



# **EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DEL PROTOCOLO DE DESINFECCIÓN UTILIZADO EN UNA PLANTA DE BENEFICIO DE AVES UBICADA EN BOGOTÁ**

Katherinne Andrea Moreno Bermúdez

Paula Fernanda Oliveros Betancurt

Asesora: Mgs. Lucía Constanza Corrales Ramírez

Bacteriología y Laboratorio Clínico

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca



# INTRODUCCIÓN

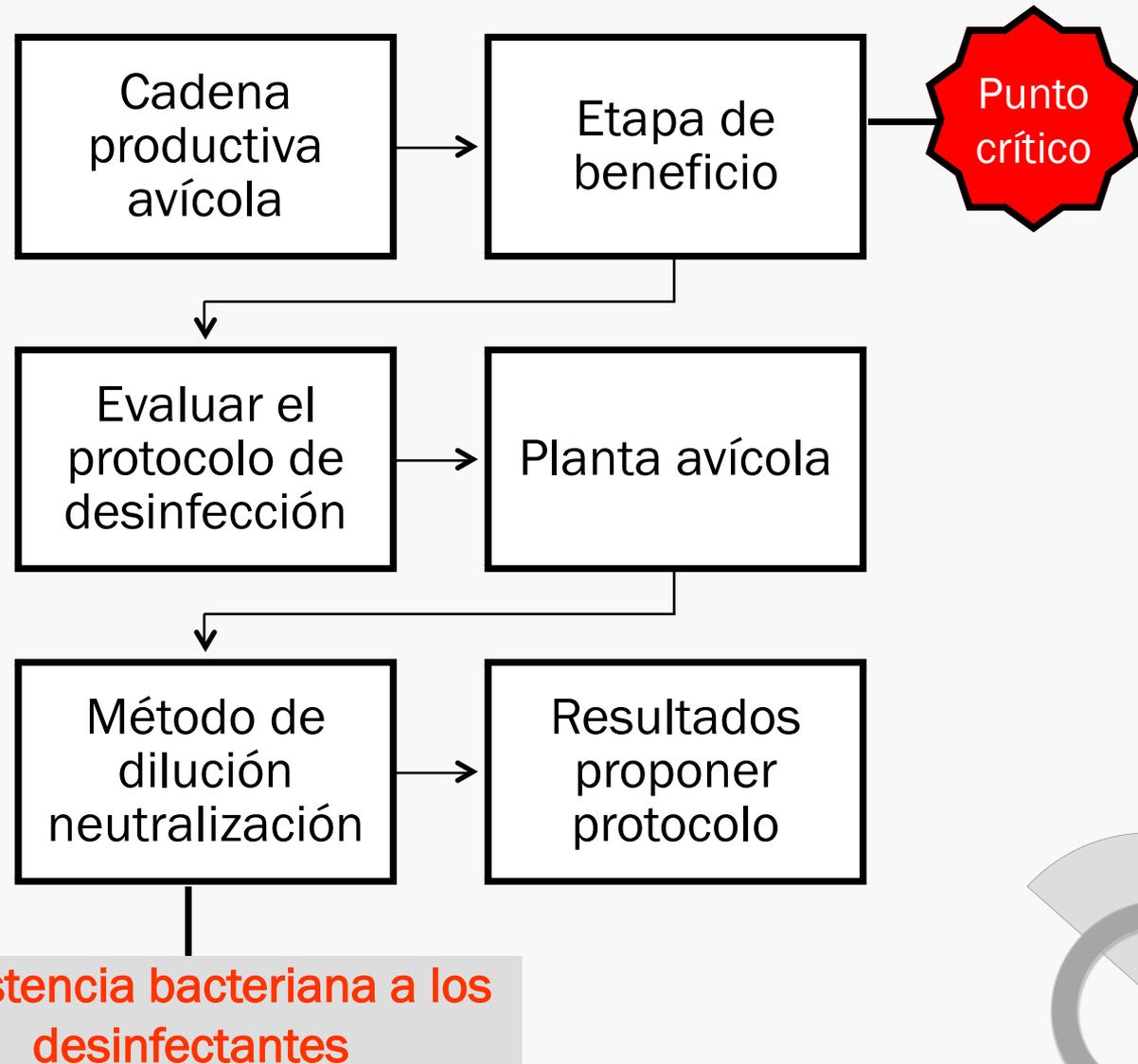
**Programa de limpieza y desinfección**  
-Disminuir los riesgos de contaminación.  
- ETAS

**OMS – A nivel mundial, la ingestión  
de alimentos contaminados**  
-70% de las diarreas.  
-Enferma aprox. a 600 millones de  
personas cada año.  
-420.000 muertes.

