercuriales.

En la práctica estos compuestos se utilizan para la limpieza doméstica mientras que están prácticamente en desuso en los hospitales y laboratorios debido al empleo de tácticas más agresivas para la desinfección (19).

B. Desinfectantes de nivel intermedio: Consiguen inactivar todas las formas bacterianas vegetativas, incluyendo *Mycobacterium tuberculosis*, la mayoría de los virus con o sin envoltura y hongos filamentosos, pero no destruyen necesariamente las esporas bacterianas (19).

Algunos agentes son:

- Compuestos clorados (por ej.: hipoclorito de sodio y dióxido de sodio).
- Compuestos iodados (iodóforos y alcohol iodado).
- Compuestos fenólicos IV. Alcoholes V. Clorohexidina.

La mayoría de estos son utilizados como desinfectantes y antisépticos (19).

C. Desinfectantes de alto nivel: Consiguen destruir todos los microorganismos, excepto algunas esporas bacterianas (19).

Dentro de este grupo se encuentran:

- Óxido de Etileno.
- Formaldehído al 8% en alcohol 70%.
- Glutaraldehído al 2%.
- Peróxido de Hidrógeno (19).

3.2.2. Dióxido de cloro

El dióxido de cloro es un desinfectante de gran importancia en la industria alimentaria, su finalidad es optimizar, mejorar los procesos de higiene (limpieza y desinfección) y los procesos de tratamiento y potabilización del agua, con el objetivo de reducir la carga microbiana. Es una excelente alternativa que no deja residuos por ser un gas y su efectividad como bactericida, viricida y fungicida es altamente reconocido en la industria, con la importante ventaja de que prolonga la vida útil de los productos alimenticios, aumenta su calidad y su valor en el mercado (20).

El dióxido de cloro es una solución mineral que se origina de una mezcla de clorito de sodio al 28% (NaClO_2) y ácido activador, juntos desarrollan una reacción en la que se libera el gas dióxido de cloro (ClO_2) que actúa como un fuerte oxidante eléctrico (20).

Este desinfectante aplicado en forma gaseosa o líquida no necesita ser retirado de las superficies o espacios de aire, después del tratamiento, debido a que es un “radical libre” que se descompone naturalmente por sí mismo, por ejemplo, una concentración de dióxido de cloro gaseoso de 750 ppm normalmente desaparece sin intervención en pocas horas. Permite ser un desinfectante para alimentos como el lavado de frutas, verduras, desinfección de carnes y procesos de saneamiento de equipos industriales (20).

3.2.2.1. Características del dióxido de cloro

- Sustancia altamente soluble en agua (10 veces más que el cloro) especialmente en agua fría. No se hidroliza al contacto con el agua, permanece como un gas disuelto en solución.

- No es dependiente del pH trabaja eficientemente con un margen muy amplio entre 5 y 10 pH.
- Puede penetrar y eliminar patógenos incluso cubiertos por biopelículas.
- Elimina microorganismos encontrados en alimentos de consumo masivo. (Como se muestra en la tabla N°1).
- Oxida Metales pesados como plomo, aluminio, mercurio, etc (20).

Tabla N°1: Principales Microorganismos que el dióxido de cloro elimina.

<i>Salmonella spp.</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Siguella spp</i>
<i>Echerichia coli</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>Salmonella tiphy</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Clostridium botulinum</i>	<i>Pseudomonas florecens</i>
Adenovirus	<i>Listeria monocytogenes</i>

Fuente: <http://www.dioxiclean.com/industria-alimentaria/4591429943>. 2015. (20)

3.2.2.2. Mecanismo de acción del dióxido de cloro

El dióxido de cloro actúa reaccionando directamente con aminoácidos y el ARN de la célula atacando la estructura celular o los ácidos dentro de la célula, evitando la formación de proteínas, influyendo en la membrana celular cambiando las proteínas y grasas de la membrana e interfiriendo en la respiración interna.

En el momento en que se eliminan los microorganismos bacterianos el dióxido de cloro se infiltra en la pared celular destruyéndolas por completo.

El daño o destrucción de la pared celular provoca lisis celular y la muerte de las células bacterianas.

Estas sustancias anulan la porosidad selectiva de la membrana y permiten que se escapen algunos nutrientes fundamentales, por ejemplo, nitrógeno y el fósforo.

El calor, la radiación, y los agentes fuertemente ácidos o alcalinos cambian la naturaleza coloidal del protoplasma. El calor coagula la proteína celular y los ácidos o bases desnaturalizan las proteínas, produciendo un impacto letal (20).

3.2.2.3. Ventajas del uso de dióxido de cloro en la industria alimentaria

Este desinfectante tiene grandes beneficios en la industria alimentaria:

- Tiene un alto poder desinfectante.
- Muy efectivo en eliminar microorganismos como bacterias, hongos, mohos, protozoos, biofilms, etc.
- Superior que otros productos en la destrucción de esporas de microorganismos.
- Tiene efecto residual prolongado y no tóxico.
- Es más potente en un tiempo de contacto corto.
- Reduce la formación de Trihalometanos (THMs) ni cloraminas.
- No es corrosivo para equipos y fácil de almacenar, preparar y aplicar. (Como se muestra en la tabla N°2).
- No reacciona con el NH_3 o NH_4^+ (20).

Tabla N°2: Dosificación dióxido de cloro en ppm para la industria alimentaria

Área a desinfectar	Dosificaciones recomendadas	Motivo
Desinfección de recursos hidrobiológicos.	50 – 100 ppm	Proliferación de <i>Salmonella spp.</i>
Desinfección de vegetales.	10 – 50 ppm	Proliferación de <i>Salmonella spp.</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> .
Desinfección de carnes y aves.	50 – 100 ppm	Proliferación de <i>Salmonella spp.</i> (*) <i>Escherichia coli</i> .
*Según el especialista Lázaro de la Torre, Doctor en Higiene Veterinaria y Procesamiento Tecnológico de Productos de Origen Animal.		

Fuente: <http://www.dioxiclean.com/industria-alimentaria/4591429943>. 2015. (20)

La actividad del dióxido de cloro es de gran vitalidad en la industria alimentaria, por ser un desinfectante químico capaz de destruir bacterias Gram positivos y Gram negativos, hongos, levaduras, y otros, no dejando residuos en la superficie ni en el interior de productos de alimentos (20).

El dióxido de cloro es ampliamente usado para potabilizar el agua y se emplea en diversas áreas en donde es necesario hacer limpiezas profundas, como en la desinfección de patógenos para la asepsia hospitalaria, en la remoción de toxinas, manejo de vertederos y aguas residuales, en la higienización para la industria alimentaria, e incluso en la agricultura.

Su uso es efectivo y seguro, es por eso que su implementación abarca una amplia gama al ser idóneo e inocuo, puesto que el dióxido de cloro no presenta toxicidad, por lo que incluso es usado para limpiar y desinfectar equipos médicos en hospitales (20).

A. El dióxido de cloro para el uso de frutas y hortalizas

La utilización de dióxido de cloro en este tipo de alimentos garantiza el final de los agentes patógenos y no deja residuos en la superficie o dentro de los productos, a diferencia del hipoclorito de sodio (cloro) no causa ningún tipo de efecto secundario inseguro para el hombre y el medio ambiente (cloraminas y trihalometanos). A pesar de ser un gas, en un par de horas se dispersa en el medio ambiente, y no deja más que una superficie limpia (20).

Esto permitiría sustituir productos que pueden estar prohibidos por Normas de Procedimientos debido a los posibles residuos de los mismos en los productos alimenticios al momento de su comercialización o consumo. Nos referimos a tratamientos antifúngicos, antibióticos o antibacterianos que pueden no estar reconocidos o directamente prohibidos en ciertas Legislaciones y procesos. Además, si se aplicaran productos permitidos en tal sentido, en este proceso, el Dióxido de Cloro no interactúa con los mismos, pudiendo aplicarse en forma conjunta (20).

B. El dióxido de cloro para el uso de industria láctea

El dióxido de cloro es un desinfectante útil en la limpieza e higiene de cuero vacuno que es un lugar de fácil almacenamiento y reproducción de varios microorganismos, especialmente de hongos como *Aspergillus*, que luego se alojan en los pulmones y el hígado. También en las afecciones de pezuñas causadas por infecciones microbianas o

fúngicas, especialmente cuando el clima y el confinamiento o la concentración animal lo favorecen. El tratamiento de animales con aerosol de ClO_2 a una concentración entre 25 y 50 ppm evita estos problemas ayudando a controlar estas infecciones.

En el lavado de ubres con agua que contiene 25 a 50 ppm de ClO_2 , antes y después del ordeño (pre / post-inmersión) es una gran medida que ayuda a controlar e incluso a combatir los problemas de mastitis evitando la contaminación láctea (20).

C. El dióxido de cloro para el uso de industria avícola

La utilización de dióxido de cloro a 50 ppm (1/1000) en la base de los criaderos de huevos permite prevenir cualquier enfermedad en los polluelos, disminuyendo el peligro de muerte en contraste con los diferentes desinfectantes utilizados habitualmente, que con poca frecuencia se convierten en los elementos peligrosos y/o canceroso. Una rápida aspersion de dióxido de cloro a 50 ppm (1/1000), en agua evita la consiguiente contaminación en la incubación o la utilización del huevo.

Esto es especialmente importante para las empresas productoras de huevo líquido o en polvo y sus subproductos, porque si la cáscara está contaminada, es muy probable que contamine también el producto, y una vez contaminado es muy difícil de tratar, especialmente el huevo líquido (20).

D. El dióxido de cloro como potabilizador de agua

El clorito de sodio se utiliza comúnmente para la obtención de agua potable, en plantas de tratamiento de agua, mediante la generación "*in situ*" de dióxido de cloro a partir del clorito de sodio.

Una ventaja de esta aplicación, en comparación con el cloro o lejía, es que no genera los tóxicos trihalometanos al reaccionar con los contaminantes orgánicos e inorgánicos que pueda llevar el agua a potabilizar (20).

El poder oxidativo del dióxido de cloro es mayor que el del cloro, debido precisamente a su mayor nivel eléctrico oxidante, siendo más adecuado que el cloro cuando además de la desinfección se pretende mejorar ciertas características organolépticas del agua tales como pueden ser sobre todo para la corrección del sabor y el olor (20).

La principal aplicación del dióxido de cloro como desinfectante es en el tratamiento de agua potable, gracias a su poder biocida y cero toxicidad, el dióxido de cloro es muy utilizado en toda la gama de industrias en la actualidad. Algunos ejemplos son el tratamiento de aguas procedentes de procesos industriales, tratamiento de aguas residuales, desinfección de torres de refrigeración, tratamiento de emisiones industriales, tratamiento y oxidación de residuos industriales, tecnología de producción de alimentos y esterilización de hospitales y equipo médico, gracias a su poder biocida y cero toxicidad, el dióxido de cloro es utilizado extensamente en toda la gama de industrias en la actualidad.

