
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO



FACULTAD DE QUÍMICA



**IMPLEMENTACIÓN, VALIDACIÓN, Y SEGUIMIENTO DE UN
PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN EN LA INDUSTRIA
DE PRODUCTOS DE CONSUMO PARA EL HOGAR**

TESINA

**PARA OBTENER EL GRADO DE:
INGENIERO QUÍMICO**

**PRESENTA:
MARTHA CECILIA MADRID RIOS**

**ASESOR ACADÉMICO:
ARMANDO RAMÍREZ SERRANO**

ENERO 2018

Agradecimientos.

En primer lugar, a Dios, quien me otorgó la bendición de gozar la dicha de vivir para presenciar este día al estar conmigo en todo momento, y proporcionarme salud, paciencia, y fuerza para seguir adelante.

Mamá, por todo lo que bien has sabido enseñarme, toda la paciencia que tuviste ante mi posible mala recepción de tus lecciones, y por tu rectitud en todos los aspectos hacia mi persona. Y, sobre todo, por el gran amor incondicional que me has dado a través de tus acciones y tus palabras. Eres una mujer con gran cariño y una fortaleza inquebrantable. Muchas gracias por ser un gran pilar que me ha definido como persona, como hija, como mujer, y como profesionista.

Papá... Sin tu enorme cariño no podría haber estado en este mundo. Sin tu amor a la vida y tu pasión por el trabajo, no sería digna de llamarme ingeniero. Al fin entiendo la razón de tu forma de ser y de vivir. Supiste darlo todo por tu familia y a tus seres queridos, a pesar de las consecuencias de tu condición. Juro por mi alma que seguiré adelante con tus ideales. Continuaré así, a pesar de los nervios, pues sé que me darías el aliento y motivación suficientes para ser yo misma, ante todas las circunstancias.

Una vez les dije que no sería suficiente retribuirles todo lo que me han dado. Aún no me es bastante, nunca lo será. A ustedes dos, mis más sinceras e infinitas gracias.

A Christian, el gran amor de mi vida. Mi motivación, mi inspiración, mi ángel, mi mundo. Pocas palabras no me bastan para decirte lo mucho que te amo y agradezco por absolutamente todo, siendo 'mucho' una palabra que denota escasez en demasía. Por los años que Dios me ha permitido estar a tu lado, por aguantarme en numerosos desvaríos, por aceptarme tal y como soy. Por estar conmigo – y detrás de mí en momentos clave, incluido este proyecto. Por lo que nos depara en este futuro incierto y lleno de sorpresas. La espera habrá valido la pena, te lo aseguro. ¡Te amo, mi querido genio~!

A mi familia en su integridad: a mis hermanos, primos, tíos y tías, y a ambas abuelitas. Ya sea en la cercanía como en la distancia, me han impulsado a seguir adelante en mis metas de vida con sus consejos, sus buenas historias, y sus creencias. A los que se nos adelantaron en este sendero, su recuerdo fue mi motivación para continuar y culminar este importante escalón. Muchas gracias por todo.

A todos en el equipo de Calidad, tanto a los que estuvieron como los que siguen en él. Quienes me acompañaron en el inicio y transcurso de mi viaje profesional, depositaron su confianza en mí y me otorgaron su amistad y lecciones de vida, que me ayudaron a forjar mi ser. A mi querida segunda familia, mil gracias, y les deseo la mejor de las travesías en todo lo que se propongan.

A los chicos de Producción, en especial a la gente de Procesos Líquidos y en Aerosoles. Muchas gracias por su conocimiento, su confianza, y su amistad sinceras. Son personas altamente calificadas, dedicadas en todo lo que hacen, con muy buenas ideas y grandes aspiraciones. En todo lo que vivimos y lo que logramos, les agradezco de corazón. Les deseo lo mejor en el proyecto de vida que han de construir.

A todo el equipo de trabajo en la planta, son los mejores. No se rindan en todo lo que declaren como objetivo. Den más de lo que son capaces, siempre con precaución. Amen lo que hagan, para que no tengan que trabajar.

Al doctor Armando Ramírez. Por su dedicación y su disposición al ser mi tutor en mi carrera. Por su confianza y tiempo dedicado con el fin de hacer de este trabajo una realidad. Por su inconmensurable apoyo en mi formación profesional, le estoy excesivamente agradecida.

A todos, mil gracias~

“Si deseas hacer un pay de manzana desde cero, primero debes inventar el Universo”

- Carl Sagan.

RESUMEN.

El presente trabajo denota una investigación documentada bajo conocimiento que tiene como finalidad mostrar el proceso para la implementación, la validación, y el seguimiento de un procedimiento de limpieza y sanitización aplicado a una línea de producción de una solución salina empleada como conservador en un producto en aerosol, bajo un enfoque microbiológico. Esto se llevó a cabo en respuesta a los hallazgos alarmantes provenientes de una validación del procedimiento original, ejecutada con motivo de verificar el diseño higiénico del sistema problema. Al construir un equipo de trabajo multidisciplinario y elaborar un Plan Maestro con acciones para originar resultados favorables, la aplicación de este proyecto provocó la reducción de la carga microbiana del sistema en un 84%, al producir modificaciones y mejoras en los equipos instalados en el sistema de manufactura, así como cambios en los procedimientos internos involucrados, la introducción de la revisión de puntos críticos por parte de los operadores en formatos y registros ya existentes, y la concientización de todo el personal tanto operativo como administrativo respecto de este proceso fundamental. Así mismo, se comenzó con la implementación de métodos microbiológicos rápidos para su ejecución interna, con el fin de reducir costos producidos por las solicitudes de análisis a laboratorios externos en un 78%. Todos los resultados anteriores contribuyeron a una cultura con un enfoque de mejora continua hacia la satisfacción y la confianza del cliente, causada por un producto elaborado con la más alta Calidad que supere las expectativas.

ABSTRACT.

The present work denotes a documented research on knowledge aimed at showing the process for the implementation, validation, and tracing of a cleaning and sanitation procedure applied to a production line used to manufacture a saline solution which acts as a preservative for an aerosol product, under a microbiological focus. This was made as an answer to the startling findings from the validation of the original procedure, executed with the purpose of verifying the hygienic design of the targeted system. Building an multi-disciplinary team and developing a Master Plan with actions to yield favorable results, the implementation of this project drew the reduction of the microbial load down to 84%, by modifying and improving the manufacturing equipment installed on the system, as well as inducing changes on internal procedures involves, the introduction of a critical point checkup for operators to perform under already existing formats and records, and the awareness raising in all operational and administrative staff regarding this fundamental process. Likewise, an implementation of rapid microbiological methods begun, with the purpose of reducing costs produced by analyses made on external laboratories down to a 78%. All previous results contributed to a culture under a continuous improvement approach towards client satisfaction and reliance, caused by a product made under the highest Quality possible which exceeds all expectations.

Índice General.

Resumen.....	I
Índice de Figuras.....	IV
Índice de Tablas.....	V
Abreviaturas y acrónimos.....	VI
I. Introducción.....	1
1.1. Antecedentes.....	3
1.2. Pregunta de Investigación.....	10
1.3. Alcance del Proyecto.....	10
II. Objetivos.....	12
III. La Limpieza y la Sanitización.....	13
3.1. Definiciones básicas.....	14
3.1.1. La limpieza.....	14
3.1.2. La sanitización.....	15
3.1.3. La relación entre la limpieza y la sanitización.....	15
3.2. Fundamentos de la limpieza.....	15
3.2.1. La contaminación.....	15
3.2.2. Cusas de la contaminación.....	16
3.2.3. Tipos de contaminación.....	16
3.2.3.1. Contaminación física.....	17
3.2.3.2. Contaminación cruzada.....	17
3.2.4. Composición de los residuos contaminantes.....	17
3.2.5. Procesos de envejecimiento.....	18
3.2.6. Eliminación de la suciedad.....	18
3.3. Fundamentos de la sanitización.	20
3.3.1. Crecimiento microbiano.....	22
3.3.2. Factores que afectan el crecimiento microbiano.....	24
3.3.3. Las Biopelículas.....	25
3.3.4. Destrucción y control de microorganismos.....	26
3.4. Medidas de limpieza y sanitización.	27
3.4.1. Acciones correctivas y preventivas para la eliminación de la contaminación.....	27
3.4.2. Capacitación al personal.....	28
3.4.3. Controles higiénicos.....	28
3.5. Consideraciones económicas.	29
3.6. Factores a intervenir.....	30
3.6.1. Objeto a limpiar.....	30
3.6.1.1. Generalidades de los materiales de construcción.....	31
3.6.1.2. Características de construcción.....	33
3.6.1.3. Textura de los materiales.....	34
3.6.2. Efectos mecánicos.....	34
3.6.3. Productos químicos a emplear.....	35
3.6.3.1. Agua.....	36
3.6.3.2. Agentes limpiadores.....	39
3.6.3.3. Agentes sanitizantes.....	41
3.6.3.4. Efectos y consecuencias de los limpiadores y sanitizantes.....	45
3.6.4. Temperatura.....	45
3.6.5. Tiempo y frecuencia de lavado y sanitizado.....	46
3.6.6. Cantidad de suciedad.....	47
3.7. Procedimientos de limpieza y sanitización.....	48
3.7.1. Generalidades.....	48
3.7.2. Métodos de limpieza y sanitización húmedos.....	49
3.7.2.1. Limpieza y sanitización por medios mecánicos para sistemas abiertos.....	50

3.7.2.2. Limpieza <i>in situ</i> (CIP).....	51
3.7.2.3. Limpieza con desmontado.....	52
3.7.3. Métodos de limpieza seca.....	53
IV. Validación de limpiezas y sanitizaciones del equipo de manufactura.....	54
4.1. Principios de la Gestión de la Calidad.....	55
4.2. Concepto de validación.....	55
4.3. Tipos de validación.....	56
4.4. Etapas de validación.....	57
4.4.1. Identificación del proceso y toma de decisión.....	58
4.4.2. Plan maestro de validación.....	59
4.4.3. Calificación de equipos, sistemas críticos, e instalación.....	60
4.4.4. Revisión de procedimientos escritos de limpieza y sanitización.....	62
4.4.5. Métodos de análisis a emplear.....	62
4.4.5.1. Generalidades.....	63
4.4.5.2. Análisis fisicoquímicos.....	63
4.4.5.3. Análisis microbiológicos.....	64
4.4.5.4. Selección de límites de aceptación.....	67
4.4.5.5. Validación de métodos.....	68
4.4.6. Muestreo.....	68
4.4.6.1. Selección de puntos de muestreo.....	69
4.4.6.2. Técnicas de muestreo.....	69
4.4.7. Métodos y herramientas estadísticas.....	70
4.4.8. Documentación y seguimiento.....	74
V. Metodología para la implementación, validación, y seguimiento.....	76
VI. Resultados y discusión.....	91
Conclusiones y Recomendaciones.....	105
Referencias bibliográficas.....	108
Referencias virtuales.....	109

Índice de Figuras.

Figura 1: Proceso de fabricación del insecticida en aerosol, aplicado en la empresa privada.....	3
Figura 2: Equipos e instrumentos de fabricación clave empleados en el proceso de manufactura de la solución acuosa para el insecticida en aerosol, con las áreas de Fabricación y Llenado delimitadas.....	5
Figura 3: Tipos de Contaminación en la industria de manufactura de productos químicos de consumo del hogar.....	16
Figura 4: Parámetros con influencia sobre el proceso de limpieza.....	19
Figura 5: Morfología bacteriana.....	21
Figura 6: Ejemplo típico de curva de crecimiento microbiano.....	23
Figura 7: Etapas de crecimiento de una biopelícula.....	26
Figura 8: Círculo de Sinner.....	30
Figura 9: Parámetros con influencia sobre la efectividad de la limpieza húmeda.....	31
Figura 10: Aspereza del contorno de un material rugoso.....	34
Figura 11: Ejemplos de limpieza con métodos mecánicos.....	51
Figura 12: Tipos de sistema CIP.....	52
Figura 13: Equipo de sistema farmacéutico de COP para lavado por inmersión de piezas.....	53
Figura 14: Etapas para el proceso de validación.....	57
Figura 15: Diagrama para decisión de la validación de un proceso.....	59
Figura 16: Ejemplos de métodos de análisis fisicoquímicos.....	64
Figura 17: Placa Petrifilm para cuenta de mesófilos aerobios, con su paquete de almacenamiento.....	66
Figura 18: Tiras para las pruebas API TM	67
Figura 19: Histograma de la carga microbiana de la Tabla 17, en UFC/ml.....	72
Figura 20: Curva de distribución normal.....	73
Figura 21: Ejemplo de gráfico de control por atributos, para determinar fracciones inaceptables de una muestra.....	74
Figura 22: Pasos empleados para la implementación y validación del nuevo procedimiento temporal para limpiar y sanitizar la línea de producción en su totalidad.....	77
Figura 23: Departamentos de la empresa involucrados en el equipo multidisciplinario formado, con una descripción de sus responsabilidades generales.....	78
Figura 24: Material a emplear para el método de toma de muestra mediante el uso de hisopos.....	81
Figura 25: Método de toma de muestra mediante el uso de hisopos.....	81
Figura 26: Material a emplear para el método de toma de muestra de agua.....	82
Figura 27: Método de toma de muestra de agua.....	82
Figura 28: Puntos de muestreo seleccionados para la validación del método de limpieza y sanitización.....	83
Figura 29: Material a emplear para el método de cuenta total de mesófilos aerobios, de acuerdo con las normas NOM-092-SSA1-1994 y NOM-110-SSA1-1994.....	84
Figura 30: Aparatos a emplear para el método de cuenta total de mesófilos aerobios, de acuerdo con las normas NOM-092-SSA1-1994 y NOM-110-SSA1-1994.....	84
Figura 31: Método de cuenta total de mesófilos aerobios, de acuerdo con las normas NOM-092-SSA1-1994 y NOM-110-SSA1-1994.....	85
Figura 32: Material y aparatos empleados para la tinción de Gram.....	87
Figura 33: Preparación de la muestra para la tinción de Gram.....	87
Figura 34: Metodología general para la tinción de Gram.....	88
Figura 35: Histograma del promedio de carga microbiana (UFC/ml) del sistema desde la primera hasta la novena semana de validación, antes de limpiar y sanitizar los equipos.....	93
Figura 36: Histograma de frecuencias de la carga microbiana (UFC/ml) del sistema en la primera semana, antes de limpiar y sanitizar los equipos.....	93
Figura 37: Histograma de frecuencias de la carga microbiana (UFC/ml) del sistema en la novena semana, antes de limpiar y sanitizar los equipos.....	94
Figura 38: Gráfico de control de la carga microbiana (UFC/ml) del sistema en la primera semana, antes de limpiar y sanitizar los equipos.....	94
Figura 39: Gráfico de control de la carga microbiana (UFC/ml) del sistema en la novena semana, antes de limpiar y sanitizar los equipos.....	95
Figura 40: Bolsa estéril para muestreo de agua.....	97
Figura 41: Método de inoculación, incubación, e interpretación de una placa Petrifilm.....	102

Índice de Tablas.

Tabla 1. Resultados microbiológicos de la primera validación de los procedimientos de limpieza de la línea de producción completa.....	7
Tabla 2. Resultados microbiológicos de la segunda validación de los procedimientos de limpieza de la línea de producción completa.....	7
Tabla 3. Resultados microbiológicos anteriores a la revalidación completa del procedimiento de limpieza de todo el sistema.....	8
Tabla 4. Resultados microbiológicos posteriores a la revalidación completa del procedimiento de limpieza de todo el sistema.....	9
Tabla 5. Distribución de los costos de una operación típica de limpieza y sanitización en una industria.....	29
Tabla 6. Características de los diferentes tipos de acero inoxidable.....	32
Tabla 7. Límites permisibles de características químicas para agua potable.....	37
Tabla 8. Límites permisibles de características microbiológicas para agua potable.....	37
Tabla 9. Límites permisibles de características físicas y organolépticas para agua potable.....	37
Tabla 10. Compuestos limpiadores comúnmente empleados en los procesos de limpieza por las industrias.....	40
Tabla 11. Compuestos sanitizantes comúnmente empleados en los procesos de sanitización por las industrias.....	43
Tabla 12. Ejemplo de agenda recomendada de limpieza y sanitización de superficies de acuerdo al tipo de material.....	45
Tabla 13. Efectos de las altas temperaturas de los agentes químicos sobre la eficacia de la limpieza y la sanitización.....	46
Tabla 14. Resumen de las calificaciones de equipos, sistemas críticos, e instalaciones.....	61
Tabla 15. Comparación de las características de las bacterias bajo la tinción de Gram.....	65
Tabla 16. Fórmulas para el cálculo de tendencia central y de variabilidad de un conjunto de datos.....	71
Tabla 17. Ejemplo de una tabla de frecuencias de carga microbiana, en UFC/ml.....	72
Tabla 18. Formato del Plan Maestro.....	78
Tabla 19. Descripción y características de los agentes limpiadores y sanitizantes empleados en el procedimiento de limpieza y sanitización nuevo.....	79
Tabla 20. Método de conteo de la totalidad de mesófilos aerobios para ensayos por duplicado.....	86
Tabla 21. Mecanismo de acción de la tinción de Gram en los diferentes tipos de bacterias.....	88
Tabla 22. Ejemplo del formato de la tabla para registro y revisión semanal de resultados.....	89
Tabla 23. Fórmulas empleadas para los cálculos de construcción de los gráficos de control.....	90
Tabla 24. Resultados de tinción de Gram para todas las muestras tomadas en las nueve semanas de implementación y validación.....	96
Tabla 25. Reporte de bacterias identificadas en las muestras de enjuague, bajo el método (API™) de bioMérieux.....	98
Tabla 26. Equipos y subsistemas que sufrieron modificaciones o reemplazo, a razón de los resultados de la carga microbiológica en el transcurso de las nueve semanas del proyecto.....	99
Tabla 27. Resultados de la encuesta corta aplicada al personal operativo, representados en porcentajes...	101
Tabla 28. Formato utilizado para el programa microbiológico modificado.....	104

Abreviaturas y Acrónimos.

GMP: Good Manufacturing Practices.

BPM: Buenas Prácticas de Manufactura.

pH: potencial Hidrógeno.

FDA: Food and Drug Administration (Administración de Alimentos y Medicamentos).

NOM: Norma Oficial Mexicana.

NMX: Norma Mexicana.

PNO: Procedimiento Normalizado de Operación.

EPP: Equipo de Protección Personal.

ISO: International Organization for Standardization (Organización Internacional de Estandarización).

CIP: Clean In Place (Limpieza *in situ*).

COP: Clean Out of Place (Limpieza con desmontado).

UFC: Unidades Formadoras de Colonias.

API™: Analytical Profile Index (Índice de Perfil Analítico).

CAPÍTULO I: Introducción.

I. Introducción.

Antes de que se proceda con la fabricación de un producto químico en cualquiera de sus etapas de transformación, es imperativo garantizar que los equipos de manufactura a emplear se encuentren limpios, y en ciertos casos sanitizados. Dicha acción tiene como objetivo asegurar que los productos estén libres de contaminantes, ya sean materiales inertes, químicos, o microbiológicos, y así no tengan algún tipo de riesgo que pueda afectar al consumidor final, y por ende a la empresa misma.

Es por esta razón que es absolutamente trascendente seguir con el programa de limpieza y sanitización impuesto para los equipos antes mencionados, ya que son los que entran en contacto directo con el producto a elaborar en sus distintas fases. Todo esto tiene como base las Buenas Prácticas de Manufactura (GMP's por sus siglas en inglés), un conjunto de normas y actividades que ayudan a mantener la inocuidad en la producción.

En consecuencia, y como parte del cumplimiento adecuado y correcto de la limpieza y sanitización, los procedimientos necesarios para ello deben someterse a validación en intervalos de tiempo definidos. La validación es una herramienta fundamental para el sistema de aseguramiento y control de la calidad, la cual consiste en establecer evidencia documentada con un elevado grado de garantía, asegurando así que los métodos en cuestión cumplen con su función bajo parámetros específicos requeridos conforme a la naturaleza del producto, del equipo, y del proceso.

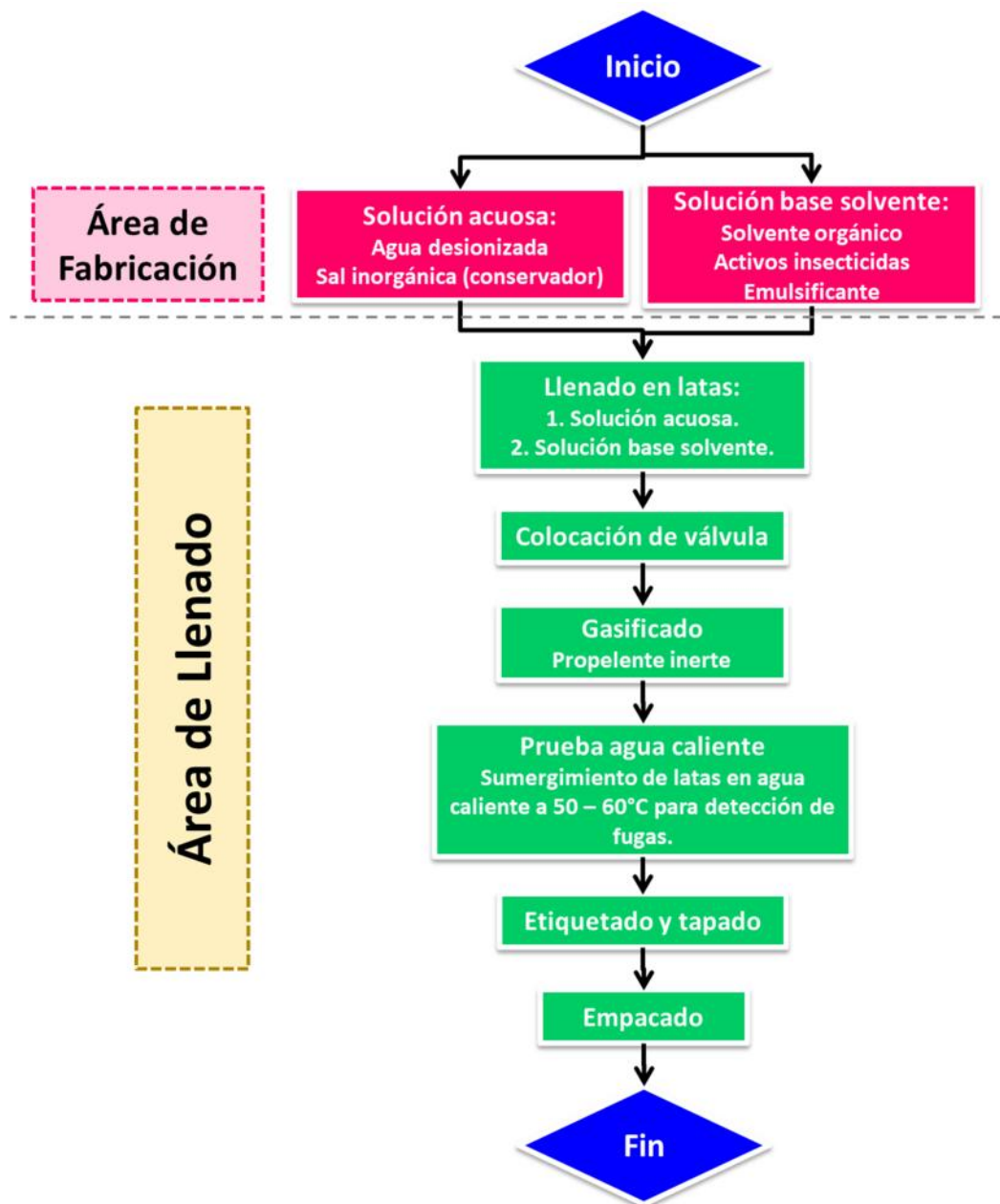
La industria de productos químicos de consumo para el hogar (limpiadores, ceras y pulidores, aromatizantes, productos en aerosol, etc.), no aplica medidas tan estrictas como las empleadas en las industrias farmacéutica o alimenticia para la limpieza y sanitización de equipos de manufactura. No obstante, si los productos que elaboran contienen componentes que implican un riesgo de contaminación en cualquier etapa de su operación, si existe alguna posibilidad de que el equipo de manufactura pueda afectar al producto directa o indirectamente, o el ambiente que rodea al sistema de manufactura no es lo suficientemente propicio para evitar material indeseable en el producto final, es crucial evaluar dicho riesgo y validar el procedimiento correspondiente bajo estos criterios establecidos.

1.1. Antecedentes.

En una empresa del sector privado que se dedica a fabricar productos químicos de consumo para el hogar, se tiene una línea de producción para la fabricación y el llenado de diversos insecticidas en aerosol. La fórmula de los productos fabricados en esta línea es constituida por dos fases: una solución de agua desionizada con una sal empleada como conservador (que varía conforme al insecticida que se desea elaborar), y una mezcla que contiene un solvente orgánico para los activos insecticidas correspondientes y un emulsificante.

Figura 1. Proceso de fabricación del insecticida en aerosol, aplicado en la empresa privada.

Fuente: Autoría propia.

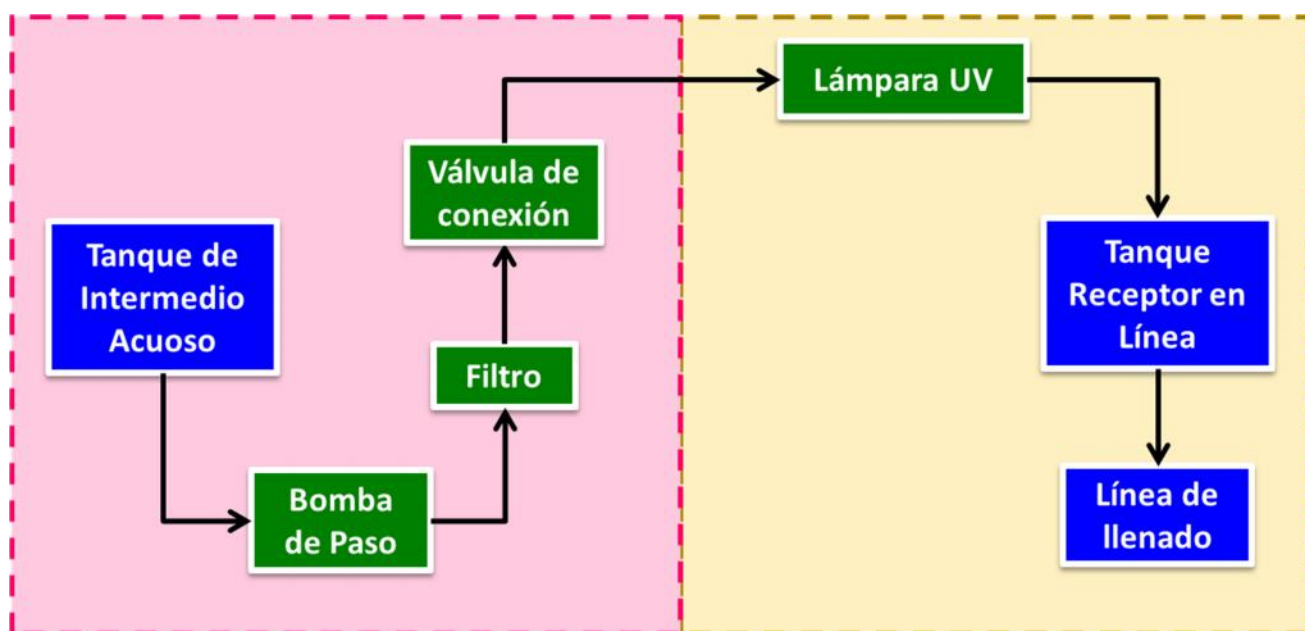


Como se aprecia en la Figura 1, ambas fases son preparadas en tanques distintos en un área que se denominará en este trabajo como de Fabricación. El envasado de las dos soluciones se lleva a cabo en un área que se designará en esta investigación como Llenado, en una llenadora especial que cuenta con dos conjuntos de pistones que pueden ser considerados como sub-llenadoras: una para el llenado de latas con una cantidad designada de la solución acuosa, y otra para la solución base solvente. Una vez que las latas pasan por esta sección, se les coloca la válvula para la salida del producto, y se les añade gas bajo presión que suele ser un propelente inerte. Pasando el proceso de gasificado, se transportan hacia unas tinajas de agua caliente a una temperatura aproximada de 50 a 60°C, que eleva la presión interna de las latas con el fin de asegurar el correcto sellado de sus válvulas y así detectar fugas. Posterior a esta prueba, las latas son etiquetadas, tapadas, y empacadas para su posterior disposición en el almacén que corresponda, de acuerdo al destino del producto.

La línea de producción, así como las demás líneas de la empresa, es revisada por los operadores en cada uno de sus puntos de inspección y control críticos asignados con el propósito de prevenir defectos potenciales en el producto en cualquiera de sus etapas de producción. En caso de presentarse un problema, se escala con el supervisor del área quien a su vez recurrirá a su solución, acudiendo con el personal de soporte pertinente bajo los procedimientos adecuados. Así mismo, la línea de producción es auditada por el personal de Calidad cada dos o tres meses. Por su localización en la planta, la línea de producción para estos productos se encuentra dividida en dos áreas, Fabricación y Llenado. Cada una de ellas manejan procedimientos de limpieza propios, los cuales son ejecutados por separado, y validados físicoquímicamente mediante un proceso interno que valida cada limpieza y sanitización aplicables entre la manufactura de un insecticida a otro insecticida.

En el año 2016, se realizó una auditoría de diseño higiénico de los equipos de manufactura que incluyó a la línea de producción para la fabricación de la solución acuosa, considerándose desde el área de Fabricación hasta el área de Llenado del producto. A su vez, a finales de Octubre del 2016, se hace una validación a los procedimientos de limpieza de los equipos de las dos fases de producción considerados como un solo sistema, añadiendo dos especificaciones de índole microbiológico. Esto tuvo el fin de descifrar la posibilidad de fabricar otros productos cuyas formulaciones fueran más amigables con el medio ambiente, al suponer que posiblemente fuesen más sensibles a contaminación microbiológica. Bajo este criterio, se consideraron planes para introducir un aromatizante en aerosol de dos fases, una acuosa y otra de perfume, que se fabricarían de forma similar a los insecticidas; utilizando una sección distinta a la línea de solvente para el perfume, pero empleando la misma línea para preparar la fase acuosa. Los equipos de manufactura de la línea de producción de la solución base agua se explican a continuación en la Figura 2.

Figura 2. Equipos e instrumentos de fabricación clave empleados en el proceso de manufactura de la solución acuosa para el insecticida en aerosol, con las áreas de Fabricación y Llenado delimitadas. Fuente: Autoría propia.



Simbología



El procedimiento de limpieza, a grandes rasgos, consta de los siguientes pasos:

- 1) Enjuague inicial con agua a temperatura ambiente, para la remoción de partículas visibles.
- 2) Lavado con agua caliente a 80°C por 20 minutos.
- 3) Lavado con solución al 0.1% de un agente alcalino clorado, dejando contacto con la superficie por 10 minutos.
- 4) Enjuague final con agua a temperatura ambiente.

De forma general, la línea de producción de la solución acuosa, tanto en el área de Fabricación como el área de Llenado, no cuenta con controles microbiológicos rígidos, puesto que el interior de la lata de insecticida no favorece el crecimiento de microorganismos al ser un ambiente inerte. El tanque de fabricación de la solución acuosa cuenta con un empaque hermético para su sellado; el agua se adiciona automáticamente por medio de un tablero de control, pero el proceso de adición de la sal es manual, por lo que el tanque se mantiene abierto en ese lapso de tiempo. El tanque receptor del área de llenado cuenta

con una tapa sin algún tipo de sello, para facilitar la vista del llenado del mismo. El resto del equipo se encuentra cerrado, al tratarse de tuberías, válvulas y bombas. Además, no se cuenta con un monitoreo ambiental en ambas áreas al no considerarse necesario por el tipo de producto. Las entradas a las áreas son puertas para el personal y cortinas hawaianas para los montacargas o patines de carga. Si se compara con una industria farmacéutica, la línea de producción en su totalidad equivaldría en un nivel 1 de bioseguridad conforme la NOM-059, que está caracterizado por un nivel básico de contención sin barreras especiales, en el que se manipulan agentes que no representan un riesgo potencial para el personal y el ambiente.

Bajo la asesoría del equipo de Calidad e Investigación y Desarrollo de la planta principal de la compañía, que reside en Estados Unidos, se prosiguió con la ejecución de la limpieza y sanitización de la línea completa. Para representar la efectividad de la limpieza y la sanitización de la línea de producción completa, se eligieron tres puntos del sistema: el tanque para la elaboración de la solución acuosa, el tanque receptor de la mezcla en la zona de llenado, y cuatro de las boquillas de la llenadora del intermedio. Después de la ejecución de la limpieza, de cada punto se tomó una muestra del agua del último enjuague, recolectándose en un vaso estéril para recolección de muestras médicas. Los métodos de análisis organolépticos elegidos fueron apariencia y olor, mientras que los microbiológicos fueron cuenta total de mesófilos aerobios (los microorganismos más proliferantes a medio ambiente) por medio de cultivo en placa y tinción Gram para identificación básica de bacterias presentes. Cada método analítico fue realizado por el personal calificado correspondiente en un laboratorio externo, acreditado bajo las normas correspondientes para los análisis y la exposición de resultados.

En la empresa, cada producto es sometido a pruebas de estabilidad elaboradas cada año por el departamento de Investigación y Desarrollo, siendo un procedimiento auxiliar en el monitoreo de la estabilidad organoléptica, fisicoquímica y microbiológica de las fórmulas al producir información sobre la confiabilidad y seguridad de los productos como un análisis de riesgo. Los puntos microbiológicos a evaluar en dichas pruebas son la cuenta total de microorganismos mesófilos aerobios, su clasificación en base a la tinción de Gram, la cuenta de hongos filamentosos y levaduriformes, y la presencia de microorganismos patógenos. En base a los resultados obtenidos de las estabilidades de los insecticidas y los aromatizantes en aerosol, y con fines prácticos, el departamento de Investigación y Desarrollo de la planta estadounidense estableció los parámetros de valoración microbiológicos: una cuenta máxima de 500 UFC/ml de microorganismos mesófilos aerobios, sin presencia de bacterias Gram negativas. Esta última especificación se sostuvo, asumiendo en parte que la mayoría de estos organismos son patógenos.

Conforme a lo mencionado anteriormente, los resultados de las muestras extraídas posteriormente a esta validación inicial se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados microbiológicos de la primera validación de los procedimientos de limpieza de la línea de producción completa. Simbología: verde=dentro de especificación, rojo=fuera de especificación. Fuente: Autoría propia.

Área	Equipo	Localización de Muestra	Mesófilos (UFC/ml)	Tinción Gram	Morfología
Fabricación	Tanque intermedio acuoso	Descarga	590	Gram -	Bacilo
Llenado	Tanque Receptor	Dentro	6400	Gram -	Bacilo
Llenado	Llenadora	Descarga	7200	Gram -	Bacilo

Posterior al análisis de estos resultados, se programó una segunda validación a inicios de Noviembre del 2016, considerando un equipo adicional: una Lámpara UV colocada entre la salida del área de Fabricación y el área de Llenado, que cuenta con la funcionalidad de inhabilitar a las bacterias y así evitar su multiplicación y propagación hacia la zona de envasado de los productos. Así, se añadieron dos puntos de muestreo en este equipo: una válvula de muestreo en la entrada a la lámpara, y otra válvula a la salida de la misma.

El muestreo y análisis se ejecutaron bajo las mismas modalidades que la validación anterior, y los resultados se evaluaron con los mismos parámetros. Éstos se pueden apreciar en la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados microbiológicos de la segunda validación de los procedimientos de limpieza de la línea de producción completa. Simbología: verde=dentro de especificación, rojo=fuera de especificación. Fuente: Autoría propia.

Área	Equipo	Localización de Muestra	Mesófilos (UFC/ml)	Tinción Gram	Morfología
Fabricación	Tanque intermedio acuoso	Descarga	100	Gram -	Bacilo
Llenado	Lámpara UV	Entrada	7600	Gram -	Bacilo
Llenado	Lámpara UV	Salida	6400	Gram -	Bacilo
Llenado	Tanque Receptor	Dentro	1260	Gram -	Bacilo
Llenado	Llenadora	Descarga	1390	Gram -	Bacilo

Estos resultados arrojan la posibilidad de que la limpieza aplicable a todo el sistema no cumplía las expectativas desde el punto de vista microbiológico, y por lo tanto se corría con riesgo de contaminación microbiológica en los productos terminados.