**Alimentos implicados con > Frecuencia:  
origen animal.**



# INTRODUCCIÓN



# ¿DONDE SE REALIZÓ?

Empresa ubicada al sur de Bogotá que presta el servicio de sacrificio de aves a terceros



Aprox.  
42.000 aves  
diarias



# DESINFECTANTES EMPLEADOS

## HIPOCLORITO DE SODIO

Tiene propiedades oxidantes debido a la presencia del ion  $\text{ClO}^-$ , que ataca la membrana citoplasmática.

-Amplio espectro de actividad  
-La eficiencia se reduce en gran medida por la presencia de materia orgánica

## PERÓXIDO DE HIDRÓGENO

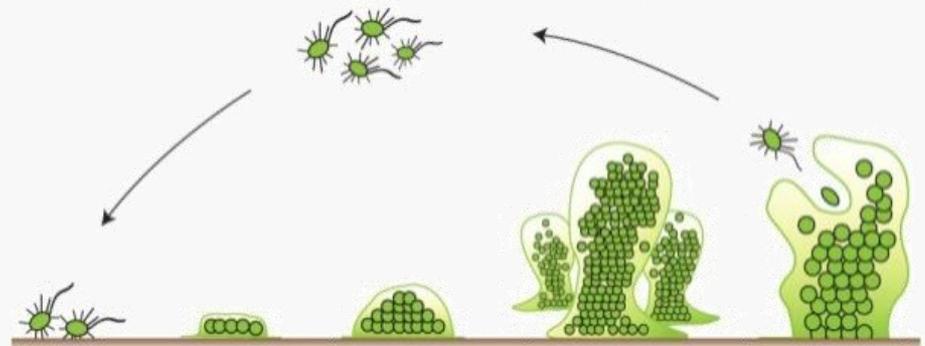
Tiene efectos oxidantes por producir iones hidroxilo y radicales libres los cuales desestabilizan las moléculas celulares



# RESISTENCIA BACTERIANA A LOS DESINFECTANTES

## INTRÍNSECA

- Enzimas inactivadoras.
- Bombas de flujo
- Diferencias estructurales en la pared celular.
- Formas de resistencia (Esporas).



Representación esquemática del biofilm (1).

## ADQUIRIDA

- Cambios genéticos.
- Biofilm



# PREGUNTA PROBLEMA

¿Es efectivo el desinfectante empleado sobre las superficies que están en contacto con los productos cárnicos obtenidos en una planta de beneficio de aves ubicada en Bogotá?



# HIPÓTESIS

Teniendo en cuenta que esta industria de beneficio de aves emplea en su protocolo de desinfección únicamente hipoclorito de sodio, se esperaría que luego de poner a prueba las suspensiones bacterianas con este desinfectante los resultados indiquen una baja actividad bactericida, teniendo en cuenta que el uso constante de esta sustancia puede favorecer la aparición de mecanismos de resistencia bacteriana.