Algunos ejemplos son el tratamiento de aguas residuales, tratamiento de aguas procedentes de procesos industriales, desinfección de torres de refrigeración, tratamiento de emisiones industriales, tratamiento y tecnología de producción de alimentos, oxidación de residuos industriales, esterilización de hospitales y equipo médico (20).

Por cada litro de agua que se desea potabilizar se deberán usar de 15 a 20 gotas de solución de dióxido de cloro a 3,000 ppm dependiendo del grado de contaminación, por ejemplo para potabilizar 3 litros de agua del caño: usar unas 45 gotas de solución de dióxido de cloro, luego mezclarlos con los 3 litros de agua durante 1 hora para luego poder ser consumida (20).

E. El dióxido de cloro como deodorizador de frigoríficos y congeladoras

El dióxido de cloro deodoriza casi cualquier ambiente cerrado que despide mal olor, sin usar en su fórmula olores artificiales, ni químicos tóxicos. Este es un caso habitual en despensas, refrigeradoras (neveras, frigoríficos) y congeladoras en la conservación de alimentos, que suelen tener malos olores muy profundos, intensos y mezclados (20). El procedimiento es el siguiente: En un vaso de vidrio seco y limpio poner 5 ml de clorito de sodio (Botella A) más 5 ml de Activador (Botella B) agitar para homogenizar bien e inmediatamente poner dentro del refrigerador hasta el día siguiente, teniendo como resultado un buen olor y desinfección del ambiente por medio de la liberación del gas dióxido de cloro.

Esto alargará la vida de los alimentos por la ausencia de agentes patógenos en el ambiente dentro del refrigerador. En la tabla N°3 se muestra la concentración y el tiempo de acción del dióxido de cloro frente a microorganismos causantes de malos olores como bacterias, hongos, etc (20).

Tabla N°3: Concentración y tiempo de respuesta

Microorganismo	ppm de ClO₂	Tiempo en minutos
<i>Salmonella thyphi</i>	0.040	1.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.304	0.5
<i>Echerichia coli</i>	0.020	1.0
<i>Aspergillus niger</i>	38.000	60.00
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	19.000	1.0-3.0
<i>Clostridium botulinum</i>	0.950	120.00

Fuente: <http://www.dioxiclean.com/industria-alimentaria/4591429943>. 2015. (20)

3.2.2.4. Preparación y activación del dióxido de cloro

Para la preparación y activación del dióxido de cloro se requiere dos compuestos el clorito de sodio (NaClO₂) ya diluido al 28% y ácido cítrico (C₆H₈O₇) al 35%, mezclando ambos compuestos en la misma cantidad y esperando 60 segundos para la reacción, en donde se observará un color amarillo brillante y la emisión de un fuerte olor, dando como resultado el dióxido de cloro activo (ClO₂) listo para usar, inmediatamente transcurridos los segundos de la reacción (20).

3.2.3. Enfermedades transmitidas por alimentos

Son ocasionadas al consumir alimentos o bebidas contaminadas. Diferentes patógenos pueden contaminarlo y provocar una enfermedad, por lo que hay muchas infecciones diferentes transmitidas por los alimentos.

La mayoría de estas enfermedades son infecciones ocasionadas por distintas bacterias, virus y parásitos (21).

Se han descrito más de 250 enfermedades diferentes transmitidas por los alimentos contaminados. La mayoría de estas enfermedades son ocasionadas por distintas bacterias, virus y parásitos que pueden ser transmitidos por los alimentos (21).

Estas diferentes enfermedades tienen muchos síntomas, por lo que no hay un “síndrome único” que sea una enfermedad transmitida por los alimentos. Los signos más comunes son diarreas y vómitos, y también se pueden presentar dolores abdominales, dolor de cabeza, fiebre. Se caracterizan también por tener cortos periodos de incubación (de 2 a 48 horas), la recuperación empieza en 24 – 72 horas con tratamiento adecuado. Ciertas enfermedades transmitidas por alimentos pueden derivar a una enfermedad a largo plazo (21).

3.2.3.1 Clasificación de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS)

Las enfermedades transmitidas por alimentos según la Organización Mundial de Salud se pueden clasificar en:

A. Infecciones: Son enfermedades que resultan de la ingestión de alimentos que contienen organismos vivos perjudiciales por sí mismos.

B. Intoxicaciones: Son las enfermedades transmitidas por alimentos producidas por la ingestión de toxinas formadas por productos metabólicos de microorganismos, en tejidos de plantas, animales o también por sustancias químicas que se incorporan a los alimentos de forma accidental o intencional desde su producción hasta su consumo.

C. Toxiinfecciones: Es una enfermedad que resulta de la ingestión de alimentos con una cierta cantidad de microorganismos, los cuales son capaces de producir o liberar toxinas una vez que son ingeridos (21).

3.2.3.2 Vías de contaminación

A través de las manos, debido a inadecuados hábitos higiénicos que favorecen el transporte de bacterias a los alimentos.

A través de gotitas de saliva emitidas al toser, estornudar o hablar pueden contaminar el alimento.

Agua contaminada o bien por el lavado de alimentos con agua no potable y utensilios mal lavados (21).

3.2.3.3 Principales microorganismos patógenos

Los principales microorganismos patógenos causantes de ETAS son:

- *Campylobacter jejuni.*
- *Salmonella spp.*
- *Escherichia coli.*
- *Listeria monocytogenes.*
- *Bacillus cereus.*
- *Staphylococcus aureus.*
- *Clostridium perfringes.*
- *Shigella spp.* (21).

3.2.4. Coliformes

Se componen de un gran grupo de bacterias que se producen en todo el entorno. Son comunes en el agua del suelo y la superficie e incluso pueden aparecer en la piel del ser humano. Un gran número de ciertos

tipos de bacterias coliformes también se pueden encontrar en los residuos de los seres humanos y animales.

La mayoría de los tipos de bacterias coliformes son inofensivos para los humanos, pero algunas pueden causar enfermedades leves y algunas pueden dar lugar a enfermedades graves. Los coliformes se clasifican en totales y fecales (22).

Los coliformes totales presentan características comunes:

- Poseen morfología bacilar.
- Pueden ser aerobias o anaerobias facultativas.
- No forman endosporas.
- Fermentan lactosa produciendo ácido y gas en 24-38 horas a 36 °C.

Los coliformes fecales comparten las mismas características que los totales pero además:

- Crecen con lactosa y la fermentación a $44.5\text{ °C} \pm 2\text{°C}$, produciendo ácido y gas en las primeras 28 horas de incubación.
- Son coliformes termotolerantes, incluyen cepas de los géneros *klebsiella sp.* y *Escherichia coli* siendo esta última el más útil indicador de calidad de alimentos (22).

Las bacterias coliformes son usadas también como indicadores en pruebas de agua porque su presencia señala que organismos presentes en el agua pueden causar también enfermedades. La presencia de algunos tipos de bacterias coliformes en el agua señala la presencia de excremento o desechos de alcantarillas, los organismos que causan enfermedades usualmente vienen de los excrementos y los desechos de alcantarillas.

La presencia de algunos tipos de bacterias coliformes en el agua indica excremento o desechos de alcantarillas, causantes de enfermedades. Si las bacterias que causan enfermedades están presentes, los síntomas más comunes son similares a los problemas estomacales y gastrointestinales, como fiebre, dolor abdominal y diarrea. Los síntomas son más probables en los niños o los miembros mayores de hogar. En algunos casos, los residentes de hogares adquieren inmunidad a las bacterias transmitidas por el agua que son comunes en el agua potable (22).

3.2.4.1 *Escherichia coli*

A. Características generales

Es una bacteria que normalmente habita en los intestinos de seres humanos y animales, es el principal indicador de contaminación por materia fecal.

Aun cuando la mayoría de estas bacterias son inofensivas, muchas de ellas producen toxinas que causan enfermedades. Cualquier persona puede infectarse con la *Escherichia coli*, pero son los niños y los ancianos los que están propensos a desarrollar complicaciones (23).

B. Taxonomía

Dominio	:	Bacteria.
Filo	:	Proteobacteria.
Clase	:	Gammaproteobacteria.
Orden	:	Enterobacteriales.
Familia	:	<i>Enterobacteriaceae</i> .
Género	:	<i>Escherichia</i> .
Especie	:	<i>Escherichia coli</i> .

C. Patogenicidad

Existen numerosas cepas de *Escherichia coli* que se pueden encontrar en patologías humanas y que presentan virulencia marcada. Son conocidas como agentes responsables de gastroenteritis infantil, especialmente en países en vías de desarrollo, causando la muerte de cerca de un millón de niños cada año debido a deshidratación y a otras complicaciones (23). Los principales patógenos intestinales, que se describen en función de los síntomas clínicos que generan y de los factores de patogenicidad que se expresan son los siguientes: *Escherichia coli* enterotoxigénicas (ETEC), *Escherichia coli* enteropatógenas (EPEC), *Escherichia coli* enterohemorrágicas (EHEC) y *Escherichia coli* enteroinvasivas (EIEC) (23).

D. Síntomas

Entre el tercer y cuarto día después de la exposición los síntomas se manifiestan y pueden durar de 1 a 10 días.

Se ha identificado que las personas desarrollan cuadros diarreicos, dolores abdominales severos y vómitos; pueden o no presentar cuadros febriles, algunas personas infectadas pueden presentar cuadros diarreicos ligeros o no presentar síntoma alguno. En otras personas, particularmente en infantes menores de 5 años, la infección por *Escherichia coli* O157:H7 causa una complicación llamada síndrome hemolítico urémico que destruye los glóbulos rojos en la sangre y puede causar fallas renales. La mayoría de las personas logran recuperarse completamente, pero puede llegar a ser fatal (23).

E. Transmisión de la enfermedad

Se adquiere a través de la ingestión de los alimentos y agua contaminada con la bacteria. El comer carne insuficientemente cocido es una manera común de infectarse. La infección también puede ocurrir cuando los utensilios y superficies se contaminan por el contacto con carne cruda y son utilizados posteriormente, en la preparación de otros alimentos crudos sin ser lavados. Este proceso es conocido como contaminación cruzada (23).

Además, los vegetales, frutas, leche y jugos no pasteurizados pueden contaminarse. Si una persona infectada no tiene una buena higiene, la transmisión de persona a persona puede ocurrir (23).

3.2.5. *Staphylococcus aureus*

A. Características generales

Microorganismo muy común en el medio ambiente, presente en las industrias de alimentos, en agua, suelo y aire, utensilios y superficie, puede vivir en humanos y animales.