Con el fin de descartar dicha posibilidad, se recurrió a la revisión de los resultados de los análisis que se realizan diariamente a las muestras de productos terminados fabricados en el sistema evaluado, tomadas al inicio, a la mitad, y al final del tiempo transcurrido de su manufactura. Afortunadamente, los resultados no muestran un crecimiento significativo de microorganismos hasta ese punto, con cuentas relativamente bajas y sin Gram negativos, con casos particulares no graves y documentados que fueron contenidos y evaluados adecuadamente (los cuales no son posibles de publicar aquí por confidencialidad de la empresa). Esto se debe a tres factores principales: la nobleza de las fórmulas fabricadas y valoradas

por su formulación, la atmósfera inerte del aerosol ya llenado (nitrógeno o gas propelente), y la prueba del agua caliente en la que se someten todas las latas con producto posterior al gasificado (matando microorganismos).

Como acción siguiente, se procedió a realizar una revalidación completa de la limpieza, considerando tres puntos de vista: el proceso de limpieza mismo, los agentes químicos empleados, los equipos involucrados en el sistema, la documentación y registros pertinentes, y el entrenamiento y conocimiento de los responsables de su ejecución. Se tomaron muestras antes y después de la limpieza, con el fin de realizar una comparación respecto de la suciedad eliminada.

Con el fin de hallar potenciales puntos muertos (secciones de la línea de producción en los que existe una probable acumulación de residuos de producto, limpiador, u otro tipo de suciedad), se amplió la cantidad de puntos de muestreo seleccionados a partir de un recorrido por las instalaciones, los cuales fueron los siguientes la descarga del tanque de fabricación, las válvula de muestreo colocadas antes y después del filtro de canasta instalado en la tubería, el interior de tal filtro, una válvula que conecta el flujo del tanque de fabricación de este sistema con el flujo proveniente de otro tanque, la entrada y la salida de la lámpara UV, el tanque receptor, y la llenadora. Se emplearon los mismos métodos de análisis y las mismas especificaciones de las validaciones anteriores; con la inclusión de una medición de pH para las muestras posteriores a la limpieza para verificar las condiciones en las que el equipo se encuentra antes de manufacturar un producto en el mismo (debe tener un pH entre 6.5 y 7.5). Los resultados obtenidos se aprecian en la Tabla 3 y en la Tabla 4.

Tabla 3. Resultados microbiológicos anteriores a la revalidación completa del procedimiento de limpieza de todo el sistema. Simbología: verde=dentro de especificación, rojo=fuera de especificación. Fuente: Autoría propia.

Área	Equipo	Localización de Muestra	Mesófilos (UFC/ml)	Tinción Gram	Morfología
Fabricación	Tanque Fabricación	Descarga	1900	Gram -	Bacilo
Fabricación	Filtro	Antes	2000	Gram -	Bacilo
Fabricación	Filtro	Dentro	18000	Gram -	Bacilo
Fabricación	Filtro	Después	6400	Gram -	Bacilo
Fabricación	Válvula de conexión	Descarga	3500	Gram -	Bacilo
Llenado	Lámpara UV	Entrada	5600	Gram -	Bacilo
Llenado	Lámpara UV	Salida	50	Gram -	Bacilo
Llenado	Tanque Receptor	Dentro	510	Gram -	Bacilo
Llenado	Llenadora	Descarga	7000	Gram -	Bacilo

Tabla 4. Resultados microbiológicos posteriores a la revalidación completa del procedimiento de limpieza de todo el sistema. Simbología: verde=dentro de especificación, rojo=fuera de especificación. Fuente: Autoría propia.

Área	Equipo	Localización de Muestra	Mesófilos (UFC/ml)	Tinción Gram	Morfología	pH
Fabricación	Tanque Fabricación	Descarga	520	Gram -	Bacilo	8.0
Fabricación	Filtro	Antes	600	Gram -	Bacilo	7.9
Fabricación	Filtro	Dentro	410	Gram -	Bacilo	7.9
Fabricación	Filtro	Después	500	Gram -	Bacilo	8.1
Fabricación	Válvula de conexión	Descarga	310	Gram -	Bacilo	8.1
Llenado	Lámpara UV	Entrada	4700	Gram -	Bacilo	8.0
Llenado	Lámpara UV	Salida	1	Gram -	Bacilo	8.1
Llenado	Tanque Receptor	Dentro	150	Gram -	Bacilo	7.7
Llenado	Llenadora	Descarga	6300	Gram -	Bacilo	7.8

Como punto adicional, se verificó la temperatura del agua caliente en la primera etapa del procedimiento de limpieza y sanitización, con el fin de corroborar la pérdida de calor por el trayecto en toda la línea de producción. Tres miembros del personal midieron la temperatura con el uso de un termómetro de infrarrojos, realizando lecturas cada cinco minutos en un punto estratégico cada uno; la caída de agua caliente en el interior del tanque de fabricación, la tubería en la lámpara UV, y el agua dentro del tanque receptor.

Del reporte elaborado, se exponen las siguientes observaciones:

- 1) El procedimiento de limpieza original no cubre con las especificaciones dadas para una limpieza y sanitización efectivas, por lo que existe el riesgo de contaminación microbiológica del producto en alguna de sus fases de proceso. La limpieza mantiene el equipo relativamente limpio por una cantidad muy corta de tiempo, por la carga microbiana presente.
- 2) Los puntos más representativos en demostrar contaminación acumulada son la descarga del tanque de fabricación, el filtro, el tramo entre la válvula de conexión de flujo y la entrada a la lámpara UV, el tanque receptor, y los pistones de la llenadora.
- 3) Las cuentas elevadas de mesófilos aerobios sugieren la presencia de una biopelícula posiblemente formada en cualquiera de los puntos muertos mencionados previamente.
- 4) Algunos de los equipos en el sistema no eran adecuados conforme a un diseño sanitario, aumentando el riesgo de acumulación microbiológica potencial y deterioro por el agente empleado.
- 5) El trayecto de todo la línea de producción (125 metros aproximadamente) sin aislamiento provoca una pérdida de calor significativa en el traspaso de agua caliente desde el área de fabricación hasta el área de llenado. La temperatura en el tanque de fabricación se encontraba en

un rango de 85 – 89°C, mientras que en el tanque receptor se llegó a una temperatura de 64°C en promedio.

- 6) La bomba de desplazamiento positivo del área de fabricación no ofrecía un flujo turbulento ni corría a flujo constante (dependía de la capacidad del tanque receptor para activarse). El flujo turbulento favorece una remoción más efectiva de la suciedad estancada.
- 7) El personal responsable de la limpieza y la sanitización de la línea de producción contaba tanto con gente experimentada en el proceso así como personas con un conocimiento escaso del mismo y su razón de ser.
- 8) El procedimiento se ejecutaba en un intervalo irregular – una vez cada 15 días, o una vez por semana. Esto es debido a que el personal del área de fabricación y el área de llenado no coincidían respecto de sus horarios de trabajo, careciendo así de organización.
- 9) La empresa a nivel nacional no cuenta con personal con un perfil de conocimientos de microbiología, tanto en el departamento de Calidad como en Investigación y Desarrollo; que está constituido en su mayoría por Ingenieros Químicos, Ingenieros Industriales, y Químicos. Por cuestión de costos, y por ser una industria de productos químicos, no se consideró necesaria la contratación de un especialista.

La información descrita anteriormente, denota un riesgo que, de crecer gradualmente, aumenta la posibilidad de encontrar microorganismos en fórmulas nobles y, por ende, produce un peligro potencial de contaminación grave si en algún momento se toma la decisión de manufacturar ahí un producto cuyas características contribuyan a la formación de microorganismos – como aquellos que no cuentan con conservadores, o que contengan componentes con mayor susceptibilidad. Y es por ello que, pensando a futuro, se originó lo que se expondrá a más detalle en este trabajo.

1.2. Pregunta de investigación.

¿Será suficiente implementar y validar un procedimiento de limpieza y sanitización distinto al aplicado anteriormente para un sistema de fabricación de solución salina empleada como conservador en un producto en aerosol, para eliminar el riesgo de contaminación microbiológica de dicho sistema?

1.3. Alcance del proyecto.

La implementación, validación, y seguimiento de la limpieza y sanitización comprende el sistema de equipos de manufactura de la línea de producción para la fase acuosa de insecticidas en aerosol en su totalidad, desde el equipo empleado en el área de Fabricación hasta el utilizado en el área de Llenado.

CAPÍTULO II: Objetivos.

II. Objetivos.

Objetivo general.

Implementar, validar, y dar seguimiento a un procedimiento de limpieza y sanitización en una línea de producción empleada en la fabricación de una solución acuosa salina que sirve de conservador para un insecticida en aerosol como solución temporal a los resultados de alerta encontrados y las inconsistencias halladas en el procedimiento anterior, con un enfoque microbiológico sencillo.

Objetivos específicos.

- Establecer los límites específicos de aceptación microbiológicos, así como los métodos de cuantificación e identificación básicas para los microorganismos.
- Definir los puntos críticos y el plan de muestreo microbiológico, así como mejorar la técnica apropiada para evitar contaminaciones por manejo inadecuado de muestras.
- Dar seguimiento a las modificaciones y los cambios en las distintas etapas de fabricación de la línea de producción involucrada, evaluados y aplicados a partir de los resultados de seguimiento del procedimiento nuevo.
- Documentar los resultados del proceso de validación y seguimiento.

CAPÍTULO III:

La limpieza y la sanitización.

III. La limpieza y la sanitización.

Las industrias tienen como deber sacar al mercado productos de alta calidad, puesto que el consumidor espera que éstos sobrepasen con las expectativas que se espera de los mismos, correspondiendo así a los principios exigibles en el comercio y con capacidad de conservación específica de cada artículo. Esto requiere medidas que aseguren una calidad duradera, y de acuerdo a las Buenas Prácticas de Manufactura (GMP's, por sus siglas en inglés), la limpieza y la sanitización son inexcusables para alcanzar tal objetivo, no pudiendo ser sustituidas por ninguna otra. (KIERMEIER, 2000). Estas GMP's son normas básicas en las que "se facilitan los requisitos fundamentales para el mantenimiento de las condiciones físicas, limpieza y sanitización de equipamiento y utensilios, almacenaje y manejo del equipo y herramienta de limpieza, control de plagas, y el almacenaje de los productos de limpieza, sanitizantes, y pesticidas" (MARRIOTT, 2003). Cada industria tiene modelos para ejecutar dichos planes de acción conforme a múltiples factores, basándose en la normatividad correspondiente al tipo de productos manufacturados.

3.1. Definiciones básicas.

3.1.1. La limpieza.

De acuerdo al diccionario Merriam-Webster (2017), un objeto limpio es aquél que se encuentra "libre de impureza, suciedad o de contaminación". Por ende, la limpieza se definiría como la eliminación de toda suciedad o imperfección de un objeto o superficie (DICCIONARIO ACTUAL, 2017). Saber que una superficie se encuentra limpia ha sido razón de discusión, y expertos en el tema proponen expresiones como "visualmente limpia", "sensorialmente limpia", o "macroscópicamente limpia" (MROZEK, 2000). Al no ser suficiente, KIERMEIER (2000) cita como señales de eliminación lo más completa posible de la contaminación a las características siguientes:

- La superficie limpia debe resultar completamente "humedecible" al ser remojada con agua fría. Esto es, al mojar nuevamente el objeto que pasó por algún proceso de limpieza, el agua debe correr sin problemas por el área de contacto del mismo, y no deben quedar "huecos vacíos".
- El objeto limpio no debe perjudicar los procesos subsiguientes. No debe quedar residuo alguno tanto del contaminante como del proceso de limpiado, garantizando su integridad.

Parte importante de este trabajo es enfocarse en dos cuestiones: la limpieza del equipo de manufactura de un producto, y el procedimiento para lograrlo.

Los objetivos de la limpieza son asegurar la calidad óptima de los productos a fabricar frente a algún tipo de influencia fisicoquímica, reestablecer las instalaciones y utensilios tras su actividad para ser utilizados nuevamente sin afectar a lo que entre en contacto con éstos, prolongar la vida útil del equipo y sus instrumentos, y cumplir exigencias estéticas (MROZEK, 2000).

3.1.2. La sanitización.

Aunque muchos microorganismos son beneficiosos y necesarios para el bienestar humano, las actividades microbianas pueden tener consecuencias indeseables. En consecuencia, es fundamental poder destruir los microorganismos o inhibir su crecimiento para minimizar sus efectos. Dependiendo del caso, a veces es necesario eliminar todos los microorganismos de un objeto, mientras que en otras situaciones puede ser necesario sólo destruir parcialmente la población microbiana (PRESCOTT et al, 2004). Esto último es una de las metas de esta investigación, puesto que sólo se busca eliminar la mayor carga microbiana posible de un producto que no es para consumo humano. El concepto que más se acerca a estos términos es la sanitización, que es definida por la NOM-059-SSA1-2015 como “la acción de eliminar o reducir los niveles de partículas viables por medio de agentes físicos o químicos, posterior a la actividad de la limpieza” (Secretaría de Salud, 2015).

A menudo, la sanitización es un término que suele ser confundido con la desinfección y la esterilización, siendo actividades completamente diferentes entre sí. La desinfección es la destrucción, inhibición o eliminación de, al menos, los microorganismos que puedan causar enfermedad (patógenos); mientras que la esterilización es el proceso por el que todo microorganismo es destruido o eliminado de un objeto o hábitat (PRESCOTT et al, 2004).

3.1.3. La relación entre la limpieza y la sanitización.

Tanto la limpieza como la sanitización son actividades recíprocas entre sí (MROZEK, 2000). Las operaciones de limpieza, sobre todo las realizadas bajo condiciones que requieren una eliminación de suciedad a gran escala, pueden desarrollar una considerable remoción de microorganismos. La limpieza física de los instrumentos puede no remover todas los microorganismos en un ambiente delimitado, sólo disminuye la carga (JAWETZ et al, 2016).

Sobre todo esto, se tiene una regla de oro: la limpieza siempre debe ir antes de una sanitización, sin alterar este orden dado (MSU, 2010). La suciedad que se encuentre en los equipos de manufactura que permanece posterior a su uso puede ser probable nido de microorganismos que logren originar una contaminación indeseable, por lo que no se puede sanitizar efectivamente si la superficie no está limpia.

3.2. Fundamentos de la limpieza.

3.2.1. La contaminación.

¿Qué se encuentra definido como contaminación? De acuerdo con la Norma Mexicana NMX-Q-016-SCFI-2011 (SE, 2011), haciendo referencia a las Buenas Prácticas de Manufactura, la contaminación es la presencia de cualquier material no deseado, extraño, o ajeno al producto final. Bien puede tratarse de impurezas de naturaleza química o microbiológica, o materias extrañas; y éstas han de encontrarse en el

producto durante su producción, muestreo, envasado, almacenamiento, o transporte. (OMS, 2011); ya sea que persistan en la maquinaria, en los utensilios, o en los depósitos. (KIERMEIER, et al, 2000).

Entre cada etapa de un proceso de manufactura, es posible que se formen capas de herrumbre dentro de las máquinas, acumularse suciedad, y generarse olores poco agradables. En la mayoría de los casos, la contaminación es visualmente apreciable en sitios como los tanques de fabricación y almacenamiento, y en las herramientas necesarias para la producción. También se encuentra contaminación no visible en las tuberías de transferencia, válvulas, bombas, llenadoras, y muchos más tipos de maquinaria que no es fácil desarmar. (WILDBRETT, et al, 2000)

3.2.2. Causas de la contaminación.

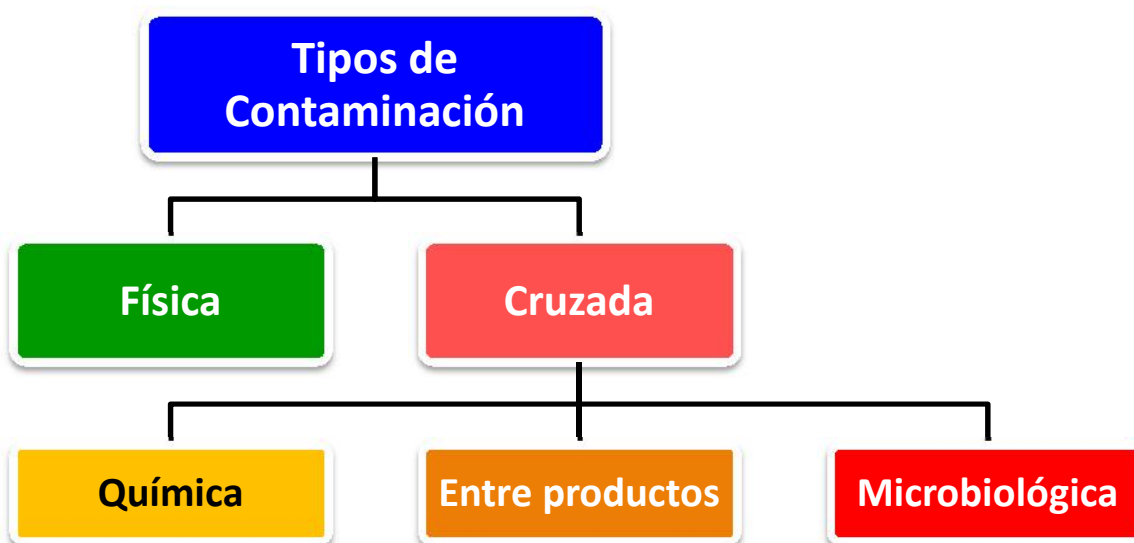
La contaminación tiene dos orígenes claramente diferenciados (HALL, 2003):

- **Externo:** Es la contaminación producida por el aporte de componentes o productos que vienen desde el exterior, ya sea la materia prima, materiales de acondicionamiento, entre otros.
- **Interno:** Es la contaminación provocada en las mismas instalaciones en las que el producto es fabricado, en cualquier fase del proceso productivo.

3.2.3. Tipos de contaminación.

Dependiendo de su origen, y considerando a una industria de manufactura de productos de consumo para el hogar, la contaminación se clasifica en dos categorías principales (REZQUELLAH, 2015), tal y como se aprecia en la Figura 3.

Figura 3: Tipos de Contaminación en la industria de manufactura de productos químicos de consumo del hogar. Fuente: Autoría propia.



3.2.3.1. Contaminación física.

Es aquella que es generada por residuos físicos o materiales inertes, que al mezclarse heterogéneamente con el producto en cualquiera de sus fases no causan alguna reacción, en su lugar provocan una modificación física en el mismo. Algunos casos de este tipo de contaminación son la acumulación de polvo, pedazos de cartón, trazas de plástico, fibras, o incluso papel.

3.2.3.2. Contaminación cruzada.

Está conceptualizada por la Food and Drug Administration (FDA) como la “transferencia de microorganismos o químicos peligrosos, o cualquier sustancia de manera involuntaria desde un elemento, superficie, o material contaminado a un elemento, superficie, o material no contaminado” (FDA, 2013). Puede suscitar un daño irreversible al producto en cualquier fase de producción, al provocar una reacción que lo cambie de manera parcial o íntegramente; concluyendo de esta manera que la mezcla puede resultar ser homogénea e irreversible en casos extremos. A partir de aquí, se definen tres tipos de contaminación que dan origen a dichos cambios (REZQUELLAH, 2015):

- **Contaminación química.** Se trata de la contaminación causada por residuos o componentes que origina una reacción química al entrar en contacto con el producto a fabricar en cuestión, cambiando parcialmente o por completo sus propiedades fisicoquímicas.
- **Contaminación entre productos.** Este tipo de contaminación es considerada como una variante de la contaminación química descrita con anterioridad, con la diferencia de que esta es específica al ser generada por la interacción del producto a fabricar con los restos de cualquier otro producto incrustados en el equipo o utensilios utilizados en la manufactura; provocando cambios fisicoquímicos en el producto final.
- **Contaminación microbiológica.** Tal y como lo menciona su nombre, es aquella que es causada por microorganismos. Para identificarla, es viable que el producto final sufra algún cambio negativo en sus propiedades fisicoquímicas, tales como en el olor, color, o incluso en la consistencia, y con ello afectar su rendimiento o tiempo de vida. Este tipo de contaminación se expondrá a profundidad en los Fundamentos de la Sanitización, siendo su principal enfoque.

Es fundamental hacer distinción de la contaminación que persiste después de la limpieza y de la sanitización, compuesta de partículas que no hayan podido ser eliminadas o residuos de los químicos empleados. Lo anterior es capaz de causar modificaciones que lleguen a afectar la eficiencia del equipo de manufactura como en el rendimiento del producto (WILDBRETT, 2000).

3.2.4. Composición de los residuos contaminantes.

Según KEIERMEIER (2000), la composición de la contaminación depende ante todo de lo que se esté manufacturando en el momento, siendo difícil de documentar con sucesos específicos para cada caso. Las

partículas pueden ser adheridas mediante propiedades fisicoquímicas de la suciedad, como la tensión superficial, capacidad humectante, y capacidad de reacción química con la superficie de contacto. Las características físicas de las partículas contaminantes como lo son el tamaño, la forma, y la composición, son cruciales de igual forma. Algunas suciedades se mantienen fijas a la superficie por fuerzas adhesivas o de dispersión. Ciertas suciedades están ligadas a la actividad superficial de las partículas absorbidas (MARRIOTT, 2003).

3.2.5. Procesos de envejecimiento.

En el tiempo que transcurre entre el final del trabajo y el comienzo de la limpieza, el estado y la composición de la suciedad cambian con mayor o menor intensidad. Este proceso denominado envejecimiento dificulta la limpieza posterior. Las partículas adheridas en un tanque empleado en la producción de una cera pulidora se solidifican y se forman costras, haciendo su remoción más complicada, requiriendo mayor esfuerzo en la tarea, incrementando un costo en la solución del problema (WILDBRETT, 2000).

3.2.6. Eliminación de la suciedad.

El objetivo de la limpieza es la eliminación más completa y permanente de la suciedad de la superficie a limpiar. Es por esto que es crucial superar las fuerzas de adhesión en las que las partículas contaminantes están sometidas (KEIERMEIER, 2000). Puesto que existen múltiples contaminantes, no es posible determinar algo general, volviendo al punto en el que el contaminante determina la técnica y la tecnología a aplicar en cada caso. Esto ya incluye la sustancia que se utilizará para limpiar y la superficie (WILDBRETT, 2000).

De acuerdo con MARRIOTT (2003), la eliminación de la suciedad consta de tres subetapas: la separación de la suciedad de la superficie, la dispersión de la suciedad en la solución limpiadora, y la eliminación de la solución con el propósito de evitar que la suciedad dispersada vuelva a depositarse sobre la superficie limpia. La Figura 4 ilustra la relación entre los parámetros involucrados en el éxito de la limpieza.

Después de limpieza, los remanentes persistentes, con gran fuerza adhesiva, suelen ser escasos. Estos cuentan como posibles sustratos para microorganismos, y por este motivo suele medirse el grado de contaminación posterior para mantener un grado de control, como medida preventiva y correctiva de mejora continua (WILDBRETT, et al, 2000).

Existen varios métodos para eliminar la contaminación adherida a una superficie, los cuales se describen a continuación (MERRIAM-WEBSTER, 2017; KEIERMEIER, 2000; ALZATE TAMAYO, 2011).

- **Imbibición.** Es un tipo especial de difusión en el que el agua es absorbida por un material sólido o coloide, causando un incremento significativo en su volumen. Un ejemplo aplicable en la

limpieza es la rehidratación de aquellas partículas que se encuentren desecadas en una superficie al dejarlas remojar con agua sin aditivo alguno durante un tiempo determinado, esperando a que se puedan remover con una mejor limpieza.

Figura 4. Parámetros con influencia sobre el proceso de limpieza. Fuente: WILDBRETT et al, Limpieza y Sanitización en la Industria Alimentaria (2000).



- **Aumento de la solubilidad.** Consiste en aumentar la solubilidad del contaminante de tal forma que sea más práctico de remover previo al lavado. Es útil cuando la imbibición no resulta ser suficiente contra una suciedad no soluble en agua, como los depósitos minerales. Se procede con un tratamiento químico para su eficiente remoción. Otro ejemplo de aumento de solubilidad es la *saponificación*, que es la solubilización de la grasa insoluble.
- **Emulsión y humedecimiento.** En caso de que se tengan productos en los que el medio es aceite, no basta con enjuagarlos con agua, puesto que se separará y depositará nuevamente en la superficie. Es imprescindible el uso de un activo que provoque la unión entre el agua y el aceite: un emulsificante. Estos componentes suelen ser tensoactivos, moléculas que tienen un lado hidrofílico (que atraen el agua) y un lado hidrofóbico (que repelen el agua). Se acumulan entre la superficie de separación entre el agua y la grasa, formando una mezcla efectiva con más posibilidad de ser retirada.
- **Separación de partículas insolubles.** Cuando la solubilidad o la imbibición resultan poco probables por partículas sólidas o de polvo, es preciso recurrir a otros métodos. Si el tamaño de estos contaminantes es grande, es práctico removerlos con un chorro de agua o con otro medio

mecánico viable y aceptable. En partículas pequeñas se requiere mayor fuerza para removerlas, al estar adheridas a la superficie por una carga eléctrica, por lo que es indispensable el uso de una sustancia que provea una carga eléctrica opuesta con el motivo de limpiarla, como los tensoactivos.

3.3. Fundamentos de la sanitización.

Conviene entender el papel que los microorganismos desempeñan en la denominada contaminación microbiana de un producto, para entender mejor al concepto de sanitización. La microbiología es la ciencia que estudia los organismos que son normalmente demasiado pequeños para ser vistos a simple vista por el ojo humano, denominados microorganismos (PRESCOTT et al, 2004). Su etimología es de origen griego, el cual conlleva al significado “pequeños seres vivos”. Se trata de un grupo grande y diverso de organismos microscópicos que viven en forma de células aisladas o en grupos de ellas. (JAWETZ et al, 2016). Cuentan con un metabolismo similar al humano, y se encuentran en todo el entorno natural (MARRIOTT, 2003). Sin embargo, la microbiología abarca igualmente a organismos de mayor tamaño, por lo que es prudente definir a esta ciencia no sólo respecto al tamaño del objeto de estudio, sino también tomando en cuenta las técnicas empleadas necesarias para aislar y cultivar microorganismos exitosamente (PRESCOTT et al, 2004).

Antes de que pudiesen ser vistos los microorganismos, algunos investigadores sospecharon de su existencia y de su responsabilidad en el desarrollo de enfermedades. No obstante, la primera persona en observarlos fue el comerciante holandés Anton van Leeuwenhoek (PRESCOTT et al, 2004), quien dio una descripción detallada de éstos “animálculos” al vislumbrarlos por medio de microscopios sencillos con lentes de vidrio biconvexos de su propia manufactura (LANE, 2015). Fue Louis Pasteur quien descubrió en el siglo XIX que los microorganismos constituyen una parte integral de la biósfera involucrada en la fermentación y en la enfermedad, descartando además la teoría de la generación espontánea al demostrar que los microorganismos sólo pueden ser originados a partir de otros microorganismos (PELCZAR, 2001).

Los tipos más representativos de microorganismos se describen a continuación (PELCZAR, 2001; MARRIOTT, 2003; JAWETZ et al, 2016):

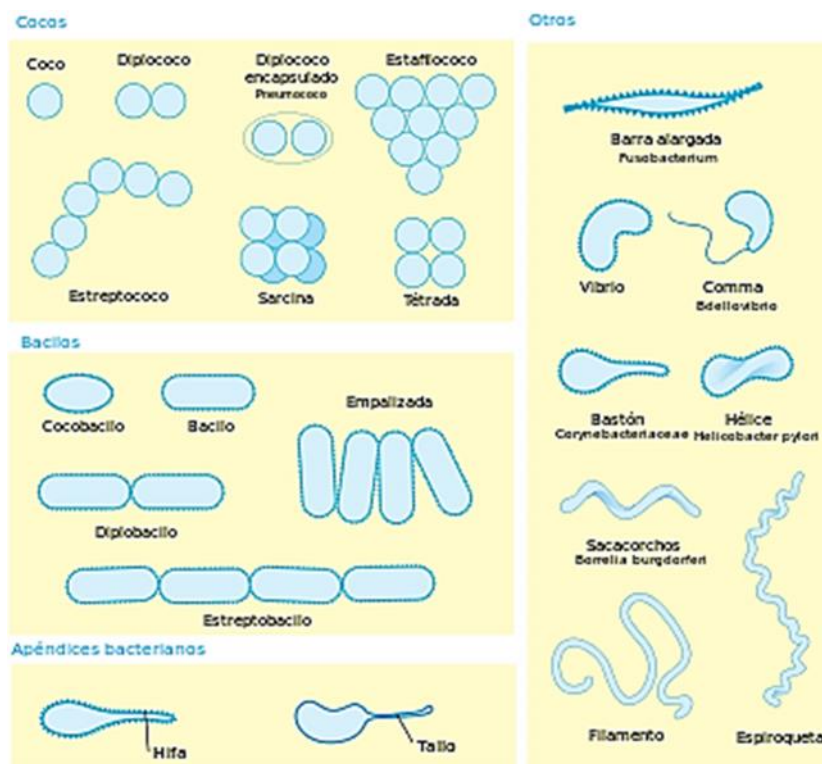
- **Bacterias.** Son microorganismos unicelulares. procarióticos, sin un núcleo interno rodeado por una membrana. Miden entre 0.5 y 1 μm de diámetro aproximadamente. Cuentan con múltiples formas morfológicas, siendo dos las más comunes: los bacilos, que tienen forma de bastoncillo, y los cocos que tienen forma esférica u ovoide. Existen individualmente o en agrupaciones, como en pares, cadenas, tétradas (grupos de cuatro), o clústeres (véase Figura 5). Varias especies producen esporas, estructuras celulares especializadas que permiten la supervivencia en ambientes

extremos, que sirven como “semillas” para la germinación de otras bacterias. Son estos organismos microscópicos los que forman parte del tema de interés de este trabajo.

- **Virus.** Son microorganismos con un tamaño aproximado de 1/100 a 1/10 menor que una bacteria. Consisten en una molécula simple de DNA o RNA, rodeada por una capa de proteína. Carecen de muchos atributos celulares, como la capacidad de multiplicarse por sí mismos, por lo que invaden otros organismos para conseguirlo. Los virus infectan cualquier célula, incluso a las células microbianas. Existen virus que atacan otros virus para sobrevivir, denominados virófagos.

Figura 5. Morfología bacteriana. Fuente:

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/f/fe/Bacterial_morphology_diagram-gram-es.svg/400px-Bacterial_morphology_diagram-es.svg.png



- **Hongos.** Son microorganismos eucarióticos con paredes celulares rígidas, y pueden ser unicelulares o pluricelulares. Varían en tamaño; desde hongo microscópico hasta una estructura mayor. Crecen en forma de conjuntos de filamentos ramificados y entrelazados conocidos como micelios. Suelen ser clasificados en dos grupos:
 - a) **Hongos filamentosos.** Son microorganismos pluricelulares que poseen micelios. Sus células son de forma cilíndrica y se unen de un extremo a otro para formar filamentos denominados hifas, que a su vez pueden producir esporas. Es posible que se lleguen a esparcir a través del aire.
 - b) **Hongos levaduriformes.** Son microorganismos unicelulares, de mayor tamaño que las bacterias y con distinta morfología. Su forma de reproducción es a partir de un proceso denominado

gemación, generando copias exactas al producirse brotes en una célula individual. No forman micelios, pero son reconocidas fácilmente como hongos por la naturaleza de su reproducción y la presencia de formas de transición.

- **Algas.** Son microorganismos que producen oxígeno como producto de la fotosíntesis. Son microorganismos eucarióticos (poseen un núcleo verdadero) que, al igual que las células vegetales, contienen clorofila y tienen paredes celulares rígidas. Se les encuentra en suelo húmedo y en agua. Las algas exhiben infinidad de formas celulares, y algunas son capaces de trasladarse por sí mismas. Muchas especies de algas son unicelulares, y otras generan estructuras multicelulares de gran tamaño.
- **Protozoarios.** Son microorganismos eucarióticos unicelulares. Las especies más primitivas son flagelados y se asemejan en muchos aspectos a algunos representantes de las algas. Varios protozoarios son ovalados o esféricos, y otros suelen ser alargados; no obstante uno sólo es capaz de tener múltiples formas en sus etapas de crecimiento. A diferencia de las bacterias, no poseen una pared celular.

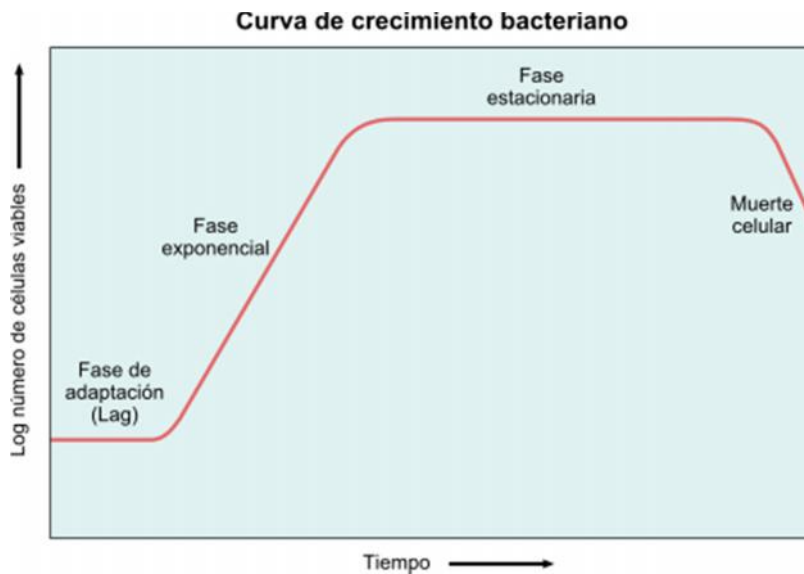
3.3.1. Crecimiento microbiano.

La población de microorganismos en la biósfera se mantiene casi constante, puesto que su muerte equilibra su crecimiento. Su supervivencia se ve influenciada por los nutrientes que le rodean y por el mantenimiento de un acervo de todas las células vivas., conocido como *microbioma* o *microbiota*. El crecimiento es el incremento ordenado de la suma de todos los componentes de un organismo. (JAWETZ et al, 2016).

La multiplicación de las células microbianas mediante bipartición se expresan dentro de modelos de crecimiento (MARRIOTT, 2003). Si un volumen fijo de medio líquido es inoculado con células microbianas provenientes de un cultivo que ya creció hasta la saturación, y se da seguimiento al crecimiento de la población microbiana por medio de una gráfica que exprese el número de células viables por minuto, se obtiene una gráfica denominada como la *curva de crecimiento en cultivo discontinuo* (JAWETZ et al, 2016), que se muestra en la Figura 6.

Figura 6. Ejemplo típico de curva de crecimiento microbiano. Fuente:

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/e3/Curva_de_crecimiento_svg.svg/450px-Curva_de_crecimiento_svg.svg.png



Esta curva consta de cuatro fases (MARRIOTT, 2003; JAWETZ et al, 2016; PRESCOTT et al, 2004):

- **Fase de latencia.** Las bacterias comienzan un periodo de ajuste al medio ambiente, por lo que normalmente no se produce un aumento inmediato del número de células o de masa. A pesar de ello es un proceso activo, debido a que el microorganismo está sintetizando nuevos componentes.
- **Fase exponencial.** Las células se encuentran en un nuevo estado de equilibrio. El nuevo material celular se sintetiza a una tasa constante, y la masa se incrementa de manera exponencial. El número de microorganismos aumenta hasta el punto en que, cuando las células se dividen, se produce un aumento de la población hasta que algún factor del medio ambiente actúe de forma limitante.
- **Fase estacionaria.** Al final, el agotamiento de nutrientes o la acumulación de productos tóxicos interrumpen por completo el crecimiento. Hay una pérdida lenta de células que mueren, la cual se balancea por la formación de células nuevas. Es a partir de este punto en el que el crecimiento es relativamente constante.
- **Fase de muerte.** Después de cierto tiempo, la viabilidad de las células comienza a disminuir a una tasa definida. La escasez de nutrientes, la acción de los productos metabólicos sobrantes, y la competencia con otras poblaciones, contribuyen a la rápida destrucción en una proporción exponencial, hasta el punto en el que el índice de destrucción se modera.

3.3.2. Factores que afectan el crecimiento microbiano.

En el crecimiento de un microorganismo influyen una serie de factores recíprocos entre sí que afectan su proliferación, con el fin de conseguir las mejores condiciones de desarrollo. Según MARRIOTT (2003), dichos factores están clasificados en extrínsecos e intrínsecos.

