

**INFORME DE VALIDACIÓN**

**VALIDACIÓN DE TECNICAS ANALITICAS**

**Pruebas microbiológicas para determinar la actividad bactericida de la irradiación con UV en superficies inertes al interior de un taxi**

**INF-VAL02-2020**

**2020-12-12**

	<b>INFORME DE VALIDACIÓN</b>	Código: FR-13-02-01
		Versión: 01
		Página 1 de 11

## ÍNDICE

<b>1. DOCUMENTACION</b> .....	2
<b>2. REALIZACION DE LA VALIDACION</b> .....	2
2.1. Determinación de la adherencia del inóculo a las superficies inertes internas del taxi. .	2
<b>3. PREPARACIÓN DE SUPERFICIES INERTES POR UV:</b> .....	2
<b>3.1. Tiempo se descontaminación con irradiación germicida ultravioleta:</b> .....	2
<b>4. EVALUACION DE RESULTADOS</b> .....	3
4.1. Adherencia del inóculo a las superficies.....	3
4.2. Superficies inertes internas del taxi.....	5
4.3. Determinación de descontaminación con irradiación germicida ultravioleta UV a las superficies inertes internas de un taxi.....	7
4.3.1. Porcentaje de eficiencia.....	7
<b>5. DISCUSION DE RESULTADOS</b> .....	8
<b>6. CONCLUSIONES</b> .....	8
<b>7. REFERENCIAS</b> .....	10
<b>8. ANEXOS</b> .....	11

## 1. DOCUMENTACION

La validación del método utilizado para determinar la actividad bactericida de la irradiación UV de superficies inertes al interior de un taxi, ha sido desarrollada empleando el siguiente protocolo de validación.

N.º PROTOCOLO	APROBACION
P-VAL01-2020	03/11/2020

## 2. REALIZACION DE LA VALIDACION

### 2.1. Determinación de la adherencia del inóculo a las superficies inertes internas del taxi.

Se realizó la inoculación con la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 una cantidad necesaria para tener en la superficie  $1,9 \times 10^5$  UFC utilizando un hisopo para la inoculación de la carga microbiana mediante un frotis. Se ensayó como diluyente la Solución amortiguadora de fosfatos (PBS). Se dejó secar por 5 minutos, luego se procedió a recuperar la carga inoculada mediante un nuevo hisopo y llevado a un tubo con 10 mL de diluyente (Solución amortiguadora de fosfatos), luego de la homogenización se aplicó el método de recuento de *ESCHERICHIA COLI* AOAC 991.14, Cap. 17.3.04, 21st Ed. donde se sembró 1 mL en el Petri film 3M EC hasta la dilución  $10^{-4}$  se incubó a  $(35 \pm 1)$  °C por un tiempo de 48 horas. Se evaluó como control una superficie no inoculada.

## 3. PREPARACIÓN DE SUPERFICIES INERTES POR UV:

### 3.1. Tiempo de descontaminación con irradiación germicida ultravioleta:

#### ❖ 3 minutos:

Se irradió las superficies inertes de la parte posterior interna de un auto, inoculadas con cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 con una cantidad  $1,8 \times 10^5$  UFC.

	<b>INFORME DE VALIDACIÓN</b>	Código: FR-13-02-01
		Versión: 01
		Página 3 de 11

❖ **6 minutos:**

Se irradió las superficies inertes de la parte posterior interna de un auto , inoculadas con cepa de Escherichia coli ATCC 25922 con una cantidad  $2,1 \times 10^5$  UFC.

❖ **10 minutos:**

Se irradió las superficies inertes de la parte posterior interna de un auto, inoculadas con cepa de Escherichia coli ATCC 25922 con una cantidad  $1,9 \times 10^5$  UFC.

#### 4. EVALUACION DE RESULTADOS

##### 4.1. Adherencia del inóculo a las superficies

Para determinar la adherencia de las bacterias a la superficie interna del taxi se hicieron inoculaciones en 2 días diferentes.