Es uno de los patógenos más resistentes no formadores de esporas, donde pueden sobrevivir largos periodos de tiempo en ambientes sin humedad.

Debido a su capacidad para producir enterotoxinas en pocas horas resistentes al calor, se convierte en una bacteria causante de un gran número de intoxicaciones alimentarias. Estas toxinas pueden producir, diarreas, vómitos, náuseas de manera intensa, pero de corta duración, de varias horas a un día. La toxina actúa rápidamente, donde los síntomas se presentan a las pocas horas de haber consumido el alimento contaminado (24).

B. Taxonomía

Dominio	: Bacteria.
Filo	: Firmicutes.
Clase	: Prokaryotae.
Orden	: Bacillales.
Familia	: Micrococcaceae.
Género	: <i>Staphylococcus</i> .
Especie	: <i>Staphylococcus aureus</i> .

C. Patogenicidad

Staphylococcus aureus es un patógeno piógeno con superantígenos tóxicos y hemolisina, es muy resistente en el medio ambiente y sobrevive durante períodos prolongados aún en ambientes secos.

La enterotoxina termoestable de *Staphylococcus aureus* es responsable de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). En 1914 fue identificada la toxina que causa la enfermedad.

El hombre es el principal reservorio de *Staphylococcus aureus* ya que se encuentra en la piel y en las vías respiratorias superiores.

La contaminación de los alimentos ocurre por contacto directo con la piel del manipulador o portador indirecto a través de las microgotas salivales o el uso de utensilios contaminados (25).

D. Síntomas

Los síntomas generalmente son de comienzo brusco con salivación aguda, vómitos, náuseas, dolor cólico abdominal, diarrea, mialgias, postración, hipotermia, hipotensión arterial.

Por tratarse de una enfermedad autolimitada, evoluciona en 1-2 días, se estima que sólo el 10 % de los afectados demanda asistencia. La letalidad es del 0.03 % en población general y del 4 % en niños y ancianos (25).

Estos signos y síntomas pueden aparecer entre los 30 minutos y las 8 horas después de haber consumido el alimento, aunque el periodo de incubación es de 2 a 4 horas. Esta intoxicación no es considerada como una grave enfermedad; sin embargo, se han presentado muertes, principalmente en niños y ancianos. Su grado de severidad depende del estado inmunológico del individuo, de la cantidad de enterotoxina ingerida y su edad, de tal manera, que no se tiene un dato exacto de la cantidad de enterotoxina que produce la intoxicación (25).

E. Transmisión de la enfermedad

La contaminación de los alimentos ocurre por contacto directo con la piel del manipulador o portador indirecto a través de las microgotas salivales o el uso de utensilios contaminados. Los animales también son una fuente importante de infección; se destaca la mastitis en los bovinos y ovinos que puede determinar la contaminación de la leche. Los alimentos asociados a brotes son: Jamón, salame, carnes, postres, aderezos de ensaladas (25).

El hábito de tocarse con las manos la cara, mientras se elaboran productos alimenticios, incrementa el riesgo de transmisión y contaminación con el microorganismo. Otra forma de contaminación de los alimentos es a partir de la leche proveniente de terneras con mastitis, sobre todo cuando los derivados lácteos son elaborados en forma artesanal con leche sin pasteurizar.

La mayoría de las carnes crudas se contaminan en los rastros (lugar donde se sacrifica el animal), por ser manipulados ampliamente. El *Staphylococcus aureus* en condiciones normales no se desarrolla rápidamente y durante el proceso de cocción no se destruye. Se ha visto que estos microorganismos presentes en la carne de ser procesada raramente se involucran en brotes (25).

3.2.6. Importancia del uso inadecuado de los desinfectantes en relación a la adaptabilidad bacteriana.

El uso inadecuado de desinfectantes químicos podría reforzar y hacer más adaptable con el tiempo a los microorganismos microscópicos que se trata de eliminar. Cuando estas sustancias químicas se utilizan en concentraciones inferiores a las letales, los microorganismos pueden sobrevivir y con el tiempo adaptarse a la sustancia.

La adaptabilidad adquirida se alcanza por mutación o adquisición de plásmidos (autorreplicación, ADN extracromosómico). Cuando estos plásmidos se recombinan con el ADN, puede sintetizar proteínas capaces de degradar desinfectantes de los cuales ya tienen una memoria biológica (26).

3.2.6.1 Tiempo de contacto del desinfectante con los microorganismos

El poder desinfectante de un producto difiere entre cepas bacterianas adaptadas y persistentes en las superficies, con respecto a las no adaptadas. En consecuencia, aunque los tiempos de contacto sean breves, los desinfectantes a concentraciones sub-letales o a tiempos insuficientes provocan cambios en las estructuras celulares que conllevan respuestas de tipo adaptativo.

Por tanto, en la medida que el tratamiento de higienización sea insuficiente debido al tiempo corto que se da por terminar con la limpieza, o cuando la dosificación de los productos a emplear sea también insuficiente, por un intento de reducir costos o porque los equipos empleados no sean los adecuados, no sólo se dará una reducción en la eficacia desinfectante, sino que además se facilitará la adaptación de los microorganismos a situaciones que incrementarán el peligro de la presencia de patógenos (27).

Del mismo modo, se han observado otros problemas ligados a las cepas adaptadas a la presencia de concentraciones sub-letales de desinfectantes; el principal es la mayor resistencia que se evidencia no sólo respecto a un desinfectante, sino contra todos los productos con el mismo principio de acción. En paralelo, se reduce el tiempo necesario para la formación de biofilms en las superficies, sumando el efecto adaptativo a la formación de estas películas en las superficies, el efecto de supervivencia se incrementa aún más (27).

La única recomendación posible es un buen empleo de los desinfectantes, a concentraciones adecuadas y en las condiciones que indique el fabricante. En este sentido, es igualmente recomendable no diluir excesivamente los productos químicos y dejarlos actuar el tiempo necesario, así como no utilizar siempre el mismo desinfectante, sino ir cambiando periódicamente con el fin de evitar que se produzcan fenómenos adaptativos cruzados entre sustancias que, siendo diferentes, tengan el mismo principio activo (27).

3.2.6.2 Adaptabilidad bacteriana

Desde el punto de vista científico, el concepto de resistencia no debería ser usado en referencia al uso de desinfectantes. La resistencia microbiana se encuentra mediada por la existencia de material genético que codifica unos mecanismos de defensa contra acciones antimicrobianas.

Esto quiere decir que ante la presencia de una sustancia antimicrobiana se activan regiones del genoma bacteriano, o de plásmidos que se encuentren en el citoplasma celular, que inducen mecanismos bioquímicos accesorios o que producen proteínas que actúan específicamente en contra de las sustancias letales (27).

Por este motivo, es correcto el término adaptación y no el de resistencia, si bien es cierto que algunos microorganismos pueden llegar a manifestar mecanismos de este tipo a baja concentración en presencia de algún desinfectante. Se trata de sistemas de defensa antioxidativo, de protección de membrana o de control de la acidificación intracelular. Sin embargo, cuando se somete el microorganismo a las concentraciones habituales de trabajo se evidencia que se consigue una eliminación de varias unidades logarítmicas de recuento (27).

La mayoría de estas adaptaciones se pueden relacionar con errores en la limpieza y desinfección rutinaria. La rotación de desinfectantes, es una posible solución a los fenómenos adaptativos. En esencia, cada cierto tiempo, dependiendo del lugar, el tipo de contaminación y la extensión de la misma, se cambia el tipo de desinfectante creando un ciclo con dos, y preferiblemente tres productos de desinfección diferentes (27).

3.2.7. Medios de cultivos

Un medio de cultivo es un sustrato o una solución de nutrientes que permite el desarrollo de microorganismos. En las condiciones de laboratorio para realizar un cultivo, se debe sembrar sobre el medio de cultivo elegido las muestras en las que los microorganismos van a crecer y multiplicarse para dar unidades formadoras de colonia (UFC). Los microorganismos son los seres más abundantes de la tierra, pueden vivir en condiciones extremas de pH, temperatura y tensión de oxígeno, colonizando una amplia diversidad de nichos ecológicos. Entre los requerimientos más importantes para su desarrollo están el carbono, el oxígeno, nitrógeno, dióxido de carbono e hidrógeno.

Muchas bacterias sin embargo necesitan del aporte extra de factores de crecimiento específicos en forma de suero, sangre y extracto de levadura entre otros (28).

3.2.7.1. Clasificación de los medios de cultivo

Según su origen:

A. Naturales: Son los preparados a partir de sustancias naturales de origen animal o vegetal como ser extractos de tejidos o infusiones y cuya composición química no se conoce exactamente.

B. Sintéticos: Son los medios que contienen una composición química definida cuali y cuantitativamente. Se utilizan para obtener resultados reproducibles.

C. Semisintéticos: Son los sintéticos a los que se les añaden factores de crecimiento bajo una forma de un extracto orgánico complejo, como por ejemplo extracto de levadura (28).

Según su consistencia:

A. Líquidos: Se denominan caldos y contienen los nutrientes en solución acuosa.

B. Sólidos: Se preparan añadiendo un agar a un medio líquido (caldo) a razón de 15g/litro. El agar es una sustancia inerte polisacárida (hidrato de carbono) que se extrae de las algas. Como esta sustancia no es digerida por las bacterias no constituye ningún elemento nutritivo.

Este conjunto convenientemente esterilizado puede ser vertido en placas de Petri o en tubos de ensayo y presentan la posibilidad de aislar y diferenciar bacterias, "procesos que antes no eran posibles en medio líquido".

C. Semisólidos: Contienen 7,5 g de agar /litro de caldo. Se utilizan para determinar la motilidad de las especies en estudio (28).

3.2.7.2. Caldo nutritivo

Medio de cultivo utilizado para el desarrollo de microorganismos con escasos requerimientos nutricionales. Esta descrito en muchos procedimientos para el análisis de alimentos, agua y otros materiales de importancia sanitaria.

Es un medio no selectivo, contiene pluripectona (una mezcla de partes iguales de peptona de carne y de caseína) y extracto de carne que constituyen la fuente de carbono y nitrógeno necesarias para el adecuado desarrollo bacteriano (29).

3.2.7.3. Agar nutritivo

Medio de cultivo nutritivo no selectivo, en el cual la pluripeptona y el extracto de carne constituyen la fuente para el desarrollo bacteriano; el agar es utilizado para el cultivo de una amplia variedad de microorganismos. Este material contribuye a un entorno adecuado para el crecimiento microbiológico, proporcionando nutrientes y una base para crecer, que no se degrade cuando se expone al crecimiento de microorganismos.