- **Factores extrínsecos.** Se tratan de aquellos que involucran al medio ambiente en el que crece el cultivo de bacterias, los cuales afectan su índice de crecimiento. Se relacionan a continuación:
 - a) **Temperatura.** Los microorganismos poseen un mínimo, un máximo, y un óptimo nivel de temperatura para su crecimiento. La temperatura ambiental determina la proliferación de la población, especificando el cultivo de microorganismos sobreviviente, y el alcance de la actividad microbiana producida (MARRIOTT, 2003). Los microorganismos se clasifican conforme su temperatura óptima (JAWETZ et al, 2016): psicrófilos (-5 a -15°C), psicrótrofos (20 y 30°C), mesófilos (30 a 37°C, los más comunes), termófilos (50 a 60°C), e hipertermófilos (temperatura de ebullición del agua).
 - b) **Disponibilidad de oxígeno (aireación).** La presencia de oxígeno en el ambiente condiciona a los microorganismos activos, puesto que funciona como aceptor de hidrógeno para muchos procesos metabólicos de las bacterias que sean susceptibles a éste. Los microorganismos cuentan con cantidades óptimas de oxígeno para subsistir (JAWETZ et al, 2016): aerobios (requieren oxígeno libre), anaerobios (no necesitan oxígeno), facultativos (viven con o sin oxígeno), Microaerófilos (necesitan pequeñas cantidades de oxígeno), y aerotolerantes (indiferentes al oxígeno).
- **Factores intrínsecos.** Éstos hacen referencia a las características inherentes de los microorganismos que favorecen o afectan su crecimiento.
 - a) **Nutrición.** Los microorganismos exhiben una gran diversidad en sus requerimientos nutricionales. (PELCZAR, 2001). Además del agua y el oxígeno, es crucial la presencia de otros nutrientes con el fin de crecer y sobrevivir al medio en el que éstos se encuentren expuestos (MARRIOTT, 2003). Los nutrientes principales de los cuales los microorganismos dependen, según su metabolismo y funciones, son las fuentes de carbono (dióxido de carbono y compuestos orgánicos), el nitrógeno (nitritos, nitratos, nitrógeno molecular, y aminas), el azufre (sulfatos y tiosulfatos), el fósforo (fosfatos inorgánicos libres), y numerosos minerales (iones de magnesio, hierro, potasio, calcio, manganeso, molibdeno, cobalto, cobre, y zinc) (JAWETZ et al, 2016).
 - b) **Actividad agua.** Es la unidad de medida para los requerimientos de agua de un microorganismo (A_w), definida como el valor de la presión del vapor de agua de la solución en

la que se encuentre el cultivo, en cada caso, dividida por la presión de vapor del agua pura. El punto óptimo de A_w para el crecimiento de los microorganismos es de 0.99, con un mínimo de 0.91 en la mayoría de los casos (MARRIOTT, 2003).

- c) Concentración de los iones hidrógeno (pH).** La definición química matemática del pH es el logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno (H^+) en una disolución, que se determina de la siguiente manera:

$$pH = -\log[H^+]$$

Mientras menor sea el valor del pH, la sustancia se definirá como un ácido, dado que dona o cede iones hidrógeno. Por el contrario, si este valor aumenta, se tratará de una base, al ser una especie que acepte dichos iones (BRUICE, 2008).

La mayoría de los microorganismos poseen un pH óptimo muy estrecho, siendo prudente determinarlo empíricamente para cada especie. Es grande la cantidad de especies cuyo pH para proliferar es neutro (de 6 a 8), y éstos se conocen como neutrófilos. Así mismo, existen microorganismos que soportan un pH tanto bajo (acidófilos) como elevado (alcalófilos). Estos últimos son capaces de regular su pH interno para subsistir en el ambiente en el que se desenvuelven (JAWETZ et al, 2016).

- d) Potencial de oxidación-reducción.** Esto es una indicación de la fuerza de oxidación y reducción del sustrato en donde crece la población. Los microorganismos aerobios crecen más rápidamente con un potencial de oxidación-reducción alto, con una reactividad oxidante. Los anaerobios requieren un potencial bajo, siendo éstos proclives a una reactividad reducida. Con los facultativos, debido a que éstos pueden proliferar con oxígeno y en ausencia del mismo, son capaces de desarrollarse en ambas condiciones (MARRIOTT, 2003).

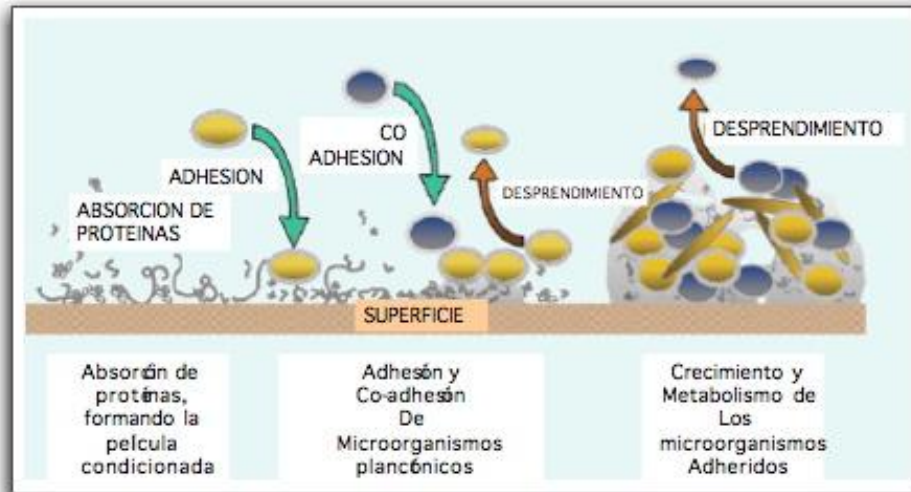
3.3.3. Las Biopelículas.

Los microorganismos por sí solos, salvo en ciertas excepciones, no son capaces de generar problemas al medio en el que se desarrollen. Sin embargo, estos seres microscópicos han logrado evolucionar de tal forma que consiguen organizarse y convivir con distintas especies, aprovechando los productos que se ofrecen dentro de una comunidad ecológica, conocida como *biopelícula* (BETANCOURTH et al, 2004).

Se define como biopelícula, o *biofilm*, a una comunidad de microorganismos que crecen embebidos en una matriz de una sustancia viscosa que éstos secretan, adheridos a una superficie inerte. La presencia de biofilms es muy común en la naturaleza. (LASA UZCUDUN, 2004). La formación de las biopelículas está determinada por una serie de etapas, ilustradas en la Figura 7. Comienzan con un conjunto de bacterias que se incuban en una superficie, que después experimentan fisión binaria para formar una íntima comunidad. Eventualmente, esta entidad bacteriana se rodeará a sí misma con un polisacárido natural llamado glucocálix para protegerse del ambiente, manteniéndose intacta. Finalmente, con la biopelícula

formada, es posible que algunos microorganismos se desprendan de ella por medios mecánicos, para adherirse a otras superficies inertes y así continuar con su expansión (JAWETZ et al, 2016).

Figura 7. Etapas de crecimiento de una biopelícula. Fuente: http://panachlor.com/wp-content/uploads/i_4858b4396c9626eb_html_7f1720a6.jpg



La biocapa formada llegará a ser, con el tiempo, un material que sólo es posible eliminar mediante un raspado (MARRIOTT, 2003). Los microorganismos, al ser variados dentro de esta organización, presentan diferente microambientes con los factores intrínsecos y extrínsecos adecuados para su crecimiento (BETANCOURTH et al, 2004). Las células que quedan en el interior de la biopelícula quedan protegidas de sustancias o agentes que lleguen a inhibirlas. Dichas variables dificultan el cálculo matemático del crecimiento de este tipo de comunidad (JAWETZ et al, 2016).

3.3.4. Destrucción y control de microorganismos.

La sanitización, desde un punto de vista microbiológico, consta en la eliminación de la mayor parte de los microorganismos, salvo de especies patógenas y sus esporas. Estos últimos son posibles de eliminar con métodos más robustos, siendo tarea de la desinfección y la esterilización respectivamente (JAWETZ et al, 2016). A continuación, se muestran las formas más comunes de eliminación y control de los microorganismos en un ambiente específico (JAWETZ et al, 2016; MARRIOTT, 2003; MROZEK, 2000):

- **Calor.** Como ha indicado la historia, la aplicación del calor viene siendo el procedimiento más ampliamente utilizado para destruir las bacterias. El mecanismo de destrucción térmica de los microorganismos consiste en la desnaturalización irreversible de sus proteínas y enzimas estructurales. La sensibilidad al calor aumenta a medida que lo hace tanto la complejidad de la estructura como el contenido de agua. La aplicación de calor es el medio más simple para la sanitización y esterilización de materiales, debido a su resistencia.

- **Agentes químicos.** Muchos compuestos químicos que destruyen microorganismos no son adecuados para matar las bacterias presentes en la superficie o interior de un producto que vaya a punto de venta. Por el contrario, se utilizan para sanitizar equipos o instrumentos que tengan contacto con el producto.
- **Radiación.** Cuando los organismos microscópicos presentes son irradiados mediante rayos con energía elevada (como la radiación ionizante o no ionizante), el logaritmo del número de sobrevivientes es directamente proporcional a la dosis de radiación. La muerte ocurre por inactivación de los componentes celulares resultante de la energía absorbida por el microorganismo. Por ende, los microorganismos inactivos son incapaces de reproducirse, quedando así esterilizados.
- **Refrigeración.** El frío extremo también destruye microorganismos, aunque no puede utilizarse con seguridad con fines de esterilización. Las bacterias muestran el fenómeno conocido como choque de enfriamiento, al ocurrir una muerte con enfriamiento rápido. Los sobrevivientes no se multiplicarán en cuanto sigan congelados, por lo que este método es poco práctico.

3.4. Medidas de limpieza y sanitización.

3.4.1. Acciones correctivas y preventivas para la eliminación de la contaminación.

Para solucionar un problema particular o un conjunto de cuestiones que aparezcan antes, durante, y después de la producción de un producto, incluyendo cualquier tipo de contaminación explicada previamente, existen dos tipos de planes de acción a ejecutar. Una *acción correctiva* es definida como aquella que da conclusión a un problema que ya ocurrió, y la *acción preventiva* es la que va dirigida a la evasión de un problema. (WESTCOTT, 2005). Ambas acciones pueden ser a corto o largo plazo, dependiendo del caso a tratar.

La limpieza y la sanitización tienen las siguientes consecuencias primordiales para la industria en general (KIERMEIER, 2000):

- **Legales.** Si los productos que salen a punto de venta causan algún tipo de daño al consumidor, en caso de estar contaminados.
- **Económicas.** Al producirse pérdidas financieras por parte de los productos defectuosos por este medio.
- **Técnicas.** Cuando la existencia de superficies con suciedad no garantiza la fabricación de productos con buena calidad.

A continuación, se presentan las medidas más representativas para una mejor ejecución de la limpieza y sanitización en la industria.

3.4.2. Capacitación al personal.

La higiene resulta con frecuencia más eficaz explicándola que aplicándola. Sólo se puede esperar la comprensión de las medidas higiénicas de aquellas personas que cuenten con algunos principios de microbiología (MROZEK, 2000). Se puede decir algo similar a la limpieza, y con cualquier otra acción de índole semejante.

En el caso de las limpiezas y sanitizaciones, éstas se llevan a cabo por personal operativo bajo algún tipo de orientación, acostumbrado a ver y a juzgar sus resultados día con día. La limpieza es más fácil de juzgar visualmente; la sanitización no es posible apreciarla así: si no se trabaja con suficiente cuidado, existe la posibilidad de vislumbrar las consecuencias más tarde. No es factible dejar la interpretación de los resultados de una buena limpieza y sanitización a expensas de opiniones personales. Cualquier resultado no debe dejar cabida a dudas, ni debe ser menospreciado (MROZEK, 2000). De acuerdo con la norma mexicana NMX-Q-016-SCFI-2011 (SE, 2011), “la implementación del sistema de Buenas Prácticas de Manufactura (...) requiere de la participación de todo el personal en todos los departamentos y a todos los niveles de la compañía”.

3.4.3. Controles higiénicos.

Para conocer el estado higiénico de un establecimiento, éste debe conocerse a fondo. Es fundamental conocer qué, quién, cómo, con qué frecuencia, cómo, y porqué se implementan los controles respectivos (KIERMEIER, 2000). Los aspectos a considerarse bajo un control de moderado a riguroso, sea cual fuere la situación, se enuncian a continuación:

- **Control del personal.** Conforme a lo dictado en la norma NMX-Q-016-SCFI-2011 (SE, 2011), y citando, “deben establecerse programas de salud e higiene personal para los trabajadores, acorde a las funciones que les corresponda desempeñar”. Los trabajadores debe estar sujetos a capacitaciones, aplicar los requerimientos de indumentaria y equipo de protección personal (EPP), no utilizar joyería o accesorios, y evitar comer, beber, fumar, mascar, o escupir cerca del área de manufactura (SE, 2011). Los trabajadores deben ser supervisados, ya sea entre ellos mismos o por medio de áreas de apoyo; por medio de auditorías, análisis fisicoquímicos o microbiológicos de los empleados y sus procesos, y campañas de concientización del personal.
- **Control de locales, instalaciones, y utensilios.** El establecimiento debe estar localizado, diseñado, construido, y conservado de acuerdo con las situaciones que en él se efectúen, para que se faciliten los procesos de limpieza y sanitización, así como el mantenimiento, control de plagas, y servicios sanitarios (SE, 2011). El equipo, así como los herramientas, pueden recoger suciedad y cultivos de microorganismos y otras partículas (MARRIOTT, 2003).
- **Control del aire y del agua.** Hay procesos en los que se requiere el uso del aire como método de enfriamiento, por lo que el mismo aire puede ser responsable de contaminación microbiológica si

es que en éste no hay control de cualquier tipo. Los métodos de control pueden tratarse de estudios de la calidad del aire (cantidad de partículas y microorganismos), o programas de mantenimiento del equipo (MROZEK, 2000). Con el agua ocurren casos similares, en especial si se trata del agua usada en la limpieza o en la producción directa.

3.5. Consideraciones económicas.

Los costos de las sustancias e instrumentación necesarias para la limpieza y la sanitización son fáciles de determinar. Lo complicado es calcular la mano de obra precisa para llevar a cabo las medidas en cuestión (MROZEK, 2000), ya sea que se trate de una actividad dentro del turno u horas laborables extras. Los sistemas más sencillos resultan ser los casos más fáciles de determinar. El avance tecnológico de los métodos de limpieza y sanitización provoca que los procesos automatizados deduzcan un ahorro esencial al eliminar la variable de la mano de obra, ya considerando la inversión inicial que suele ser considerable – ver la Tabla 5.

El agua y las aguas residuales de la operación siguen en volumen de costo, al emplearse una gran cantidad en la aplicación de agentes químicos complementarios. La energía necesaria para producir agua caliente o vapor para la limpieza o sanitización, así como para el empleo de equipo adicional para ello, son factores importantes. Los compuestos limpiadores y sanitizantes suelen ser caros, y sin embargo su costo es razonable si se considera que ayudan a obtener una limpieza más completa con menos trabajo, junto con la reducción de microorganismos del sistema. No obstante, su aplicación inadecuada sobre materiales vulnerables, aumentan el costo de reparación de daños por corrosión. Por último, es preciso adicionar los costos por la depreciación de los equipos a emplear, mercancías devueltas, gastos generales y de administración, y otros costos propios de la empresa (MARRIOTT, 2003).

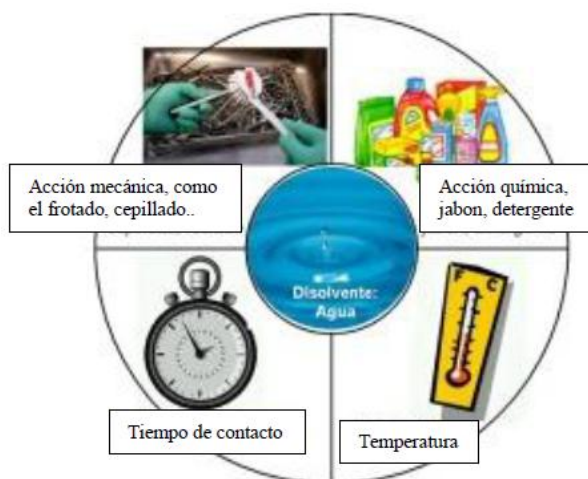
Tabla 5. Distribución de los costos de una operación típica de limpieza y sanitización en una industria. Fuente: MARRIOTT, Principios de Higiene Alimentaria (2003).

Costos	Participación (%)
Mano de obra	46.5%
Agua / Aguas residuales	19.0%
Energía	8.0%
Compuestos limpiadores y sanitizantes	6.0%
Daños por corrosión	1.5%
Varios (depreciación de equipos, gastos generales, costos propios)	19.0%

3.6. Factores a intervenir en la limpieza y la sanitización.

Los métodos de limpieza suelen ser clasificados en dos, limpieza húmeda y limpieza seca (AUERSWALD, 2000). Todo proceso de limpieza y sanitización húmedos discurren entre factores culminantes, y sus características determinarán decisivamente el éxito de las medidas higiénicas que sean requeridas a implementarse (WILDBRETT, 2000). El círculo de Sinner (ver Figura 8) es una herramienta que da a conocer lo necesario para una higiene óptima. Existen cuatro factores críticos interrelacionados, de los cuales depende el resultado final de la implementación de los métodos especificados: la acción mecánica, la acción de las sustancias químicas, la temperatura de la operación, y el tiempo de acción de la misma (REZQUELLAH, 2015). Dichos elementos no son los únicos que intervienen en las operaciones de limpieza y sanitización. WILDBRETT (2000) propone dos factores adicionales: el objeto a limpiar, y la carga de suciedad. La Figura 9 presenta el círculo de parámetros propuesto por el autor en cuestión.

Figura 8. Círculo de Sinner. Fuente: REZQUELLAH, Validación de los procesos de limpieza en la industria farmacéutica, mediante la aplicación del análisis de riesgo, seguridad toxicológica y UPLC. (2015)



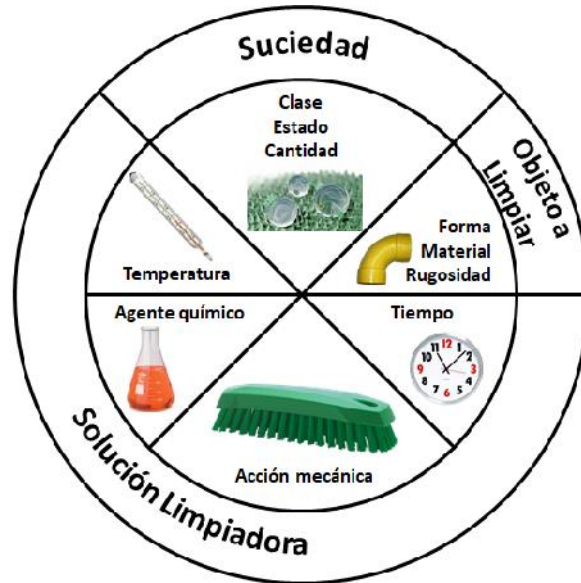
3.6.1. Objeto a limpiar.

Actualmente, las instalaciones son trascendentales para la eficacia y eficiencia de la limpieza y sanitización de las mismas, al tomar en consideración esencial el modelo de las instalaciones y dispositivos, así como la clase y las características de los materiales empleados en su construcción.

La Organización Internacional para la Estandarización (ISO, según sus siglas en inglés), es una organización fundada en febrero de 1947, cuyo propósito ha sido facilitar la coordinación internacional y la unificación de estándares industriales empleados mundialmente, que cubren la gran mayoría de aspectos tecnológicos y de manufactura, en todo tipo de industria – tecnología, alimenticia, agricultura, e incluso de cuidado a la salud. En el año 2002, ISO hace público el estándar ISO 14159, la cual trata sobre

los requerimientos higiénicos para el diseño de maquinaria industrial, e introdujo un concepto que ya es reconocido en la ingeniería: el diseño higiénico.

Figura 9. Parámetros con influencia sobre la efectividad de la limpieza húmeda. Fuente: WILDBRETT et al, Limpieza y Sanitización en la Industria Alimentaria (2000).



El diseño de un equipo o instalación se considera “higiénico” si éste incorpora características que reducen o eliminan el riesgo de constituir una fuente de contaminación para los productos, tanto de forma directa como indirecta (PASCUAL VIDAL, 2013). Este concepto aplica a todo tipo de maquinaria de manufactura empleada en procesos en que puedan ocurrir riesgos higiénicos (ISO, 2016). La norma ISO 14159:2002 da a conocer las características de los equipos de manufactura para que éstos puedan considerarse diseñados higiénicamente, los cuales se puntualizan en seguida.

3.6.1.1. Generalidades de los materiales de construcción.

Los materiales destinados a equipos de diseño higiénico, deben cumplir las siguientes características (IQS, 2008; PASCUAL VIDAL, 2013).

- Ser adecuados para el uso previsto.
- Ser duraderos, lavables y, si es necesario, con la capacidad de ser sanitizados sin sufrir daño alguno a su integridad: como lo es la formación de grietas y astillas, la descamación, la erosión, la corrosión, y la abrasión.
- Ser resistentes ante el contacto con el producto en cualquiera de sus fases sin causar daño adverso a éstos, y ante los efectos de los procesos de limpieza y sanitización, sin causar efectos adversos.
- Ser resistentes a cambios de temperatura, ya sea en proceso de manufactura o de limpieza.
- Contar con una mínima capacidad de adsorción de partes de productos con los que se tengan contacto.

De todos los materiales recomendados por la Norma, los metales, en especial el acero inoxidable (ver Tabla 6), reúne todas estas características, al ser relativamente estable con respecto a otros componentes, dependiendo de las condiciones en las que se encuentra expuesto. Dicho material se puede clasificar en tres grandes familias (DIONICIO PADILLA, 2000):

Tabla 6. Características de los diferentes tipos de acero inoxidable. Fuente: DIONICIO PADILLA, Aplicaciones de los aceros inoxidables (2000).

Familia	Composición	Características y Propiedades	Ejemplos
Ferríticos	Ferrita. Cromo (12-29%.) Níquel (<2%)	Económicos. Magnéticos, buena ductilidad, no muy fáciles de soldar. Resistencia a: corrosión y oxidación a temperaturas elevadas, corrosión bajo tensión, corrosión por picaduras y resquicios en medios halogenados.	<ul style="list-style-type: none"> • AISI 430 (17% Cr): aleación multipropósito. • AISI 444 (18% Cr, 2% Mo): mejor resistencia a la corrosión por picaduras y resquicios.
Austeníticos	Granos de austenita. Cromo (12-18%) Níquel (<10%)	Grupo más popular. No magnéticos, endurecibles por conformado en frío pero no por tratamiento térmico. Excelente resistencia a la corrosión, buena conformalidad, fácilmente soldables.	<ul style="list-style-type: none"> • AISI 304 (19% Cr, 10% Ni): buena resistencia a la corrosión atmosférica. Empleado significativamente en industria química, alimentaria y médica. • AISI 316 (17% Cr, 12% Ni, 2% Mo): resistencia mayor a la corrosión por picaduras. Empleado en industrias de papel, alimentaria y médica.
Martensíticos	Marsenita. Carbono (0.15-1%) Cromo (12-18%)	Pueden templarse y revenirse, alcanzando durezas elevadas con alta resistencia a la corrosión.	<ul style="list-style-type: none"> • AISI 410 (12% Cr, 0.15% C, 1% Mn): fabricación de pernos, ejes de bombas, alabes de turbinas de gas y vapor.

Otros metales empleados en la industria son el acero al carbón, cobre, el aluminio, y los materiales con superficie galvanizada (MSU, 2010). De igual forma, existen no metales que cumplen con los requisitos, como lo puede ser el vidrio, la madera, el concreto, los polímeros, siliconas, y gomas (WILDBRETT, 2000). Un tópico de gran escala respecto de los materiales es el deterioro que éstos sufran por una limpieza o una sanitización mal ejecutada. La selección de los materiales de construcción de un sistema por el que corre un fluido depende de dos factores: las características del proceso, el conocimiento de las especificaciones, y el comportamiento de los materiales expuestos a diversos ambientes. (PERRY, 2008).

La corrosión es un término aplicable para los materiales metálicos y no metálicos por igual. Los metales y sus aleaciones tienden a reaccionar químicamente con los elementos del medio corrosivo para formar compuestos estables por medio de acción electrolítica, formando compuestos que se denominan productos de la corrosión. Por otra parte, la corrosión en los no-metales ocurre por cambios fisicoquímicos, y pueden resultar o no afectados al ser expuestos en ambientes particulares (PERRY, 2008). Cada material cuenta con una resistencia determinada ante varios tipos de ambientes. El acero inoxidable es la aleación metálica por excelencia, resistente a la corrosión y oxidación, una elevada resistencia mecánica, y una superficie lisa fácil de limpiar. Además cuenta con una variedad de “grados” distintos (304, 306, 316, etc.), que ofrecen defensas ante las condiciones en los que quedan expuestos. Cabe mencionar que los materiales poseen sus debilidades en situaciones específicas: el acero inoxidable es atacado parcialmente por ácidos fuertes y compuestos clorados (REZQUELLAH, 2015).

Para evitar la corrosión y desgaste de los materiales a causa de su lavado y sanitizado, es posible recurrir a acciones correctivas y preventivas (WILDBRETT, 2000):

- Adaptación de precauciones en el proyecto e instalación. La mejor solución preventiva para la corrosión es la adaptación de los materiales óptimos para el proceso, bajo un régimen de diseño higiénico. Así mismo, los materiales pueden ser sometidos a un tratamiento para protegerlos de un ambiente corrosivo, como medida correctiva y preventiva.
- Anulación o sustitución de sustancias limpiadoras o sanitizantes.
- Práctica racional de la limpieza y sanitización.

3.6.1.2. Características de construcción.

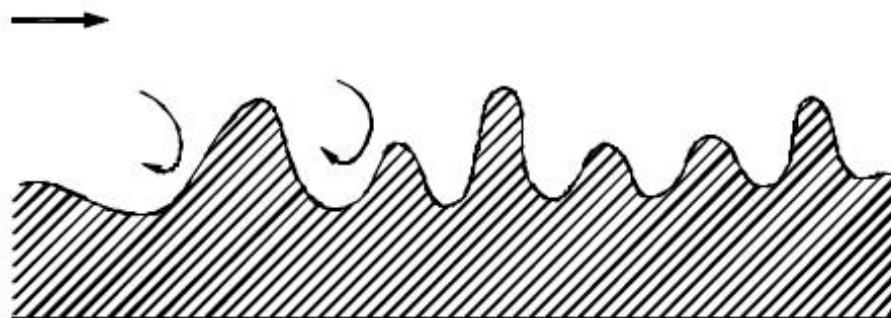
Una de las características de los materiales es que puedan ser lavables y sanitizables. Se exige un contacto directo y sin obstáculos de las superficies que vayan a contactar con el producto y con las sustancias empleadas en su proceso del limpiado y sanitizado. Es recomendable evitar los espacios muertos, la acumulación de residuos de producto o de limpieza, y puntos de difícil acceso, así como las grietas y ranuras. Aquellas secciones de la maquinaria que presentan cierres de rosca o a presión son un ejemplo, al dejar resquicios. Si se tienen dispositivos rellenos, válvulas, o aparatos medidores, éstos deben desmontarse de manera sencilla para su limpieza. Si se cuenta con un equipo en el cual sobresalen partes para el mantenimiento de su estructura, como remaches, éstos representan un punto de acumulación de contaminantes, sobre todo si entran en contacto con el producto. Las uniones por soldadura deben ser estancas y uniformes, eludiendo así estancamientos. (WILDBRETT, 2000). Los tanques deben contar con un fondo cónico, práctico de drenar, sin posibilidades de generar estancado de material y residuos (PASCUAL VIDAL, 2013).

3.6.1.3. Textura de los materiales.

La textura de los mismos juega un papel crítico. Cada superficie tiene su propia aspereza o rugosidad que depende del material que está hecho y de su estado de conservación. Generalmente, las superficies lisas son más higiénicas que las rugosas y agrietadas. Las asperezas poseen diferentes formas y tamaños (véase la Figura 10), y dan lugar a la aparición de pequeñas corrientes secundarias que originan vórtices (ROCHA FELICES, 2007).

Una limpieza eficaz evita especialmente la presentación de signos de deterioro del material, que representan un efecto nocivo que se manifiesta de dos maneras: primero, los contaminantes se acumulan en las aperturas (grietas), y en segundo plano tanto la adherencia mecánica como la suciedad son intensificadas, y la única forma de remover ambas es con procesos que requieran mayor esfuerzo como el tallado (WILDBRETT, 2000). Los especialistas en sanidad deben estar muy familiarizados con todos los acabados empleados en equipos e instalaciones, y están obligados a saber qué método es el más adecuado para la remoción de la contaminación. En ciertos casos, es recomendable acudir con un consultor o entendido en limpieza y sanitización para un asesoramiento pertinente y adecuado (MARRIOTT, 2003).

Figura 10. Aspereza del contorno de un material rugoso. Fuente: ROCHA FELICES. Hidráulica de Tuberías y Canales (2007).



3.6.2. Efectos mecánicos.

Con el fin de separar la suciedad de una superficie, deben vencerse las fuerzas de adherencia establecidas en ambos componentes. Se requiere un trabajo complementario de “fuerzas mecánicas”. Además del trabajo manual de limpieza, es imperativo aprovechar la energía cinética del líquido limpiador como elemento mecánico efectivo.

Se pueden tratar los efectos mecánicos sobre dos sistemas. En los sistemas cerrados, como las tuberías, el fluido se halla confinado en un conducto cerrado, debido a la presión ejercida sobre las paredes (ROCHA FELICES, 2007). Para lograr una limpieza eficaz, es necesario que el líquido tenga un flujo turbulento. Casi todos los flujos que se encuentran en ingeniería son turbulentos, no laminares (BIRD, 2010), especialmente si las materias primas de los productos a manufacturar, así como las sustancias limpiadoras o sanitizantes, poseen viscosidad baja.

Como consecuencia de la fricción, la cual su vez es debida a la viscosidad, se desarrolla una subcapa laminar que determina una disipación de energía – la denominada pérdida de carga. Si las paredes no son lisas, sino rugosas, no se forma esta subcapa, y sin embargo existe pérdida de energía por rozamiento y formación de vórtices en las paredes de la tubería (ROCHA FELICES, 2007). En la práctica, basta la regla general de que la velocidad de la corriente utilizada para limpiar sistemas cerrados debe ser alrededor del doble de la del producto. Esta velocidad debe permitir un tránsito suficiente del líquido por los espacios muertos. Además, éstos se limpian y sanitizan mejor con enjuagados intermitentes, de forma parcial. (WILDBRETT, 2000).

Los desvíos de la corriente líquida mediante estrechamientos transversales o arqueaduras de los tubos, aumentan bastante resistencia a la corriente, que por consecuencia originan una considerable pérdida de presión y una menor velocidad de corriente. Los lavados intermitentes permiten una mejora en la limpieza y la sanitización de estas áreas.

Un método de limpieza común es la aplicación de un chorro o una pulverización. Si el chorro empleado incide sobre partículas de suciedades sólidamente adheridas y no deformables, se genera una presión estática sobre las paredes del sistema. Al aumentar la presión con la que actúa la solución limpiadora o sanitizante, se acelera el proceso de limpieza o sanitización. No obstante, la fuerza del chorro disminuye si la distancia de la fuente de este chorro y la pared incrementa considerablemente (WILDBRETT, 2000). Un chorro de pocos kilogramos de presión actúa de forma insignificante si se quiere limpiar toda la superficie interna de un tanque de 20 toneladas de capacidad.

Otro efecto mecánico es el efectuado por la denominada limpieza mediante ultrasonido. Se trata de equipos que pueden ser adyacentes a algún equipo crítico de manufactura, preferentemente tanques. Estos contienen un generador que da energía a un transistor, el cual vibrará a frecuencias ultrasónicas que causan la formación de burbujas de vacío que hagan implosión en contacto con la superficie del tanque, liberando a las partículas adheridas (TOVATECH, 2017).

Unas cifras de microorganismos reducidos en superficies sólidas no obedecen a su destrucción térmica o química, puesto que parte de éstos son arrastrados por la corriente limpiadora o sanitizante. Cada operación de limpieza reduce la cifra inicial de microorganismos existentes en una superficie. Considerada cuantitativamente, ésta es incluso la fracción principal, como mínimo el 90% de remoción (WILDBRETT, 2000).

3.6.3. Productos químicos a emplear.

Para una limpieza y sanitización óptimas, a veces no basta con el chorro de agua a presión, o cepillar la suciedad de una superficie para decir que algo se encuentra limpio. Por lo cual, es recomendable el uso

de sustancias químicas limpiadoras y sanitizantes que sirvan de apoyo mayor para mantener su higiene por periodos largos de tiempo.

3.6.3.1. Agua.

Además de ser una materia prima por excelencia, el agua es el medio de limpieza utilizado con mayor frecuencia en la eliminación de suciedad. (MARRIOTT, 2003). El origen del agua utilizada por un establecimiento industrial depende de la ubicación del mismo, y por consiguiente varía su composición. El agua para uso industrial puede provenir de algún pozo propio, de fuentes subterráneas o superficiales, o de una red general como la surtida por región, localidad, o municipio (KIERMEIER, 2000). Las fábricas actuales recurren al uso de agua potable como agente limpiador para los sistemas que así lo requieran, puesto que su composición no debe afectar la salud de tanto producto como consumidor.

Existen estándares para la calidad del agua potable para uso industrial a nivel regional. En México, susodichos parámetros están regidos por la Norma NOM-127-SSA1-1994, revisada y modificada por última ocasión en el año 2000. Este documento contiene los límites permisibles para tres aspectos del agua: características físicas y organolépticas, características químicas, y microbiología.

Para el uso limpiador de este vital líquido, las siguientes características deben ser consideradas.

- **Composición.** El agua actúa como disolvente de sustancias iónicas, sobre todo las sales de los metales alcalinos y alcalinotérreos, así como de los aniones comunes como el cloruro y el sulfato. (RAYNER-CANHAM, 2000). Respecto de estos minerales, la NOM-127-SSA1-1994 establece los límites que se pueden apreciar en la Tabla 7. Los integrantes principales del agua son minerales como nitratos, sulfatos, cloruros, calcio, y magnesio (KIERMEIER, 2000). El agua que contiene un exceso de los últimos dos iones, se le llama agua dura, provocando que su uso sea inadecuado para la industria al generar depósitos minerales en las superficies de contacto, como el interior de las tuberías de paso (BROWN et al, 2009). El grado de dureza depende de la naturaleza por donde discurre., siendo éste el motivo por el cual el grado de dureza fluctúa en un rango de aceptación amplio (KIERMEIER, 2000).
- **Especificaciones.** El agua para limpiar y sanitizar debe tener un estándar mínimo de especie y número de microorganismos, puesto que emplear agua con carga microbiana representa un peligro mayor, en especial si el microorganismo resultase ser patógeno (véase Tabla 8). Así mismo, debe ser incolora e insípida, bajo los parámetros dados por la Norma aplicable en cuestión (véase Tabla 9). Las funciones que cumple el agua como agente limpiador son (MARRIOTT, 2003):
 - ✓ Enjuagado previo para eliminar partículas grandes de suciedad.
 - ✓ Humedecer (o reblandecer) la suciedad depositada (véase el punto 3.2.6).
 - ✓ Transportar el compuesto limpiador o sanitizante, y de la contaminación en suspensión, según sea el caso.

- ✓ Suspensión de la suciedad a eliminar.
- ✓ Enjuague del compuesto limpiador.

Tabla 7. Límites permisibles de características químicas para agua potable. Fuente: NOM-127-SSA1-1994 (modificada en 2000), Secretaría de Salud.

Característica	Límite Permissible	Característica	Límite Permissible
Aluminio	0.200 mg/l	Manganeso	0.150 mg/l
Arsénico	0.025 mg/l	Mercurio	0.001 mg/l
Bario	0.700 mg/l	Nitratos	10 mg/l
Cadmio	0.005 mg/l	Nitritos	1.000 mg/l
Cianuros (CN ⁻)	0.070 mg/l	Nitrógeno amoniacal	0.500 mg/l
Cloro residual libre	0.200 - 1.500 mg/l	Plaguicidas (Aldrin y dieldrin, DDT, Gamma-HCH)	0.030 - 30 µg/l
Cloruros (Cl ⁻)	250 mg/l	Plomo	0.010 mg/l
Cobre	2.000 mg/l	Sodio	200 mg/l
Cromo total	0.050 mg/l	Sólidos disueltos	1000 mg/l
Dureza total (CaCO ₃)	500 mg/l	Sulfatos (SO ₄ ⁻²)	400 mg/l
Fenoles o compuestos	0.300 mg/l	Sustancias activas al azul de metileno	0.500 mg/l
Fierro	0.300 mg/l	Yodo residual libre	0.200 - 0.500 mg/l
Fluoruros (F ⁻)	1.500	Zinc	5.000 mg/l
Hidrocarburos aromáticos (benceno, etilbenceno, tolueno, xileno)	10 - 500 µg/l	pH	6.500 - 8.500

Tabla 8. Límites permisibles de características microbiológicas para agua potable. Fuente: NOM-127-SSA1-1994 (modificada en 2000), Secretaría de Salud.