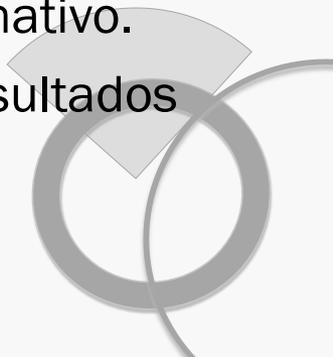


## OBJETIVO GENERAL

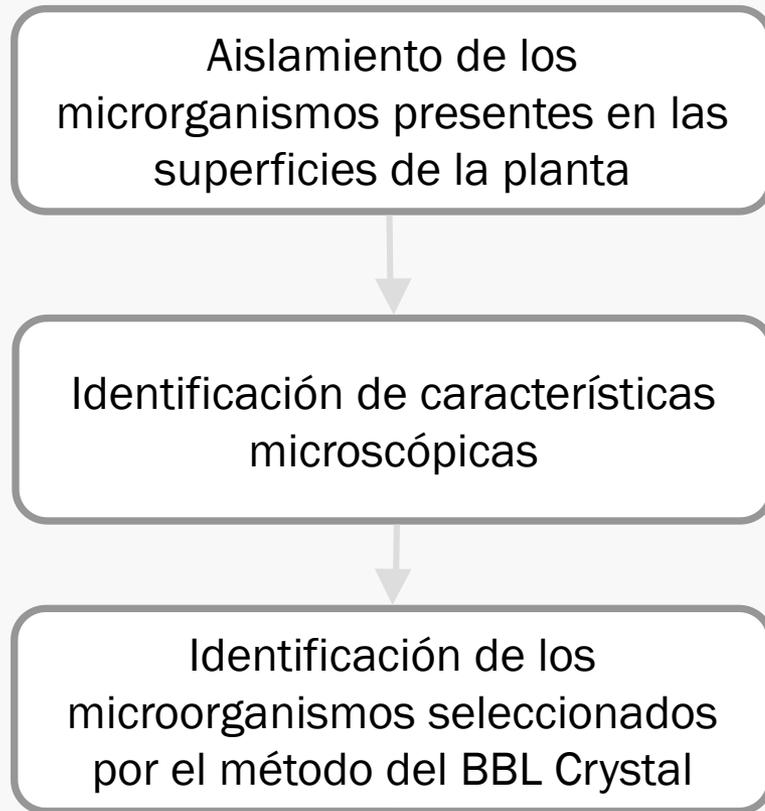
Evaluar la efectividad del protocolo de desinfección utilizado en las diferentes superficies que se encuentran en las áreas de procesamiento de una planta de beneficio avícola ubicada en Bogotá.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar los microorganismos aislados a partir de las superficies de diferentes áreas de la planta de beneficio.
- Determinar la eficiencia del desinfectante en uso en la planta de beneficio de aves mediante el método de dilución neutralización propuesto en la norma técnica colombiana 5150 de 2003.
- Aplicar el método de dilución neutralización para la evaluación de la eficacia del peróxido de hidrógeno como desinfectante alternativo.
- Proponer un protocolo de desinfección basados en los resultados obtenidos para optimizar los procedimientos actuales.



# METODOLOGÍA 1: Aislamiento e identificación de los microorganismos.



Mac Conkey



Nutritivo



# RESULTADO 1: Aislamiento e identificación de los microorganismos.



Tanque de enfriamiento de vísceras

Morfología: No presentó crecimiento



Canales de caída de vísceras

Morfología: Bacilos Gram positivos



Empacador de víscera

Morfología: Bacilos Gram negativos



Mesa de selección de producto

Morfología:  
Bacilos Gram negativos  
Cocos Gram positivos



Banda transportadora de canales

Morfología: Cocos Gram positivos



Tanque 4 de enfriamiento de canales

Morfología: Bacilos Gram negativos





Banda transportadora de  
vísceras

Morfología:  
Cocos Gram positivos  
Bacilos Gram negativos



Canal de caída de pollo

Morfología: No presentó  
crecimiento





Banda transportadora de pollo a tanque de preenfriamiento

Morfología: No presentó crecimiento



Descolgador de pollo

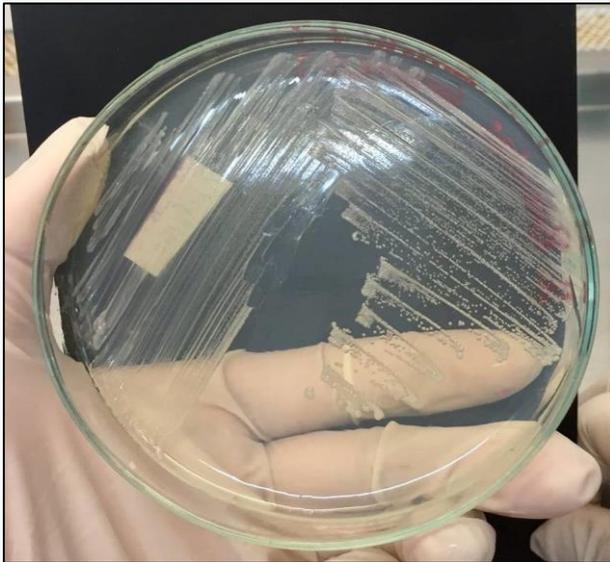
Morfología: Bacilos Gram negativos

- *Cocos Gram positivos*
- *Bacilos Gram negativos*
- *Bacilos Gram positivos*
- *Bacilos Gram negativos*