El agar nutritivo se encuentra descrito en los métodos estándar de la Asociación Americana de Salud Pública (APHA) y la Asociación Oficial de Análisis Químico (AOAC), para el análisis de alimentos, agua, leche y otros materiales (29).

3.2.7.4. Agua peptonada

Medio utilizado como diluyente de microorganismos para la determinación de conteo de viabilidad y para enriquecimiento bacteriano a partir de alimentos y otros materiales de interés sanitario. Es no selectivo, recomendado para ser usado en lugar de solución fisiológica para recuperar células de enterobacterias dañadas por procesos fisicoquímicos, a los que ha sido sometido el alimento (29).

3.2.8. Evaluación de la capacidad y eficacia bactericida de los desinfectantes Existen varios métodos o pruebas para la evaluación de un agente desinfectante respecto a su actividad germicida.

3.2.8.1. Método de análisis de la Asociación Oficial de Análisis químico (AOAC)

Son métodos establecidos por la asociación oficial de análisis químicos de Estados Unidos, que establecen metodologías para la evaluación de la actividad germicida de los desinfectantes. El método de dilución de uso AOAC evalúa la eficacia de los desinfectantes, a lo largo de sus numerosas revisiones, se ha convertido en el estándar para la evaluación de desinfectantes líquidos.

En particular, este método es especificado por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los Estados Unidos como el método requerido para la justificación de reclamos de desinfectantes (30).

Entre las metodologías que se pueden considerar útiles, en la evaluación de la efectividad de los desinfectantes, podemos mencionar los siguientes:

- Evaluación de la actividad en bacterias.
- Evaluación de la actividad en hongos.
- Evaluación de la actividad en virus.
- Evaluación de la actividad de desinfectantes en superficies (30).

3.2.8.2. Prueba de Kelsey-Sykes:

Es una prueba de triple desafío, diseñada para determinar si un compuesto conserva su actividad germicida después de realizar varias adiciones de suspensiones bacterianas.

Pueden determinar la presencia o ausencia de crecimiento y realizar un recuento de las bacterias supervivientes (30).

El desinfectante es desafiado por tres adiciones sucesivas de una suspensión bacteriana durante el curso de la prueba. La duración de la prueba toma más de 30 minutos para realizar. La concentración del desinfectante se reduce a la mitad por adición de materia orgánica (células de levadura tratadas en autoclave), que aumenta hasta una concentración final de 0.5%. Dependiendo del tipo de desinfectante, se selecciona un solo organismo de prueba por ejemplo *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* y *Escherichia coli*; el método puede llevarse a cabo en condiciones limpias o antihigiénicas (30).

3.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

- **ETAS:** Enfermedades transmitidas por los alimentos en cual es un conjunto de enfermedades que resultan de la ingestión de alimentos y/o agua contaminados en cantidades suficientes como para afectar la salud del consumidor.
- **Análisis microbiológico:** Técnica que se toma después para enfocar esa presencia, identificación, además cantidad de microorganismos patógenos e indicadores para contaminación de una muestra.
- **Bacterias:** Son organismos unicelulares diminutos, sin núcleo ni clorofila, lo que podría hacer que se presentaran desnudas o con una cápsula gelatinosa, aisladas o en grupos y que pueden tener cilios o flagelos.
- **Coliformes fecales:** Son bacterias en forma de varillas (coliformes) encontradas en el intestino de las personas y animales de sangre caliente.

Pueden aumentar a temperaturas superiores a 44°C y fermentar la lactosa, el azúcar y esa es la razón por la cual se les llama “coliformes termotolerantes”.

- **Calidad sanitaria:** Es el conjunto de necesidades microbiológicas, físico-químicas y organolépticas con las que debe encontrarse un sustento para que se las considere protegidas. También son adecuadas para la utilización humana.
- **Microorganismo mesófilos:** Son aquellos que se desarrollan entre 15 y 35 °C y que tienen óptima temperatura de crecimiento y desarrollo en un ambiente o medio que tenga una temperatura de 37°C.
- **Límites microbiológicos:** Son los valores de admisibilidad de los microorganismos disponibles presentes en una muestra, que muestra la aceptabilidad estéril higiénica de una superficie.
- **Superficies inertes:** Son todas las partes externas y/o internas de los utensilios que están en contacto con alimentos, por ejemplo equipos, mobiliario, vajilla, cubiertos, tabla de picar, etc. de esta manera la observación y arreglo de existentes de instrumentos óptimos a estudio.
- **Superficies vivas:** Las partes externas del cuerpo humano que entran en contacto con el equipo, utensilios, además la alimentación durante su preparación y consumo.
- **Peligro:** Agente biológico, químico o físico presente en un alimento o superficie que está en contacto con los alimentos y que pueden tener un efecto nocivo para la salud.
- **Riesgo:** La probabilidad de un impacto no amistoso para el bienestar y la gravedad de reclamar este efecto, como resultado de un peligro alternativamente peligros unidos a la comida, ocasionado por el contacto con superficies vivas (manejo) o inertes contaminados.

- **Desinfección:** La destrucción, la desactivación o la evacuación alternativa de disminuir la carga microbiana que causan daño u ocasionar efectos indeseables; la desinfección no implica fundamentalmente la esterilización.
- **Antisepsia:** Empleo de medicamentos o de sustancias químicas (antisépticos) para inhibir el crecimiento, destruir, o disminuir el número de microorganismos de la piel, mucosas y todos los tejidos vivos.
- **Esterilización:** Proceso por el cual se obtiene un producto libre de microorganismos factibles causantes de daño. El procedimiento de desinfección debe diseñarse, aprobarse. Lo que se transmite más para garantizar que es experto en eliminar la carga microbiana del elemento o un microorganismo más resistente.
- **Sanitización:** Es el proceso por el cual se realiza una reducción sustancial del contenido microbiano, hasta un nivel de seguridad, sin que se llegue a la desaparición completa de microorganismos patógenos, sin producir algún tipo de infección.
- **Limpieza:** Es un proceso cuyo objetivo se basa en la eliminación de residuos de alimentos, suciedad y contaminación.
Puesto que las bacterias y otros microorganismos crecen sobre residuos de alimentos, la eliminación de los mismos inhibe el crecimiento microbiano, causante de posibles intoxicaciones, deterioro de productos, entre otros.
- **Germicida:** Agente que mata a los microorganismos, pero no necesariamente a sus esporas.
- **Vigilancia sanitaria:** Conjunto de actividades de observación y evaluación que realiza la Autoridad Sanitaria sobre las condiciones sanitarias de las superficies que están en contacto con los alimentos y bebidas, en protección de la salud de los consumidores.

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN

4.1.1 Tipo de investigación

- **Analítico:** Presenta relación de variable; causa y efecto de la concentración sobre la actividad germicida
- **Experimental:** Porque hay manipulación de variables.
- **Prospectivo:** Los datos se recogieron después del inicio del estudio.
- **Longitudinal:** Se analizaron cambios a través del tiempo o en los momentos en relación a sus variables.

4.1.2 Nivel De Investigación

- **Explicativo:** En este estudio se identificó y analizó la concentración del desinfectante explicando los resultados mediante hechos verificables del poder desinfectante del dióxido de cloro.

4.2 MÉTODO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

4.2.1 Método de la investigación

- **Deductivo:** Debido al poder germicida que se conoce del dióxido de cloro, en la presente investigación se llegó a conclusiones específicas del dióxido de cloro pero a concentraciones inferiores a lo establecido para su actividad germicida en la industria de alimentos.

4.2.2 Diseño de la investigación

- **Experimental:** Se evaluó la efectividad del desinfectante dióxido de cloro utilizado en el proceso de desinfección mediante modificación de las variables.

GE1: O1	X1	O2
GE1: O1	X2	O2
GE1: O1	X3	O2

GE2: O1	X1	O2
GE2: O1	X2	O2
GE2: O1	X3	O2

Dónde:

GE: Grupo experimental.

O1: Inicio del experimento.

X : Sesiones experimentales (concentraciones 50 ppm, 25 ppm y 10 ppm).

O2: Medición de la variable dependiente después de la aplicación de la variable independiente.

4.3 POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

4.3.1 Población: Dióxido de cloro. (Marca: CDS; procedencia: La Higuera- Perú).

4.3.2 Muestra: Diluciones de dióxido de cloro.

4.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

4.4.1. Técnicas

Para la realización del presente estudio se utilizó cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Para evaluar el efecto de concentración del dióxido de cloro se utilizó el método de dilución Kelsey-Sykes modificado para determinar su actividad germicida.

El método Kelsey-Sykes es una prueba triple desafío, es decir se utilizan tres concentraciones del desinfectante, una de ellas empleada por las empresas, y otras dos superior o inferior, elegidas para realizar la prueba, que son utilizados como controles. Es un método diseñado para determinar y conocer las concentraciones de uso recomendadas para un desinfectante. Los microorganismos más recomendados para realizar la prueba son *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* (31).

4.4.2. Instrumentos

4.4.2.1. Ficha de recolección de datos.

Se realizó la recopilación y anotación de la información en una tabla de ensayo donde nos permitió describir las 3 concentraciones que se aplicaron del desinfectante.

Los tiempos de aplicación del desinfectante, la verificación de la presencia o ausencia de los microorganismos utilizados (concentración residual) frente al desinfectante dióxido de cloro, observando y anotando el porcentaje de bacterias eliminada. (Como se muestra en la tabla N°4)

Tabla N°4: Tabla de ensayos microbiológicos para la recolección de información.

Desinfectante	Concentración en ppm	Tiempo de aplicación del desinfectante en minutos	Concentración residual (UFC/ml)	Porcentaje de bacterias eliminadas
Dióxido de cloro				
Dióxido de cloro				
Dióxido de cloro				

Fuente: Elaboración propia. 2018

4.4.2.2. Análisis Microbiológico

La realización del presente estudio fue en los laboratorios CERTILAB donde se evaluaron los datos obtenidos del enfrentamiento del dióxido de cloro y las cepas bacterianas *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

4.5. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

A. Activación de las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Para la activación de las cepas ATCC se realizó en:

- Medio de cultivo líquido que fue caldo nutritivo.
- En tubos que contienen 5 ml del caldo.
- Se incubó a una temperatura de 35°C a 37°C por 24 horas.

B. Método: Enfrentamiento de las bacterias con el desinfectante dióxido de cloro

La determinación de la actividad germicida del dióxido de cloro, se efectuó por el método de Kelsey-Sykes modificado; poniendo en contacto las cepas bacterianas desarrolladas en el caldo nutritivo con el dióxido de cloro en sus diferentes concentraciones (10 ppm, 25ppm y 50 ppm), en volúmenes iguales (3 ml de cada uno) y en los tiempos establecidos (5, 10 y 15 minutos) respectivamente. El enfrentamiento de las cepas bacterianas y el dióxido de cloro se realizaron en 4 repeticiones para la obtención de más datos y mejores resultados (31).