Característica	Límite Permissible
Microorganismos coliformes totales (bacilos que producen ácido y gas)	Ausencia o no detectables
E. coli o coliformes fecales	Ausencia o no detectables

Tabla 9. Límites permisibles de características físicas y organolépticas para agua potable. Fuente: NOM-127-SSA1-1994 (modificada en 2000), Secretaría de Salud.

Característica	Límite Permissible
Color	20 unidades de color verdadero, en escala de platino-cobalto (incolora)
Olor y sabor	Agradable. Se aceptarán valores tolerantes para los consumidores, que no sean resultado de condiciones objetables biológica y químicamente).
Turbiedad (transparencia del agua)	5 UTN, (unidad de turbiedad nefelométrica) o su equivalente a otro método (ej. espectrometría)

- **Preparación.** En ocasiones, resulta indispensable acondicionar las características del agua a las exigencias especiales, de acuerdo a lo que el establecimiento requiera. Algunos métodos conocidos son los siguientes (KIERMEIER, 2000):
 - ✓ Clarificación. Además de mejorar su aspecto, eliminan sustancias insolubles en suspensión, las que flotan, y las que forman coloides. Se practican procedimientos como la sedimentación, floculación, tamizado, o combinaciones.
 - ✓ Clorado. Es el procedimiento más útil de esterilización y remoción de sustancias sápidas y olorosas. El cloro disuelto suele tener sus inconvenientes, provocando reacciones indeseables, como la corrosión y formación de componentes dañinos para la salud del producto y las instalaciones. En ocasiones, seguido de una cloración, es preciso desclorar.
 - ✓ Ablandamiento. Se trata de la eliminación de iones que forman el agua dura. El proceso de cal-carbonato es el más empleado para el ablandamiento del agua a gran escala. Consiste en el tratamiento con cal activada o apagada seguido de carbonato de sodio, para precipitar los iones de calcio y magnesio. Otro método es el intercambio iónico, en el cual el agua se hace pasar por columnas que contienen un lecho de resinas, que eliminan iones bivalentes a cambio de iones con cargas simples (BROWN et al, 2009).
 - ✓ Desalinización. Consiste en la eliminación de sales de aguas salobres para hacerla más aprovecharle para el consumo. Suele preceder al proceso de ablandamiento, puesto que se libera el agua con iones de sodio. Se puede destilar o, en industrias más modernas, realizar ósmosis inversa (BROWN et al, 2009).

La sanitización térmica con agua se aplica de dos formas (MARRIOTT, 2003; JAWETZ et al, 2016):

- **Vapor.** Las bacterias mueren con mayor rapidez cuando se humedecen. El vapor distribuye el calor en todas las áreas del material que se esté sanitizando. Este método es caro por el costo de la energía requerida, y por lo común resulta ineficaz si no se llega a la temperatura óptima para que ejecute su acción bactericida.
- **Agua caliente.** De igual forma es eficiente, si la temperatura del agua se mantiene constante en el tiempo de sanitización y en todas las superficies, lo cual aumenta la energía y el número de instrumentos adicionales para dicha tarea. La temperatura del agua determina el tiempo necesario para asegurar la disminución de microorganismos. Varias plantas han adaptado dos combinaciones: 80°C por 20 minutos, y 85°C por 15 minutos. Tiempos más cortos requieren temperaturas más elevadas. El volumen y la velocidad del flujo del agua afecta sobre el tiempo requerido, la distancia recorrida del material, y la pérdida de calor en el agua por el fenómeno de transferencia de calor.

3.6.3.2. Agentes limpiadores.

Los compuestos limpiadores son productos fabricados especialmente para llevar a cabo determinadas tareas. Un buen producto limpiador debe reunir las siguientes características (WILDBRETT, 2000; MARRIOTT, 2003; ALZATE TAMAYO, 2011):

- ✓ Alta efectividad.
- ✓ Fácil y completa solubilidad con el agua. Fuertemente hidrofílico para mantener en suspensión acuosa la suciedad removida.
- ✓ Fácil dosificación y enjuague.
- ✓ Alta tolerancia por los materiales con los que entran en contacto.
- ✓ Sin presencia de toxicidad.
- ✓ Menor corrosividad posible.
- ✓ Estable durante su manejo y almacenamiento.
- ✓ Escasa a nula formación de espuma, salvo excepciones.
- ✓ Suficiente tolerancia de aguas duras.
- ✓ Cargar lo menos posible las aguas residuales.
- ✓ Ser económico.
- ✓ Presentar el menor peligro y contaminación para el personal que lo maneje.

Los requisitos de un limpiador varían de acuerdo con la zona y el equipo que se han de limpiar. Los factores a influir sobre los agentes limpiadores son: el tiempo de contacto con la superficie a limpiar, el método de aplicación y la fuerza física aplicada en el área de interés, la concentración del limpiador, la temperatura de operación, el entrenamiento y la experiencia del operador que realiza la actividad, la composición de la suciedad, las características del agua, y el tipo de material que se somete a este proceso (MARRIOTT, 2003).

Entre los compuestos limpiadores más empleados en la industria, existen los que se enuncian a continuación en la Tabla 10:

Tabla 10. Compuestos limpiadores comúnmente empleados en los procesos de limpieza por las industrias. Fuentes: (1): REZQUELLAH, 2015; (2): ALZATE TAMAYO, 2011; (3): MARRIOTT, 2003; (4): WIDBRETT et al, 2000.

Alcalinos			
pH superior a 7.0, actúan sobre la solubilización y desagregación de la suciedad ⁽¹⁾ ; empleados en la remoción de suciedad insoluble, primordialmente lípidos (grasas y aceites) ⁽²⁾			
Tipo	Características	Ejemplos	Usos
Fuertes	Fuerte capacidad disolvente. Altamente corrosivos, en polvo o en solución. Actúan mediante saponificación. Elevada acción antimicrobiana. Uso a temperatura ambiente ⁽³⁾	Hidróxidos monovalentes (NaOH, KOH) Silicatos de elevada proporción (N ₂ O:Si ₂ O)	Remoción de sustancias pesadas solubles.
De intensidad media	Moderada capacidad disolvente. Ligera o nula corrosividad. Buena emulsificación. Aplicación mediante presión. Uso a temperatura ambiente ⁽³⁾	Metasilicato de sodio, hexametáfosfato de sodio, pirofosfato sódico, carbonato de sodio, fosfato trisódico.	Remoción de partículas solubles de menor tamaño.
Débiles	Escasa capacidad disolvente. Presentes en solución acuosa. Acción ablandadora de agua, salvo en depósitos minerales. ⁽³⁾	Bicarbonato de sodio, sesquicarbonato sódico, pirofosfato tetrasódico, quelantes. Surfactantes.	Lavado a mano de áreas no muy sucias.
Con cloro activo	Se encuentran en solución. Poseen alta capacidad sanitizante por la liberación de cloro. ⁽⁴⁾	Hipoclorito de sodio. Hipoclorito de potasio. ⁽⁴⁾	Eliminación de moléculas de gran tamaño o conglomeradas.
Ácidos			
pH inferior a 7.0, utilizados para eliminar sales alcalinas, alcaloides, azúcares, y sales calcáreas. Empleados para extraer depósitos minerales residuales, o para neutralizar un limpiador alcalino. ⁽¹⁾			
Tipo	Características	Ejemplos	Usos
Fuertes	Altamente corrosivos. Usados con inhibidores de corrosión. Uso recomendado a temperatura ambiente. ⁽³⁾ Polvo o en solución. ⁽²⁾	Ácido clorhídrico, fluorhídrico, sulfámico, sulfúrico, nítrico (fuertes) Ácido fosfórico (baja corrosividad)	Eliminar materias incrustadas y costras minerales.
Débiles	Suavemente corrosivos. Se emplean junto con agentes humectantes e inhibidores de corrosión. ⁽³⁾	Ácido levulínico, hidroxiacético, acético, glucónico. Ácidos orgánicos. ⁽³⁾	Eliminar suciedades pesadas. 'Ablandan' agua.

Tabla 10. (CONT.) Compuestos limpiadores comúnmente empleados en los procesos de limpieza por las industrias. Fuentes: (1): REZQUELLAH, 2015; (2): ALZATE TAMAYO, 2011; (3): MARRIOTT, 2003; (4): WIDBRETT et al, 2000.

Tensoactivos/Surfactantes			
Moléculas compuestas por una parte hidrofóbica y otra hidrofílica. Bajan la tensión superficial de la solución, formando micelas que resultan en partículas solubles en suspensión. ⁽⁴⁾			
Tipo	Características	Ejemplos	Usos
Ionógeno catiónico	Forman cationes en solución acuosa. Alta acción bactericida. ⁽³⁾	Cuaternarios de amonio. ⁽⁴⁾ Grupos alquil-carboxilato, grupos alquil-sulfatos. ⁽⁴⁾	Eliminación de suciedad sin formación de grumos, al no coagular en aguas duras.
Ionógeno aniónico	Forman aniones en solución acuosa. Excelente agente humedecedor. Compatible con agentes alcalinos. ⁽³⁾ Biodegradables ⁽²⁾	Triálquil-benzil-amonio halogenado, alquil-piridio halogenado. ⁽⁴⁾	
Ionógeno Anfótero	Forman cationes y aniones en solución acuosa. ⁽⁴⁾	Betaína, aminoalquil-aminoácido. ⁽⁴⁾	
No Ionógeno	No tienen carga eléctrica en solución acuosa. Efectivos en medio ácido u alcalino. ⁽³⁾ No les afecta la dureza del agua. ⁽⁴⁾	Alquil-fenol-oxetilato, alcohol etoxilato graso, etoxi-propoxi-polimerizado. ⁽⁴⁾	
Coadyuvantes			
Aditivos para proteger superficies sensibles o mejorar las propiedades limpiadoras. ⁽³⁾			
Tipo	Características	Ejemplos	Usos
Ácidos	Se maneja en bajas concentraciones. Ácidos no muy fuertes. ⁽³⁾	Ácido fosfórico, ácido oxálico, ácido cítrico, ácido glucónico, bisulfito de sodio. ⁽³⁾	Limpieza de superficies sensibles a álcalis y metales ligeros.
Coloides y agentes suspensores	Son hidrofílicos, se les conoce de igual forma como espesantes. Actúan como agentes reductores u oxidantes. ⁽³⁾	Sales de celulosa, silicatos coloidales, dicromato sódico, bórax, sulfito/metabisulfito de sodio, fluorosilicato de sodio. ⁽³⁾	Inhiben corrosión de hierro, acero, estaño, aluminio, y cristal.

3.6.3.3. Agentes sanitizantes.

Un agente sanitizante cuenta con la función de reducir la contaminación microbiana del medio, así como evitar la proliferación de estos organismos (ALZATE TAMAYO, 2011). Otro uso importante para estos agentes es la protección de superficies de contacto de la formación de acumulación de suciedad, desgaste, y deterioro causado por biopelículas (FORERO VARGAS, 2008).

Al igual que con los productos limpiadores, los agentes sanitizantes deben cubrir un número de requisitos generales (WIDBRETT, 2000; FORERO VARGAS, 2008; ALZATE TAMAYO, 2011):

- Amplio espectro de acción y efecto comprobado frente a los microorganismos a eliminar.

-
-
- Baja toxicidad.
 - Buena solubilidad, miscibilidad y dosificación.
 - Facilidad de dispersión para conseguir contactos completos entre el activo y los microorganismos.
 - Indiferencia a la inclusión de suciedades.
 - Estabilidad ante su manejo y almacenamiento.
 - No ser corrosivos.
 - Inodoros o con olor aceptable.
 - Formar capa protectora antiséptica y de buena duración.
 - No debe dejar influencia alguna sobre el producto a fabricar.
 - Ser económico.
 - Inocuidad de los residuos y aguas residuales.
 - Presentar el menor peligro y contaminación para el personal que lo maneje.

La eficacia de los agentes sanitizantes se ve influida por una serie de factores, como ocurre similarmente con los limpiadores. Dichos parámetros se ven relacionados directamente sobre las especies microbianas con las que interactúan, así como de la superficie y equipo a sanitizar, y son la superficie de contacto, la temperatura de la solución, el pH del entorno, la selectividad del sanitizante, la concentración de empleo, la limpieza previa del equipo y la compatibilidad con el limpiador, la dureza del agua, y la adherencia bacteriana (MARRIOT, 2003; MSU, 2010; ALZATE TAMAYO, 2011).

En la Tabla 11 que se muestra en seguida, se tiene un compilado de los sanitizantes más empleados en las industrias.

Tabla 11. Compuestos sanitizantes comúnmente empleados en los procesos de sanitización por las industrias. Fuentes: (1): MARRIOTT, 2003; (2): ALZATE TAMAYO, 2011; (3): JAWETZ, 2016; (4): WIDBRETT et al, 2000; (5): FORERO VARGAS, 2008.

Agentes liberadores de halógenos			
Fuertes agentes oxidantes para atacar y destruir sustancias orgánicas, siendo ésta la propiedad más adecuada para operaciones de sanitización. ⁽¹⁾			
Tipo	Características	Ejemplos	Usos
Compuestos clorados	Alta acción sanitizante. Operan mejor a pH bajo. Baratos, no afectables por aguas duras. ⁽¹⁾ No recomendable para limpiezas de metales sin recubrimiento ⁽²⁾ Empleo a temperatura ambiente. ⁽⁴⁾	Hipoclorito de sodio o calcio, dióxido de cloro, cloroisocianuratos. Cloraminas inorgánicas y orgánicas. ^{(1) (3)}	Sanitización de superficies bajo efectos mecánicos. Tratamiento de aguas.
Compuestos yodados	Bactericidas de acción rápida. ⁽³⁾ Poco menos eficientes que el cloro. En solución acuosa con 25-30% de concentración. Larga vida comercial. ⁽¹⁾ Se manejan a temperatura ambiente. ⁽⁴⁾	Yodo libre, ácido hipoyodoso, yodóforos (complejos de yodo). ⁽¹⁾	Sanitización bajo efectos mecánicos. Sanitización de manos.
Compuestos de bromo	Idéntica acción al cloro. ⁽⁴⁾ Auxiliar en compuestos clorados, aumentando su eficacia. ⁽¹⁾ Uso a temperatura ambiente. Olor penetrante. ⁽⁴⁾	Bromo libre (gas o solución acuosa al 3.5%) ⁽¹⁾ Compuestos orgánicos con bromo. ⁽⁴⁾	Tratamiento de aguas.
Agentes oxidantes productores de oxígeno (compuestos “per”)			
Cabe esperar de estos medios oxidantes una acción antimicrobiana equiparable a la de los halógenos. Utilizados de forma análoga al cloro activo. ⁽⁴⁾			
Tipo	Características	Ejemplos	Usos
Peróxido de hidrógeno	Amplio espectro contra microorganismos en solución de 10 – 30%. ⁽³⁾ No deja residuos. Contiene estabilizadores para manejo con metales pesados. ⁽⁴⁾	N/A	Sanitización bajo efectos mecánicos.
Perácidos orgánicos	Amplio espectro contra microorganismos. Altamente corrosivos. ⁽⁵⁾ Se emplean a bajas concentraciones (2-10%). Posee olor fuerte. Uso en frío. ⁽⁴⁾	Ácido peracético. Ácido perfórmico. ⁽⁴⁾	Sanitización bajo efectos mecánicos.
Per-compuestos inorgánicos.	Suelen ir en combinación con otros agentes y procesos limpiadores y sanitizantes. ⁽⁴⁾	Permanganato de potasio, peróxido de sodio. Ácido peroxisulfúrico. Ozono. ⁽⁴⁾	Auxiliares en sanitización Tratamiento de aguas.

Tabla 11. (CONT.) Compuestos sanitizantes comúnmente empleados en los procesos de limpieza por las industrias. Fuentes: (1): MARRIOTT, 2003; (2): ALZATE TAMAYO, 2011; (3): JAWETZ, 2016; (4): WIDBRETT et al, 2000; (5): FORERO VARGAS, 2008.

Compuestos orgánicos			
Compuestos derivados del carbono, con destacada acción sanitizante por múltiples mecanismos de acción.			
Tipo	Características	Ejemplos	Usos
Aldehídos	Compuestos orgánicos con actividad reductora. ⁽²⁾ Antiséptico poderoso contra microorganismos y sus esporas. ⁽³⁾ Empleado en baja concentración (2%). Olor penetrante, irritante. ⁽²⁾ Uso en precaución, cancerígenos. ⁽⁵⁾	Formaldehído. Glutaraldehído.	Sanitizante y desodorizante.
Alcoholes	Remueven el agua de los sistemas biológicos. Amplio espectro bactericida. Disueltos en solución del 60-90%. ⁽³⁾	Alcohol etílico. Alcohol isopropílico. n-propanol. ⁽³⁾	Sanitizante de superficies de trabajo.
Compuestos fenólicos	Reconocida sanitización a bajas concentraciones. Olor, sabor, y toxicidad característicos. ⁽⁴⁾ No corrosivos con metal, no dejan residuos. ⁽⁵⁾	Fenol. Cresoles, xilenoles, derivados halogenados. ⁽⁴⁾	Sanitización de superficies de trabajo.
Productos superficieactivos.			
Reducen la tensión superficial de la solución acuosa frente a otras fases, desarrollando un efecto humectante y emulsionante. ⁽⁴⁾			
Tipo	Características	Ejemplos	Usos
Compuestos de amonio cuaternario	Selectivos en la destrucción de diversos microorganismos. Inhiben el crecimiento de esporas. ⁽¹⁾ Estabilidad, poca corrosividad, sin olor y sabor, baja toxicidad, penetran superficies porosas. ⁽²⁾ No deben combinarse con otros agentes. ⁽¹⁾	Cloruro de alquil-dimetil-benzilamonio. Cloruro de alquil-dimetil-etil-benzilamonio. ⁽¹⁾	Sanitización de suelos, paredes, herramienta, y equipo.
Tensoactivos anfóteros	Parecidos a los compuestos de amonio cuaternario. Reaccionan como tensoactivos catiónicos o aniónicos bajo cambios en pH. ⁽⁴⁾	Betaína, aminoalquil-aminoácido. ⁽⁴⁾	Sanitización de superficies abiertas.
Compuestos de metales pesados	Algunos poseen efecto oligodinámico (eliminación de sulfuros y nitratos de superficies). Eficacia limitada por cloruros y presencia de excesiva sustancia orgánica. ⁽⁴⁾	Sulfadiazina de plata. Plata metálica. Plata coloidal. Nitrato de plata. ⁽⁴⁾	Tratamiento de aguas.
Álcalis y ácidos	Aprovechan los cambios en pH del ambiente microbiológico, actuando con gran fuerza. Pueden matar esporas. ⁽⁴⁾	Ácido carboxílico, ácido peroxiacético. ⁽¹⁾ Ácido sulfúrico, ácido nítrico. Hidróxido de sodio/potasio. ⁽⁵⁾	Sanitización de superficies.

3.6.3.4. Efectos y consecuencias de los limpiadores y sanitizantes.

El deseo de tener un limpiador universal para la remoción de todo contaminante resulta más una meta inalcanzable. Las características y especificaciones de uso de un limpiador y un sanitizante que vienen disponibles por parte del fabricante son cruciales para su aplicación y seguimiento, puesto que es probable que sucedan varias situaciones desfavorables (WILDBRETT, 2000)

Puede ser que el químico no sea compatible con el material de contacto, lo cual puede provocar una reacción perjudicial – véase la Tabla 12. Es importante contemplar que la limpieza y la sanitización no deben exceder los límites económicos y ecológicos convenientes, por lo que su uso frecuente y la concentración empleada en cada actividad debe ser evaluada en pos de los límites permisibles por el fabricante, y las consideraciones de ingeniería, de formulación y de seguridad, en referencia a la interacción con los equipos, con el producto y con el operador que lo maneje.

Tabla 12. Ejemplo de agenda recomendada de limpieza y sanitización de superficies de acuerdo al tipo de material. Fuente: MICHIGAN STATE UNIVERSITY, Cleaning and Disinfection. (2010).

Tipo de superficie	Sustancia recomendada de limpieza	Frecuencia de uso
Acero Inoxidable	Alcalina, no abrasivo	Diaria
	Ácida, no abrasivo	Semanal
Metales (cobre, aluminio, superficies galvanizadas)	Alcalina de intensidad media, con inhibidores de corrosión	Diaria
Madera	Tensoactivos	Diaria
Gomas y empaques	Alcalina	Diaria
Vidrio	Alcalina de intensidad media	Diaria
Piso de concreto	Alcalina	Diaria

3.6.4. Temperatura.

Los efectos de la temperatura en la limpieza pueden resultar beneficiosos, así como perjudiciales, en los procesos de limpiado y sanitizado. La Tabla 13 muestra los efectos potenciales que la interacción entre los agentes químicos con la temperatura de operación.

El curso de la limpieza viene determinado por fenómenos de difusión, los cuales se dividen en tres etapas: la difusión de la sustancia limpiadora en la suciedad, la reacción con esta última, y la retro-difusión de los productos de dicha reacción a la solución limpiadora. En cada etapa, el aumento y la disminución de la temperatura tienen fuerte influencia. Por otra parte, la temperatura puede afectar negativamente al cambiar características de la contaminación misma. La suciedad puede formar un estrato de revestimiento poco permeable con la solución limpiadora, que dificulte la operación. Así mismo, el agente limpiador tiende a perder propiedades ante la presencia de temperaturas elevadas, por lo que siempre es recomendable verificar y seguir las recomendaciones del fabricante (WILDBRETT, 2000).

En cuanto a la sanitización, la temperatura es un fundamento trascendente. Todos los sanitizantes comunes aumentan su actividad al incrementar la temperatura, la cual aumenta la velocidad de reacción con la suciedad. Sin embargo, igualmente disminuye la tensión superficial de la solución sanitizante, se incrementa el pH, y se generan otros cambios más que mejoran la remoción de microorganismos. En consecuencia, cabe la posibilidad de la pérdida de los activos sanitizantes por evaporación, y los vapores y gases liberados resultan nocivos para la salud e integridad del personal y las instalaciones (MSU, 2010).

Tabla 13. Efectos de las altas temperaturas de los agentes químicos sobre la eficacia de la limpieza y la sanitización. Fuente: WILDBRETT et al, Limpieza y Sanitización en la Industria Alimentaria (2000).

Efectos positivos	Efectos negativos
Menor capacidad adhesiva	Mala eliminación de la suciedad formada por moléculas complejas acumuladas
Disminuye viscosidad de la suciedad	Menor capacidad captadora de suciedad de sustancias lípidas
Funde suciedad grasa	Menor solubilidad de sustancias responsables de la dureza del agua
Aceleran la difusión del agente limpiador o sanitizante	Pérdida gradual del agente químico por calentamiento
Acelera el efecto de imbibición de partículas	Posible liberación de gases nocivos por evaporación de los activos químicos
Acelera las reacciones químicas y físicas de la suciedad física y microbiológica	Pérdida de calor gradual por el tramo recorrido por la sustancia limpiadora o sanitizante
Mayor solubilidad de componentes solubles de la suciedad	
Eliminación gradual efectiva de microorganismos por acción térmica	

3.6.5. Tiempo y frecuencia de lavado y sanitizado.

El tiempo de contacto es el tiempo indispensable para que la solución limpiadora o sanitizante reaccione con la contaminación, ya sea fisicoquímica o microbiológica, con el fin de eliminarla (REZQUELLAH, 2015). Este parámetro se acopla siempre a los demás factores que actúan en el éxito de la limpieza y la sanitización. Debe existir un tiempo de contacto suficiente entre el agente limpiador o sanitizante y la superficie a limpiar (AVA, 2015). A medida de que aumenta el tiempo de contacto de la solución, se limpia o sanitiza más, y se ve influenciado por el método de aplicación del compuesto en la superficie de interés y sus propias características (MARRIOTT, 2003).

Ante todo esto, es posible deducir consecuencias críticas (WILDBRETT, 2000; ALZATE TAMAYO, 2011):

- El tiempo requerido para una limpieza o sanitización óptimos depende de la cantidad inicial de suciedad.

- En teoría, un equipo de manufactura se encontraría libre de contaminantes tras un tiempo ilimitado, cuando en la práctica no ocurre así; por lo que persisten cantidades mínimas de suciedad que se eliminará bajo ciertas condiciones en el transcurso del tiempo.
- La acumulación paulatina de residuos permite determinar cuantitativamente la eficacia de una operación de limpieza y sanitización.
- Hay un tiempo mínimo para una remoción de suciedad óptima, y un tiempo máximo por encima del cual no se cuenta con el mismo efecto.

Por otra parte, la frecuencia con la que se deben ejecutar las limpiezas y las sanitizaciones ha sido un tema de discusión en las diferentes industrias. No es lo mismo hacer un enjuague de un tanque con agua caliente a presión por cierto tiempo entre lotes de un mismo producto, que una limpieza más a profundidad de un sistema con residuos de múltiples productos fabricados por días, a ejecutar en un fin de semana. Las denominadas “limpiezas profundas” suelen realizarse con menor frecuencia que los enjuagues o “limpiezas menores” diarias de las instalaciones, puede decirse que es por su mayor “intensidad”. Además, según WILDBRETT, (2000), si se limpia o sanitiza de la misma manera con el mismo agente constantemente, existe el riesgo de una acumulación paulatina de suciedad residual, por lo que es recomendable cambiar el compuesto periódicamente, a no ser de que de vez en cuando se aplique un método extremo. De igual forma, la falta de limpieza o sanitización de las áreas de manufactura debida a la mala aplicación de la frecuencia de ejecución es un problema innecesario. La contaminación acumulada puede no ser detectada en consecuencia de esta carencia, hasta que llegue un punto detonante que incurra a la planeación y ejecución de acciones correctivas.

3.6.6. Carga de suciedad.

Cada solución limpiadora y sanitizante dispone de una limitada “capacidad vehiculadora de la suciedad”. En pocas palabras, mientras más saturada se encuentre la solución con suciedad, se puede originar una acumulación paulatina porque vuelven a adherirse contaminantes a la superficie de interés (WILDBRETT, 2000).

La suciedad que envuelve a los microorganismos complica la eliminación por sanitización térmica o química. Las partículas de contaminación inclusive inactivan las sustancias bactericidas. Los agentes limpiadores o sanitizantes llegan a cambiar la composición de la contaminación, dificultando más el proceso (WILDBRETT, 2000). Es por eso que la carga de suciedad inicial anterior a la limpieza y a la sanitización es una variable prístina a conocer para efectuar el método adecuado con un enfoque preventivo, con el fin de evitar mayores problemas a futuro.

3.7. Procedimientos de limpieza y sanitización.

De acuerdo con la Norma Mexicana NMX-Q-016-SCFI-2011 (SE, 2011), que explica las buenas prácticas de manufactura para establecimientos dedicados a la manufactura de productos de cuidado del hogar, la limpieza de los equipos debe cubrir dos puntos básicos:

- El equipo debe limpiarse y mantenerse cuando así lo requiera para prevenir el mal funcionamiento o contaminación del producto.
- Deben existir y aplicarse Procedimientos Normalizados de Operación (PNO's) de limpieza y mantenimiento para equipos y utensilios usados durante la producción, envasado, o manejo del producto.

3.7.1. Generalidades.

El diccionario Merriam-Webster define a un procedimiento como una serie de pasos que se siguen en un orden determinado (MERRIAM-WEBSTER, 2017). Por lo tanto, un procedimiento de limpieza y sanitización ha de conceptualizarse como una serie de pasos en un orden establecido para lavar y sanitizar una superficie, como lo son las áreas de trabajo y los equipos de manufactura. Describe los químicos, concentraciones, métodos de aplicación, y tiempo para cada sistema de equipos de manufactura y áreas circundantes (MSU, 2010).

Conforme al Office of Environmental Health, y con el fin de realizar un buen proceso de limpieza, el orden básico de ejecución es el siguiente (FORERO VARGAS, 2008):

- Lavado (pre-enjuague).
- Limpiado.
- Relavado (enjuague).
- Sanitización.

El equipo a emplear en los procedimientos de limpieza y sanitización, requiere del seguimiento de un plan básico que sirva de guía. El departamento de ingeniería, un consultor interno o externo, o un abastecedor de compuestos limpiadores, sanitizantes, y equipo, suelen ser las fuentes de información necesarias para la elaboración del plan (MARRIOTT, 2003). A continuación, se presentarán las características sistemáticas de los procedimientos de limpieza y sanitización.

- **Forma, tamaño, y características de los objetos.** Todo método de limpieza y sanitización debe adaptarse a la suciedad y al objeto que se tratará. Éstos cuentan con una clasificación: superficies planas, instalaciones cerradas, depósitos grandes, recipientes reducidos, y utensilios (WILDBRETT, 2000). Las superficies grandes se limpian *in situ*, puesto que no pueden separarse del sistema fácilmente. Los recipientes y herramientas pequeños se llevan a máquinas limpiadoras, o pueden tratarse a mano. Los grandes depósitos, como los tanques, y las instalaciones cerradas se denominan *sistemas cerrados*, al poder conectarse a circuitos o la

solución química es capaz de seguir la misma ruta que el producto. La solución limpiadora o sanitizante puede recircularse en la ruta que el producto sigue, bajo ciertas condiciones. Un depósito de gran tamaño se considera un *sistema abierto* en un circuito cerrado de tuberías, válvulas, y bombas, en las cuales se encuentra conectado (AUERSWALD, 2000).

- **Grado de mecanización y automatización.** El grado de mecanización representa la medida en que la aplicación de métodos técnicos auxiliares sustituyen a la participación manual en la limpieza. El rendimiento de las limpiezas manuales es escaso, y el resultado depende de la capacidad del trabajo y el interés de los operadores responsables. Por lo tanto, se reemplazan actividades mecánicas con otras que requieran menos esfuerzo, total o parcialmente mecanizadas (AUERSWALD, 2000). Por ejemplo, el rociado con una manguera a presión puede cambiar el tallado de una superficie. El grado de automatización es la cuantía en la cual los trabajos físicos manuales son sustituidos por un ámbito de un proceso mecanizado de limpieza que se gobierna y regula por su cuenta (AUERSWALD, 2000). Varias máquinas con parámetros avanzados de proceso poseen un sistema incorporado de lavado semiautomático o automático, con una serie de pasos pre-programados para la limpieza o sanitización, según se requiera.
- **Empleo de soluciones químicas.** La duración y la frecuencia de uso de las soluciones limpiadoras y sanitizantes dependen del grado de ensuciamiento, las especificaciones higiénicas, los ingredientes activos, y las prescripciones técnicas para la recuperación de los líquidos utilizados. Existen agentes químicos que sólo se pueden utilizar una única vez, al agotarse todos sus activos en un solo uso, como las soluciones que contienen principios activos con capacidad de reacción, como el cloro activo (WILDBRETT, 2000).
- **Equipos dedicados y equipos polivalentes.** Las instalaciones especializadas a la fabricación de un solo producto, se les denominan *equipos dedicados* (REZQUELLAH, 2015). Los productos en estos sistemas suelen ser especiales en cuestión a los ingredientes en su composición, y quizá su limpieza necesite de condiciones extremas. Por otro lado, los *equipos polivalentes* son de uso general para la manufactura y el llenado de varios productos o grupos de éstos. Son los más empleados en las industrias, por motivos de ahorro de espacio en sus instalaciones. A causa de las múltiples fórmulas que se manufacturan, implica el uso de procesos de limpieza y sanitización eficientes para evitar el riesgo de contaminación cruzada (REZQUELLAH, 2015).

3.7.2. Métodos de limpieza y sanitización húmedos.

La limpieza o sanitización húmeda es aquella en la que se emplea agua como conducto de la solución limpiadora o sanitizante que se combinará con los contaminantes para su posterior remoción. Entre los procesos más comunes, se encuentran los siguientes.

3.7.2.1. Limpieza y sanitización por medios mecánicos para sistemas abiertos.

La limpieza y la sanitización manuales son más variables que los procesos automatizados, con lo cual se deben incluir más detalles al escribir los procedimientos, aunado con un entrenamiento más riguroso del personal (REZQUELLAH, 2015). En seguida se expondrán los medios mecánicos más representativos en uso en los procedimientos de limpieza y sanitización (ver Figura 11).

- **Rociado y pulverizado.** Eso es referente a la utilización del agua o vapor bajo presión para una remoción de suciedad estancada, la cual puede incluir agentes limpiadores o sanitizantes según sea el caso. Una presión elevada es difícil de manejar por el efecto del retroceso y provoca deformaciones en las superficies, o una pulverización indeseada que produce salpicado (AUERSWALD, 2000). Si se desea limpiar con alta presión, se recomienda una descarga de 25 a 70 bares, con un mínimo de 15 bares. Los equipos que ofrecen rociado o pulverizado en superficies son las mangueras de agua, aparatos generadores de spray de baja presión y alta temperatura, aparatos de agua caliente a alta presión, pistolas de vapor, aspersores fijos o portátiles, y sistemas centralizados de alta presión y bajo volumen (MARRIOTT, 2003). Suelen utilizarse en sistemas abiertos como tanques de pequeño a mediano tamaño.
- **Enjuagado.** Se refiere a una limpieza previa o el proceso posterior al lavado, con el fin de facultar la eliminación de contaminantes incrustados. Es posible la inclusión de ayuda mecánica, como pelotitas de goma o esponjas de gomaespuma. En este proceso, se deben considerar factores como la cubierta de todas las superficies en contacto con el producto (la cual se puede lograr con la inversión de la corriente de la sustancia limpiadora), y un drenado apropiado que no deje material estancado (WILDBRETT, 2000).
- **Ultrasonido.** En el punto 3.2.6 se introdujo el principio mecánico de la utilización de ondas ultrasónicas para limpiar superficies por medio de implosiones de gran energía y tamaño minúsculo. Es tal la eficacia de la limpieza por ultrasonido que es capaz de alcanzar poros y hendiduras muy finos. Un sistema de ultrasonido suele instalarse en sistemas abiertos, y todo lo que entre ahí será afectado por el efecto mecánico. La duración del tratamiento es relativamente corta (20 segundos a 4 minutos), y la temperatura óptima de operación es de 50 a 80°C (AUERSWALD, 2000).
- **Tratamiento con espuma o gel.** La espuma es fácil y rápida de aplicar, por lo que esta técnica ha tenido un crecimiento en popularidad (MARRIOTT, 2003). Se utiliza una mezcla concentrada de un tensoactivo a ser añadido a una solución de productos de limpieza alcalinos o ácidos. La espuma formada se adhiere a la superficie, aumentando el tiempo de contacto con la suciedad, sin dejar residuos (MSU, 2010). Los geles para limpieza son sustancias muy viscosas que se aplican a temperatura alta que permite su actuación por horas para posteriormente eliminarse a chorro a

baja presión (AUERSWALD, 2003). Los aparatos para este tipo de operación son comparables a los empleados para distribución de espuma y agua a alta presión (MARRIOTT, 2003).

- **Métodos mecánicos básicos.** Los cepillos para limpiar manual o mecánicamente deben adaptarse al relieve de las superficies a tratar, con cerdas deben ser fuertes, sin provocar daños. Suelen ser de nylon, que es resistente, flexible, de diámetro uniforme, y no absorbe agua. El uso de rascadores, esponjas, y rodillos suele ser de último recurso para la eliminación de costras muy adheridas, y es preferente que sólo se utilicen en superficies que no estén directamente relacionadas al sistema de manufactura (MARRIOTT, 2003). Cabe mencionar que estos utensilios deben ser limpiados y sanitizados antes y después de su uso.

Figura 11. Ejemplos de limpieza con métodos mecánicos. Fuente: Autoría propia.



3.7.2.2. Limpieza *in situ* (CIP).

La limpieza *in situ* (Clean In Place, o CIP), es un procedimiento de lavado automático, que emplea soluciones químicas recirculadas por bombas de alta presión. Ofrece importantes ventajas al permitir una limpieza eficaz y viable de forma rápida y segura, mejorando la calidad del producto y el cumplimiento de normativas (REZQUELLAH, 2015).