Características  
compatibles con

- *Enterococcus spp*
- *Escherichia coli*
- *Bacillus spp*
- *Klebsiella spp*

## Microorganismos identificados mediante el método BBL Crystal



*Bacillus licheniformis*



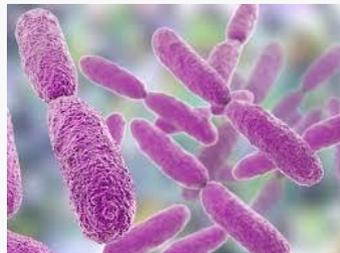
*Klebsiella oxytoca*

# METODOLOGÍA 2: Preparación de suspensiones bacterianas y soluciones de prueba.

## SUSPENSIÓN BACTERIANA



En agua triptona bufferada basándose en la escala # 1 de Mac Farland



## SOLUCIÓN DE LOS DESINFECTANTES



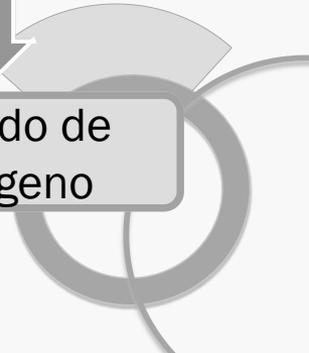
Cada desinfectante se va a evaluar al 5%, 10% y 15%



Hipoclorito de sodio



Peróxido de hidrogeno



# RESULTADO 2: Recuento de las suspensiones bacterianas de prueba

Microorganismo	RECuento A LAS 48 HORAS DE INCUBACION			
<i>Klebsiella oxytoca</i>	210	Incontable	180	230
<i>Bacillus licheniformis</i>	Incontable	190	262	Incontable
<i>Escherichia coli</i> - Control	93	98	66	45
Incontable >300UFC				

Estos son los valores que se tienen en cuenta para el cálculo de la suspensión bacteriana de prueba (N), ya que son los valores más altos obtenidos para cada muestra luego del recuento y son menores a 300 UFC.



# METODOLOGÍA 3: Control de calidad del método.

## CONTROL DE TOXICIDAD DEL NEUTRALIZANTE

Se expone la suspensión de los microorganismos preparada únicamente para la validación con tiosulfato de sodio (Neutralizante) y se siembra en agar TSA



Evaluar que el neutralizante utilizado no afecte el desarrollo bacteriano

## CONTROL DEL MÉTODO

Se realiza otra suspensión de los microorganismos basándose en la escala 0,5 de Mac Farland.

Se realiza una dilución  $10^{-1}$  y se siembra en TSA

Se realiza conteo de las UFC a las 24 y 48 horas de incubación.

# RESULTADO 3: Control de calidad del método.

Organismo de la prueba	Recuento viable (UFC/ml)				
	Suspensión bacteriana de la prueba (N)	Suspensión bacteriana de la validación (Nv)	Control de la toxicidad del neutralizador (Nx)	Control de dilución/neutralización (Ny) Hipoclorito (15%)	Control de dilución/neutralización (Ny) Peróxido (15%)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	$2.8 \times 10^8$	$2.5 \times 10^3$	$2.5 \times 10^3$	$4.4 \times 10^2$	$1.8 \times 10^2$
<i>Bacillus licheniformis</i>	$4.1 \times 10^8$	$1.9 \times 10^3$	$2.6 \times 10^3$	$2.2 \times 10^2$	$2.8 \times 10^2$

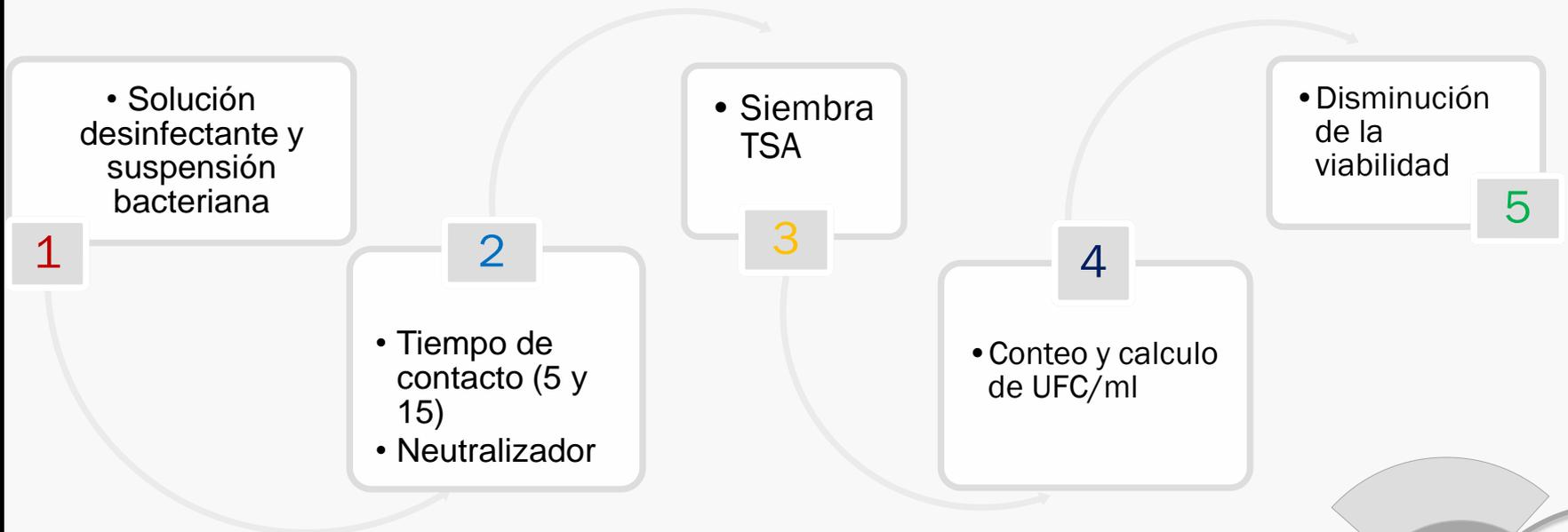
Luego de realizar los conteos de UFC de la validación y realizar los cálculos correspondientes, se debe cumplir según la NTC 5150 que:

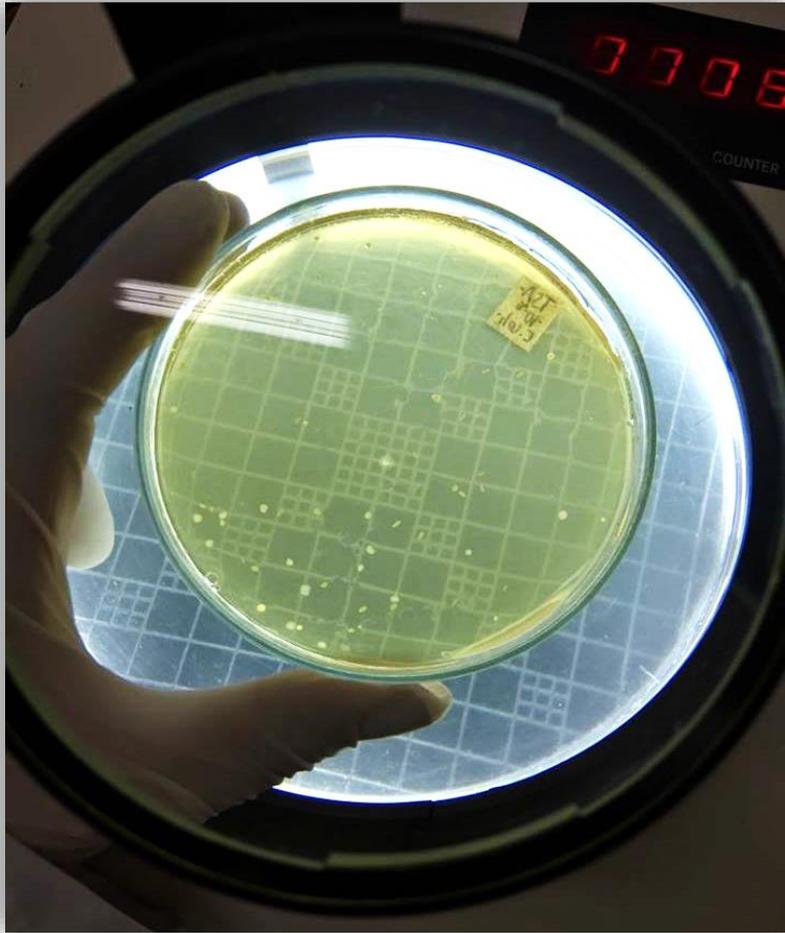
- N comprendido entre  $1,5 \times 10^8$  ufc/ml y  $5 \times 10^8$  ufc/ml
- Nv comprendido entre  $6 \times 10^2$  y  $3 \times 10^3$  ufc/ml
- Nx es igual o superior a 0,05 veces el valor de Nv
- Nv es igual o superior a 0,05 veces el valor de Ny

**Si se cumplen estas reglas el método esta validado**



# METODOLOGÍA 4: Método de dilución neutralización.





Método de recuento de las unidades formadoras de colonias.

$$\text{Recuento inicial} = \frac{c}{(n1 + 0,1 * n2) * d} \text{ (Ecuacion 1)}$$

$$Rp = \frac{c}{n * d} \text{ (ecuacion 2)}$$

$$\text{Reduccion de viabilidad} = \frac{Ri * 10^{-1}}{Rp} \text{ (ecuacion 3)}$$