C. Control de neutralización del desinfectante

El neutralizante usado para detener la acción del desinfectante es el tiosulfato sódico. Para evaluar la actividad germicida del dióxido de cloro se interrumpió su acción tan pronto como se tomó la muestra, para que no siga actuando, determinando así su efecto de concentración en las cepas bacterianas (31).

D. Método de recuento en medio de cultivo

Este recuento inicial y el recuento final de las cepas bacterianas, se realizó en agar nutritivo en placas petri con incubación a 37°C en 18 a

24 horas, empleando agua peptonada como medio diluyente para la determinación de conteo de viabilidad y poder obtener los resultados del estudio (31).

E. Procesamiento de la variable en estudio

Las variables que son evaluadas son:

- Concentraciones del desinfectante.
- Tiempo de exposición.

F. Procesamiento de análisis de datos

Los datos fueron procesados con la ayuda del programa SPSS Statistics versión 23.0, para ello se utilizó la prueba estadística de ANOVA, ordenando todos los datos en tablas.

CAPÍTULO V

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

5.1. ANÁLISIS DE TABLAS Y GRÁFICOS

Para el análisis de datos se utilizó la prueba estadística de ANOVA con nivel de confianza a 95%, para evaluar el efecto de la concentración del desinfectante dióxido de cloro frente a cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, a continuación se presenta los resultados:

Tabla N°5: Resultados obtenidos del dióxido de cloro frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922

DESINFECTANTE	TIEMPO (MINUTOS)	PROMEDIO UFC/ML	% INHIBICIÓN
Dióxido de cloro 50 ppm	0	1x10 ⁸	0
	5	0	100
	10	0	100
	15	0	100
Dióxido de cloro 25 ppm	0	1x10 ⁸	0
	5	0	100
	10	0	100
	15	0	100
Dióxido de cloro 10 ppm	0	1x10 ⁸	0
	5	0	100
	10	0	100
	15	0	100

Fuente: Elaboración propia. 2017

En la Tabla N°5 se determinó el efecto de concentración a 50 ppm, 25 ppm y 10 ppm del dióxido de cloro frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922. Se pudo determinar que las concentraciones a 50 ppm, 25 ppm y 10 ppm, presentaron los mismos resultados de porcentaje inhibitorio en los tiempos evaluados 5, 10 y 15 minutos. Lo cual indica que el dióxido de cloro actuó como bactericida frente a *Escherichia coli* manifestándose en la eliminación de 1×10^8 UFC/ml.

Tabla N°6: Resultados obtenidos del dióxido de cloro frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

DESINFECTANTE	TIEMPO (MINUTOS)	PROMEDIO UFC/ML	% INHIBICIÓN
Dióxido de cloro 50 ppm	0	1×10^8	0
	5	0	100
	10	0	100
	15	0	100
Dióxido de cloro 25 ppm	0	1×10^8	0
	5	0	100
	10	0	100
	15	0	100
Dióxido de cloro 10 ppm	0	1×10^8	0
	5	0	100
	10	0	100
	15	0	100

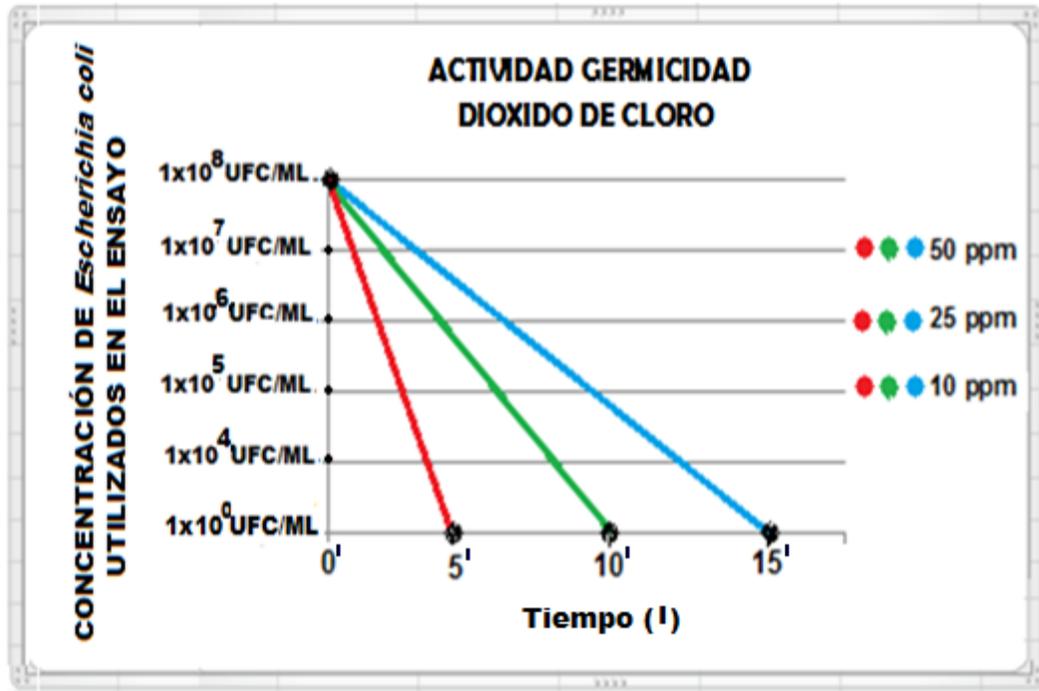
Fuente: Elaboración propia. 2017

En la Tabla N°6 se determinó el efecto de concentración a 50 ppm, 25 ppm y 10 ppm del dióxido de cloro frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Se pudo determinar que las concentraciones a 50 ppm, 25 ppm y 10 ppm, presentaron los mismos resultados de porcentaje inhibitorio en los tiempos evaluados 5, 10 y 15 minutos. Lo cual indica que el dióxido de cloro actuó como bactericida frente a *Staphylococcus aureus* manifestándose en la eliminación de 1×10^8 UFC/ml.

Factor de concentración: Los datos del factor de concentración del dióxido de cloro para *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fueron analizados por el programa SPSS Statistics versión 23.0, para ello se utilizó la prueba estadística de ANOVA, indicando que en las concentraciones evaluadas del dióxido de cloro a 50 ppm, 25 ppm y 10 ppm se obtuvieron eficiencias del 99,999%, por lo que se podría considerar técnicamente 100% de efectividad, no existiendo según los datos estadísticos una diferencia significativa ($p < 0.05$) tanto para *Escherichia coli* (sig.=0 ,601) como para *Staphylococcus aureus* (sig.= 0,599) aceptando la hipótesis nula (H_0) donde el dióxido de cloro en sus tres concentraciones no modifica su efecto sobre su actividad germicida frente a la cepas estudiadas.

Factor tiempo: Los datos del factor tiempo del dióxido de cloro para *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fueron analizados por el programa SPSS Statistics versión 23.0, para ello se utilizó la prueba estadística de ANOVA, indicando que en los tiempos evaluadas del dióxido de cloro a 5, 10 y 15 minutos se obtuvieron eficiencias del 99,999%, con lo cual se podría considerar técnicamente 100% de efectividad, no existiendo según los datos estadísticos una diferencia significativa ($p < 0.05$) tanto para *Escherichia coli* (sig.=0 ,163) como para *Staphylococcus aureus* (sig.= 0,153) aceptando la hipótesis nula (H_0) donde el dióxido de cloro en los tres tiempos no modifica su efecto sobre su actividad germicida frente a la cepas estudiadas.

Gráfico N°1: Representación gráfica de la actividad germicida del dióxido de cloro a 50 ppm, 25ppm y 10 ppm sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922



(l) : minutos

Fuente: Elaboración propia. 2017

En el gráfico N°1 se observa la actividad germicida total del dióxido de cloro utilizadas a 50 ppm, 25 ppm y 10 ppm frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 a partir de la concentración de 1x10⁸ UFC/ml como grupo control, en los tiempos de contacto indicado en la gráfica (5, 10 y 15 minutos).

Tabla N°7: Porcentaje de inhibición del dióxido de cloro frente a las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 en los tiempos establecidos (5, 10 y 15 minutos)

Dióxido de cloro	Tiempo		
	Porcentaje de <i>Escherichia coli</i> inhibidas en 5 minutos	Porcentaje de <i>Escherichia coli</i> inhibidas en 10 minutos	Porcentaje de <i>Escherichia coli</i> inhibidas en 15 minutos
50 ppm	100%	100%	100%
25 ppm	100%	100%	100%
10 ppm	100%	100%	100%

Fuente: Elaboración propia. 2017

En la tabla N°7 se muestra la actividad germicida total del dióxido de cloro en las diferentes concentraciones frente a la *Escherichia coli* a partir de los tiempos (5, 10 y 15 minutos) de contacto indicado; mostrando 100% de inhibición.

Foto N°1: Presencia de crecimiento de colonias de *Escherichia coli* ATCC 25922 en agar nutritivo