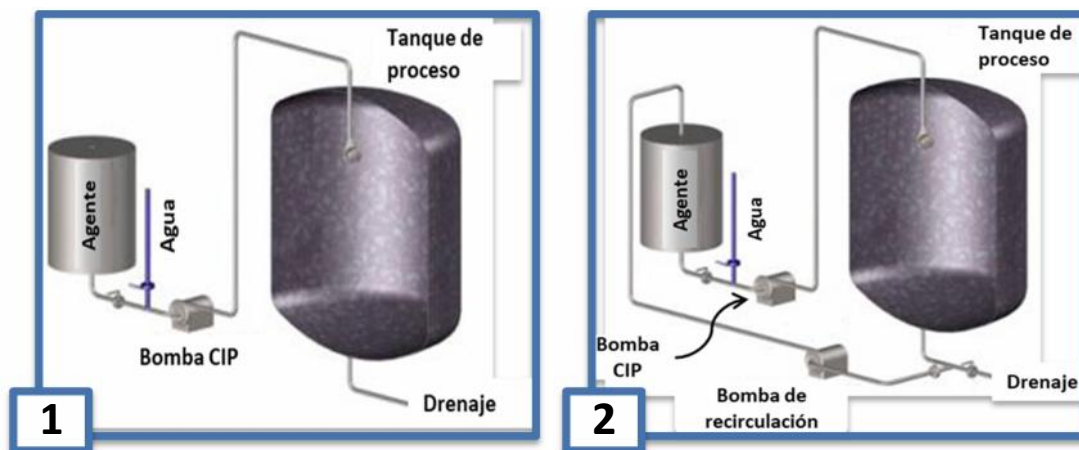
Posee la capacidad de limpiar sin necesidad de desmontar secciones del sistema de manufactura, como lo son tanques, tuberías, válvulas, bombas, filtros, intercambiadores de calor, etc. Consiste en ciclos consecutivos de lavados, empleando agentes limpiadores y sanitizantes, seguidos de lavados con agua (FORERO VARGAS, 2008). Existen dos tipos de sistemas CIP (LENNTECH, 2014):

- **Sistema de un sólo paso.** Suele empezar con un pre-enjuague para remover la mayor cantidad de suciedad posible. La solución de limpieza se introduce directamente al sistema de manufactura para su lavado, y ser desechada posteriormente. Una sanitización toma lugar después, seguida de un enjuague final con agua. (véase Figura 12).
- **Sistema de recirculación.** La solución se prepara en un tanque externo, para ser introducida al sistema a limpiar. Es recirculada en el tiempo requerido hasta que el ciclo de limpieza esté concluido. Se aplican ciclos de sanitización, los cuales proceden un enjuague final. Este sistema usa menos agua y agentes químicos, a costa de la gran inversión y un riesgo de contaminación cruzada de un proceso a otro (véase Figura 12).

La FDA recomienda el uso de CIP para limpiar equipos y tanques de almacenamiento, para reproducir exactamente el mismo procedimiento cada vez (REZQUELLAH, 2015).

Figura 12: Tipos de sistema CIP. (1): de un sólo paso, (2): de recirculación. Fuente:

<http://www.lenntech.com/cleaning-cip.htm>



3.7.2.3. Limpieza con desmontado (COP).

El Cleaning Out of Place (COP) es un proceso automático o semiautomático que consiste en sacar los elementos de un equipo, los cuales se trasladan a cuartos de lavado en donde un tanque lleva a cabo su limpieza mediante ciclos, con la utilización de agentes limpiadores y sanitizantes, a presión y temperatura determinadas (REZQUELLAH, 2015) – ver Figura 13.

Figura 13. Equipo de sistema farmacéutico de COP para lavado por inmersión de piezas. Fuente: REZQUELLAH, Validación de los procesos de Limpieza en la Industria Farmacéutica, mediante la aplicación de análisis de riesgo, seguridad toxicológica, y UPLC (2015).



3.7.3. Métodos de limpieza seca.

Estos métodos se encuentran prescritos en términos generales, pues con frecuencia generan remolinos de polvo o distribuyen la suciedad, y de igual forma se distribuyen los microorganismos. Se utilizan, en algunos casos, el barrido, y el aspirado - con una aspiradora industrial o un aspirador con cepillos de nylon giratorios (WILDBRETT, 2000).

CAPÍTULO IV:

Validación de limpiezas y sanitizaciones del equipo de manufactura.

IV. Validación de limpiezas y sanitizaciones del equipo de manufactura.

4.1. Principios de la Gestión de la Calidad.

La gente piensa que la Calidad es un fenómeno actual. Esto no es en absoluto cierto. Es a partir del siglo XX cuando se empieza a formar lo que se conoce como Gestión de la Calidad, a raíz de la fabricación de productos en serie. Dicho concepto ha evolucionado con el paso del tiempo, incorporando nuevas ideas y rechazando lo obsoleto. La filosofía de su desarrollo ha pasado por cuatro fases distintas (NEBRERA HERRERA, 2000):

- a) **Control de Calidad.** Se inicia con la verificación del cumplimiento de especificaciones del producto mediante muestreo parcial o total, procurando que los productos defectuosos no lleguen al cliente.
- b) **Aseguramiento de Calidad.** La empresa se da cuenta de la importancia de la Calidad de producto en cuanto al cumplimiento con su funcionalidad. Al implementar un sistema en donde la Calidad se gestione, se expande el conocimiento de la cultura mediante un manual de Calidad y procedimientos relacionados.
- c) **Calidad Total.** Busca un nivel elevado en la Calidad del producto, el servicio, la gestión, y la vida. Supone un cambio cultural en la empresa, al concientizar que la Calidad atañe a todos y es responsabilidad de cada uno. Se implementa un sistema de mejora continua permanente, mediante la instauración de un sistema participativo de gestión.
- d) **Excelencia empresarial.** Se atiende la importancia de las relaciones con cada cliente y sus resultados, bajo medidas de satisfacción de los beneficiarios del producto y la eficiencia económica.

La Calidad ya no se restringe actualmente a las cualidades funcionales de un producto o servicio, sino que abarca todas las formas a través de las cuales la empresa satisface las necesidades y expectativas de sus clientes, de su personal, y de la sociedad en general (CAMISÓN et al, 2006). La validación es una parte integral de los requerimientos del Sistema de Gestión de Calidad (norma ISO 9001:2015). Se conduce en el contexto de un sistema, incluyendo los controles de su diseño y desarrollo, aseguramiento de Calidad, control de procesos, y acciones preventivas y correctivas (HOJO, 2004). Es imprescindible la creación de una cultura en donde los principios de la Calidad sean parte de la mentalidad de todo el personal que labora en una compañía a cualquier nivel, llámese operador o administrativo. Una vez entendidas las repercusiones de los Costos de la No Calidad y el gran impacto negativo hacia la empresa, se contemplará el camino hacia la mejora continua.

4.2. Concepto de validación.

El concepto de validación tiene su origen en el momento que la FDA revisó las normas relativas al control de la fabricación de productos farmacéuticos (MORALES HENRÍQUEZ, 2010). En 1978, la palabra “validación” apareció por primera vez en un documento expedido por la FDA, que la define como “[...] otorgar un alto grado de aseguramiento en un proceso específico de tal forma que éste produzca consistentemente un producto que cumpla con las especificaciones y atributos de Calidad dados”. La prueba de que esta validación ocurra es mediante la recolección y evaluación de información, desde la fase de desarrollo y experimentación hasta la fase de manufactura real en sitio (PPJ, 2010).

La validación es una expresión intrínseca de la Gestión de Calidad. Si no se conocen y miden las capacidades de un proceso, no es posible asegurar un control en el mismo. Siendo el corazón de las BPM's, es imposible producir productos con Calidad consistente sin verificar la repetibilidad y reproducibilidad de los procedimientos de fabricación (VENCES BENÍTEZ, 2012).

La validación es un proceso que requiere la evaluación y calificación del proceso, incluyendo los materiales, el equipo, los sistemas, las instalaciones, y el personal. Así mismo, se involucra el control de cada proceso por cada corrida (PPJ, 2010).

Aun tratándose de un concepto aplicable en la industria farmacéutica, recientemente se ha aprovechado su metodología a gran escala en industrias alimenticias, cosméticas, e incluso la industria de productos para el hogar, al ser un proceso difícil de separar de la manufactura misma.

4.3. Tipos de validación.

La validación de un proceso se puede realizar bajo cuatro criterios, de acuerdo con la información documentada disponible:

- **Validación prospectiva.** Se aplica antes de la distribución de un producto nuevo o uno elaborado bajo un sistema de fabricación validado, llevándose a cabo durante la etapa de desarrollo, o cuando se prevé efectuar cambios críticos en el proceso (REZQUELLAH, 2015). Demuestra y establece evidencia documentada que un proceso hace lo que está previsto bajo un protocolo planificado (VENCES BENÍTEZ, 2012).
- **Validación retrospectiva.** Consiste en establecer evidencia documentada de un producto o proceso, basándose en la evaluación de los datos históricos existentes. Se utiliza cuando los procesos no pasarán por cambio alguno, y al disponer de los resultados de control del proceso, producto, y proceso de limpieza (REZQUELLAH, 2015).
- **Validación concurrente.** Tiene como fin la demostración y la documentación de evidencia de que un proceso cumple con su cometido, basándose en la información generada durante su

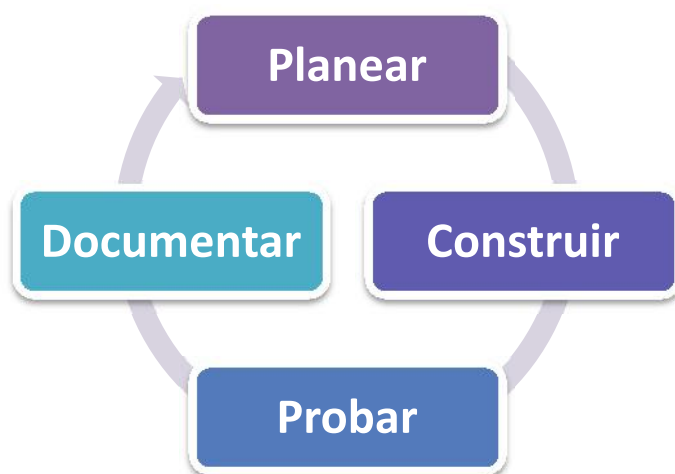
implementación (VENCES BENÍTEZ, 2012). Es una validación excepcional, sólo se hace con la decisión justificado, documentada, y aprobada por el personal autorizado (REZQUELLAH, 2015).

- **Revalidación.** Es la repetición del proceso de validación, o una porción específica de las misma (VENCES BENÍTEZ, 2012). Generalmente se emplea para procesos en los que surge un cambio significativo (similar a la validación prospectiva), y como seguimiento programado para comprobar la eficiencia continua de un procedimiento dado (PPJ, 2012).

4.4. Etapas de validación.

Se tienen cuatro etapas básicas para iniciar un proceso de validación (ver Figura 14):

Figura 14. Etapas para el proceso de validación. Fuente: VENCES BENÍTEZ, • Validación prospectiva en la fabricación de un desodorante en gel (2012).



Estas etapas se traslapan unas con otras. La documentación se efectúa conforme ocurre cada etapa. La construcción no puede proceder sin la previa aprobación de los planes, no obstante se es capaz de seguir planeando en el proceso de validación para obtener resultados más favorables. Cada etapa de validación se describe a continuación (VENCES BENÍTEZ, 2012):

- **Planear.** Es el inicio del proyecto. Al principio es un plan flexible sujeto a revisión y modificaciones para su mejora. Los elementos más importantes dentro de la planeación son la localización, el equipo de trabajo, el alcance del proyecto, protocolos, cálculos de capacidad, flujo de materiales, planos, equipo, y sistemas de control.
- **Construir.** Es la etapa en la que se incurre en gastos para análisis, compra, e instalación del área de trabajo para la validación, incluido el equipo a requerir, herramienta, personal, y material adicional. Es preferible comenzar de afuera hacia adentro con el fin de entender la relación entre la construcción con la validación.

- **Probar.** Al concluir la instalación, ésta se somete a pruebas conforme al plan establecido para la validación. Dicha tarea implica la colocación de los contactos, guías, y guardas, y los equipos indispensables están listos para operar a su capacidad deseada.
- **Documentar.** Esta etapa es indispensable y extensiva. Se realiza en el transcurso de la validación para evitar errores y confusiones en una validación. Una buena documentación muestra que se conoce cada tarea del plan, proporcionando a Calidad el material necesario para realizar su trabajo. Entre la documentación importante se encuentran especificaciones, procedimientos, protocolos, diagramas, y dibujos.

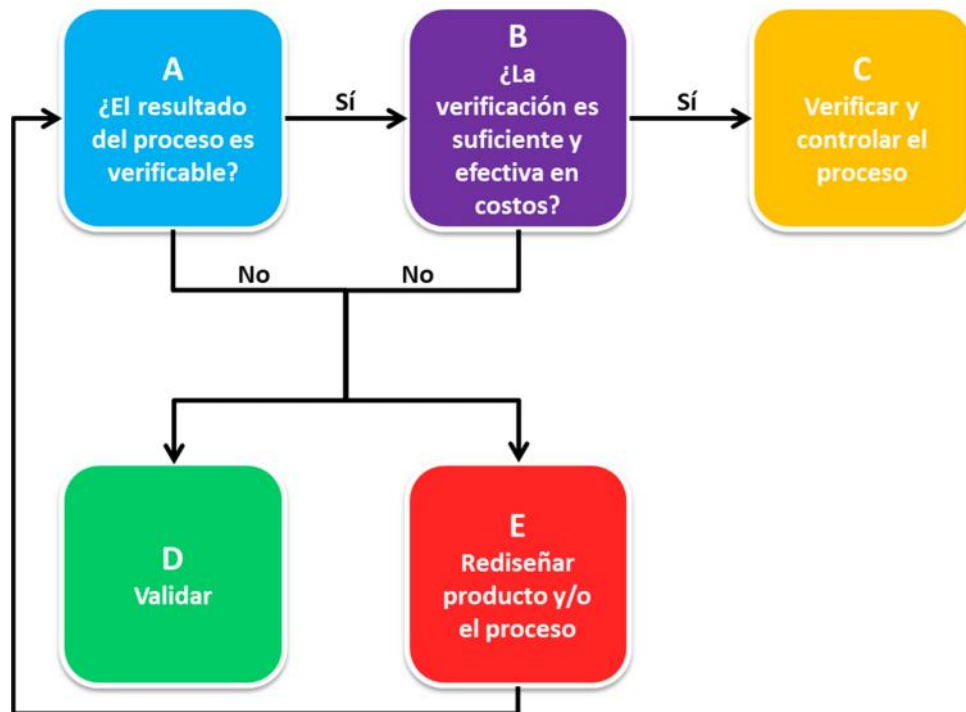
Dentro de estas etapas para una validación, se encuentran las siguientes acciones, puntos de consideración, y documentación, que son requisitos esenciales para una validación óptima de limpieza, basados en las recomendaciones de la FDA.

4.4.1. Identificación del proceso y toma de decisión.

Los procesos involucrados directa e indirectamente en la manufactura de un producto deben estar sujetos a control con el fin de que se obtengan productos dentro de las especificaciones y desempeño deseados por los clientes y consumidores. Cada operación varía en complejidad, conforme a los parámetros clave que les sean designados para medir su continua efectividad. Un llenado involucra la medición de parámetros clave diferentes a la colocación de una etiqueta. Si es que se desea validar un proceso en particular, se necesita la identificación y evaluación de las etapas de dicha operación, para tomar una decisión de acuerdo a dos variables primordiales: los resultados que arroja, y los costos incurridos en el control de éstos.

La Figura 15 resulta útil para determinar si un proceso o no debería ser sujeto a validación. Se trata de un diagrama de decisión generalizado para un proceso relativamente simple. Es factible para operaciones con mayor complejidad, por lo que es posible agregar más ramificaciones conforme a las características adicionales del proceso a considerar.

Figura 15. Diagrama para decisión de la validación de un proceso. Fuente: HOJO, Quality Management Systems - Process Validation Guidance (2004).



Cada etapa del diagrama debe tener una especificación que describa los parámetros clave y el resultado deseado, resultando en una calificación final que denota tres opciones: la validación obligatoria, la validación opcional, la verificación periódica de una operación sin pasar por una validación, validarse como una opción si es que la empresa así lo decide (HOJO, 2004). Un procedimiento de limpieza y sanitización entra en la primera categoría, al ir de la mano con la manufactura y especificaciones del producto.

4.4.2. Plan maestro de validación.

Una vez decidido que se proseguirá con la validación, es altamente recomendable contar con un plan maestro, en donde se muestre una visión general del proyecto de validación al recoger los criterios de validación, asignar responsabilidades y organizar todas las actividades de la empresa susceptibles de ser validadas. Ha de consensuarse y ser comprendido por todas las personas de la organización implicadas en las tareas de validación (REZQUELLAH, 2015). La FDA (2017) establece que se espera de las industrias el poseer procedimientos generales pertinentes a la validación de los procesos de limpieza y sanitización.

Un buen plan maestro está compuesto de cinco elementos (REZQUELLAH, 2015; VENCES BENITEZ, 2012; FDA, 2017; HOJO, 2004)

- a) **Objetivos.** Deben ser claros y concisos.
- b) **Alcance.** Detallar las diferentes áreas que cubre el plan. Se incluye las veces en las que el proceso debe ser validado, con la FDA (2015) estableciendo un mínimo de cinco corridas.

- c) **Responsabilidades.** Es de esperar que los procedimientos generales de validación establezcan quién es responsable de ejecutar y aprobar el estudio de validación en cada una de sus etapas. Para ello, se procura tener un equipo multidisciplinario que consta de personal experimentado en Calidad, Producción e Ingeniería; así mismo es posible la inclusión de más gente dependiendo de las necesidades que surjan: como es RD&E, Mantenimiento, Planeación, Compras, etc. Algunas empresas prefieren las responsabilidades individuales en las actividades relacionadas con la validación.
- d) **Gestión de riesgo.** Es empleado en varias industrias para entender y dominar mejor los procesos y su control, de tal forma de aumentar la calidad del producto. Con esto se demuestra la eficacia y sostenibilidad de su programa de validación, y el seguimiento de sus procesos de manufactura. Contiene los criterios de aceptación, agentes de limpieza y sanitización, procedimientos operativos, el método de muestreo, el escenario del peor caso, y los controles *in situ* a efectuar en la post-limpieza.
- e) **Metodología.** Es lo que se ha de utilizar para ejecutar el proceso de validación, junto con el mantenimiento del programa de verificación y control de variables, y en qué casos procede una revalidación.

4.4.3. Calificación de equipos, sistemas críticos, e instalación.

Es recomendable que un programa de validación comience con la calificación de los equipos, que consta de un número de pruebas realizadas para demostrar que los equipos, sistemas, e instalaciones se encuentren dentro de las especificaciones pre-establecidas, así como asegurar el control óptimo de sus variables críticas (MORALES HENRÍQUEZ, 2010). Este planteamiento moderno de validación se desarrolla bajo cuatro bloques en un orden determinado, que son descritos a continuación (VENCES BENÍTEZ, 2012; REZQUELLAH, 2015):

- **Calificación del diseño (DQ).** Aquí se definen las descripciones, especificaciones, y requerimientos de los equipos involucrados en el proceso, constituyendo una evidencia documentada de que la calidad se tiene en cuenta desde su diseño. Tiene como objetivo verificar que el diseño propuesto para las instalaciones, el equipo, y los sistemas son adecuados para el propósito intencionado. Es prudente recurrir previamente a proveedores para recoger la información y especificaciones técnicas requeridas.
- **Calificación de la instalación (IQ).** Incluye la documentación completa que demuestra que el equipo está instalado conforme al díselo aprobado previamente, basándose en los parámetros técnicos, normas, y reglamentaciones. Se desarrolla durante su montaje, elaborando previamente un plan de las instalaciones. Regularmente consiste en implementación de controles, valoración de conformidad, y calibración.

- **Calificación de la operación (OQ).** Es la verificación documentada de que el equipo y los sistemas, instalados o modificados, funcionan correctamente y como se tiene previsto a través de los rangos de operación anticipados. Es una demostración de que el proceso producirá resultados aceptables y establecerá límites de los parámetros del proceso, vislumbrando el peor de los casos.
- **Calificación del desempeño (PQ).** Es la evidencia documentada de que un equipo o sistema crítico es capaz de operar de manera reproducible dentro de límites establecido, tomando en cuenta las variaciones normales de las condiciones extremas, estableciendo así la estabilidad del proceso a largo plazo.

La Tabla 14 ofrece un resumen de las consideraciones, las pruebas, y la documentación requerida en cada tipo de calificación.

Tabla 14. Resumen de las calificaciones de equipos, sistemas críticos, e instalaciones. Fuente: VENCES BENITEZ, • Validación prospectiva en la fabricación de un desodorante en gel (2012).

Calificación	Consideraciones	Pruebas	Documentación
Calificación del diseño (DQ)	Acordar con el proveedor las condiciones, modificaciones, reservar la documentación relacionada	Verificar documentalmente que el sistema corresponde a las exigencias definidas y que los elementos críticos se han tomado en cuenta.	Especificaciones técnicas del usuario. Documentos técnicos del equipo proporcionados por el proveedor (planos).
Calificación de la instalación (IQ)	Identificar que los elementos críticos previstos han sido instalados.	Controles estadísticos según proveedor. Controles estáticos: equipos, partes, herramientas, etc. Control de la calibración	Redacción de los procedimientos estándar de operación: limpieza, manufactura, mantenimiento, utilización. Planos, fichas técnicas. Procedimientos: control de equipos, calibración, control de cambios
Calificación de la operación (OQ)	Controlar funciones críticas: velocidad de agitación, temperaturas, capacidad, etc.	Controles estáticos de los componentes sin producto. Controles dinámicos con producto.	Manual de operación Procedimiento de puesta en servicio Protocolo de fabricación Procedimientos relacionados
Calificación del desempeño (PQ)	Controlar que el equipo funciona de acuerdo a procedimientos de trabajo, y el producto cumple con las especificaciones.	Controles dinámicos con producto.	Protocolos de fabricación Procedimientos relacionados.

Para cada calificación es preciso determinar qué, cómo, cuándo, cuánto, y por qué verificar y medir, así como establecer criterios de aceptación y rechazo, y la documentación necesaria por punto valorado (REZQUELLAH, 2015). En la validación de un procedimiento de limpieza nuevo, es viable comenzar desde la calificación del equipo, con el propósito de detectar oportunidades de mejora con un enfoque

preventivo. Para la validación de un procedimiento existente, por lo regular se realizan las calificaciones de forma simultánea, en base a un historial de los resultados de las calificaciones anteriores.

En el punto 3.6.1. del Capítulo anterior, se discutieron las características de los objetos a limpiar como uno de los factores primarios que afectan directamente a la limpieza y sanitización, así como su diseño higiénico. La FDA (2017) recomienda inspeccionar el diseño del equipo, en búsqueda de potenciales puntos de acumulación de contaminantes como los puntos muertos que ya fueron descritos. Desde este punto de vista, un sistema automático puede presentar una preocupación significativa al igual que sistemas semi-automáticos y aquellos con principios manuales o mecánicos, porque un hallazgo de acumulación microbiológica en cualquiera de éstos determina el grado y cantidad de acciones que son imperativas de realizarse.

4.4.4. Revisión de procedimientos escritos de limpieza y sanitización.

La revisión de un procedimiento de limpieza se trata de un seguimiento del mismo paso por paso, con el fin de detectar puntos críticos susceptibles de fallos o errores (REZQUELLAH, 2015). Los procedimientos de limpieza y sanitización se deben revisar en detalle específico, así como la cantidad de documentación requerida. Conforme a la complejidad del sistema, el proceso de limpieza y la habilidad de los operadores para realizarlo, los documentos para evidenciar su ejecución varían. Se han visto archivos generales, mientras que otros utilizan un sistema de registros que requiere un tipo de documentación específica por cada paso del procedimiento (FDA, 2017).

En sistemas de limpieza complejos, es importante documentar los pasos más críticos. Bajo este rubro, se recomienda guardar en evidencia documentos que incluyan información de los responsables de la tarea y cómo se valida que así fue. Por el contrario, para procesos simples, es más que suficiente con la información pertinente que de por visto bueno que se ejecutó la limpieza tal cual dicta el procedimiento correspondiente. Así mismo, se debe tener evidencia factible del entrenamiento y desempeño de los operadores responsables (FDA, 2017). La información almacenada resulta de mucha ayuda cuando se requiere saber el desempeño de la limpieza y sanitización de un sistema en particular, permitiendo encontrar así áreas de oportunidad.

4.4.5. Métodos de análisis a emplear.

Un procedimiento que ha de pasar por una validación debe estar sujeto a pruebas que muestren evidencia de su efectividad, repetibilidad, y confiabilidad. Además de la evidencia documentada de que se llevó a cabo la metodología indicada en el documento escrito, se hace empleo de métodos de análisis de muestras que se tomen en ciertos puntos clave del sistema, con el fin de detectar residuos y contaminantes (FDA, 2017). Lo anterior aplica de igual forma para la validación de procedimientos de limpieza y sanitización.

4.4.5.1. Generalidades.

Se define un método analítico como la adaptación específica de una técnica analítica para un propósito de medición seleccionado (MORALES HENRÍQUEZ, 2010). Están los *análisis cualitativos* que revelan la identidad de los elementos y compuestos de una muestra a trabajar, y los *análisis cuantitativos* que indican su cantidad (SKOOG et al, 2005). El uso de más de un método es útil para confirmar resultados (FORERO VARGAS, 2008).

De acuerdo con la FDA (2015), la información esencial que debe tener un método analítico es el objetivo, el alcance, aparatos y reactivos, parámetros de operación, preparación de la muestra, procedimiento, cálculos, y la forma en que los resultados deben ser reportados. La selección de un método es a veces difícil y requiere experiencia al igual que intuición, y es prudente contemplar tanto el grado de exactitud que se necesite, el tiempo de ejecución para el mismo, y el dinero disponible para lo que se requiera (SKOOG et al, 2005).

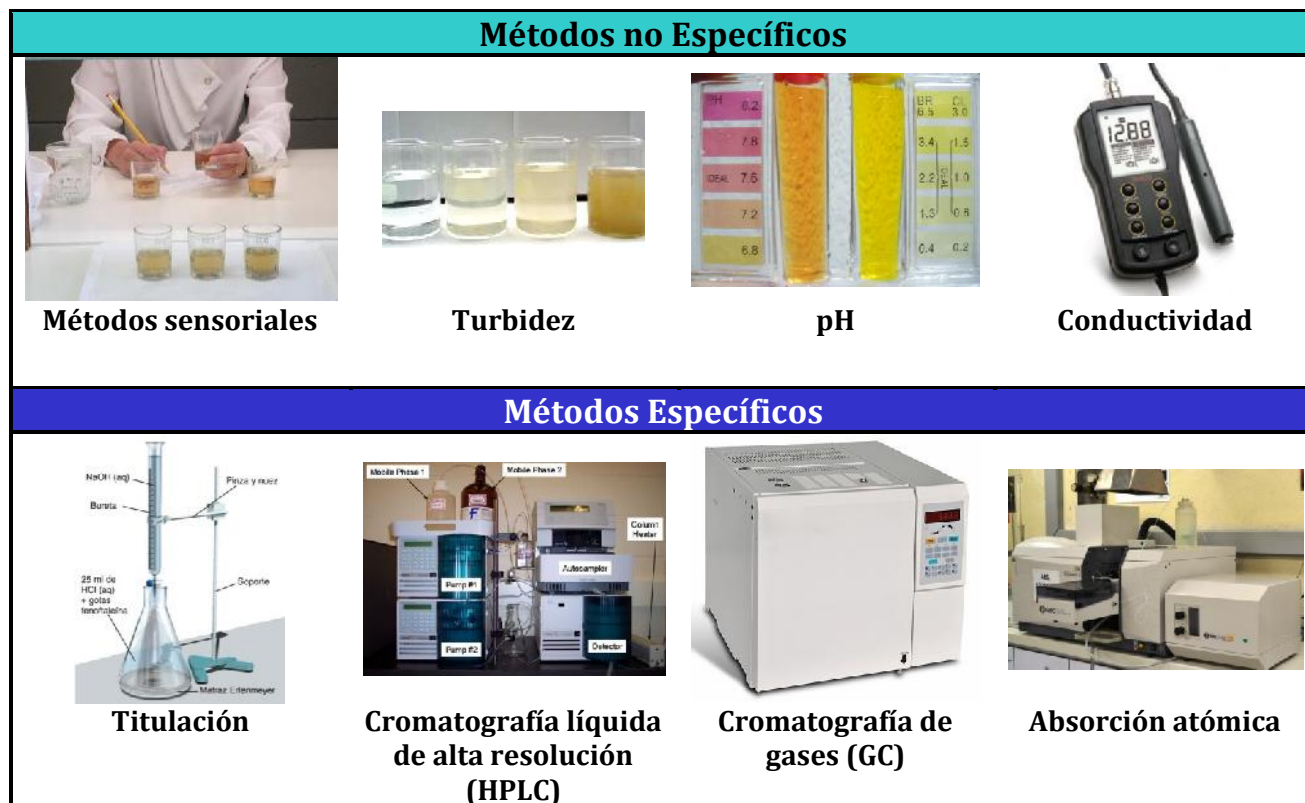
Para la limpieza y sanitización se cuentan con métodos fisicoquímicos y métodos microbiológicos, con la finalidad de determinar existencias de residuos contaminantes o de agentes limpiadores, probando así su efectividad.

4.4.5.2. Análisis fisicoquímicos.

Son aquellos que determinan propiedades físicas y químicas de una muestra seleccionada. Entre estos, es posible encontrar los siguientes tipos de métodos - ver ejemplos visuales en la Figura 16 (REZQUELLAH, 2015; FORERO VARGAS, 2008):

- **Método no específico.** Método general o de amplio espectro, que detecta un parámetro que produce una determinada respuesta. Entre los análisis que caen dentro de este rubro se encuentran los métodos sensoriales y organolépticos (apariencia, color, olor, sabor), la turbidez, pH, conductividad, etc.
- **Método específico.** Es un método capaz de detectar cada componente del producto analizado, diferenciándolo de otros. De acuerdo con el grado de exactitud, se recomienda una técnica sensible con altos niveles de detección específicos. Los ejemplos más representativos son las titulaciones, la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la cromatografía de iones, la absorción atómica, cromatografía de gases (GC), fotometría de llama, detección enzimática, etc.

Figura 16. Ejemplos de métodos de análisis fisicoquímicos. Fuente: Autoría propia.

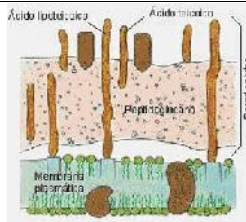
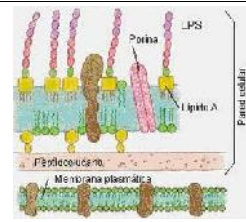


4.4.5.3. Análisis microbiológicos.

Se tratan de aquellos que determinan la existencia, identificación, o cuantificación de microorganismos existentes en una muestra determinada. Entre los métodos más comunes están los siguientes (JAWETZ et al, 2016):

- Tinción.** Consiste en la aplicación de colorantes específicos, los cuales sufren una reacción química con la bacteria. Dichos colorantes suelen ser sales básicas o ácidas, las cuales reaccionan con los ácidos nucleicos de las bacterias y las tiñe, o son empleadas como colorantes de contraste para hacer mejor distinción de los microorganismos que se quieren detectar. Se emplean para identificar la presencia y la morfología de las bacterias, y técnicas más especiales permiten hallar otras características más específicas. Entre las más conocidas está la tinción acidorresistente, la tinción negativa, y tinciones de flagelos, cápsulas y esporas. De las tinciones más representativas se encuentra la tinción de Gram, empleada para la clasificación inicial de un cultivo obtenido de bacterias. Desarrollada por el histólogo Hans Christian Gram, es un procedimiento que distingue a dos grupos bacterianos de acuerdo a la composición y estructura de sus paredes celulares (Tabla 15), además de identificar su morfología. La técnica consiste en teñir una muestra microbiológica fijada en un portaobjetos con dos tintas distintas.

Tabla 15. Comparación de las características de las bacterias bajo la tinción de Gram. Fuente: JAWETZ et al, Microbiología Médica (2016).

Característica		
	Gram positivas	Gram negativas
Color de la célula después de la tinción de Gram	Violeta	Rojizo-rosado
Género representativo	<i>Bacillus, Staphylococcus, Streptococcus</i>	<i>Escherichia, Neisseria, Pseudomonas</i>
Componentes y estructuras distintivas		
Peptidoglucano (polímero de azúcares y aminoácidos)	Capa gruesa	Capa delgada
Ácido teicoico (polímero de polialcohol unido con enlaces fosfodiéster)	Presente	Ausente
Membrana externa	Ausente	Presente
Lipopolisacáridos (endotoxinas)	Ausente	Presente
Proteínas porinas	Ausentes (innecesarias al carecer de membrana externa)	Presentes (permiten el paso de moléculas a través de la membrana externa)
Periplasma (capa intermedia entre citoplasma y pared)	Ausente	Presente
Características generales		
Sensibilidad a la penicilina	Más susceptible (con notables excepciones)	Poco susceptible (con notables excepciones)
Sensibilidad a las lisozimas	Sí	No

Las bacterias Gram positivas retendrán un complejo de cristales color violeta con yodo como mordante, después de un breve lavado con alcohol o acetona. Las Gram negativas no retienen complejo anterior, pero pueden volverse a teñir con safranina, un colorante de contraste. Así, las Gram positivas quedan de color violáceo, y las Gram negativas portan una coloración roja a rosada (JAWETZ et al, 2016).

- **Microscopía.** El uso de un microscopio, aunado a una técnica de identificación como la tinción, ofrece mayor información sobre las bacterias al hacer distinción de las mismas en base a sus diferencias fundamentales, como la morfología. Es el primer paso de identificación.
- **Medios de cultivo.** Es la preparación de un medio en el que los microorganismos crezcan, el cual cuenta con nutrientes necesarios para su proliferación. Sirven para identificar y contar las colonias de microorganismos (UFC/ml). Conforme al tipo de organismo que se desea detectar, se

clasifican en medios no selectivos (cultivan bacterias diversas), medios selectivos (prolifera bacterias específicas), y medios de diferenciación (identificación de bacterias bajo características propias). Suelen ser preparados para su uso en placas de Petri, o pueden conseguirse placas con el cultivo preparado listas para su uso. Actualmente, las placas de Petri están siendo sustituidas por placas Petrifilm. que disponen de un medio de cultivo deshidratado listo para ser empleado, un agente gelificante soluble en agua fría para proporcionar las mismas condiciones que el agar, y un indicador de color que facilita la identificación y el recuento de las colonias (3M, 2006). Las placas Petrifilm, en comparación a las placas de Petri con agar, no requieren la preparación previa y exhaustiva del medio de cultivo, están listas para usarse, y requieren menos espacio de incubación y almacenaje – ver Figura 17. Así como existen placas Petrifilm para contar mesófilos aerobios, existen otras con cultivos preparados para identificar otro tipo de bacterias, como lo son los coliformes, *E. coli*, *Salmonella*, y *Listeria*; y otros tipos de microorganismos como hongos y levaduras.

Figura 17. Placa Petrifilm para cuenta de mesófilos aerobios, con su paquete de almacenamiento.

Fuente: <http://www.portal.prosac.com.pe/6400-PETRIFILM-AEROBIOS.jpg?resizeid=-2&resizeh=240&resizew=240>



- **Pruebas bioquímicas.** Son pruebas en las que un cultivo de bacterias aislado es sujeto a reacciones con sustancias químicas, con el fin de ofrecer una identificación más significativa, el cual suele ser un paso culminante para determinar de qué microorganismo particular se trata. Los reactivos suelen ser componentes vinculados directamente con el metabolismo microbiano. Algunos ejemplos son la producción de catalasa, oxidasa, proteinasa, o ureasa, reacción de coagulasa, reacción con citrato, desdoblamiento de carbohidratos, reacción con sulfuro de hidrógeno, prueba del indol, reducción de nitratos, prueba de Voges-Proskauer, entre otros más. Como algunos métodos microbiológicos, se han desarrollado pruebas bioquímicas con el objetivo de obtener una identificación fiable en el menor tiempo posible. Un ejemplo notable es el Analytical Profile Index (API™) de bioMérieux, que trata de la identificación de bacterias Gram positivas o Gram negativas, por medio de pruebas designadas (véase la Figura 18). Consiste en

una tira con varios compartimientos que contienen medios deshidratados, los cuales pueden ser inoculados a partir de un cultivo bacteriano puro y aislado. Después de la incubación (de 2 a 72 horas, dependiendo del tipo de microorganismo), los compartimientos presentan o no un cambio de color, que se califican por número para producir una cifra que coincida con una especie y género bacterianos de una base de datos fundamentada (JAWETZ et al, 2016).