# RESULTADO 4: Método de dilución neutralización.

Disminución de la viabilidad del hipoclorito de sodio

Organismo de la prueba	Recuentos viables (UFC/ml)		
	Hipoclorito - 5 minutos de contacto		
	5%	10%	15%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	$1.07692 \times 10^4$	$4.91228 \times 10^4$	$9.3 \times 10^4$
<i>Bacillus licheniformis</i>	$7.3 \times 10^4$	$2.5 \times 10^5$	$2.0 \times 10^6$
Organismo de la prueba	Recuentos viables (UFC/ml)		
	Hipoclorito - 15 minutos de contacto		
	5%	10%	15%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	$5.9 \times 10^4$	$8.4 \times 10^4$	$3.7 \times 10^5$
<i>Bacillus licheniformis</i>	$1.2 \times 10^5$	$8.2 \times 10^5$	$2.7 \times 10^5$



# RESULTADO 4: Método de dilución neutralización.

Disminución de la viabilidad del peróxido de hidrógeno

Organismo de la prueba	Recuentos viables (UFC/ml)		
	Peróxido - 5 minutos de contacto		
	5%	10%	15%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	$1.0 \times 10^5$	$3.5 \times 10^5$	$1.8 \times 10^5$
<i>Bacillus licheniformis</i>	$5.9 \times 10^4$	$1.2 \times 10^5$	$<1.46 \times 10^5$
Organismo de la prueba	Recuentos viables (UFC/ml)		
	Peróxido - 15 minutos de contacto		
	5%	10%	15%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	$1.4 \times 10^6$	$<1.8 \times 10^5$	$<1.8 \times 10^5$
<i>Bacillus licheniformis</i>	$2.1 \times 10^5$	$<2.7 \times 10^5$	$<2.7 \times 10^5$



# DISCUSIÓN

5 MINUTOS DE CONTACTO- UFC / PLACA A LAS 24 HORAS DE INCUBACIÓN												
MICROORGANISMO	HIPOCLORITO 5%		HIPOCLORITO 10%		HIPOCLORITO 15%		PEROXIDO 5%		PEROXIDO 10%		PEROXIDO 15%	
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	163	155	21	25	11	9	21	16	7	0	0
<i>Bacillus licheniformis</i>	35	42	6	9	0	0	57	66	24	31	27	24

15 MINUTOS DE CONTACTO- UFC / PLACA A LAS 24 HORAS DE INCUBACION												
MICROORGANISMO	HIPOCLORITO 5%		HIPOCLORITO 10%		HIPOCLORITO 15%		PEROXIDO 5%		PEROXIDO 10%		PEROXIDO 15%	
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	38	44	14	14	1	0	0	0	0	0	0
<i>Bacillus licheniformis</i>	22	28	0	0	0	0	14	9	0	0	0	0

Actividad bactericida

Tiempo/Concentración

Evaluar recomendaciones del proveedor



# DISCUSIÓN: Hipoclorito de sodio

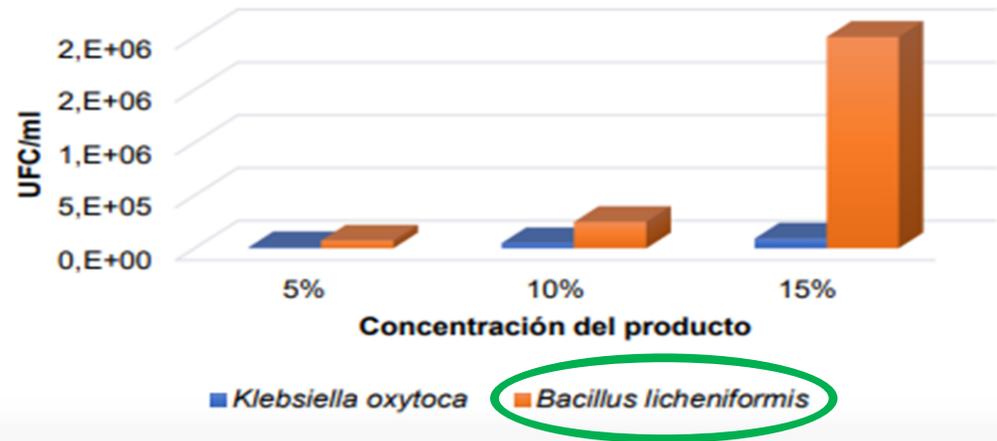
Debe considerarse que el producto ha pasado la prueba si se demuestra una reducción de la viabilidad de  $10^5$  o superior.