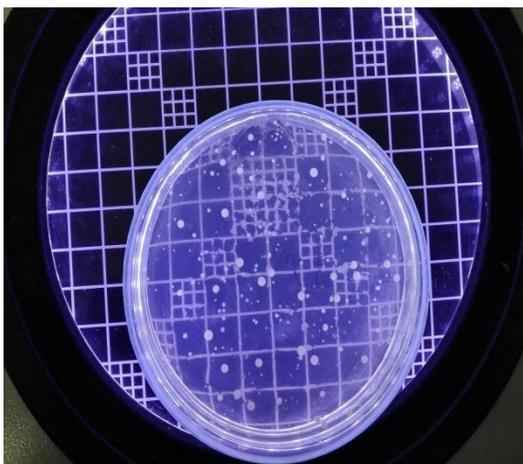
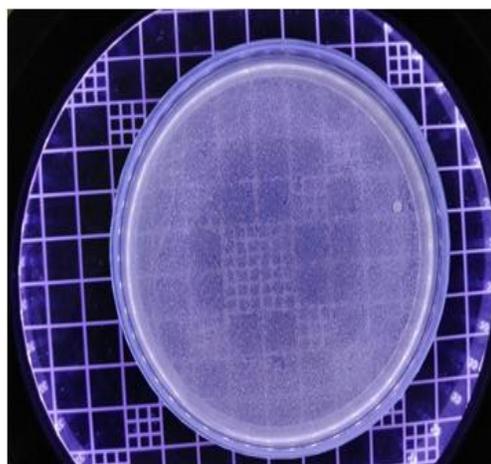
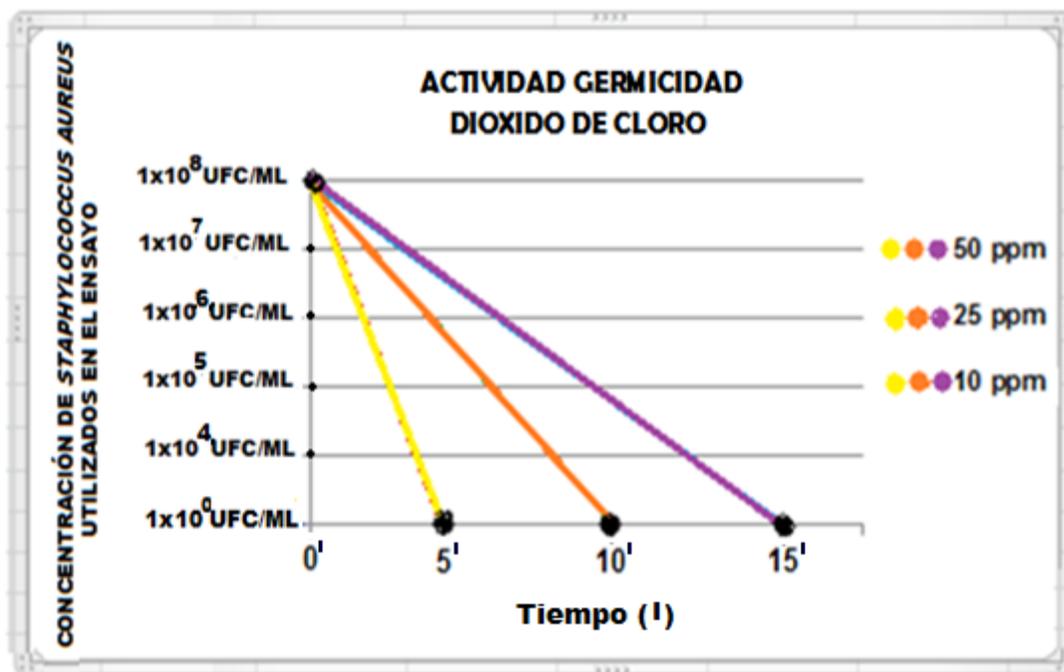


Foto N°2: Ausencia de colonias de *Escherichia coli* ATCC 25922 después del enfrentamiento con dióxido de cloro



FUENTE: Elaboracion propia. 2017

Gráfico N°2: Representación gráfica de la actividad germicida del dióxido de cloro a 50 ppm, 25ppm y 10 ppm sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



(') : minutos

Fuente: Elaboración propia. 2017

En el gráfico N°2 se observa la actividad germicida total del dióxido de cloro utilizadas a 50 ppm, 25 ppm y 10 ppm frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a partir de la concentración de 1×10^8 UFC/ml como grupo control, en los tiempos de contacto indicado en la gráfica (5, 10 y 15 minutos).

Tabla N°8: Porcentaje de inhibición del dióxido de cloro frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en los tiempos establecidos (5, 10 y 15 minutos)

Dióxido de cloro	Tiempo		
	Porcentaje de <i>Staphylococcus aureus</i> inhibidas en 5 minutos	Porcentaje de <i>Staphylococcus aureus</i> inhibidas en 10 minutos	Porcentaje de <i>Staphylococcus aureus</i> inhibidas en 15 minutos
50 ppm	100%	100%	100%
25 ppm	100%	100%	100%
10 ppm	100%	100%	100%

Fuente: Elaboración propia. 2017

En la tabla N°8 se muestra la actividad germicida total del dióxido de cloro en las diferentes concentraciones frente a la *Staphylococcus aureus* a partir de los tiempos (5, 10 y 15 minutos) de contacto indicado; mostrando 100% de inhibición

Foto N°3: Presencia de crecimiento de colonias de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en agar nutritivo.

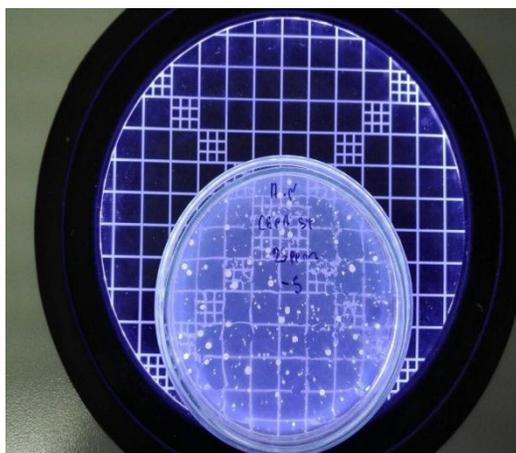
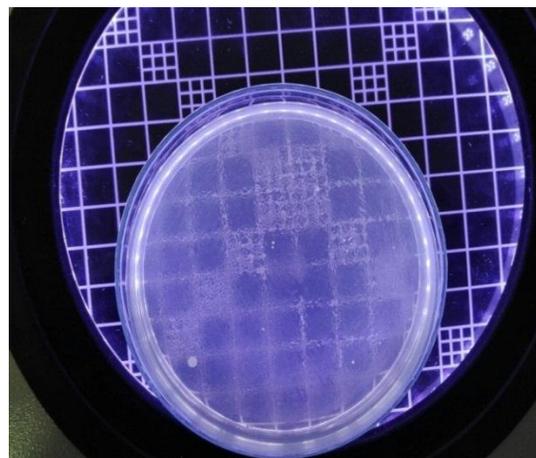


Foto N°4: Ausencia de colonias de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 después del enfrentamiento con dióxido de cloro



FUENTE: Elaboración propia. 2017

5.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Según los resultados del estudio realizado, el efecto de concentración del dióxido de cloro frente a las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fueron efectivas tanto en las concentraciones de 50 ppm, 25 ppm y 10 ppm, posiblemente por haberse realizado *in vitro*.

Al respecto, en la investigación realizada por **Sánchez**, titulada **EFFECTO DEL DESINFECTANTE QUÍMICO** donde emplearon el dióxido de cloro como desinfectante aparte del extracto de planta; este estudio demostró que todos los tratamientos fueron efectivos y que el uso del dióxido de cloro a 30 ppm y el extracto a 5000 ppm favorece la reducción del conteo promedio de bacterias en canales de cobayas. Dicha eficacia se logró también en el estudio que se realizó frente a las cepas ensayadas pero a menores concentraciones 25 ppm y 10 ppm a pesar de que el trabajo realizado por Sánchez es aplicado *in vivo* donde diferentes factores pueden afectar la estabilidad del dióxido de cloro. (9, p23)

Al respecto de la investigación realizada por **Baca**, titulada **EFFECTO DEL DESINFECTANTE DIOXIDO DE CLORO SOBRE LA SUPERVIVENCIA DE *Escherichia coli***, donde evaluaron su poder germicida en superficies inertes, utilizando concentraciones de 60, 80 y 100 ppm, en el estudio demostraron que el desinfectante evaluado a la concentración de 100 ppm fue efectivo sobre las cepas de *Escherichia coli*, del mismo modo de 60 ppm y 80 ppm fueron efectivas en el decrecimiento de las colonias, resultados similares obtuvimos con el dióxido de cloro pero a concentraciones inferiores 50 ppm, 25 ppm y 10 ppm, demostrando que su poder germicida aún prevalece, además que no solo se empleó *Escherichia coli* como bacteria Gram negativa; sino también *Staphylococcus aureus* como Gram positiva. (10, p24)

En la investigación realizado por **Yasufumi**, titulada **ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES DEL GAS DIOXIDO DE CLORO COMO FUMIGANTE** en donde emplearon en forma de gas el desinfectante sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en una sala de ensayo, empleando concentraciones de 0.8 ppm 10 ppm y 40 ppm por 2 a 3 horas donde las colonias fueron completamente inhibidas, a diferencia en el trabajo que realizamos los resultados se obtuvieron en un tiempo menor, usando como mínima concentración 10 ppm, donde se puede demostrar el alto nivel germicida del dióxido de cloro. (11, p25)

Del mismo modo las investigaciones realizadas por **Lara**, para **EVALUACIÓN DEL DIÓXIDO DE CLORO COMO PRESERVANTE**, lograron una eficacia del dióxido de cloro a 50 ppm a los 30 minutos frente a *Escherichia coli*, en el presente estudio que realizamos tal eficiencia se observó utilizando la misma concentración pero con tiempos inferiores, en vez de utilizar 30 minutos se utilizó 5, 10 y 15 minutos, demostrando que su poder germicida aún prevalece. (12, p26)

En el trabajo realizado por **Villaroel**, titulada **ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD GERMICIDA DEL DIÓXIDO DE CLORO E HIPOCLORITO DE SODIO FRENTE A LA CONTAMINACIÓN NATURAL DE LECHUGA COSTINA (Chile) (2015)**, en donde realizaron un estudio *in vitro* de la actividad germicida del dióxido de cloro y del hipoclorito de sodio, demostrando eficacia en los 2 desinfectantes, el dióxido de cloro a 50 ppm frente a enterobacterias como *Escherichia coli* empleando como tiempo 20 minutos e hipoclorito de sodio a 100 ppm durante 10 minutos, el trabajo que realizamos también se empleó *in vitro* pero cabe destacar que se aplicó el dióxido de cloro a concentraciones inferiores a los que aplico **Villaroel**, que fueron 10 ppm y 25 ppm y además con tiempos inferiores 5 y 10 minutos demostrando que su poder germicida aun prevalecía. (13, p27)

Finalmente el estudio realizado por **Nieto**, titulada **DETERMINACION DE DIÓXIDO DE CLORO COMO PRESERVANTE DE LECHE CRUDA Y EFECTOS SOBRE CARACTERISTICAS FÍSICO-QUÍMICAS (Ecuador) (2014)**, emplearon el dióxido de cloro en las concentraciones de 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm y 1000 ppm, como resultado demostraron la excelente conservación y superior eficacia bactericida del dióxido de cloro frente a otra de comparables características biocidas, manteniendo sus características físico-químicas, a diferencia del trabajo que realizamos empleando concentraciones inferiores sobre bacterias específicas, el trabajo de **Nieto** se basó en un ensayo *in vivo* donde diversos factores hayan podido afectar la actividad germicida del dióxido de cloro por lo que quizá tuvieron que emplear concentraciones elevadas a diferencia nuestra. Pero aun así mediante este trabajo se demuestra el amplio espectro de poder germicida que posee el dióxido de cloro.