Figura 18. Tiras para las pruebas API™. La tira superior es una prueba sin inocular, y las cuatro tiras inferiores son pruebas ejecutadas en cultivos puros y aislados de bacterias inoculadas, listas para su interpretación. Fuente: <http://archive.bio.ed.ac.uk/jdeacon/microbes/api3.jpg>



4.4.5.4. Selección de límites de aceptación.

Una vez seleccionado los métodos a utilizar en la validación de un procedimiento de limpieza específico, es común proseguir con la selección de los criterios de validación. Los resultados del análisis están incompletos sin una estimación de su fiabilidad, por lo que es preciso que el experimentador debe de proporcionar alguna medida de incertidumbre relacionada con los cálculos obtenidos si se pretende que los datos revistan valor (SKOOG et al, 2005). Los límites de aceptación se clasifican en tres tipos, en base al tipo de método seleccionado (FORERO VARGAS, 2008):

- **Límite físico.** Son criterios organolépticos, con el fin de que el sistema quede “visualmente limpio”. Es una revisión posterior a la limpieza, en la que se verifica la ausencia de residuos visibles, y se procede a tomar una muestra en caso de encontrarse alguno. Es útil para sistemas abiertos, pero poco práctico para los cerrados al no poder verse suciedad en las tuberías hasta que éstas se desmonten.
- **Límite químico.** Son los criterios determinados para un método químico, que suelen ser empleados para la evaluación de residuos de agentes limpiadores o sanitizantes. Con el fin de

establecerlos, se recurre a la revisión de datos históricos experimentales, o a las normas gubernamentales. El criterio por excelencia para métodos más exactos son las partes por millón (ppm) y las partes por billón (bpm).

- **Límite microbiológico.** Son las especificaciones otorgadas a los parámetros principales del crecimiento microbiano: la presencia, la identificación, y la cuantificación de microorganismos. Al igual que los límites químicos, los microbiológicos se establecen conforme a datos históricos o con sus respectivas normas, con el fin de monitorear la presencia de microorganismos que sean posibles contaminantes nocivos para el producto. Para la cuantificación de bacterias, el criterio se evalúa por la reducción logarítmica de su crecimiento en base a las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) que se presenten en un mililitro de la muestra cultivada. Por el contrario, para presencia o identificación suele ser un criterio binomial (sí o no).

4.4.5.5. Validación de métodos.

La validación de los métodos de análisis tiene la finalidad de demostrar que un procedimiento analítico, la instrumentación, y el analista, son adecuados para su función intencionada, por lo que es un paso crucial antes de comenzar la validación de la limpieza y sanitización de un sistema. Conforme a lo dictado en la guía para la Validación de Procedimientos y Métodos Analíticos de la FDA (2015), la validación de un método analítico seguir un protocolo aprobado que describa la metodología por cada característica de verificación, así como los límites de aceptación predeterminados y justificados con la instrumentación apropiada. Los resultados obtenidos deben incluir detalles de los estudios realizados en el momento de su documentación.

Los parámetros a considerar dentro de la validación de un método son la precisión, la exactitud, la sensibilidad, la linealidad, la repetibilidad y reproducibilidad con el equipo instrumental y el analista, el grado de especificidad, los rangos, y los límites de detección. No todas las características mencionadas aplican a todos los tipos de métodos analíticos (REZQUELLAH, 2015). Así mismo, en el caso de que el método empleado sea una prueba indicadora de estabilidad (que detecte cambios mínimos en el proceso), se recomienda la ejecución de múltiples análisis con varias muestras para probar su confiabilidad.

4.4.6. Muestreo.

El muestreo es el proceso para obtener una pequeña masa de un material cuya composición represente con exactitud a todo el material muestreado, con el fin de obtener información significativa y resultados válidos. Con frecuencia, el muestreo es el paso más difícil de todo el proceso analítico, limitando la exactitud del procedimiento. En el proceso de muestreo, es crucial asegurarse de que las partes seleccionadas son representativas de todo el material o población, y los elementos seleccionados para el análisis son denominados unidades de muestreo o incrementos de muestreo. El tamaño de la

muestra dependerá de una estimación de la cantidad de analito que pueda existir en la misma. Una vez tomada la muestra, ésta suele ser preparada para proseguir con el método (SKOOG et al, 2005).

Por lo regular, la cantidad y el tamaño de muestras representativas que se han de tomar de una población suele ser calculada a partir de métodos estadísticos, por medio de la obtención de valores medios y varianzas sometidos a incertidumbre. Éste método suele ser utilizado para validaciones o verificaciones del producto. En cambio, para validar un procedimiento para limpiar y sanitizar dichos sistemas el muestreo es completamente distinto, puesto que se diseña para identificar residuos potenciales en las superficies limpias del equipo que se pudieron transferir al siguiente lote de manufactura (MORALES HENRÍQUEZ, 2010). Los puntos considerados en el diseño del muestreo, son mencionados a continuación.

4.4.6.1. Selección de puntos de muestreo.

Con la finalidad de proporcionar información sobre la efectividad de la limpieza de un equipo de manufactura, es necesario seleccionar sitios de muestreo que lo demuestren. Generalmente, se consideran cinco criterios para designar los puntos de muestreo (MORALES HENRÍQUEZ, 2010):

- **Lugar más difícil de limpiar.** En estos sitios, es más probable que ocurra una acumulación indeseable de contaminación. Suelen ser líneas de transferencia, válvulas, aspas, sellos, drenajes, etc.
- **Punto de contaminación no uniforme.** Cabe la posibilidad de que en ciertas superficies del equipo, los residuos sean transferidos a una porción limitada del siguiente lote. Se pueden tratar de áreas con biopelículas, canales de llenado, canales inclinados y descargas.
- **Puntos representativos.** Sirven como puntos de referencia para el muestreo del equipo, particularmente provechosos para detectar o prevenir una falla en la validación de la limpieza. Pueden incluir, por ejemplo, bordes de contenedores, tapas, puertos, válvulas, y agitadores.
- **Materiales de construcción representativos.** En el caso de que el sistema tuviera múltiples materiales de construcción, y éstos no sean fáciles de limpiar por sus características al ambiente en el que son sometidos, es altamente recomendable tomar una muestra con el fin de verificar la carga de suciedad.
- **Puntos susceptibles de recontaminación.** Este criterio solamente es aplicable a los estudios de validación de limpieza para equipos en espera de ser utilizados – como los tanques de almacenamiento. Debe considerarse la manera en cómo este equipo se recontaminaría, y el punto en el que esto se pueda encontrar.

4.4.6.2. Técnicas de muestreo.

Para la validación de una limpieza, existen dos tipos generales de técnicas de muestreo que se han encontrado como aceptables (FDA, 2015; MORALES HENRÍQUEZ, 2010):

- **Muestreo directo de superficie.** Es la remoción física de material de una superficie objetivo. Un hisopo de algodón, rayón, o dacrón, humedecido con un solvente especial se frota sobre un área determinada (25 cm²), para luego ser colocado dentro de un volumen conocido de tal solvente para que la muestra en el hisopo se solubilice para un posterior análisis. Es útil para superficies abiertas o de fácil acceso, y no interfiere con la toma de muestra de otros puntos. Sin embargo, existe la posibilidad de que la composición del hisopo interactúe con los residuos y queden absorbidos dentro de su estructura.
- **Muestreo por enjuague.** Es un muestreo indirecto, que consiste en la muestra de líquido que pasa por el sistema. El volumen muestreado debe ser conocido para determinar la identificación o la cuantificación del contaminante. Este muestreo se realiza en lugares de difícil acceso, como las tuberías. No obstante, el flujo puede no arrastrar residuos fuertemente adheridos, obteniendo así muestras diluidas con baja posibilidad de detección; además de que se corre el riesgo de perder el líquido (ver Figuras ##).

Debido a que se tratan de procesos manuales, las técnicas de muestreo se deben validar junto con el proceso de análisis, puesto que existe variabilidad entre analistas, independientemente del tipo de muestreo que se utilice. El personal entrenado debe contar con un procedimiento estandarizado en cada caso (REZQUELLAH, 2015).

Existen recomendaciones para una toma de muestra correcta con la mínima cantidad de variación (MARRIOTT, 2003):

- ✓ Colocar una identificación de las muestras representativas a tomar; con el lugar, la fecha, y el responsable. Etiquetar, no usar marcador directamente en el recipiente en el que se muestree.
- ✓ Registrar la temperatura de la muestra.
- ✓ Mantener la temperatura correcta de las muestras recogidas, para evitar alteraciones en el análisis.
- ✓ Proteger la muestra de contaminación o alteración.
- ✓ Sellar las muestras para preservar su integridad.
- ✓ Remitir las muestras al analista en el recipiente original sin abrir.

4.4.7. Métodos y herramientas estadísticas.

Una vez obtenidos los resultados de los análisis de las muestras representativas, es lógico que siga después la interpretación y presentación de los mismos, con el fin de juzgar el éxito o el fracaso del proceso de validación, así como el establecimiento de las acciones correctivas y preventivas por venir.

El control estadístico de Calidad (SQC por sus siglas en inglés), consiste en la aplicación de principios científicos de probabilidad y estadística como fundamento de decisiones concernientes a la aceptación

general de un producto a medida que se va desarrollando el trabajo; proporcionando un conjunto metódico de procedimientos para saber qué es importante y cómo deben realizarse evaluaciones apropiadas (MARRIOTT, 2003).

Generalmente se emplean tres mediciones para describir la tendencia central de los datos recogidos de un proceso o lote: la media, la mediana, y la moda (ver Tabla 10). La *media* consiste en un promedio numérico de los valores obtenidos que proporciona una medida cuantitativa de dónde está el centro de los datos en una muestra. La *mediana* refleja la tendencia central de la muestra sin ser influida por valores externos. Por último, la *moda* es el valor que se presenta con más frecuencia en un conjunto de datos (WALPOLE et al, 2007).

Aun cuando las mediciones anteriores se utilicen, no proporcionan un panorama completo de la forma en que se manufactura convenientemente el producto. Hay una posibilidad de que exista una variabilidad en las muestras tomadas, puesto que no suele presentarse una uniformidad respecto de la carga de suciedad en los puntos en los que hayan sido tomadas (MARRIOTT, 2003). Tres expresiones de esta variación son el rango, la varianza, y la desviación estándar (ver Tabla 16). El más sencillo, el *rango*, consiste en una resta del valor más alto y el más bajo. La *varianza* y la *desviación estándar* son medidas más exactas de la dispersión de los datos al considerar todos los valores. La *varianza* es la media de las diferencias de cada valor con el promedio de los mismos, elevados al cuadrado para la obtención de números positivos que no reduzcan su valor, y la *desviación estándar* es la raíz cuadrada de la varianza (WALPOLE et al, 2007).

Tabla 16. Fórmulas para el cálculo de tendencia central y de variabilidad de un conjunto de datos. (n= número de datos, x=dato). Fuente: Autoría propia.

Medidas de tendencia central		
$\bar{x} = \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{n}$	$\tilde{x} = \begin{cases} x_{(n+1)/2} & \text{si } n \text{ es impar} \\ \frac{1}{2}(x_{\frac{n}{2}} + x_{\frac{n}{2}+1}) & \text{si } n \text{ es par} \end{cases}$	Dato más repetido de una serie de datos.
Media	Mediana	Moda
Medidas de variación de un conjunto de datos		
$R = x_{\max} - x_{\min}$	$S^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$	$S = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$
Rango	Varianza	Desviación estándar

Las medidas anteriores funcionan con el fin de realizar cálculos previos para la presentación de resultados numéricos derivados de los métodos de análisis (pH, concentraciones, cantidad de colonias microbianas, etc.). Resulta factible organizar la información en tablas; sin embargo es poco práctico y tedioso si se quiere exponer un conjunto muy grande de datos numéricos, por lo que se recurren a la

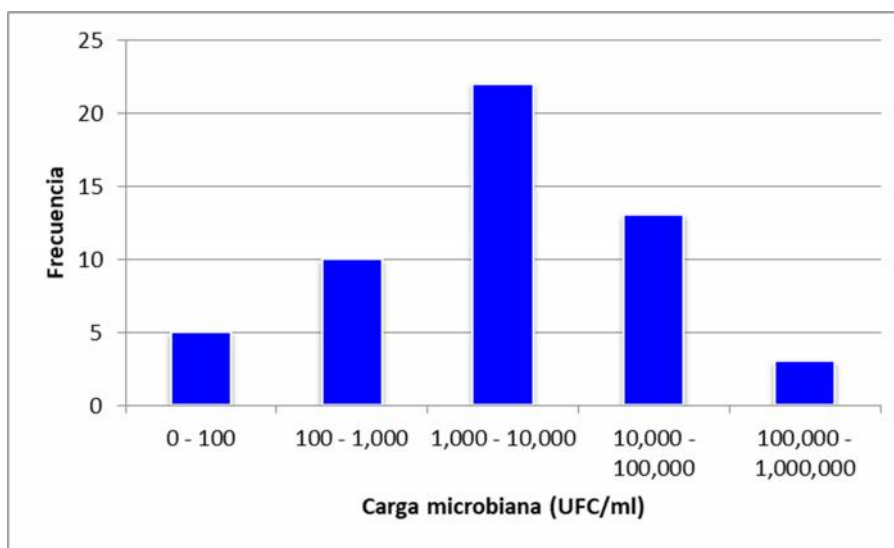
construcción de gráficas para su interpretación. Las formas más representativas para la presentación de este tipo de datos son las siguientes (MARRIOTT, 2003; WALPOLE et al, 2007):

- **Histogramas.** Consiste en una gráfica de barras representativa de una tabla de frecuencias. Al tener un número relativamente grande de resultados, conviene tabularlos en base a la distribución acumulada de una serie de datos clasificados dentro de un rango designada (véase Tabla 17). Una vez organizada, la información puede presentarse en un gráfico que exprese su forma de disposición (ver Figura 19).

Tabla 17. Ejemplo de una tabla de frecuencias de carga microbiana, en UFC/ml. Fuente: MARRIOTT, Principios de Higiene Alimentaria (2003).

Rango de datos (UFC's/ml)	Frecuencia
0 - 100	5
100 - 1,000	10
1,000 - 10,000	22
10,000 - 100,000	13
100,000 - 1,000,000	3

Figura 19. Histograma de la carga microbiana de la Tabla 17, en UFC/ml. Fuente: MARRIOTT, Principios de Higiene Alimentaria (2003).

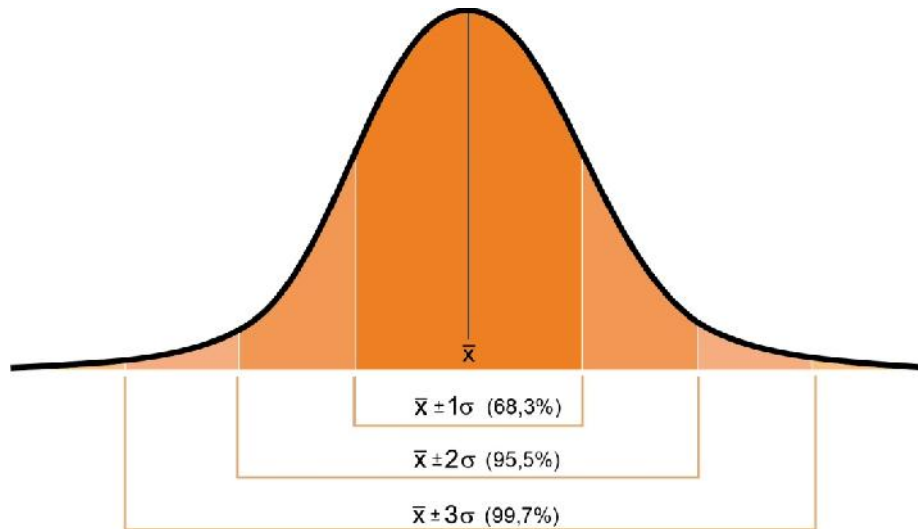


- **Curva de distribución normal.** También conocida como la curva de probabilidad normal, es un gráfico importante común al análisis estadístico, cuya área interna significa todos los eventos descritos por la frecuencia de distribución de los datos bajo rangos establecidos (ver Figura 20). La variación de la curva está representada por la desviación estándar, utilizada para determinar las porciones bajo la curva. Siendo la media el centro de la curva, una desviación estándar a la derecha de la media representa el 34% de los valores de las muestras, y por consecuencia el doble

de esa cantidad cae dentro de ± 1 de desviación estándar de la media. Semejantemente, el 95% cae en el ± 2 de desviación, y el 99% está en el ± 3 . Hasta aquí, la información puede utilizarse para establecer límites de control para determinar el control del proceso.

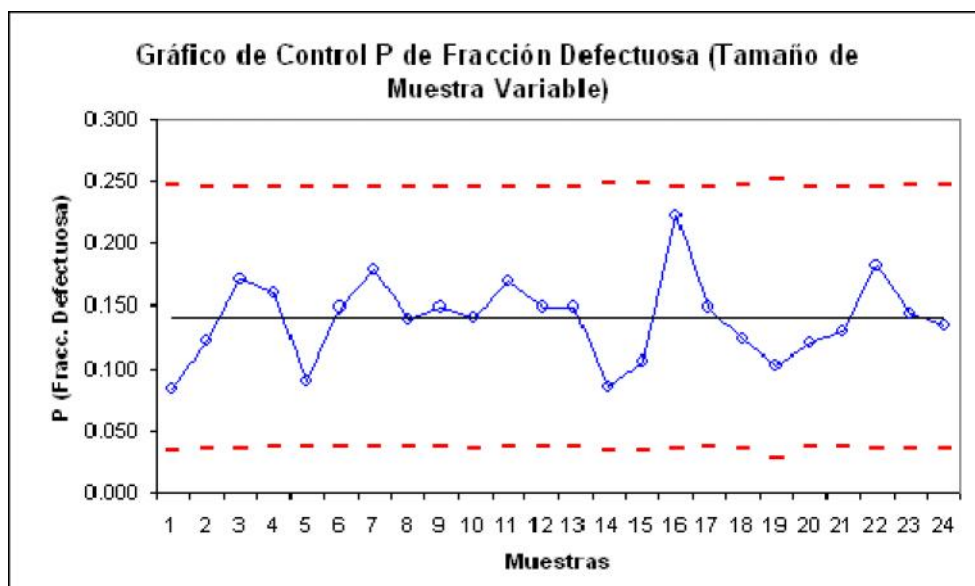
Figura 20. Curva de distribución normal. Fuente:

<https://qualitasaagg.files.wordpress.com/2015/01/curva-distribucic3b3n-normal.jpg>



- **Gráfico de control.** Es un gráfico derivado de la curva de distribución normal, que sirve para evaluar el desempeño de un proceso respecto a los niveles considerados como aceptables. Con esta herramienta, es posible monitorear las variabilidades especiales no inherentes a una actividad, al establecer que ésta se encuentra fuera o dentro de control respecto a unos límites calculados en base a la media, el rango, y la desviación estándar del conjunto de datos a analizar (véase Figura 21). Consiste en una representación gráfica del comportamiento de una característica bajo un lapso de tiempo determinado, sujeta a límites que cuentan con el objetivo de disminuir la probabilidad de concluir que el proceso esté dentro de control al no estarlo – similar a la elección de una región crítica. De acuerdo a la característica a medir, las gráficas de control caen en dos categorías:
 - a) Variables.** Miden características sobre un continuo (diámetro, peso, etc.)
 - b) Atributos.** La característica refleja si el producto individual pasa o no pasa, es decir, es o no defectuoso.

Figura 21. Ejemplo de gráfico de control por atributos, para determinar fracciones inaceptables de una muestra. Fuente: <https://optyestadistica.files.wordpress.com/2009/04/chart4.gif>



4.4.8. Documentación y seguimiento.

Al principio de la sección 4.4. de este Capítulo, se explicó que la documentación es parte fundamental y extensa de un proceso de validación. La FDA (2017) enfatiza que documentar cada paso del ciclo de vida de la validación de una operación es esencial para una comunicación efectiva en proyectos complejos, largos, o multidisciplinarios. Los conocimientos adquiridos del equipo, el proceso, y el producto, son accesible y comprensible para los involucrados en cada paso de una actividad, de tal forma que entiendan el porqué de la operación que se esté realizando. La información requiere ser transparente y asequible fácilmente, aunada a los procesos que se ejecuten día con día; siendo esenciales para permitir que unidades organizacionales responsables tomen decisiones con fundamentos firmes que den soporte al producto o proceso sujeto a validación (FDA, 2015).

En la validación de la limpieza y sanitización, se trata de conseguir pruebas documentadas con un alto grado de garantía de que un sistema de fabricación objetivo esté limpio y sanitizado correctamente en consideración de límites aceptables y predeterminados, con el fin de asegurar que no existan riesgos asociados con la contaminación en sus diferentes tipos (REZQUELLAH, 2015). La documentación necesaria implica procedimientos operativos y de análisis, registros, resultados obtenidos, reportes elaborados desde su inicio hasta su culminación, y referencias consultadas, los cuales se conservan como un histórico para futuras validaciones (HOJO, 2004).

Una vez concluido el proceso de validación, y como parte de la mejora continua, la operación evaluada debe mantenerse bajo monitoreo continuo para asegurar que éste permanece dentro de los parámetros establecidos para la obtención de óptimos resultados. Lo anterior es posible lograrlo con el

establecimiento de controles en el equipo, el proceso, el producto, y el personal operativo, los cuales cuentan con niveles de aceptación firmes y aprobados. Si se hallara una tendencia negativa en el monitoreo de los datos de control del proceso, es preciso investigar la causa, tomar acciones correctivas y preventivas, y evaluar la posibilidad de ejecutar una revalidación (HOJO, 2004). De esta forma, se puede consumir un ciclo de mejora continua con un enfoque preventivo orientado a un aumento en la calidad de los resultados.

Como la calidad de cualquier tipo de operación está definida por las características técnico-industriales y el impecable estado del sistema, para controlar su funcionamiento hacen falta en primer lugar métodos rápidos de vigilancia. Los trastornos de funcionamiento o la difícil identificación de determinadas influencias sobre la Calidad, exigen detenidos controles de las diversas etapas de la producción y la práctica de investigaciones con modelos experimentales (WILDBRETT, 2000). A continuación, se exponen los controles continuos de un proceso más representativos (WILDBRETT, 2000; REZQUELLAH, 2015).

- **Control organoléptico.** Desempeña un importante papel en las tareas de limpieza, al orientar enseguida el estado de la superficie limpia. Dentro de este criterio se tienen la apariencia, el color, y el olor de la muestra seleccionada.
- **Control fisicoquímico.** Análisis de propiedades físicas y químicas de una muestra seleccionada, con el objetivo de encontrar residuos potenciales de contaminante o agente limpiador. Para más detalles, véase el punto 4.4.5.2. del presente Capítulo.
- **Control microbiológico.** Análisis de identificación y cuantificación de microorganismos de una muestra determinada, para verificar la carga microbiana en puntos clave del proceso de limpieza. Son aplicables a la superficie del equipo a limpiar, al agua del último enjuague realizado y al personal responsable de la operación. Véase el punto 4.4.5.3. de este Capítulo para los tipos de análisis más representativos.
- **Plan de muestreo.** Una vez contando con los métodos de análisis, los puntos de muestreo, y la técnica de muestreo, se procura elaborar un plan que contenga cada uno de estos puntos. Tiene como objetivo detallar los distintos pasos necesarios para verificar la limpieza de un equipo o de un sistema de manufactura, que sean primordiales para garantizar la calidad y seguridad de los productos fabricados. Los planes de muestreo cuentan con información clave que determinen el qué, quién, cuándo, cuánto, y el cómo: equipo a muestrear, forma de identificación de la muestra, fecha de toma, punto y técnica de muestreo, análisis a realizar, parámetros de evaluación, resultados obtenidos, y los responsables de la toma y la verificación del cumplimiento del plan.

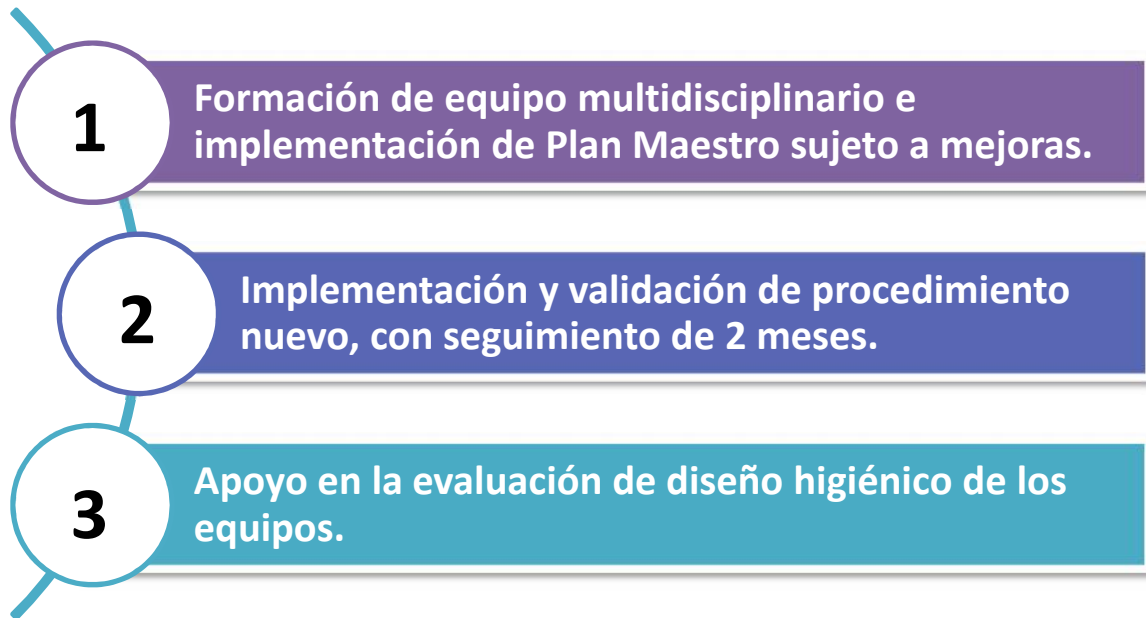
CAPÍTULO V:

**Metodología de implementación,
validación, y seguimiento.**

V. Metodología de implementación, validación, y seguimiento.

Una vez identificado el problema explicado con anterioridad en los Antecedentes en el Capítulo I, se estableció una metodología para la implementación y validación, que fue llevada a cabo mediante los siguientes pasos:

Figura 22. Pasos empleados para la implementación y validación del nuevo procedimiento temporal para limpiar y sanitizar la línea de producción en su totalidad. Fuente: Autoría propia.



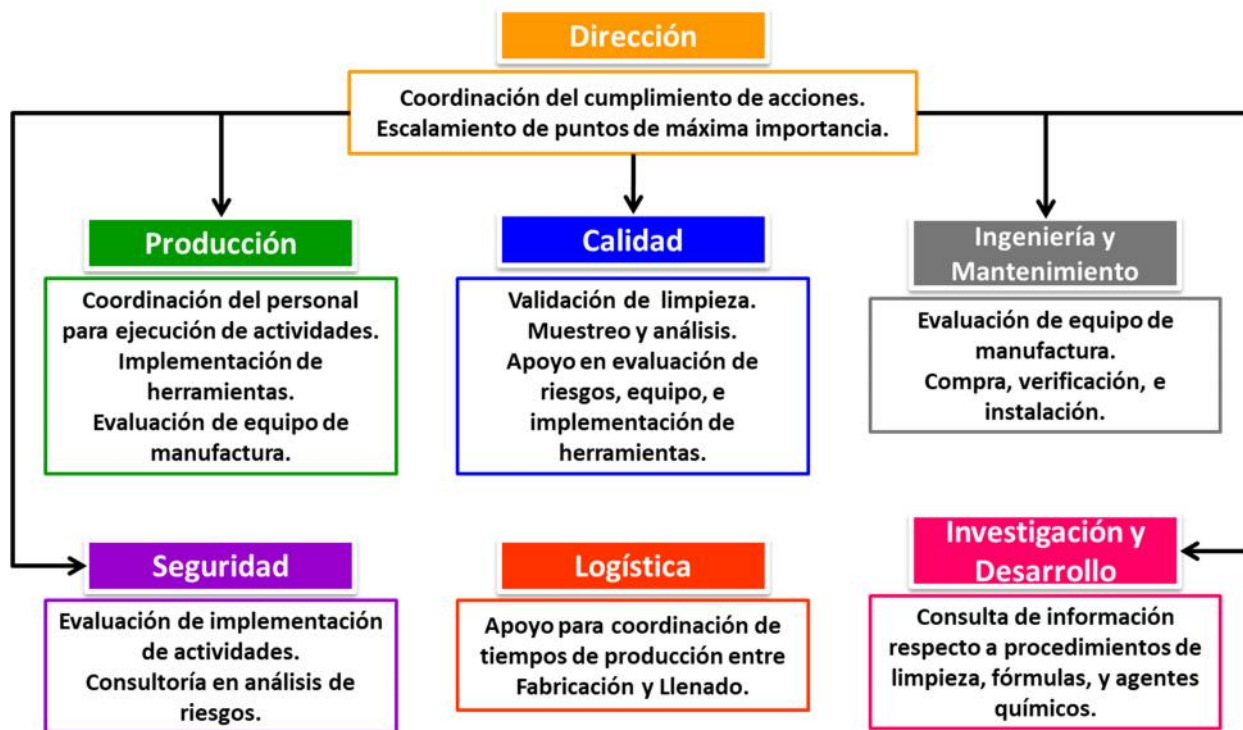
1) Formación de equipo multidisciplinario e implementación de Plan Maestro sujeto a mejoras.

Como primer paso ante la solución del problema, se prosiguió a la formación de un equipo multidisciplinario que consistió en integrantes clave de los departamentos involucrados en el proceso, los cuales se exponen en la Figura 23. Además del personal involucrado por parte de la planta nacional, se incluyó la asistencia de personal de la planta estadounidense especializado en microbiología, así como gente de Ingeniería; con el fin de proporcionar asesoría firme en los planes de acción necesarios para la culminación de los objetivos propuestos.

Una vez integrado el equipo, se comenzó la construcción de un Plan Maestro sujeto a mejoras y valoración de nuevas ideas. Dicho plan consistió en un diagrama de Gantt que contenía la siguiente información: la acción a tomar, el plazo de tiempo en el que debía ser cumplida conforma a su importancia (corto, mediano, y largo plazo), el criterio de éxito que garantizaba su cumplimiento conforme a la evidencia y documentación a entregar (el método de ejecución de la actividad), la persona

responsable de la acción, y el gráfico a un plazo de dos meses de trabajo sujeto a expansiones, junto con un porcentaje de avance de la ejecución pertinente de las acciones.

Figura 23. Departamentos de la empresa involucrados en el equipo multidisciplinario formado, con una descripción de sus responsabilidades generales. Fuente: Autoría propia.



En la Tabla 18 se presenta el formato con el que se gestionó el Plan Maestro para la implementación y validación del procedimiento de limpieza y sanitización nuevo.

Tabla 18. Formato del Plan Maestro. Fuente: Autoría propia.

Actividad a realizar	Plazo de cumplimiento	Criterio de éxito	Responsable	Mes 01				Mes 02				Porcentaje de Cumplimiento	
				S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4		
Acción 01	Corto plazo	Herramienta nueva	Mantenimiento	█	█								100%
Acción 02	Mediano plazo	Validación de programa	Calidad / Producción		█	█	█	█					50%
Acción 03	Largo plazo	Agendar reunión	Ingeniería		█	█	█						17%

Entre el personal del equipo, se acordó la revisión del plan se presentara en una reunión semanal con los directivos correspondientes. En estas juntas, se exponía una presentación que contendría lo siguiente:

- El Plan Maestro con las acciones más importantes de la semana.
- Hallazgos sobresalientes.
- Evidencia de los hallazgos y de las mejoras implementadas, fotográfica, gráfica, e incorporada en formatos disponibles de la empresa.

- Propuestas de acciones a incluir en el Plan.
- Solicitud de apoyo de áreas de soporte.

Así mismo, con el fin de documentar por completo todo lo realizado para futuras referencias, se levantó una no conformidad en el sistema de la empresa, la cual contenía antecedentes, el Plan de Acción, las acciones de mejora, y sus responsables, en conjunto con la evidencia. El seguimiento a la información de la no conformidad fue revisada una vez por semana, aunado al avance del Plan Maestro.

2) Implementación y validación de procedimiento nuevo, con seguimiento de 2 meses.

Como parte del Plan Maestro, se implementó un procedimiento de limpieza y sanitización nuevo bajo recomendación de las áreas de Investigación y Desarrollo y Seguridad. Dicho proceso fue estipulado para ser aplicado temporalmente, con el motivo de disminuir la carga microbiológica y encontrar las causas raíces pertinentes de un corto a mediano plazo, y realizar las acciones correspondientes que disminuirían aún más la contaminación microbiana a un largo plazo, sujeto a mejoras conforme a sus resultados.

Los agentes limpiadores y sanitizantes propuestos, además del agua industrial, son soluciones químicas empleadas en los procesos de limpieza y sanitización escritos en la empresa. Dichas sustancias han sido validadas en múltiples sistemas al utilizarse bajo concentraciones bajas en solución acuosa preparada (~0.1%). Para este procedimiento en particular, se emplearon concentraciones más elevadas, tomando en cuenta las recomendaciones del fabricante y los efectos que éstos pueden originar en el transcurso de la limpieza. Así mismo, las concentraciones fueron propuestas de tal forma que los rangos de pH de los últimos enjuagues se encontraran dentro de valores neutros (6.5 a 7.5), para no afectar a los productos a fabricar. Los químicos en cuestión se encuentran descritos en la Tabla 19:

Tabla 19: Descripción y características de los agentes limpiadores y sanitizantes empleados en el procedimiento de limpieza y sanitización nuevo. Fuente: Autoría propia.

Tipo de Agente	Función	Componente principal
Agua desionizada	Limpiador, solvente para químicos	'---
Ácido	Limpiador	Ácido fosfórico (35% m/v)
Alcalino	Limpiador	Metasilicato de sodio (5% m/v) 2-Butoxyethanol (5% m/v)
Alcalino clorado	Sanitizante	Hipoclorito de sodio (10% m/v) Hidróxido de sodio (15% m/v)

El procedimiento debía realizarse cada fin de semana en coordinación con las áreas de Fabricación y Llenado, constando de los siguientes pasos de manera general:

- **Fase 1: Limpieza mecánica de componentes.** Es la limpieza y sanitización de componentes susceptibles de acumular suciedad que sean capaces de desmontarse (válvulas, bombas, filtros); mediante un enjuague inicial con agua caliente a 60°C por 20 minutos. Luego, se lavan con una

solución acuosa del agente ácido al 7.5% seguido de una solución del agente alcalino a la misma concentración. Entre estos lavados debe existir un tiempo de reposo de 10 minutos cada uno, después de los cuales procede un enjuague con agua fría. Posteriormente, los componentes se sanitizan metiéndolos a un recipiente que contiene con una solución del agente alcalino clorado al 2% por 10 minutos, se enjuagan con agua fría por 5 minutos, y se procede a su armado.

- **Fase 2: Limpieza de todo el sistema.** Se trata de la limpieza y sanitización de todo el sistema, desde el área de Fabricación hasta el área de Llenado. Se comienza con un enjuague inicial de agua caliente a 80°C por 20 minutos. Prosigue un lavado con una solución acuosa del agente ácido al 7.5% seguido del agente alcalino a la misma concentración. Posteriormente, los componentes se sanitizan con una solución al 2%. Debe proceder un enjuague con agua limpia después de emplear cada químico. Cada vez que se realiza el enjuague de agua caliente y la adición de cualquier solución química, se cierran los pasos de agua entre el área de fabricación y el área de llenado, con apoyo de la presurización de las tuberías, para que el líquido limpiador o sanitizante en cuestión se mantenga en contacto con la superficie a tratar en el tiempo correspondiente.

Es importante mencionar que este procedimiento semanal no sustituyó a la aplicación de los procedimientos de limpieza y sanitización diarios existentes, validados, y respectivos a las dos áreas de manufactura. Se considera éste como una mejora al procedimiento de limpieza profunda que ataca los puntos más vulnerables de las dos áreas combinadas, cuyos procedimientos individuales no tocan.

En el Plan Maestro de la validación se estableció que el procedimiento de limpieza y sanitización nuevo se valoraría mediante un enfoque microbiológico. Por ello, las muestras deben tomarse para evitar que se contaminen por medios externos, aplicándose los dos métodos de muestreo recomendados por la FDA. El primero fue la toma directa en la superficie por medio de un hisopo empleada en el interior del tanque de fabricación, el interior del filtro, y los pistones de la llenadora. Los materiales y el procedimiento sugeridos para dicha técnica se especifican en las Figuras 24 y 25. El segundo fue la toma de una muestra de agua, utilizado para las áreas de descarga y puertos de muestreo disponibles de los demás los equipos del sistema. Dichas técnicas de muestreo se pueden apreciar en las Figuras 26 y 27. Personal asignado de la planta tomó solamente las muestras del agua de enjuague bajo la supervisión de Calidad, al no contar con la capacitación suficiente para la técnica del muestreo con hisopo (el laboratorio externo tomó las muestras tomadas bajo esta última técnica).