❖ **Primer día para determinar la adherencia del inóculo.**

- 1 manija y 1 respaldar

SP Blanco : Superficie sin inocular

Manija =  $1,9 \times 10^5$  UFC/manija

Respaldar =  $1,8 \times 10^4$  UFC/cm<sup>2</sup>

SP Blanco manija =  $< 10$  UFC/manija

SP Blanco respaldar =  $< 0.1$  UFC/cm<sup>2</sup>

Inoculo de la cepa =  $2,2 \times 10^5$  UFC

**❖ Segundo día para determinar la adherencia del inocular.**

- 1 manija y 1 cinturón de seguridad (hebilla)

SP Blanco: Superficie sin inocular

Manija =  $2,2 \times 10^5$  UFC/manija

Cinturón =  $2,0 \times 10^5$  UFC/cinturón

SP Blanco manija =  $< 10$  UFC/manija

SP Blanco cinturón =  $< 10$  UFC/cinturón

Inoculo de la cepa =  $2,7 \times 10^5$  UFC

**Calculo:**

Cálculo de los tanto por ciento de recuperación de adherencia del inocular, la veracidad y la precisión:

**❖ Exactitud:**

$$\% \text{ Recuperacion} = \frac{C_{\text{exp}}}{C_T} \times 100$$

Dónde:

$C_T$ : carga inoculada de E. Coli.

$C_{\text{exp}}$ : carga recuperada E. Coli.

**❖ Precisión:**

$$\%CV = \frac{S}{x} \times 100$$

	<b>INFORME DE VALIDACIÓN</b>	Código: FR-13-02-01
		Versión: 01
		Página 5 de 11

Donde:

x: media de los tanto por ciento de recuperación de E. Coli

S: Desviación estándar

%CV: Coeficiente de variación

MICROORGANISMO	DIA	RECUP. (UFC) 1	RECUP. (UFC) 2	VERACIDAD	PRECISION (% CV)
<b>Escherichia coli ATCC 25922</b>	Primer día	86%	82%	84%	3.8
	Segundo día	81%	74%	78%	6.7
	<b>Promedio (%)</b>				

Criterio de aceptación:

Pruebas de desempeño	%promedio de Recup.	Criterio de aceptación (*)	Conclusión
Veracidad	81	> 70,0%	<b>Conforme</b>
Precisión	5.3	< 15,0%	<b>Conforme</b>

\*A.E.F. I: Asociación española de farmacéuticos de la industria

#### 4.2. Superficies inertes internas del taxi

##### ❖ 3 minutos:

Se irradiaron las superficies inertes, inoculadas con cepa de Escherichia coli ATCC 25922 con una cantidad de  $2,5 \times 10^5$  ufc/cinturón y  $1,1 \times 10^5$  ufc/manija.

TIEMPO DE DESCONTAMINACION	SI1	SI2
-------------------------------	-----	-----

<b>Resultados 3 minutos</b>	25x10 ufc/ cinturón	11x10 <sup>3</sup> ufc/manija
-----------------------------	------------------------	----------------------------------

SI1: Cinturón

SI2: Manija

❖ **6 minutos:**

Se irradiaron las superficies inertes, inoculadas con cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 con una cantidad de 2,8x10<sup>5</sup> ufc/cinturón y 1,3x 10<sup>5</sup> ufc/manija.

TIEMPO DE DESCONTAMINACION	SI1	SI2
<b>Resultados 6 minutos</b>	<10 ufc/ cinturón	86x10 <sup>2</sup> ufc/manija

SI1: Cinturón

SI2: Manija

❖ **10 minutos:**

Se irradiaron las superficies inertes, inoculadas con cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 con una cantidad de 45 ufc/cm<sup>2</sup> y 5,3x 10<sup>3</sup> ufc/manija.

MI = Mascarilla inoculada e irradiada

TIEMPO DE DESCONTAMINACION	SI1	SI2
Resultados 10 minutos	<0,1 ufc/cm <sup>2</sup>	10x10 ufc/manija

SI1: Cinturón

SI2: Manija

### 4.3. Determinación de descontaminación con irradiación germicida ultravioleta UV a las superficies inertes internas de un taxi

#### 4.3.1. Porcentaje de eficiencia

Tiempo de irradiación	superficie	Inoculo (antes de la irradiación con UV)	Recuperación (después de la irradiación con UV)	% de eficiencia
3 minutos	Cinturón	25x10 <sup>4</sup> ufc/cinturón	25x10 ufc/cinturón	99%
	Manija	11x10 <sup>4</sup> ufc/manija	11x10 <sup>3</sup> ufc/manija	90%
6 minutos	Cinturón	28x10 <sup>4</sup> ufc/cinturón	<10 ufc/cinturón	100 %
	Manija	13x10 <sup>4</sup> ufc/manija	86x10 <sup>2</sup> ufc/manija	93%
10 minutos	Respaldar	45 ufc/cm <sup>2</sup>	<0,1 ufc/cm <sup>2</sup>	100 %
	Manija	53 x10 <sup>2</sup>	10x10	98%