Organismo de la prueba	Recuentos viables (UFC/ml)		
	Hipoclorito - 5 minutos de contacto		
	5%	10%	15%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	$1.07692 \times 10^4$	$4.91228 \times 10^4$	$9.3 \times 10^4$
<i>Bacillus licheniformis</i>	$7.3 \times 10^4$	$2.5 \times 10^5$	$2.0 \times 10^6$
Organismo de la prueba	Recuentos viables (UFC/ml)		
	Hipoclorito - 15 minutos de contacto		
	5%	10%	15%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	$5.9 \times 10^4$	$8.4 \times 10^4$	$3.7 \times 10^5$
<i>Bacillus licheniformis</i>	$1.2 \times 10^5$	$8.2 \times 10^5$	$2.7 \times 10^5$

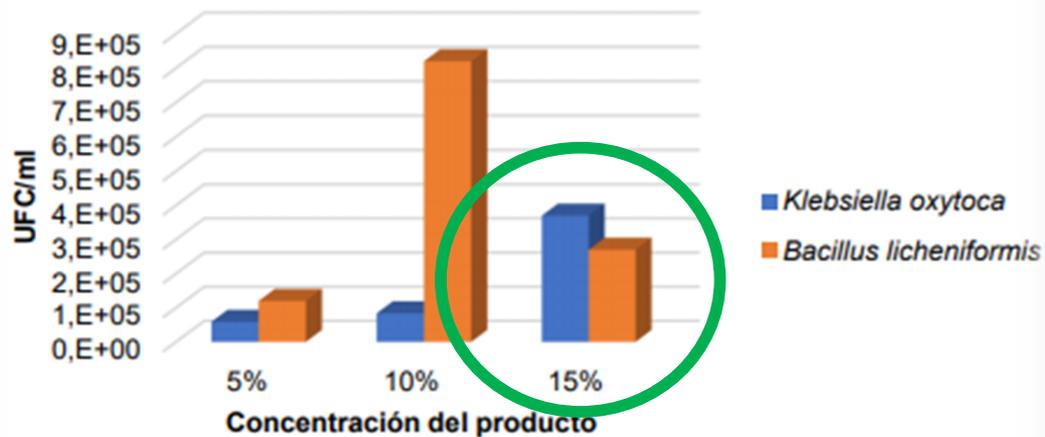


# DISCUSIÓN

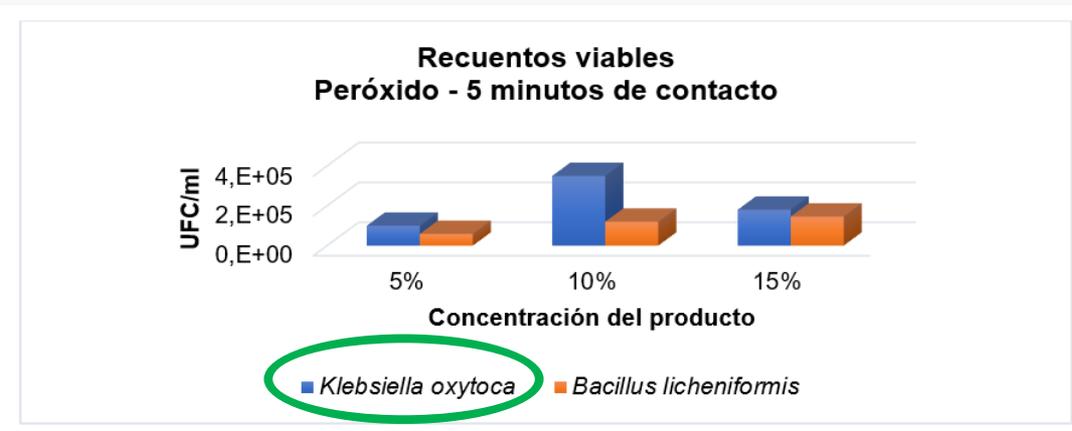
Recuentos viables  
Hipoclorito - 5 minutos de contacto