De acuerdo a los datos obtenidos, es posible apreciar que tales resultados experimentales son a menudo denominados *in vitro* pudiendo producir resultados poco exactos debido a que se realizaron en condiciones estandarizadas, con pocos factores influyentes y perfectamente controlados, aspecto difícil de alcanzar *in vivo*; por esto y otros motivos que las industrias de alimentos deben esforzarse para comercializar alimentos sanos y seguros, de ahí el aumento de las concentraciones de los desinfectantes como un tratamiento más severo en la desinfección de alimentos y equipos. (14, p28)

CONCLUSIONES

1. En la presente investigación se logró evaluar el efecto de la concentración del dióxido de cloro relacionado a su actividad germicida donde se demostró que es un desinfectante eficaz a las concentraciones de 50 ppm, 25 ppm y 10 ppm, obteniendo resultados de inhibición frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Se logró determinar el efecto del desinfectante dióxido de cloro frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922, demostrando que a 10 ppm el desinfectante posee un poder germicida total, tanto para los 5, 10 y 15 minutos, por lo que también presentó acción germicida a las concentraciones de 25 ppm y 50 ppm.
3. Se logró determinar el efecto del desinfectante dióxido de cloro frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, demostrando que a 10 ppm el desinfectante posee un poder germicida total, tanto para los 5, 10 y 15 minutos, por lo que también presentó acción germicida a las concentraciones de 25 ppm y 50 ppm.

RECOMENDACIONES

Se recomienda evaluar otros tiempos de contacto del dióxido de cloro con los microorganismos con el fin de establecer si la efectividad se mantiene con el tiempo, debido que este desinfectante por sus características químicas es volátil.

Realizar un estudio con un mayor tamaño de muestra y evaluar el dióxido de cloro a otras concentraciones para establecer cambios en su actividad germicida y cual presenta un porcentaje de inhibición menor del 90%.

Se sugiere evaluar el dióxido de cloro *in vivo*, teniendo en cuenta los factores que se presentan en la industria de alimentos (materia orgánica, temperatura) que afectan la estabilidad del desinfectante.

Aplicar las buenas prácticas de manufactura en el uso de desinfectantes en todo tipo de planta, sea industrial o artesanal para obtener un producto que no pierda sus nutrientes y que no dañe la salud del consumidor.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **OPS.** Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Sao Bento; **2002** [citado agosto **2017**]. Disponible en: <http://www.panalimentos.org/comunidad/educacion1.asp?>
2. **OMS.** Inocuidad de los alimentos. Ginebra: Secretaria general de la OMS; **2014.** [citado agosto **2017**]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs/399/es/>
3. La Republica. Once mil casos de enfermedades diarreicas. Lima: La Republica; **2016.** [citado septiembre **2017**]. Disponible en: <http://larepublica.pe/sociedad/921729-hay-once-mil-casos-de-enfermedades-diarreicas>.
4. **Zoffoli, P., Latorre, A., Daire, N., Viertel, S.,** Efectividad del dióxido de cloro, en función de la concentración, pH y tiempo de exposición, en el control de *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* y *Rhizopus stolonifer*. Cien. Inv. Agr. **2005**; 32(3): 181-188. Disponible: <http://dioxido.com.uy/Efectividad-del-Dioxido-de-Cloro.pdf>
5. **Delgado, E., Díaz, P.** Elaboración y documentación del programa de limpieza y desinfección de los laboratorios del departamento de microbiología de la Pontificia Universidad Javeriana. [tesis para obtener el título de Microbiólogo Industrial]. [Colombia]: Pontificia Universidad Javeriana; **2006.**
6. Información general sobre el dióxido de cloro. Buenos Aires: Doxa; **2012** [citado septiembre **2017**]. Disponible en: <http://www.doxa-argentina.com.ar/Images/dioxido-cloro.pdf>.
7. **Dontorou, C., Papadopoulou, C., Filioussis, G., Economou, V., Apostolou, I., Zakkas, G.,** Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods in Greece. Internl. J. of Food Microbiol. **2003**; 82: 273–279.

8. **García, LL., Burón, R., La Rosa, P., Martínez, P.**, Factores de riesgo de las enfermedades diarreicas agudas en menores de 5 años. Rev. La Habana. **2014**; **20(3)**.
9. **Sánchez R., Silva M., Jiménez R., Zea O.** Efecto de desinfectantes químicos y extractos de plantas sobre la carga bacteriana en carcasas de cuyes (*Cavia porcellus*). [tesis para obtener el título de Licenciados en veterinaria]. [Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; **2015**.
10. **Baca, A., Rosa A.** Efecto del ácido peracético sobre la supervivencia de *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* en superficies inertes contaminadas. [tesis para obtener el título de Biólogo-Microbiólogo]. [Perú]: universidad Nacional de Trujillo; **2013**.
11. **Yasufumi, S., Ayumi, M., Masashi, U.** Estudio de las propiedades del gas dióxido de cloro como fumigante. Exp. Anim. **2016**; 65(3): 303-310. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4976244/>
12. **Lara E.**, Evaluación del dióxido de cloro como preservante en la conservación de pollos de engorde faenados en la empresa h & n [tesis para obtener el título de Médico Veterinaria Zootecnista]. [Ecuador]: Universidad Técnica de Ambato; **2014**.
13. **Villaroel P.**, Estudio comparativo de la actividad germicida del dióxido de cloro y del hipoclorito de sodio frente a la contaminación natural de lechuga costina [tesis para obtener el título de Ingeniería de Alimentos]. [Chile]: Universidad de Chile; **2015**.
14. **Nieto C.**, Determinación del dióxido de cloro como preservante de leche cruda y efectos sobre características físico-químicas [tesis para obtener el título de Doctorado en Química y Farmacia]. [Ecuador]: Universidad de Guayaquil; **2014**.

- 15. Martínez, L.** Guía de antisépticos y desinfectantes. Madrid: Instituto Nacional de Gestión Sanitaria; **2013**. [citado septiembre **2017**]. Disponible en: http://www.ingesa.msssi.gob.es/estaEstudios/documPublica/internet/pdf/Guía_Antisepticos_desinfectantes.pdf.
- 16. Troya, J.** Evaluación de la efectividad de los desinfectantes divosan forte y MH en la desinfección de equipos y áreas de trabajo en una planta procesadora de helados. [tesis para obtener el título de Microbiólogo Industrial]. [Colombia]: Pontificia Universidad Javeriana; **2007**.
- 17. Galan, A.** Desarrollo de métodos para verificar la eficacia fungicida de sustancias desinfectantes. [Para optar el grado de Doctorado en Veterinaria]. [España]: Universidad Autónoma de Barcelona. **2003**.
- 18. Alba, N., Araujo, F.** Evaluación de los desinfectantes utilizados en el proceso de limpieza y desinfección del área de fitoterapéuticos en laboratorios Pronabell LTDA. [tesis para obtener el título de Microbióloga Industrial]. [Colombia]: Pontificia Universidad Javeriana; **2008**.
- 19. Sánchez, L., Sáenz, E.** Antisépticos y Desinfectantes. Derm Per. **2005**; 15(2): 85 86. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v15_n2/pdf/a02.pdf
- 20.** Generadores de dióxido de cloro. Cuzco: Dioxiclean; **2015** [citado octubre **2017**]. Disponible en: <http://www.dioxiclean.com/industria-alimentaria/4591429943>.
- 21.** Enfermedades transmitidas por alimentos. Vazco: Elika; **2012** [citado octubre **2017**]. Disponible en: http://www.elika.eus/datos/formación_documento/Archivos11/8.Enfermedades%20Transmitidas%20por%20Alimentos.pdf.

- 22.** Bacterias Coliformes. Buenos Aires: Continente; **2015** [citado octubre **2017**]. Disponible en: <https://www.fumigacontinente.com.ar/las-bacterias-coliformes/>
- 23.** Servicios de salud y sociales de delaware. Delaware: **2011** [citado octubre **2017**]. Disponible en: <http://dhss.delaware.gov/dph/files/ecolifaqsp.pdf>
- 24.** Murray, P. Microbiología Medica. Rev. Elsevier Sciencie. 4° Ed.; **2002**.
- 25.** OPS. El control de las enfermedades transmisibles J Chin 17a Ed, Washington DC, **2001**: 383-386.
- 26.** Hernández, A. Aportaciones al estudio de la actividad antimicrobiana de los antisépticos desinfectantes. [Para optar el grado de Doctorado en Biología]. [España]: Universidad Autónoma de Barcelona; **2008**.
- 27.** Efectos del mal uso de los desinfectantes. Malaga: El Esplendor; **2015** [citado octubre **2017**]. Disponible en: <https://www.elesplendor.es/efectos-del-mal-uso-de-los-desinfectantes/>
- 28.** López, L. Torres, C. Medios de cultivo. Trabajo Práctico N° 4. Argentina: Microbiología General; **2006**. [citado octubre 2017]. Disponible en: <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp4.pdf>
- 29.** Britania. Buenos Aires: Laboratorios Britania; **2001**. [citado octubre **2017**]. Disponible en: <http://www.britanialab.com/productos/B02122%20REV&2001NUTRITIVO%20MEDIO.pdf>.
- 30.** Mamani, I. Evaluación de los desinfectantes en cepas bacterianas ATCC y cepas aisladas del área de fabricación de productos estériles, realizando pruebas de dilución “*in use*” en laboratorios Bagó de Bolivia S.A. [tesis para obtener el título de licenciatura en Bioquímica]. [Bolivia]: Universidad Mayor de San Andrés; **2008**.
- 31.** Prueba de capacidad de desinfectantes de Kelsey-Sykes. Valencia: Instituto valenciano de microbiología; **2001**. [citado octubre **2017**]. Disponible en: <http://www.ivami.com/es/informacion-general>.

ANEXOS

ANEXO N°1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título: EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL DESINFECTANTE DIOXIDO DE CLORO FRENTE A CEPAS DE *Escherichia coli* Y *Staphylococcus aureus*.