Figura 24. Material a emplear para el método de toma de muestra mediante el uso de hisopos.

Fuente: Autoría propia.



Figura 25. Método de toma de muestra mediante el uso de hisopos. Fuente: Autoría propia.

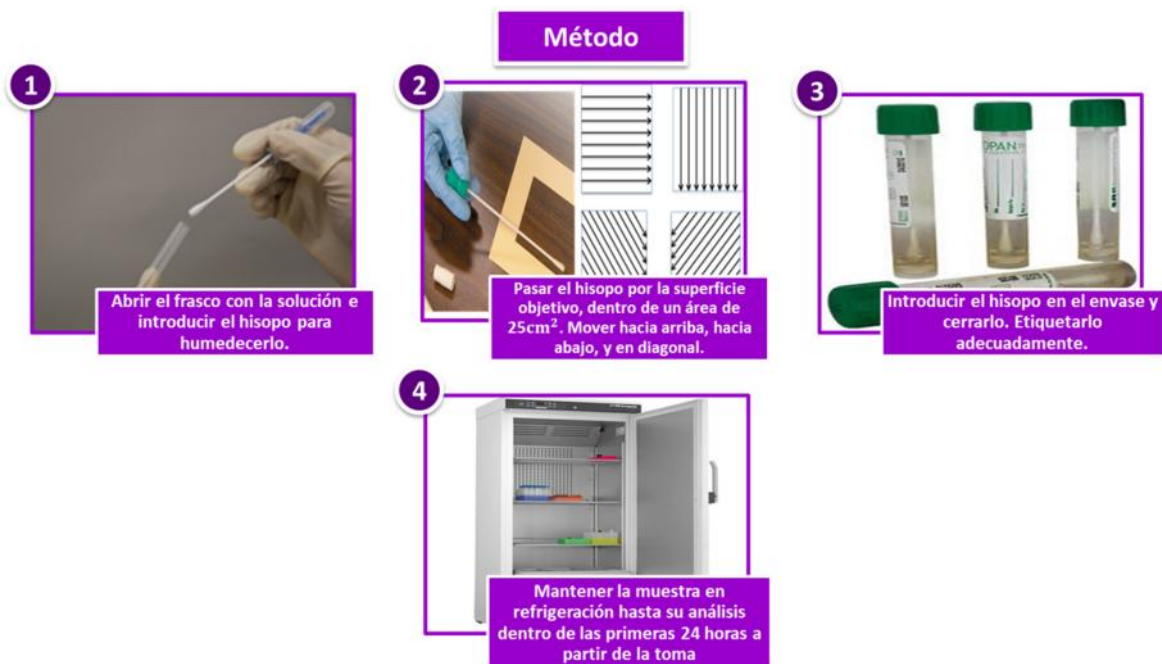


Figura 26. Material a emplear para el método de toma de muestra de agua. Fuente: Autoría propia.



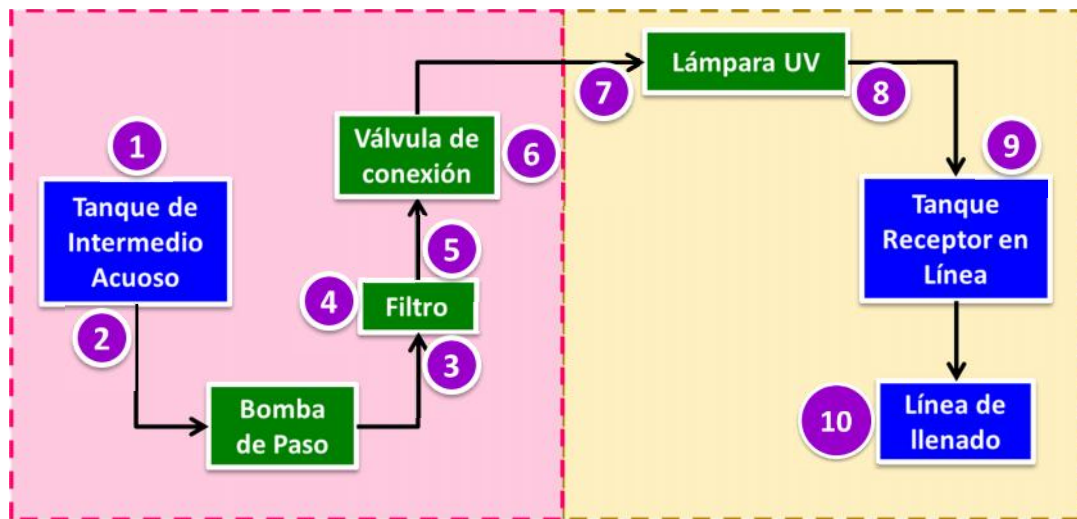
Figura 27. Método de toma de muestra de agua. Fuente: Autoría propia.



Se tomaron muestras antes y después del proceso de limpieza y sanitización con el fin de proporcionar un panorama respecto a la carga microbiana eliminada, así como la efectividad de la limpieza en el transcurso del intervalo semanal. Los puntos de muestreo, seleccionados mediante un recorrido al sistema de manufactura y en base a los antecedentes, se especifican en la Figura 28: la parte

interna del tanque de fabricación a la altura de su tapa (1), la válvula de descarga del mismo tanque (2), la válvula de muestreo anterior al filtro de paso (3), dentro del filtro (4), y la válvula de muestreo después del filtro (5), la válvula de conexión con la tubería de un tanque adyacente (6) la válvula de muestreo a la entrada y a la salida de la lámpara UV (7 y 8), el interior del tanque receptor (9), y cuatro pistones de la línea de llenado (10).

Figura 28. Puntos de muestreo seleccionados para la validación del método de limpieza y sanitización. Fuente: Autoría propia



Una vez recolectadas las muestras, se proseguía a sus respectivos análisis. Los métodos seleccionados para la valoración microbiológica y funcional del procedimiento de limpieza y sanitización fueron el pH, la cuenta total de mesófilos aerobios, y la tinción de Gram. El primer método se realizaba internamente, mientras que los últimos dos eran realizados en un laboratorio microbiológico externo certificado. Una vez realizadas las medidas internas, las muestras se empacaban en una hielera para su envío a análisis externo, el cual debe realizarse dentro de las 24 horas a partir del muestreo. Una descripción general de los métodos de análisis aplicados se muestra a continuación:

- **pH.** Indica la acidez o alcalinidad de la muestra en cuestión, contando con el propósito de monitorear que el agua del último enjuague llegase a la neutralidad, de un rango de 6.5 a 7.5, y así no afectar a los productos en su fabricación y envasado. El análisis se realizaba con un multímetro, empleando un electrodo especial para ello.
- **Cuenta total de mesófilos aerobios.** De acuerdo con la Secretaría de Salud (2017), esta es una técnica comúnmente utilizada cuando se requiere investigar el contenido de microorganismos viables en una muestra. Esta técnica no pretende poner en evidencia todos los organismos microscópicos presentes, sino que los contabiliza bajo una estimación representativa de la cifra realmente existente de mesófilos aerobios (que crecen a temperatura ambiente con una

necesidad de oxígeno), considerados como los más comunes en el ambiente. Sin embargo, también es posible cultivar microorganismos aerobios que sobrevivan a otras temperaturas.

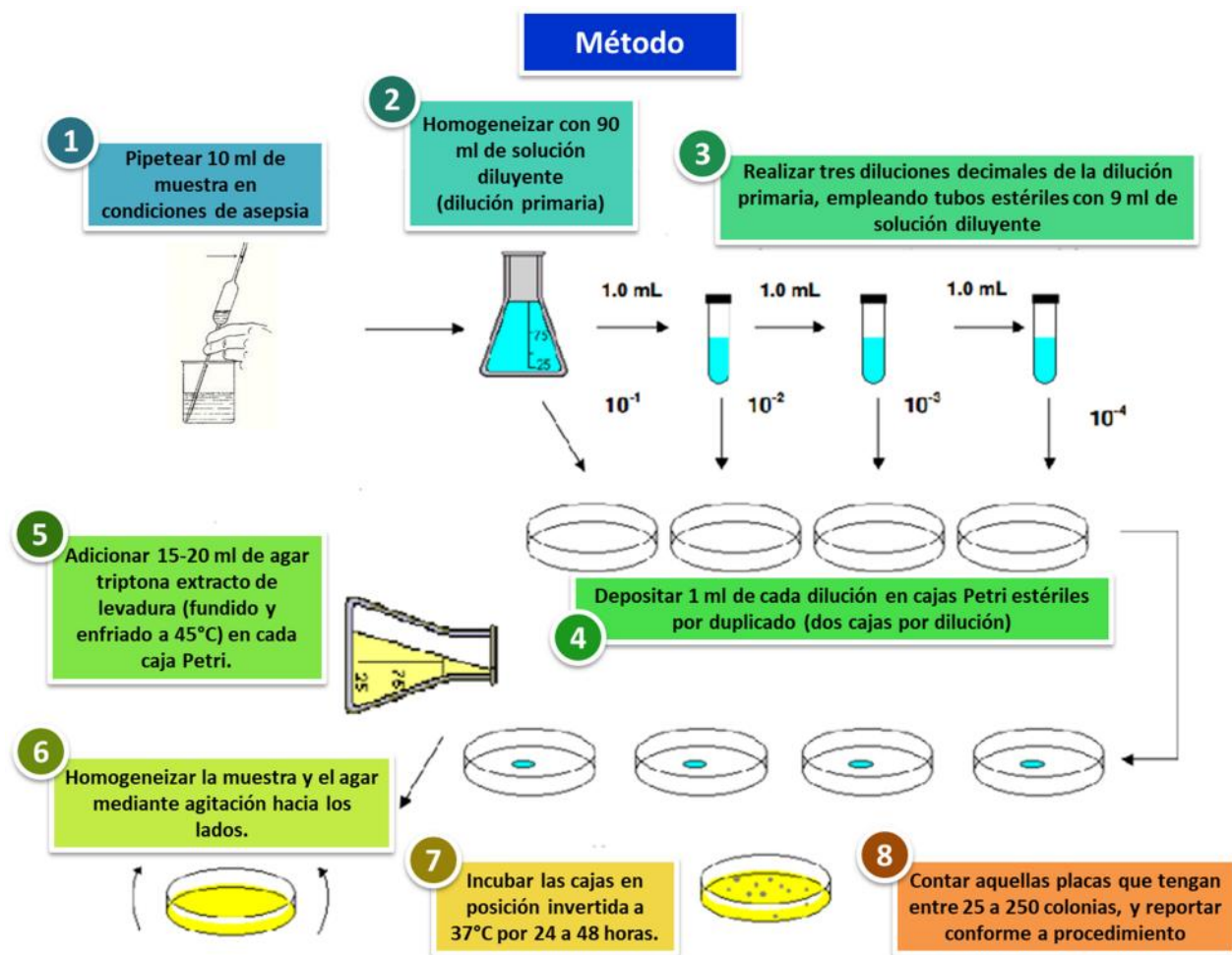
Figura 29. Material a emplear para el método de cuenta total de mesófilos aerobios, de acuerdo con las normas NOM-092-SSA1-1994 y NOM-110-SSA1-1994. Fuente: Autoría propia.



Figura 30. Aparatos a emplear para el método de cuenta total de mesófilos aerobios, de acuerdo con las normas NOM-092-SSA1-1994 y NOM-110-SSA1-1994. Fuente: Autoría propia.



Figura 31. Método de cuenta total de mesófilos aerobios, de acuerdo con las normas NOM-092-SSA1-1994 y NOM-110-SSA1-1994. Fuente: http://med.se-todo.com/pars_docs/refs/5/4225/4225_html_35c05e19.png



El fundamento consiste en contar las colonias desarrolladas en un medio de cultivo en un tiempo y temperatura especificado. Los laboratorios certificados para realizar análisis microbiológicos se guían por el método escrito en dos normas mexicanas vigentes: la NOM-110-SSA1-1994 que dicta cómo preparar adecuadamente las muestras para su análisis microbiológico, y la NOM-092-SSA1-1994, la cual contiene los materiales, reactivos, pasos, y cálculos a realizar. El procedimiento para el análisis de mesófilos aerobios de muestras líquidas se muestra en la Figura 29, la Figura 30 y la Figura 31.

Los cálculos realizados para la interpretación de las colonias obtenidas en las placas es una multiplicación simple proporcional a la dilución de la muestra que se haya incubado. Por ejemplo, si se encontraron 32 colonias en una placa que contiene una dilución 1:10,000, entonces la cuenta total en la muestra íntegra es de 320,000 UFC/ml ($32 \times 10,000 = 320,000$ UFC/ml). En base a

esta operación aritmética sencilla, la norma NOM-092-SSA1-1994 cuenta con un cuadro de cálculos de las colonias halladas en la placa, empleado para el reporte de resultados (Tabla 20).

El objetivo deseado de cuenta total de mesófilos aerobios propuesto en el proyecto fue máximo de 1000 UFC/ml para las muestras anteriores a la limpieza, y de 500 UFC/ml para las muestras posteriores. Estos valores fueron elegidos conforme a los mismos tres rubros que se consideraron en las validaciones antecedentes: los resultados obtenidos en los análisis rápidos de cuenta microbiológica para el producto terminado manufacturado en el sistema de producción, información experimental proveniente del departamento de Investigación y Desarrollo obtenida a partir de análisis de estabilidad realizados a las fórmulas correspondientes al producto elaborado en el sistema, a producto terminado, y conforme la sugerencia del grupo de microbiología de la planta principal de la compañía.

Tabla 20. Método de conteo de la totalidad de mesófilos aerobios para ensayos por duplicado.

Fuente: Norma NOM-093-SSA1-1994, Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa (1995).

Ejemplo	# Placa	Colonias contadas respecto dilución de la muestra (ensayos por duplicado)			UFC/ml
		1:100	1:1000	1:10000	
1	1	>250	178	16	180000
	2	>250	190	17	
2	1	>250	220	25	250000
	2	>250	238	28	
3	1	18	2	0	1600
	2	14	0	0	
4	1	>250	>250	512	5000000
	2	>250	>250	495	
5	1	0	0	0	<100
	2	0	0	0	
6	1	>250	240	24	250000
	2	>250	268	19	
7	1	>250	215	20	230000
	2	>250	235	26	
8	1	>250	275	32	270000
	2	>250	225	26	

- **Tinción de Gram.** En conjunto con la cuenta total de mesófilos aerobios, se empleó esta técnica para la identificación de las bacterias presentes en las muestras representativas. La especificación sugerida por el equipo de microbiología de la planta principal fueron la ausencia de bacterias Gram negativas, bajo la suposición de que son más difíciles de remover debido a la estructura de su pared celular, y que varias de éstas son consideradas como patógenos. En la Figura 32, la Figura 33 y en la Figura 34, es posible apreciar la técnica para muestras líquidas paso por paso,

desde el material empleado para la misma, la preparación de la muestra, hasta su lectura e interpretación. Así mismo, la Tabla 21 muestra el mecanismo de la tinción de Gram en relación a las etapas de colocación de los tintes en la muestra preparada, así como ejemplos resultantes del proceso bajo un microscopio óptico.

Figura 32. Material y aparatos empleados para la tinción de Gram. Fuente: Autoría propia.



Figura 33. Preparación de la muestra para la tinción de Gram. Fuente:

<https://www.wikihow.com/Gram-Stain>



En promedio, los resultados de los análisis microbiológicos se hallaban listos en un promedio de 6 días normales, debido a la duración de los procedimientos ejecutados. Así mismo, debe realizarse primero la cuenta total de mesófilos aerobios, dado que no es viable hacer la tinción sin una muestra de bacterias obtenida.

Figura 34. Metodología general para la tinción de Gram. Fuente: JAWETZ et al, Microbiología General (2016). <https://www.wikihow.com/Gram-Stain>

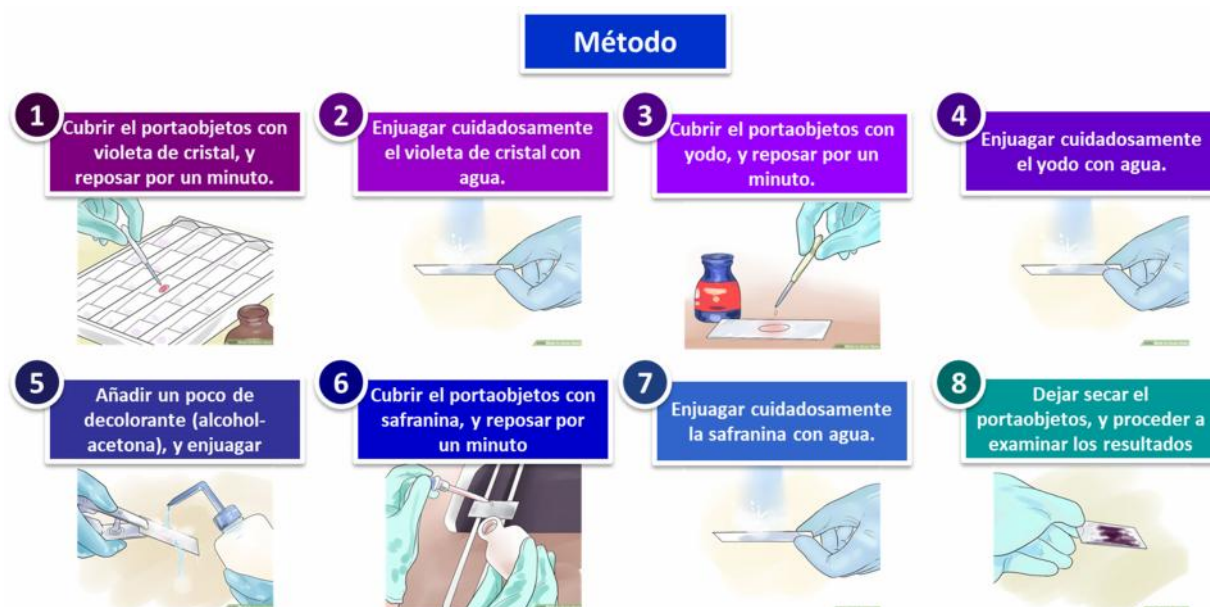










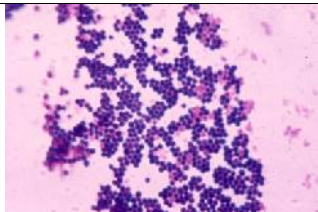
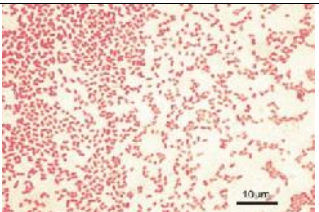


Tabla 21. Mecanismo de acción de la tinción de Gram en los diferentes tipos de bacterias. Fuente: <http://slideplayer.es/slide/1101241/3/images/13/TINCION+DE+GRAM+Gram+positivo+Gram+negativo+Fijaci%C3%B3n+Cristal+violeta.jpg>,

Bacteria Gram positiva	Paso	Bacteria Gram negativa
	Término de preparación de la muestra (fijación al portaobjetos)	
	Adición del violeta de cristal	
	Adición del mordante (yodo de Gram)	
	Decoloración con alcohol-acetona	
	Adición de safranina	
 <i>Staphylococcus aureus</i>	Resultados (ejemplos)	 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Los datos resultantes de la aplicación de los métodos de análisis se presentaron en dos formatos distintos cada semana, tanto para las muestras tomadas antes de la limpieza como las posteriores a la misma. El primero es una tabla que cuenta con el lugar de toma de muestra, el tipo de muestra, la fecha de toma, la cuenta de mesófilos aerobios en UFC/ml, los resultados de tinción Gram (positivo/negativo y morfología), y el pH obtenido de cada muestra (ver Tabla 22).

Tabla 22. Ejemplo del formato de la tabla para registro y revisión semanal de resultados. Fuente: Autoría propia.

Área	Equipo	Localización de Muestra	Fecha de toma	¿Antes / después limpieza?	Mesófilos (UFC/ml)	Tinción Gram	Morfología	pH
Fabricación	Tanque Fabricación	Dentro	10/12	Antes	1000	Gram -	Bacilo	7
Fabricación	Filtro	Dentro	10/12	Antes	590	Gram -	Bacilo	6.5
Llenado	Tanque Receptor	Dentro	10/12	Antes	10	Gram +	Coco	7.0
Llenado	Filtro	Dentro	10/12	Antes	25	Gram -	Bacilo	7.0

El segundo son gráficos de control hechos a partir de las tablas anteriores, los cuales fueron por variables al tratarse de parámetros que no son intrínsecos de la valoración de un producto, sino de un proceso. En cada carta de control se graficaron las colonias detectadas respecto a sus puntos de muestreo ordenados tal cual al flujo del proceso.

Al ser valores únicos por cada punto de muestreo, se optó por un método de cálculo sencillo para sus límites de control respectivos. Así, se expondrían gráficas del antes y del después de la ejecución del procedimiento de limpieza y sanitización por cada semana, comparándolas con la semanas anteriores para discutir mejoras y oportunidades. Las fórmulas utilizadas en la realización de las gráficas se exponen en la Tabla 23.

Un tercer formato, que consta de histogramas contruidos a partir de las frecuencias de los datos obtenidos de colonias de mesófilos aerobios, se empleó internamente como seguimiento de la mejora de la ejecución de las acciones pertinentes al Plan Maestro de validación. Los histogramas fueron elaborados de manera similar al ejemplificado en la Figura 18, expuesta en el Capítulo anterior. Las frecuencias de monitoreo propuestas en el histograma son, en UFC/ml, las siguientes: de 0 a 100, de 101 a 500, de 501 a 1,000, de 1,001 a 10,000, y de 10,001 a 100,000. Los rangos fueron escogidos conforme a los límites establecidos para la cuenta total de mesófilos aerobios, antes y después de la limpieza, así como los resultados obtenidos de los análisis de cada muestra.

Tabla 23. Fórmulas empleadas para los cálculos de construcción de los gráficos de control. x_i =dato individual, n =número total de datos. Fuente: WALPOLE et al, Probabilidad y Estadística para Ingeniería y Ciencias (2007).

Paso	Descripción	Fórmula estadística
1	Cálculo de la media del grupo de datos obtenidos.	$\bar{x} = \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{n}$
2	Cálculo de la desviación estándar del grupo de datos obtenidos.	$S = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$
3	Obtención del promedio de la desviación estándar respecto al número de resultados.	$\sigma_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$
4	Determinación del límite de control inferior	$LIC = \bar{x} - 3\sigma_{\bar{x}}$
5	Determinación del límite de control superior	$LSC = \bar{x} + 3\sigma_{\bar{x}}$

3) Apoyo en la evaluación de diseño higiénico de los equipos.

Aunado a la validación analítica de la limpieza y sanitización, se prosiguió con la evaluación del equipo de manufactura y equipos auxiliares del sistema de manufactura en cuestión. Para ello, el área de Calidad ofreció apoyo con los equipos de Producción, Ingeniería, y Mantenimiento, en respecto con los siguientes puntos:

- Identificación y verificación de puntos críticos de acumulación de suciedad y contaminantes, mediante recorridos *in situ* de las instalaciones.
- Identificación y valoración de equipos con deterioro aunado a la interacción de los materiales de construcción con las sustancias con las que éstos entran en contacto – en particular la reacción con los químicos de limpieza y sanitización.
- Asesoría respecto a los equipos de manufactura y auxiliares, en conjunto con proveedores externos.
- Establecimiento de propuestas de mejora para los equipos de manufactura, con el propósito de establecer acciones de mejora que conlleven a su modificación o posible reemplazo.
- Proposiciones de mejora respecto a los químicos a emplear en el procedimiento de limpieza definitivo que reemplazará al temporal, los cuales deben cumplir con los parámetros establecidos en los puntos 3.6.3.2. y 3.6.3.3. del Capítulo 3 del presente trabajo.

Las actividades y oportunidades de mejora de cada uno de estos puntos, al igual que las acciones derivadas de la validación del procedimiento de limpieza y sanitización temporal del sistema, se expondrán cada semana en conjunción con el Plan Maestro.

CAPÍTULO VI:

Resultados y discusión.

VI. Resultados y discusión.

En los antecedentes de este trabajo, se discutió la carencia de personal especializado en microbiología tanto en el departamento de Calidad como en el de Investigación y Desarrollo de la planta a nivel nacional. No obstante, la planta principal estadounidense cuenta con un grupo especializado con tales capacidades dentro de sus departamentos equivalentes, el cual asesora a las demás locaciones a nivel mundial, incluyendo a la localizada en este país. Cabe mencionar que los resultados respectivos a microbiología expuestos en este apartado serán discutidos a partir de sus asesorías y sugerencias, con una perspectiva ingenieril.

En consecuencia de las acciones derivadas del Plan Maestro de la implementación y la validación del procedimiento de limpieza y sanitización temporal, se obtuvieron cinco resultados notables, los cuales se enuncian a continuación.

a) Reducción de carga microbiana en el sistema.

Regularmente, en la ejecución de la limpieza se toman muestras inmediatas de los últimos enjuagues y de la superficie de los equipos limpios y sanitizados, sin monitorear del todo la carga de suciedad que se va acumulando entre el tiempo en el que se limpia y el uso de los equipos para la manufactura del producto. Tomar muestras antes de limpiar resulta más efectivo para determinar la variación de la disminución de la carga de suciedad con el paso del tiempo, puesto a que las muestras tomadas justo después siempre arrojarán resultados muy favorables, sin verificar el panorama original que conllevará a acciones de mejora más adecuadas y robustas. Ésta es la razón por la que se decidió monitorear la variación de la cantidad de contaminación bajo estos términos, siendo así seleccionado como el criterio de éxito en cuanto al cumplimiento de los objetivos de la limpieza y sanitización: la reducción de la suciedad.

Bajo la consideración anterior, el objetivo de carga microbiológica acumulada de máximo 1000 UFC/ml no se cumplió del todo, llegando a un promedio de 1312 UFC/ml en la novena y última semana, El histograma de la Figura 35 muestra la variación entre la acumulación de suciedad microbiológica, en el cual se muestran dos temporadas clave: la tercer semana y el tiempo transcurrido entre la quinta y la sexta semana. Estos aumentos en carga microbiana serán explicados en los resultados b) y c). Así mismo, se detectaron bacilos Gram negativos en un 65% de las muestras, salvo ciertas excepciones que se discutirán más adelante; por lo que se puede decir que el objetivo de no detección de bacterias Gram negativas no fue alcanzado de manera satisfactoria, asumiendo su dificultad de remoción a causa de la estructura de su pared celular.

No obstante, se logró una disminución de la contaminación microbiológica promedio en el sistema en un 84% aproximadamente en el lapso de dos meses contemplados en el Plan Maestro, en comparación

con la carga inicial (~7980 UFC/ml) antes del arranque del procedimiento de limpieza y sanitización y la carga inicial antes de la limpieza y sanitización del sistema en la última semana del segundo mes.

En la Figura 36 y en la Figura 37 se aprecian los histogramas de frecuencias de las cargas microbiológicas, en la primera y última semanas, antes de aplicar el procedimiento de limpieza y sanitización temporal en el sistema objetivo. Los gráficos denotan un cambio significativo en la acumulación de carga microbiana: en la primera semana se lograron detectar colonias por encima de las 10,000 UFC/ml, las cuales no están presentes en la novena semana de monitoreo. Aun teniendo cargas por encima de las 1,000 UFC/ml en la última semana, son menores en comparación con las cuentas menores a esta cantidad, cumpliéndose de manera parcial el objetivo del procedimiento de limpieza y sanitización implementado.

Figura 35. Histograma del promedio de carga microbiana (en UFC/ml) del sistema desde la primera hasta la novena semana de validación, antes de limpiar y sanitizar los equipos. Verde: dentro del objetivo estipulado, Rojo: fuera de objetivo. Fuente: Autoría propia.

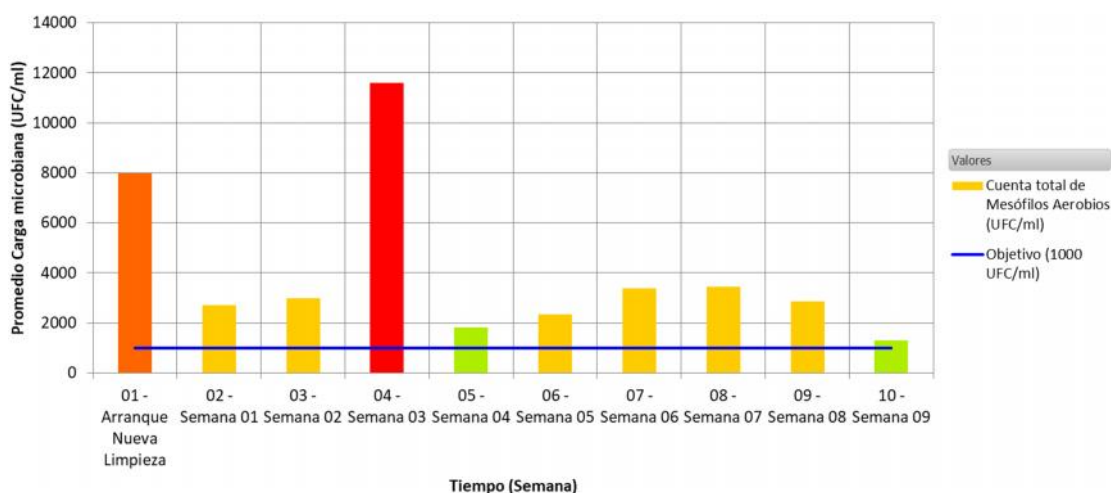


Figura 36. Histograma de frecuencias de la carga microbiana (en UFC/ml) del sistema en la primera semana, antes de limpiar y sanitizar los equipos. Verde: dentro del objetivo estipulado, Rojo: fuera de objetivo. Fuente: Autoría propia.

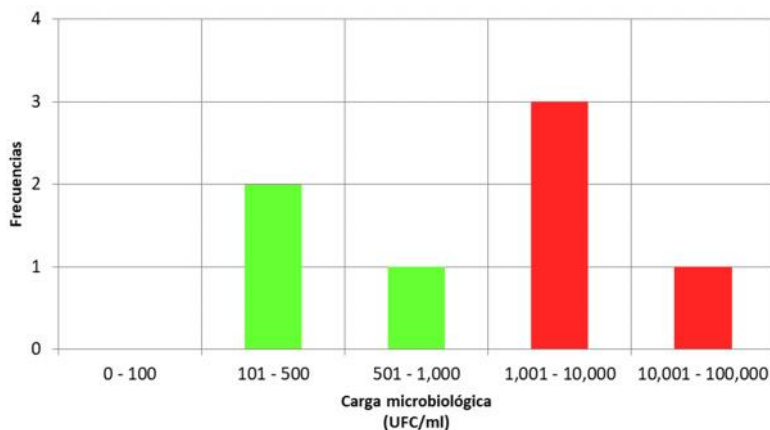
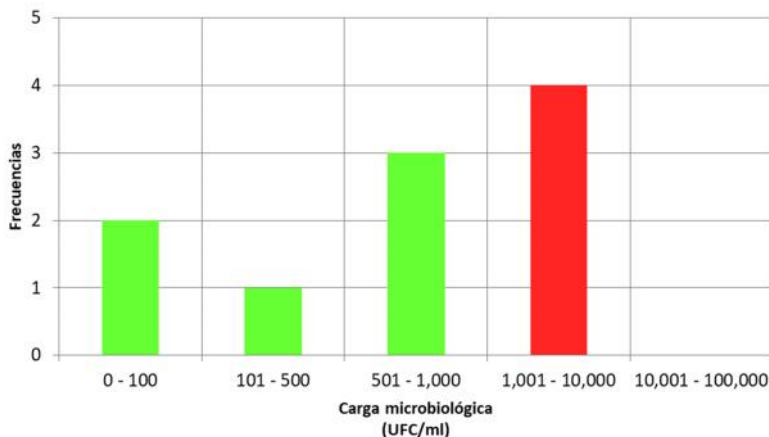


Figura 37. Histograma de frecuencias de la carga microbiana (en UFC/ml) del sistema en la novena semana, antes de limpiar y sanitizar los equipos. Verde: dentro del objetivo estipulado, Rojo: fuera de objetivo. Fuente: Autoría propia.



Así mismo, se realizaron gráficas de control tanto de la carga inicial del sistema en la primera semana como de la carga inicial en la última semana, expuestas en la Figura 38 y en la Figura 39.

Figura 38. Gráfico de control de la carga microbiana (en UFC/ml) del sistema en la primera semana, antes de limpiar y sanitizar los equipos. Fuente: Autoría propia.

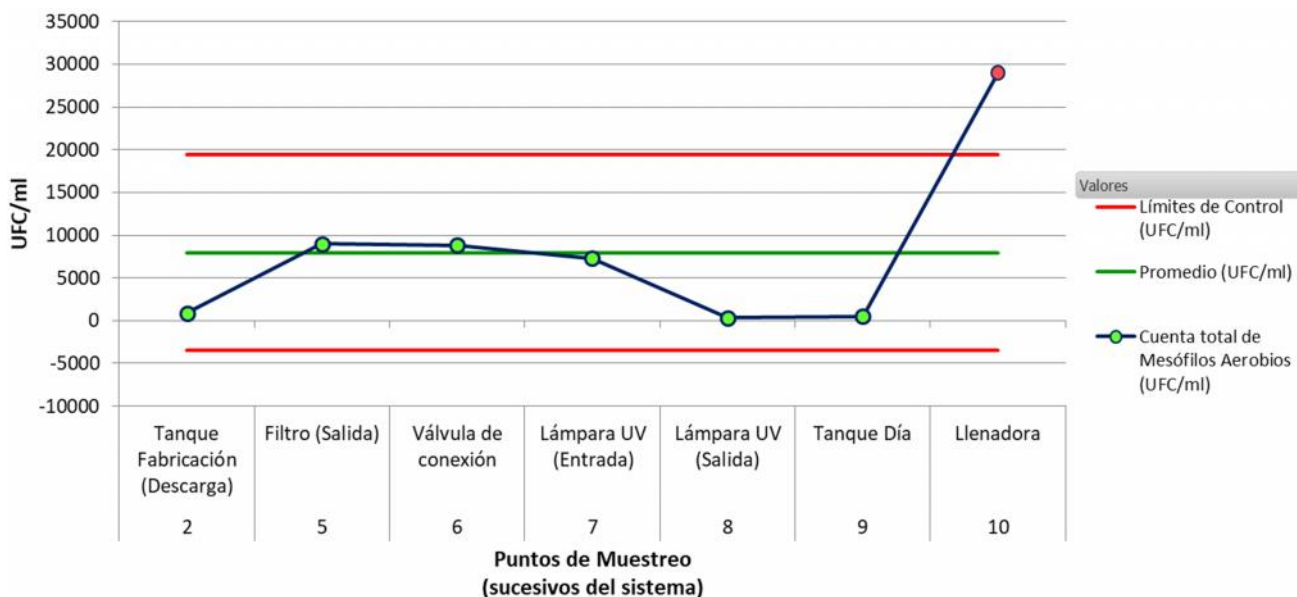
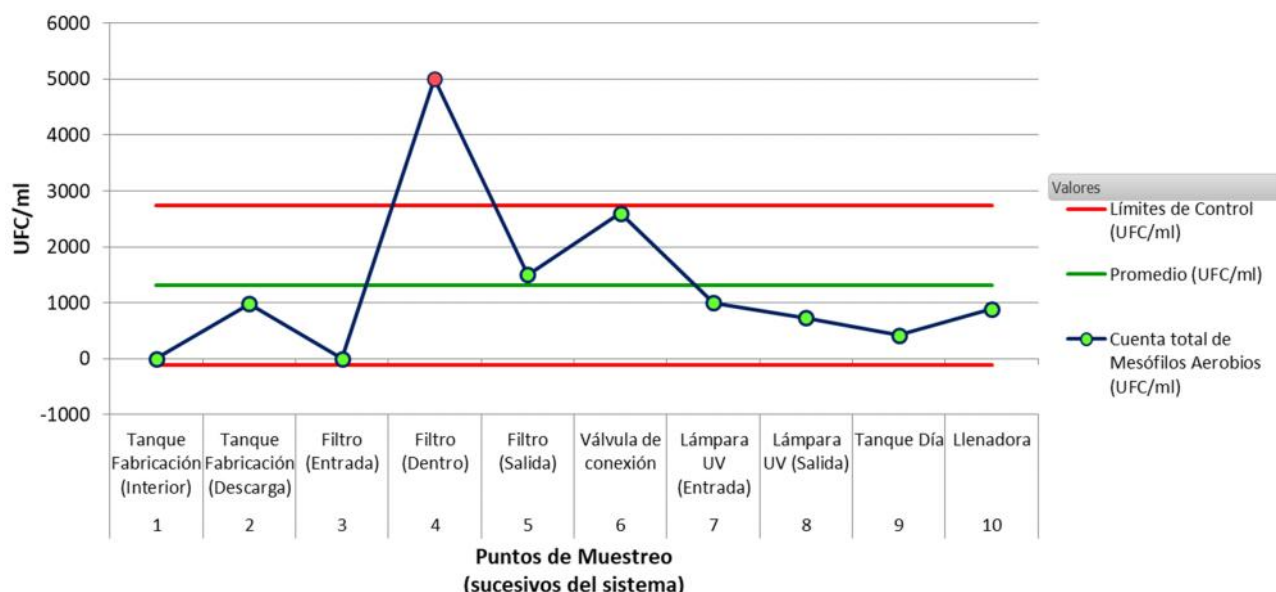


Figura 39. Gráfico de control de la carga microbiana (en UFC/ml) del sistema en la novena semana, antes de limpiar y sanitizar los equipos. Fuente: Autoría propia.