Recuentos viables  
Hipoclorito - 15 minutos de contacto



# DISCUSIÓN: Peróxido de hidrógeno



Organismo de la prueba	Recuentos viables (UFC/ml)		
	Peróxido - 5 minutos de contacto		
	5%	10%	15%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1.0 x10 <sup>5</sup>	3.5 x10 <sup>5</sup>	1.8 x10 <sup>5</sup>
<i>Bacillus licheniformis</i>	5.9 x10 <sup>4</sup>	1.2 x10 <sup>5</sup>	<1.46 x10 <sup>5</sup>
Organismo de la prueba	Recuentos viables (UFC/ml)		
	Peróxido - 15 minutos de contacto		
	5%	10%	15%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1.4 x10 <sup>6</sup>	<1.8 x10 <sup>5</sup>	<1.8 x10 <sup>5</sup>
<i>Bacillus licheniformis</i>	2.1 x10 <sup>5</sup>	<2.7 x10 <sup>5</sup>	<2.7 x10 <sup>5</sup>

-Optimizar el proceso  
-Reducir costos



# CONCLUSIONES

Volumen  
Población  
Materia prima

El método de  
dilución  
neutralización

Fue apropiado para evaluar la  
actividad de los desinfectantes

El control de calidad valido el  
desarrollo del método

Factores

Tiempo de acción

Concentración



## **Peróxido de hidrógeno**

- Presentó mayor actividad bactericida
- Se comprobó su acción sobre microorganismos que presentan diferentes mecanismos de resistencia.
- Fue incluido en el protocolo para optimizar los procedimientos actuales.

## **Protocolo de limpieza empleado en la empresa actualmente**

- No se logro aislar otros microorganismos importantes ya que el protocolo de limpieza desinfección actual mostraba cierto grado e efectividad.

## **Protocolo de rotación de desinfectantes**

- Documentado
- Ajustarse a las necesidades de cada industria
- Incluir: sustancias, fechas de rotación, concentraciones y tiempos de acción
- Verificación y diligenciamiento de registro diario

# CRONOGRAMA PROPUESTO

CRONOGRAMA DE ROTACION DE DESINFECTANTES

AREA	FRECUENCIA	FRECUENCIA ROTACION																							
		ENE		FEB		MAR		ABR		MAY		JUN		JUL		AGO		SEPT		OCT		NOV		DIC	
		1-15	16-31	1-15	16-28	1-15	16-31	1-15	16-30	1-15	16-31	1-15	16-30	1-15	16-31	1-15	16-31	1-15	16-30	1-15	16-31	1-15	16-30	1-15	16-31
Colgado	Diario	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow
Escaldado		Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow
Desplumado		Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow
Evisceración		Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow
Empaque de víscera		Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow
Enfriamiento		Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow
Empaque de canales		Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow
Despachos		Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Blue	Yellow

Peróxido de hidrogeno	Blue
Hipoclorito de sodio	Yellow

PERÓXIDO DE HIDROGENO	
Concentración	10%
Tiempo de contacto	5 minutos

HIPOCLORITO DE SODIO	
Concentración	15%
Tiempo de contacto	15 minutos



# REFERENCIAS

- 1) Biofilm in Spas [Internet]. Aqua-Tech. 2016 [citado 2 Octubre 2018]. Disponible en: <https://aqua-tech.ca/2016/01/biofilm-in-spas/>
- 2) Decreto 3075 de 1997 [Internet]. INVIMA. 2012 [citado 12 Agosto 2018]. Disponible en: [https://www.invima.gov.co/images/stories/aliementos/decreto\\_3075\\_1997.pdf](https://www.invima.gov.co/images/stories/aliementos/decreto_3075_1997.pdf)
- 3) Inocuidad de los alimentos [Internet]. OMS; 2017 [citado 4 Septiembre 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>
- 4) Sánchez Saldaña L, Saenz Anduaga E. Antisépticos y desinfectantes. Dermatología Peruana. 2005;15(2):82-103.
- 5) Vignoli R. Esterilización, desinfección y antisepsia. CEFA. 2008;609-617.
- 6) Desinfectantes utilizados en la industria alimentaria: Características, modo de actuación y aspectos que inciden en su eficacia [Internet]. Betelgeux. 2017 [citado 5 Mayo 2017]. Disponible en: [http://www.betelgeux.es/images/files/Documentos/Articulo\\_boletin\\_De\\_sinfectantes\\_y\\_Modo\\_de\\_accion\\_en\\_IIAA.pdf](http://www.betelgeux.es/images/files/Documentos/Articulo_boletin_De_sinfectantes_y_Modo_de_accion_en_IIAA.pdf)
- 7) NTC 5150 [Internet]. ICONTEC. 2003 [citado 4 Abril 2018]. Disponible en: <https://tienda.icontec.org/wp-content/uploads/pdfs/NTC5150.pdf>

# *Gracias.*

*“La educación es el arma mas poderosa que puedes usar para cambiar el mundo”  
Nelson Mandela*