Bachiller: Russel Catari Calcina

Asesora: MSC. MALLQUI BRITO, VANIA

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	METODO Y DISEÑO DE INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
<p>¿Cuál es el efecto de la concentración del desinfectante dióxido de cloro sobre su actividad germicida frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p>Problemas Específicos</p> <p>P.E.1: ¿Cuál es el efecto de la concentración del desinfectante dióxido de cloro sobre su actividad germicida frente a la cepa de <i>Escherichia coli</i>?</p> <p>P.E.2: ¿Cuál es el efecto de la concentración del desinfectante dióxido de cloro sobre su actividad germicida frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>?</p>	<p>Evaluar el efecto de la concentración del desinfectante dióxido de cloro sobre su actividad germicida frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Objetivos Específicos</p> <p>O.E.1: Determinar el efecto de la concentración del desinfectante dióxido de cloro frente a la cepa de <i>Escherichia coli</i>.</p> <p>O.E.2: Determinar el efecto de la concentración del desinfectante dióxido de cloro frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>La concentración del desinfectante dióxido de cloro modifica su efecto sobre su actividad germicida frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Hipótesis Específicas</p> <p>H.E.1: La concentración del desinfectante dióxido de cloro modifica la actividad germicida frente a la cepa de <i>Escherichia coli</i>.</p> <p>H.E.2: La concentración del desinfectante dióxido de cloro modifica la actividad germicida frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Tipo de Investigación:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Analítico. • Experimental. • Prospectivo. • Longitudinal. <p>Nivel de investigación</p> <p>Explicativo: Identificará y analizará la concentración del desinfectante explicando los resultados mediante hechos verificables del poder desinfectante del dióxido de cloro.</p>	<p>Método de Investigación:</p> <p>Deductivo.</p> <p>Diseño de Investigación:</p> <p>Experimental.</p>	<p>Variable Independiente</p> <p>Concentración del desinfectante dióxido de cloro.</p> <p>Indicadores:</p> <p>Diluciones a diferentes concentraciones.</p> <p>Variable Dependiente</p> <p>Actividad germicida.</p> <p>Indicadores</p> <p>Recuento de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Población:</p> <p>Dióxido de cloro</p> <p>Muestra:</p> <p>Diluciones de dióxido de cloro.</p>

ANEXO N°2: Factor de concentración del dióxido de cloro para *Escherichia coli* ATCC 25922

Concentración residual (UFC/ml)

Concentración Dióxido de cloro	n	Media	Desviación estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo
10	3	61,3366	126,03983	62,71750	22,96	99.62
25	3	49,9366	58,48215	47,39859	17,94	87.65
50	3	30,0663	53,72760	30,71417	2,73	77.38
Total	9	47,3288	76,29966	38,71322	2,73	99.62

Fuente: Elaboración propia. 2017

ANOVA

Concentración residual (UFC/ml)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	567079,213	2	26379,502	,584	,601
Dentro de grupos	2578332,766	6	36060,638		
Total	29251421,890	8			

Fuente: Elaboración propia. 2017

ANEXO N°3: Factor tiempo del dióxido de cloro para *Escherichia coli* ATCC 25922

Tiempo determinado
(minutos)

Tiempo	n	Media	Desviación estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo
5	3	88,2166	164,58500	89,47355	77,38	99,62
10	3	37,9126	40,15493	34,49619	10,08	59,43
15	3	15,2103	27,89815	6,98979	2,73	24,96
Total	9	47,1131	50,59706	25,18912	2,73	99,62

Fuente: Elaboración propia. 2017

Tiempo determinado
(minutos)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	49251,177	2	761125,188	3,501	,163
Dentro de grupos	15370,981	6	60061,118		
Total	92161,796	8			

Fuente: Elaboración propia. 2017

**ANEXO N°4: Factor de concentración del dióxido de cloro para
Staphylococcus aureus ATCC 25923**

Concentración
residual (UFC/ml)

Concentración Dióxido de cloro	n	Media	Desviación estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo
10	3	60,0215	122,03883	60,69750	23,83	98.62
25	3	45,4282	52,43215	45,28859	16,90	85.06
50	3	28,9679	51,61760	28,51417	2,51	75.54
Total	9	44,8058	73,54966	35,18322	2,51	98.62

Fuente: Elaboración propia. 2017

ANOVA

Concentración
residual (UFC/ml)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	447059,203	2	22379,602	,564	,599
Dentro de grupos	2378362,566	6	34060,428		
Total	28251621,770	8			

Fuente: Elaboración propia. 2017

**ANEXO N°5: Factor tiempo del dióxido de cloro para *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923**

Tiempo determinado
(minutos)

Tiempo	n	Media	Desviación estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo
5	3	86,4066	162,58300	87,37255	75,54	98,62
10	3	33,6066	39,12453	32,40629	8,88	57,61
15	3	14,4133	25,87865	6,28079	2,51	23,83
Total	9	44,8088	49,54966	22,18322	2,51	98,62

Fuente: Elaboración propia. 2017

ANOVA

Tiempo determinado
(minutos)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	47250,977	2	751625,488	3,407	,153
Dentro de grupos	14370,787	6	59061,798		
Total	90161,766	8			

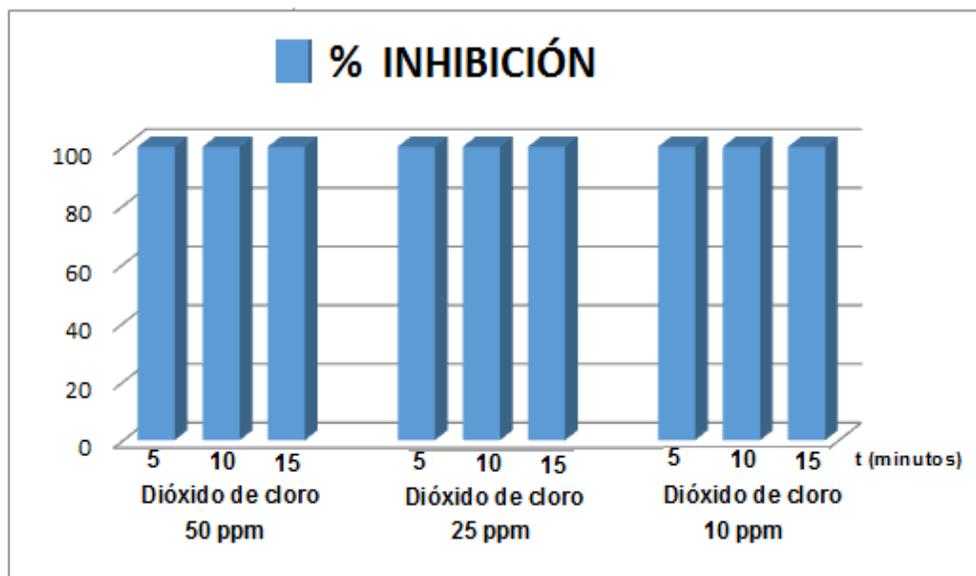
Fuente: Elaboración propia. 2017

ANEXO N°6: Control del neutralizante Tiosulfato de sodio.

RECuento	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
Inicial	1x10 ⁸ ufc/ml	1x10 ⁸ ufc/ml
Sobrevivientes	1x10 ⁸ ufc/ml	99999800 ufc/ml

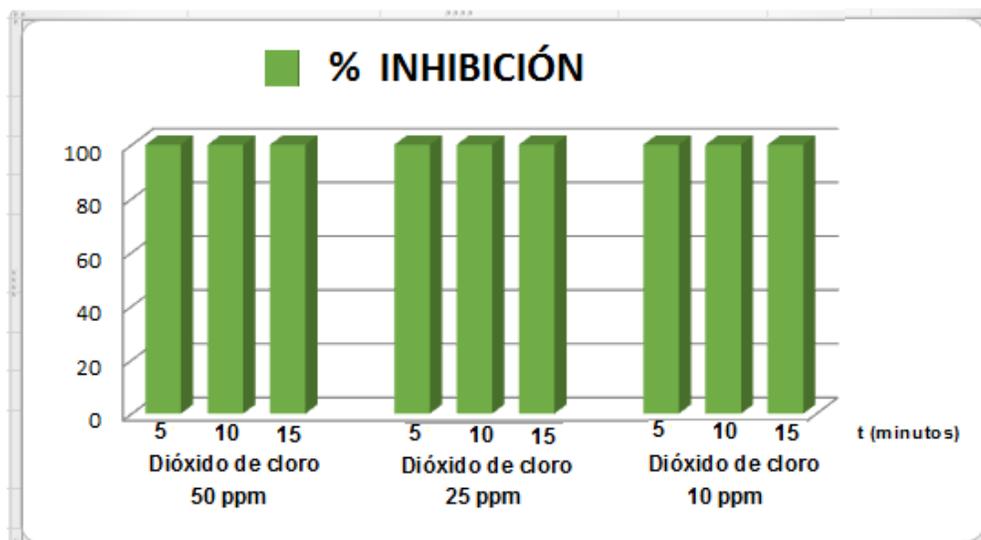
Fuente: Elaboración propia. 2017

ANEXO N°7: Comparación del dióxido de cloro en las concentraciones a 10 ppm, 25 ppm y 50 ppm en relación al tiempo frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.



Fuente: Elaboración propia. 2017

ANEXO N°8: Comparación del dióxido de cloro en las concentraciones a 10 ppm, 25 ppm y 50 ppm en relación al tiempo frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



Fuente: Elaboración propia. 2017

Preparación de medios nutritivos para la activación y crecimiento de la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 para su posterior enfrentamiento con el dióxido de cloro.



Foto N°5



Foto N°6



Foto N°7

FUENTE: Elaboración propia. 2017

**ANEXO N°9: Efecto de concentración del dióxido de cloro frente a
Escherichia coli ATCC 25922**

Desinfectante	Concentración en ppm	Tiempo de aplicación del desinfectante en minutos	Concentración residual (UFC/ml)	Porcentaje de bacterias eliminadas
Dióxido de cloro	10	0	100000000	0
Dióxido de cloro	10	5	99.62	0.999999004
Dióxido de cloro	10	10	59.43	0.999999406
Dióxido de cloro	10	15	24.96	0.99999975
Dióxido de cloro	25	0	100000000	0
Dióxido de cloro	25	5	87.65	0.999999124
Dióxido de cloro	25	10	44.22	0.999999558
Dióxido de cloro	25	15	17.94	0.999999821
Dióxido de cloro	50	0	100000000	0
Dióxido de cloro	50	5	77.380	0.999999226
Dióxido de cloro	50	10	10.088	0.999999899
Dióxido de cloro	50	15	2.731	0.999999973

FUENTE: Elaboración propia. 2017

**ANEXO N°10: Efecto de concentración del dióxido de cloro frente a
Staphylococcus aureus ATCC 25923**

Desinfectante	Concentración en ppm	Tiempo de aplicación del desinfectante en minutos	Concentración residual (UFC/ml)	Porcentaje de bacterias eliminadas
Dióxido de cloro	10	0	100000000	0.000000000
Dióxido de cloro	10	5	98.62	0.999999014
Dióxido de cloro	10	10	57.61	0.999999424
Dióxido de cloro	10	15	23.83	0.999999762
Dióxido de cloro	25	0	100000000	0.000000000
Dióxido de cloro	25	5	85.06	0.999999149
Dióxido de cloro	25	10	34.33	0.999999657
Dióxido de cloro	25	15	16.90	0.999999831
Dióxido de cloro	50	0	100000000	0.000000000
Dióxido de cloro	50	5	75.54	0.999999245
Dióxido de cloro	50	10	8.88	0.999999911
Dióxido de cloro	50	15	2.51	0.999999975

FUENTE: Elaboración propia. 2017