	<b>INFORME DE VALIDACIÓN</b>	Código: FR-13-02-01
		Versión 01
		Página 8 de 11

## 5. DISCUSION DE RESULTADOS

Se evidencio una reducción del 100% para los tiempos de 6 y 10 minutos en las superficies del respaldar y el cinturón de seguridad (hebilla) probablemente se debe a la ubicación de las superficies muestreadas están en posiciones frente a la lámpara de UV.

## 6. CONCLUSIONES

- ❖ Se concluye que la irradiación de las lámparas UV por 10 minutos obtuvo una mayor reducción de las cargas microbianas inoculadas sobre las superficies inertes al interior del taxi.

SUPERVISOR DE MICROBIOLOGIA



MB. Joel Elias Paredes

GERENTE DE LABORATORIO



Quim. Celino Yahuana Palacios

GERENCIA GENERAL



Eduardo Scerpella

Lima 31 de Diciembre del 2020

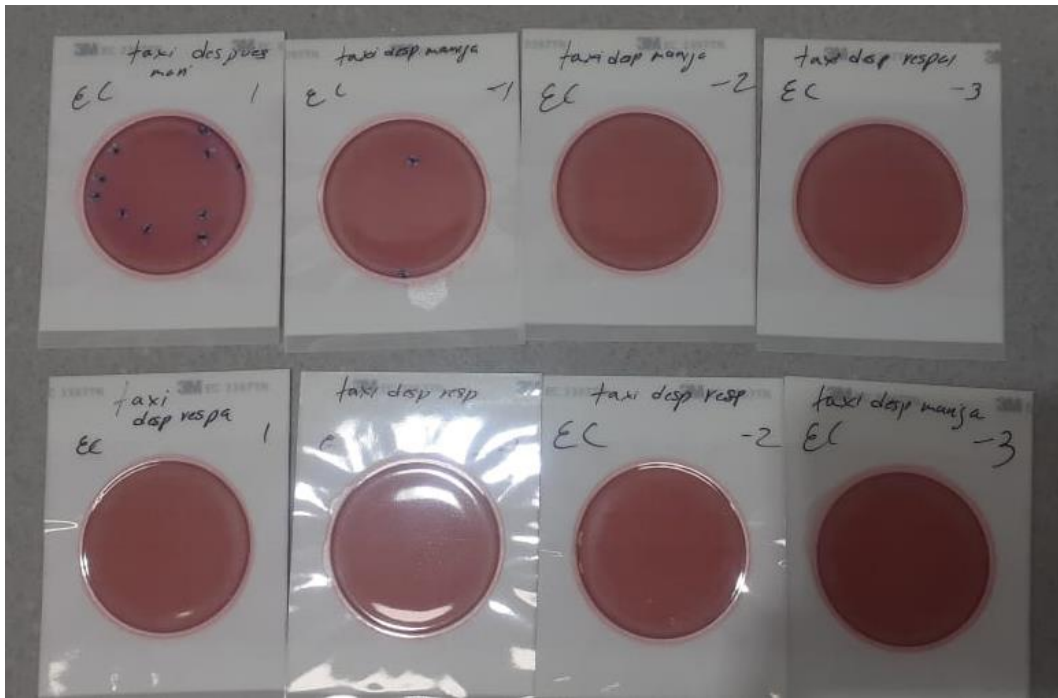
	<b>INFORME DE VALIDACIÓN</b>	Código: FR-13-02-01
		Versión 01
		Página <b>10</b> de <b>11</b>

## 7. REFERENCIAS

- ❖ A.E.F. I: Asociación española de farmacéuticos de la industria
- ❖ ISO 5725-1 Exactitud (veracidad y precisión) de resultados y métodos de medición Parte 1: Principios generales y definiciones

## 8. ANEXOS

### 8.1. Recuento de las recuperaciones antes de la irradiación con UV



### 8.2. Recuento de las recuperaciones después de la irradiación con UV