Los límites de los gráficos de control fueron calculados por cada grupo de muestras entregadas cada semana, existiendo una variación entre los mismos. No obstante, se puede apreciar un proceso fuera de control en ambas cartas, dado que aún persistió acumulación de contaminante en puntos muertos ya identificados en el sistema, como son el filtro posterior al tanque de fabricación, la válvula de conexión, la lámpara UV, y la llenadora.

Este resultado primordial se logró gracias a la aplicación de cuatro acciones más, propuestas y ejecutadas dado el avance del Plan Maestro para la implementación y validación del procedimiento de limpieza nuevo temporal; que demostraron ser clave para la mejora continua del sistema, del proceso, y el personal involucrado en el equipo de trabajo.

b) Mejoras en las técnicas de muestreo e identificación del microorganismo problema.

En los resultados correspondientes desde el arranque de la implementación y la validación del procedimiento de limpieza y sanitización, la tinción de Gram fue un papel determinante en la identificación primaria de la bacteria responsable de la carga microbiana presente en el sistema. La Tabla 24 muestra un resumen de los datos pertinentes a este ensayo de las nueve semanas de trabajo en validación del procedimiento.

Los reportes entregados por parte del laboratorio externo daban cuenta de que el grupo de bacterias más predominantes detectadas en las muestras eran bacilos Gram negativo, encontrándose en aproximadamente 65% de todas las muestras analizadas por laboratorio externo. No obstante, un pequeño porcentaje de las mismas consistió en bacterias Gram positivas. En las primeras cuatro semanas

de validación, se hallaron bacterias Gram positivas que llamaron la atención del equipo de trabajo Incluso se registraron cuentas anormales de bacterias Gram positivas y Gram negativas a la vez en la mayoría de las muestras de la tercera semana, encontrándose además un hallazgo positivo para una colonia de levaduras, la cual explicó la cuenta elevada obtenida en ese entonces. La evidencia reunida conllevó a una investigación detallada sobre las posibles causas.

Tabla 24. Resultados de tinción de Gram para todas las muestras tomadas en las nueve semanas de implementación y validación. Fuente: Autoría propia.

Tipo de Bacteria	Cantidad de muestras detectadas	Porcentaje
Gram -	127	64.80%
Bacilo	123	62.76%
Coco	3	1.53%
Cocobacilo	1	0.51%
Gram +	5	2.55%
Bacilo	3	1.53%
Coco	2	1.02%
Gram +/-	8	4.08%
Otro	1	0.51%
No detectado	55	28.06%
Total de muestras	196	100%

Se hizo un análisis de causa raíz para encontrar el motivo de estos inusuales resultados, y se encontraron los siguientes puntos:

- Se comparó al laboratorio externo habitual con otro diferente registrado en la compañía, encontrándose escasa variación en los resultados de las muestras con información ya conocida que se les envió a cada uno.
- Originalmente, se confiaba la toma de muestras microbiológicas del agua de enjuague a personal del área de Producción bajo supervisión del departamento de Calidad, capacitado por personal de la planta estadounidense. Sin embargo, entre la segunda y tercer semana la gerencia de Calidad tomó la decisión de traspasar esta responsabilidad de Producción a Calidad, con el objetivo de que los operadores se enfocaran en realizar los planes de acción en los que se involucraban directamente. Por ello, se empleó personal del laboratorio de Calidad para la tarea, que se encontraba aún en entrenamiento de la actividad por el personal calificado.
- Las muestras en la tercera semana no se tomaron con la higiene correspondiente, por falta de material disponible para ello (guantes de látex y cubrebocas). La presencia de bacterias Gram positivas se justifica debido a que, de detectarse en una muestra en cuentas anormales, puede significar una mala manipulación de la misma, ya sea en su envasado o en su traspaso.

- El procedimiento de muestreo resultó ser muy ambiguo para toma de las muestras, tanto por medio de hisopo como de toma de agua de enjuague, al no detallar pasos importantes como el tiempo máximo de refrigeración de las muestras anterior a su análisis, y el material de muestreo específico para evitar la contaminación de las muestras por agentes externos.
- Las tapas de rosca de los frascos, al no cerrarse bien, provoca la fuga de la muestra, y en consecuencia su contaminación por medios externos,

Por lo tanto, se prosiguió a proponer y ejecutar acciones, que fueron las siguientes:

- ✓ Apoyo por parte del laboratorio externo y el personal de microbiología de la planta estadounidense para mejorar las técnicas de muestreo, con un enfoque más sanitario. Entre los puntos incluidos en el procedimiento fue el uso permanente de guantes de látex y de cubrebocas, con el fin de evitar contaminación foránea. Así mismo, después de tomadas e identificadas las muestras microbiológicas, se guardaban en bolsas de plástico con zipper.
- ✓ Cambio del procedimiento de muestreo con materiales, reactivos, y pasos específicos, con base a las recomendaciones sanitarias de la FDA y las sugeridas por el laboratorio externo, con el fin de que fuese ejecutado sin problemas ni confusiones por parte del analista que lo lea.
- ✓ Supervisión del entrenamiento del personal nuevo con supervisión de los analistas calificados en el proceso, liberándolos para que ejecuten el trabajo por sí solos después de validar los resultados de 5 muestreos consecutivos.
- ✓ Modificación del archivo de inventarios del laboratorio de análisis interno, de tal forma que emita una alerta ante la carencia de material, en referencia a un margen mínimo de materiales indispensables para los análisis microbiológicos diarios al producto terminado más vulnerable.
- ✓ Cambio de frascos de 250 ml estériles a bolsas estériles de muestreo de 4 onzas (ver Figura 40). Las bolsas estériles contienen un alambre que circunda la apertura de la bolsa. En el momento del término del muestreo, la bolsa debe girarse en torno al alambre y hacer un nudo con el mismo, evitando así el derrame que provocan los frascos mal cerrados.

Figura 40. Bolsa estéril para muestreo de agua. Fuente: <http://www.ansam.mx/wp-content/uploads/2014/04/BOLSAS-ESTÉRILES-DE-POLIETILENO-PARA-MUESTRAS-SÓLIDAS-O-LÍQUIDAS-1-300x300.jpg>



Una vez comenzada la ejecución de las cuatro acciones anteriores, disminuyó la variación de la carga microbiana anterior a la limpieza en un 84%, en referencia a la tercera y cuarta semana de validación – véase Figura 34. De igual manera, disminuyó considerablemente la presencia de bacterias Gram positivas de la cuarta semana en adelante, detectándose en su mayoría bacilos Gram negativos. Con estos resultados, se tomó la decisión de identificar los microorganismos predominantes en el muestreo.

Varias muestras posteriores se llevaron al laboratorio externo con el fin de descartar la presencia de posibles bacterias patógenas, por medio de ensayos de especies conocidas para identificar la presencia de coliformes, *E. coli*, *Salmonella*, y *Pseudomonas aeruginosa* – bacilos Gram negativos con alto potencial patógeno. No obstante, no se encontró ninguna de estas especies en particular.

Sin embargo, surgió la necesidad de identificar el bacilo Gram negativo y la patogenicidad del mismo. Bajo recomendación de un proveedor de material microbiológico, se encontró un método confiable de identificación: el Analytical Profile Index (API™) de bioMérieux, que se explicó a grandes rasgos en el Capítulo anterior. Dado que ninguno de los laboratorios externos registrados no contaban con el método, se enviaron muestras clave a un laboratorio extranjero. Éste evaluó y verificó la presencia de cuatro microorganismos, que se exponen en la Tabla 25:

Tabla 25. Reporte de bacterias identificadas en las muestras de enjuague, bajo el método (APITM) de bioMérieux. Fuente: Autoría propia.

Bacteria	Grupo y morfología (tinción Gram)	Características	Observaciones
<i>Curpiavidus pauculus</i>	Bacilo Gram negativo	Hallado comúnmente en pozos de agua y sistemas de ultrafiltración. Raramente asociado con infecciones humanas. No produce esporas.	Bacteria más predominante en las muestras de agua.
<i>Bacillus megaterium</i>	Bacilo Gram positivo	Hallado en múltiples hábitats (comúnmente suelo), y en una variedad de superficies. No es patógeno. Produce endosporas.	Microorganismo adicional encontrado.
<i>Brevibacillus laterosporus</i>	Bacilo Gram positivo	Se le puede encontrar en el agua, el suelo, e insectos. Presentan actividad antimicrobial en contra de bacterias y hongos fitopatogénicos. Produce esporas.	Microorganismo adicional encontrado.
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Bacilo Gram negativo	Encontrada en múltiples ambientes, tanto en agua como en suelo. Causante de infecciones menores tratables fácilmente con antibióticos. No produce esporas.	Microorganismo adicional encontrado en menor cantidad a los demás.

En base a la información anterior, y por la poca a nula patogenicidad de las bacterias identificadas, se decidió clasificar el riesgo como moderado, prosiguiendo así con la mejora del Plan Maestro.

c) Cambios en los equipos de manufactura y auxiliares del sistema.

Como resultado del apoyo a la validación del diseño higiénico de los equipos de manufactura, se implementó un plan de modificación y reemplazo de áreas críticas de la línea de producción. Durante el tiempo establecido para este trabajo (dos meses), se cubrió solamente el área de Fabricación y una pequeña parte del área de llenado. La Tabla 26 explica a rasgos generales las modificaciones y reemplazos realizados. Todo se realizó bajo un enfoque sanitario: fácil de limpiar, fácil de desmontar y montar, evitando la formación de nuevos puntos muertos de contaminación. El material utilizado en los equipos nuevos fue acero inoxidable 316 que, por su contenido de molibdeno, y en comparación con el acero inoxidable 304 empleado en los equipos del sistema, aumenta su resistencia a la corrosión y picaduras causadas por sustancias halogenadas, como lo es el sanitizante clorado empleado en el procedimiento de limpieza y sanitización.

Tabla 26. Equipos y subsistemas que sufrieron modificaciones o reemplazo, a razón de los resultados de la carga microbiológica en el transcurso de las nueve semanas del proyecto. Fuente: Autoría propia.

Área	Equipo / Subsistema	Antecedente	Riesgos	Cambio o modificación
Fabricación	Descarga del tanque de fabricación	<ul style="list-style-type: none"> Tubería de acero inox. 304 de 40 cm de longitud debajo del tanque. Manguera de hule flexible de 2 in de diámetro y 2.5 m de longitud, con acople Camlock. Conectaba la tubería anterior con la bomba de alimentación. 	<ul style="list-style-type: none"> Codo de 90° en la tubería (punto muerto). Manguera rugosa por dentro, sin lavar. 	<ul style="list-style-type: none"> Conexión fija de acero inoxidable 316 grado sanitario.
Fabricación	Bomba de alimentación hacia el área de Llenado.	<ul style="list-style-type: none"> Bomba de desplazamiento positivo de acero y hierro fundido, con juntas de nitrilo. 	<ul style="list-style-type: none"> No ofrece corriente continua, no arrastra toda la suciedad. Corrosión interna provocada por agente sanitizante (cloro). Instalada a 40 cm de elevación respecto al punto más bajo de la descarga (punto muerto). 	<ul style="list-style-type: none"> Bomba centrífuga de acero inoxidable 316 grado sanitario. Instalada al nivel mínimo del tanque de fabricación, en conexión directa a la tubería del mismo.

Tabla 26. (CONT.) Equipos y subsistemas que sufrieron modificaciones o reemplazo, a razón de los resultados de la carga microbiológica en el transcurso de las nueve semanas del proyecto. Fuente: Autoría propia.

Área	Equipo / Subsistema	Antecedentes	Riesgos	Cambios o modificaciones
Fabricación	Área del filtro de paso	<ul style="list-style-type: none"> • Bifurcación de la tubería después de la bomba. • Filtro de canasta de acero inoxidable con micraje de 0.5 cm de diámetro en la tubería principal. • Tubería secundaria empleada en caso de problemas con el filtro. 	<ul style="list-style-type: none"> • Poco uso de la tubería secundaria (punto muerto). • Filtro de canasta permite paso de partículas grandes de suciedad. • Contenedor de filtro acumula suciedad (punto muerto). • Codos de 90°C en la bifurcación de la tubería (puntos muertos). 	<ul style="list-style-type: none"> • Eliminación de bifurcación. • Instalación de única tubería de acero 316 grado sanitario. • Filtro recto con cartucho tipo polietileno de membranas de 0.45 micrones de diámetro, con empaque de silicón sanitario, con clamp para fácil desarmado.
Fabricación	Tuberías y válvulas.	<ul style="list-style-type: none"> • Tubería de acero inoxidable 304, sin bridas. • Válvulas de bola en el sistema para paso de fluido. • Puertos de muestreo no sanitarios. 	<ul style="list-style-type: none"> • Tuberías corroídas internamente por agentes químicos, con una capa de biofilm de 1 mm aprox. • Válvulas y puertos de muestreo propensas a oxidación y a acumulación de carga microbiana. 	<ul style="list-style-type: none"> • Sustitución por tubería de acero inoxidable 316 grado sanitario. • Válvulas de mariposa feruladas para el paso de fluido. • Cambio a puertos de muestreo sanitarios.
Llenado	Tanque receptor de intermedio acuoso.	<ul style="list-style-type: none"> • Tanque de acero inoxidable 304, de fondo plano. • Tubería única de recepción del material. 	<ul style="list-style-type: none"> • Descarga del tanque se encontraba en el borde del tanque, no del fondo. • Múltiples codos de 45° y de 90° en la tubería de recepción del material. 	<ul style="list-style-type: none"> • Cambio de la descarga al fondo del tanque. • Eliminación de codos de 90° de la tubería.

Así mismo, se aplicó pasivado al sistema de tuberías y válvulas para el área de Fabricación. La pasivación se refiere a la formación de una película relativamente inerte sobre la superficie de un metal, enmascarándolo en contra de la acción de agentes externos. El proceso de pasivado utilizado en el sistema de manufactura problema es comúnmente empleado para tuberías instaladas, y consiste en preparar en un recipiente producto químico para decapado y pasivado, calentarlo a cierta temperatura, y hacerlo circular a través de las tuberías por medio de una bomba centrífuga, controlando el tiempo de aplicación al momento de que la temperatura objetivo se alcanza en el retorno. (VERNET VERNET &

ASOCIADOS, 2007). Los químicos empleados en el proceso son hidróxido de sodio para limpiar la tubería por completo, seguido de la aplicación de ácido cítrico que reaccionará con el acero inoxidable y creará la película protectora. Las soluciones preparadas se recircularon desde el área de Fabricación hasta el Llenado, utilizando las tuberías del sistema problema.

d) Mejoras en el conocimiento y en el entrenamiento del personal operativo.

Como se discutió previamente, realizar una actividad no cobra sentido alguno sin antes conocer su propósito y su razón de ser. Por este motivo fue imperativo construir y aplicar un sistema de capacitación para los involucrados en este proyecto, tanto al personal operativo, así como al personal administrativo; garantizando así el crecimiento y la expansión de una cultura de Calidad del proceso y del producto, con mejora preventiva.

En conjunto, se realizaron las siguientes acciones:

- Aplicación de una encuesta simple de cuatro preguntas para descubrir el conocimiento actual del personal responsable de la limpieza y la sanitización. Las tres preguntas aplicadas, así como la información obtenida de ellas, se muestran en la Tabla 27.

Tabla 27. Resultados de la encuesta corta aplicada al personal operativo, representados en porcentajes. Fuente: Autoría propia.

Pregunta	Respuesta	
	Conoce	No conoce
¿Qué es la limpieza?	22%	78%
¿Cuál es la diferencia entre limpieza y sanitización?	15%	85%
¿Por qué se debe limpiar y sanitizar?	33%	67%
¿En dónde se encuentran los procedimientos para ello?	30%	70%

- Elaboración y exposición de una presentación, en referencia a la información obtenida en la encuesta. La participación de la exposición fue de un 98% del personal responsable, dinámica en todos sus aspectos. La presentación se expuso al personal administrativo de Producción, por petición de la Gerencia. Los asistentes propusieron ideas de mejora, que fueron clave en el avance favorable de acciones a futuro (ver Recomendaciones).
- Cambios en el equipo de protección personal (EPP) requerido por el personal, para el manejo de los agentes químicos en la limpieza y sanitización conforme a sus respectivas hojas de seguridad, bajo jurisdicción de Seguridad y Producción.
- Exposición del avance del proyecto en la Comisión de Calidad, una reunión mensual entre representantes de cada uno de los departamentos de la empresa. Así mismo, se impartió similarmente la presentación anterior en dicha reunión.

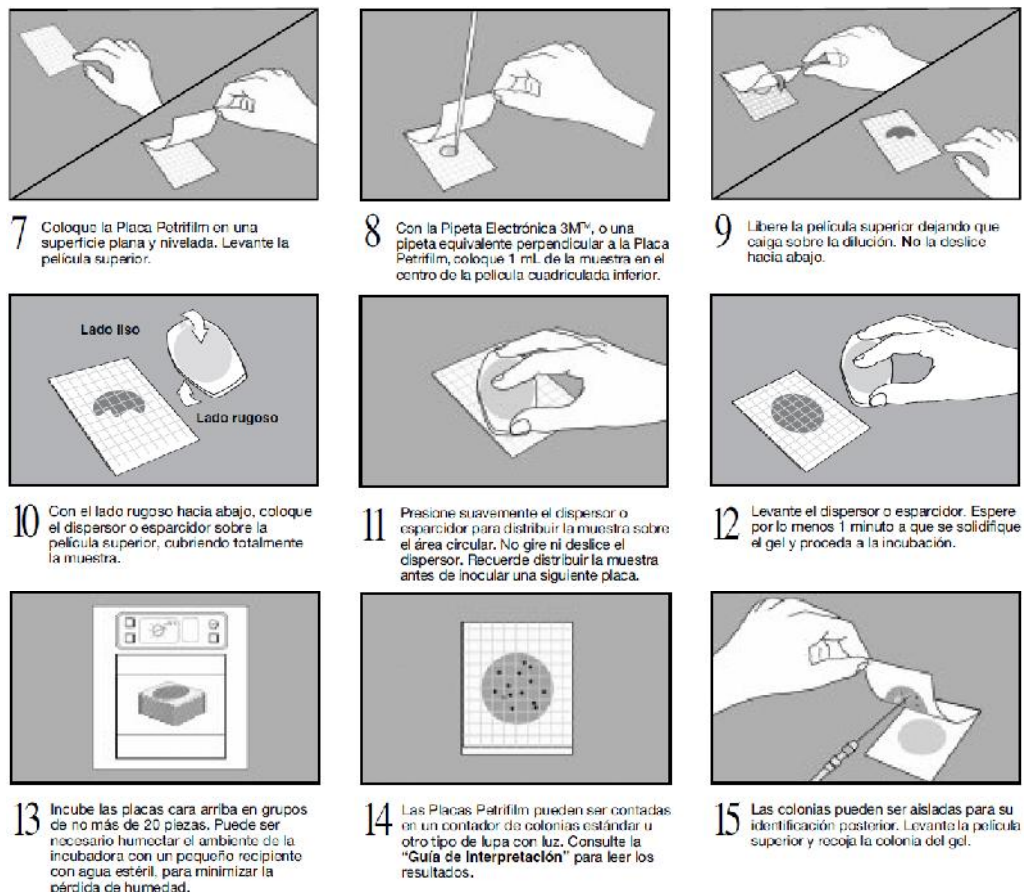
- Inclusión de revisión de puntos críticos de limpieza y sanitización en formatos de Producción existentes, cada que se realizan limpiezas diarias y la limpieza semanal.
- Creación de ayudas visuales de pasos críticos del procedimiento de limpieza y sanitización como apoyo a la capacitación del personal, sujetas a aprobación previa de Calidad y Producción.
- Capacitación de conceptos de microbiología al personal de análisis de muestras de validación de limpieza, con un enfoque a los análisis realizados en el laboratorio externo y los ejecutados internamente.

e) Introducción de métodos de análisis rápidos para control microbiológico interno.

La división de microbiología interna, bajo asesoría del grupo de microbiología de la planta principal de la empresa, se dedicaba a realizar solamente cuenta total de mesófilos aerobios al producto terminado. Esto es debido a dos razones. La primera es que el laboratorio de análisis interno de la empresa no cuenta con el suficiente espacio para realizar múltiples análisis de identificación y contabilización de microorganismos. La segunda fue por decisión interna de la empresa, resultado de un proyecto de reducción del número de análisis realizados por los altos costos que éstos conllevaban.

Figura 41. Método de inoculación, incubación, e interpretación de una placa Petrifilm. Fuente: 3M

Microbiology México, Placas Petrifilm para el Recuento de Aerobios. (2006)



En base a lo anterior, era imperativa la obtención de resultados confiables en el menor tiempo posible, por lo que el producto terminado se analiza a través del uso de placas Petrifilm para el recuento de aerobios. El método de inoculación de la muestra en estas placas, mostrado en la Figura 41, es más rápido que el método para una caja Petri, porque se añade 1 ml de la muestra o su dilución directamente a la placa, empleando la ayuda de un dispersor circular diseñado para sellar el cultivo en su lugar para proceder con su incubación. Su interpretación consiste en el conteo de puntos rojos en el círculo formado por el dispersor.

Dado que los costos de los análisis vía laboratorio externo son elevados (se gastó un aproximado de \$215,000 MXN en el transcurso de dos meses), y el tiempo prolongado de obtención de resultados de parte del laboratorio afiliado, se decide optar por un plan de migración de análisis microbiológicos para su ejecución en el laboratorio interno; con los métodos a migrar siendo la cuenta total de mesófilos aerobios mediante placas Petrifilm y la tinción de Gram. Los pasos para proceder fueron los siguientes:

- Entrenamiento de los nuevos analistas para el uso de las placas Petrifilm, por parte del personal calificado para el análisis de producto terminado, mediante el uso de muestras de carga microbiana conocida y registrada.
- Toma de doble muestra por cada punto de muestreo, de tal forma de que una esté dirigida para el laboratorio externo y una se analice internamente mediante Petrifilm. Los resultados, que no pueden ser publicados por confidencialidad de la planta, fueron de 85% a 90% similares a los obtenidos en el laboratorio externo, los cuales denotan la necesidad de un mejor entrenamiento y práctica del personal en este método.
- Compra del material para la tinción de Gram: microscopio, kit de tintes, asas de inoculación, y portaobjetos.
- Capacitación de la ejecución del método de tinción de Gram por un microbiólogo especializado en el tema, que incluye teoría y práctica con los analistas responsables en cultivos con cuentas de mesófilos ya conocidas, así como la aplicación de técnicas.
- Introducción de un procedimiento de tinción de Gram para el laboratorio interno, con ayudas visuales de la preparación de la muestra y la adición de los tintes, así como técnicas de utilización del microscopio y de lectura e interpretación de las tinciones propuestos por el entrenador microbiólogo.

Estos planes de acción y su seguimiento fueron expuestos y analizados en el Plan Maestro de validación, con un tiempo de arranque de un mes más posterior al término del proyecto por cuestiones de entrenamiento del personal y visto bueno de los especialistas – en especial para la tinción de Gram. La migración de análisis externos reducirá de \$215,000 MXN bimestrales a \$47,500 MXN bimestrales aproximadamente, representando una disminución del 78% en gastos.

f) Modificación y reintroducción del programa interno de pruebas microbiológicas.

La empresa, por medio del área de Calidad, cuenta con un programa interno de análisis microbiológicos, elaborado a partir de los riesgos microbiológicos calculados para cada producto o familia de productos por parte del área de Investigación y Desarrollo (R&D). Sin embargo, por decisión de la empresa de retirar los análisis a los equipos de manufactura a favor de su aplicación a los productos terminados, puesto que conociendo los últimos se estimaba su comportamiento respecto al esperado.

Así fue como se propuso modificar y reintroducir el programa microbiológico de muestreo y análisis proyectado a un año de trabajo, integrando al sistema de manufactura del intermedio acuoso por cada punto de muestreo. Adicional a esto, se incluyeron detalles sobre las muestras, como los análisis que se necesitan de cada una, y si son internos o externos a la planta. El programa debe ser vigilado por el jefe laboratorista de Calidad diariamente, y un administrativo de Calidad (coordinador) debe darle seguimiento una vez a la semana. Dichas acciones anteriores se propusieron y siguieron en el Plan Maestro. La Tabla 26 muestra el formato empleado para el programa microbiológico.

Tabla 28. Formato utilizado para el programa microbiológico modificado. Fuente: Autoría propia.

Equipo / Producto	Ubicación Muestra	Interno/ Externo	Resp. de toma de muestras	Resp. análisis / envío de muestras	Frecuencia interno/ externo	2017												Análisis Internos	Análisis Externos
						MESES													
						JAN				FEB				MAR					
Equipo 01	Fabricación	Interno	Auxiliar laboratorio	Auxiliar laboratorio	Mensual/ Semestral			1			1				1	Mesófilos y Tinción Gram	Coliformes, Levaduras, Hongos y Mesófilos		
Equipo 02	Fabricación	Interno	Auxiliar laboratorio	Auxiliar laboratorio	Mensual/ Semestral			1			1				1	Mesófilos y Tinción Gram	Coliformes, Levaduras, Hongos y Mesófilos		
Equipo 03	Fabricación	Externo	Auxiliar laboratorio	Auxiliar laboratorio	Mensual/ Semestral			1			1				1	Mesófilos y Tinción Gram	Coliformes Totales, Hongos, Levaduras, Mesofilos y Pseudomona Aeruginosa		
Equipo 04	Llenado	Interno	Auxiliar laboratorio	Auxiliar laboratorio	Mensual/ Semestral			1			1				1	Mesófilos y Tinción Gram	Coliformes Totales, Hongos, Levaduras, Mesofilos y Pseudomona Aeruginosa		
Equipo 05	Llenado	Externo	Auxiliar laboratorio	Auxiliar laboratorio	Mensual/ Semestral			1			1				1	Mesófilos y Tinción Gram	Coliformes Totales, Hongos, Levaduras, Mesofilos y Pseudomona Aeruginosa		

Conclusiones y Recomendaciones.

Conclusiones.

- Un procedimiento de limpieza y sanitización bien elaborado es aquél que, de practicarse al pie de la letra, se obtienen los resultados óptimos o incluso se superen expectativas. Bajo estas consideraciones, una falta en la ejecución del procedimiento, ya sea por mano de obra o un error en el mismo método, termina en un desenlace indeseado que culmina en más problemas a resolver.
- La metodología de limpieza y sanitización, como cualquier otro procedimiento, debe escribirse de tal forma que sea entendible para todo aquél que lo lea, siendo así más fácil de transmitir en el entrenamiento con el personal responsable.
- Un procedimiento de limpieza no basta con eliminar cualquier tipo de contaminación, de no considerarse los demás factores como lo son el equipo (material de construcción, tamaño, y forma), los efectos mecánicos, los efectos de los agentes limpiadores y sanitizantes, la temperatura, y los tiempos de ejecución del proceso. Si es que se deja atrás la interacción con cualquiera de estos parámetros, la limpieza resulta de inmediato inefectivo.
- La aplicación del presente proyecto reafirmó la vitalidad de la limpieza y sanitización de las instalaciones de una empresa, otorgándole una mayor trascendencia al instruirse de la mano con la manufactura de productos. Parte de la confianza del cliente y del consumidor hacia una marca es la Calidad de los productos que ésta vende en cada una de sus fases de su proceso de manufactura.

Recomendaciones.

- Vislumbrar la posibilidad de contratar personal especializado en microbiología como un soporte sólido para los análisis y las validaciones microbiológicas en los procesos productivos de la empresa.
- Evaluar nuevas opciones para las soluciones limpiadoras y sanitizantes compatible con los materiales de construcción del sistema actual. Es conveniente tener agentes con una distinción notable, como el pH, cuya aplicación sea alternada entre un agente y otro en cada limpieza de tal forma que no contribuya al crecimiento y desarrollo de cultivos microbiológicos contaminantes para el producto.
- Instalar un intercambiador de calor entre el área de Fabricación y el área de Llenado, para la manutención de la temperatura del agua caliente empleada en la imbibición inicial de la suciedad.
- Revisión a profundidad del equipo clave en el área de llenado, en especial los tanques de distribución de los intermedios a llenar (múltiples puntos muertos, mangueras y tuberías no sanitarias).
- Implementar un plan similar para las áreas de manufactura de productos que representan un riesgo microbiológico elevado.
- Finalizar la validación de los métodos de cuenta total de mesófilos aerobios por Petrifilm y tinción Gram con el personal calificado correspondiente, para realizar análisis internos en la empresa a bajo costo. De igual manera, dar seguimiento al proyecto de expansión del laboratorio microbiológico interno.
- Implementar una herramienta fiable y de mayor robustez para análisis de riesgo en el procedimiento de validación de limpiezas de la empresa, como HACCP (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control, según sus siglas en inglés) o AMEF (Análisis de Modo y Efecto de Falla), de tal forma de que se evalúe paso a paso, y de forma sencilla, los puntos con mayor relevancia en un sistema de manufactura a evaluar y validar. Así mismo, hacer uso de estas herramientas en el caso de la implementación de nuevos productos o tecnologías, abarcando así todo riesgo existente en su diseño.
- Realizar más pruebas API™ para la identificación más certera de las bacterias encontradas en el primer ensayo, empleando el personal de muestreo de la empresa.
- Reanalizar el plan interno de pruebas microbiológicas conforme a los resultados obtenidos después de dos meses a su aplicación, con el fin de validar si son necesarias o no mejoras en el sistema.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Wildbrett, Gerhard, et al. (2000). ***Limpieza y Sanitización en la Industria Alimentaria***. España: Acribia S. A. Primera Edición.
- Marriott, Norman G. (2003). ***Principios de Higiene Alimentaria***. España: Acribia S. A., Cuarta Edición.
- Prescott, Lansing M.; Harley, John P.; Klein, Donald A. (2004). ***Microbiología***. España: Mc Graw-Hill Interamericana. Quinta Edición.
- Jawetz, Melnick & Adelberg (2016). ***Microbiología Médica***. México: Mc Graw-Hill Education. 27ª Edición.
- Bruice, Paula Yurkanis (2008). ***Química Orgánica***. México: Pearson – Prentice Hall. Quinta Edición.
- Perry, Robert H. (2008). ***Perry's Chemical Engineer's Handbook***. E.U.A.: Mc Graw-Hill, Octava Edición.
- Bird, R. Byron; Stewart, Warren E.; Lightfoot, Edwin N. (2010). ***Fenómenos de Transporte***. México: Limusa Wiley, Segunda Edición.
- Rocha Felices, Arturo (2007). ***Hidráulica de Tuberías y Canales***. Perú: Facultad de Ingeniería Civil, Universidad Nacional de Ingeniería. Primera Edición.
- Betancourth, Marisol; Bolero, Javier Enrique; Rivera, Sandra Patricia (2004). ***Biopelículas: una comunidad microscópica en desarrollo***. Colombia: Colombia Médica.
- Rayner-Canham, Geoff (2000). ***Química Inorgánica Descriptiva***. México: Pearson – Prentice Hall. Segunda Edición.
- Camisón, César; Cruz, Sonia; González, Tomás (2006). ***Gestión de la Calidad: Conceptos, enfoques, modelos, y sistemas***. España: Pearson – Prentice Hall. Primera Edición.
- Skoog, Douglas A.; West, Donald M.; Holler, F. James; Crouch, Stanley R. (2005). ***Fundamentos de Química Analítica***. México: Thomson. Octava Edición.
- Walpole, Ronald E.; Myers, Raymond H.; Myers, Sharon L.; Ye, Keyjing (2007). ***Probabilidad y Estadística para Ingeniería y Ciencias***. México: Editorial Pearson – Prentice Hall. Octava Edición.
- Rezquellah, Wafae (2015). ***Validación de los procesos de limpieza en la industria farmacéutica, mediante la aplicación del análisis de riesgo, seguridad toxicológica y UPLC***. España: Universidad de Barcelona.
- Forero Vargas, Rafael Alberto (2008). ***Análisis y evaluación de los procesos de limpieza manual de equipos de manufactura en una Industria Nutraceutica***. Colombia: Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana.
- Morales Henriquez, María Laura (2010). ***Validación del procedimiento de limpieza del proceso de manufactura de caramelos de Laboratorios Elmor, S.A***. Venezuela: Universidad Simón Bolívar.

- Vences Benítez, Juan Carlos (2012). *Validación prospectiva en la fabricación de un desodorante en gel*. México: Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México.
- 3M Microbiology México (2006). *Placas Petrifilm para el recuento de Aerobios. Guía de Interpretación*. México: 3M.
- Secretaría de Economía (2011). *NMX-Q-016-SCFI-2011: Buenas prácticas de manufactura para establecimientos dedicados a la manufactura de productos de aseo*. México: Secretaría de Economía.
- Secretaría de Salud (2009). *NOM-251-SSA1-2009: Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios*. México: Secretaría de Salud.
- Secretaría de Salud (2000). *NOM-127-SSA1-1994: Modificación a la Norma Oficial Mexicana. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización*. México: Secretaría de Salud.
- Secretaría de Salud (2015). *NOM-059-SSA1-2015: Buenas prácticas de fabricación de medicamentos. Secretaría de Salud*. México: Secretaría de Salud.
- Secretaría de Salud (1995). *NOM-092-SSA1-1994: Método para cuenta de bacterias aerobias en placa. Secretaría de Salud*. México: Secretaría de Salud.
- Secretaría de Salud (1994). *NOM-110-SSA1-1994: Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico*. México: Secretaría de Salud.

REFERENCIAS VIRTUALES.

- Merriam–Webster Online Dictionary (2017). Clean. En Merriam–Webster [En línea]. Recuperado el 20 de diciembre de 2017, de <https://www.merriam-webster.com/dictionary/clean>
- Diccionario Actual (2017). ¿Qué es limpieza? En Diccionario Actual [En línea]. Recuperado el 20 de diciembre de 2017, de <https://diccionarioactual.com/limpieza/>
- Merriam–Webster Online Dictionary (2017). Imbibition. En Merriam–Webster [En línea]. Recuperado el 20 de diciembre de 2017, de <https://www.merriam-webster.com/dictionary/imbibition>
- Food and Drug Administration (2013). Lineamientos Nacionales de Inocuidad alimentaria para los melones reticulados, incluyendo la variedad cantaloupe. En Food and Drug Administration [En línea]. Recuperado el 3 de julio de 2017, de <https://www.fda.gov/downloads/food/guidanceregulation/guidancedocumentsregulatoryinformation/produceplantproducts/ucm365221.pdf>

- Westcott, Russ (2005). Corrective vs. Preventive Action. Quality Progress. Recuperado el 20 de julio de 2017, de <http://asq.org/quality-progress/2005/03/problem-solving/corrective-vs-preventive-action.html>
- Michigan State University (2010). FSKN 06 – Cleaning and Disinfection (Traducción) Recuperado el 21 de julio de 2017, del sitio web del Michigan State University, de http://www.fskntraining.org/sites/default/files/spanish/FSKN_06_Cleaning-and-Disinfection-Traducci%C3%B3n.pdf
- Instituto Nacional de Aprendizaje (2009). Curso de Manipulación de Alimentos, Capítulo 7: Limpieza y Sanitización. Recuperado el 20 de julio de 2017, del sitio web del Instituto Nacional de Aprendizaje, de http://www.ina.ac.cr/curso_manipulacion_alimentos/documentos%20manipulacion/capitulo%207.pdf
- Alzate Tamayo, Luz María (2011). Limpieza y Sanitización en la Industria de Alimentos. Corporación Universitaria Lasallista. Recuperado el 20 de agosto del 2017, de <https://es.scribd.com/doc/67395766/Limpieza-y-Desinfeccion-en-La-Industria-de-Alimentos>
- Pelczar, Rita M; Pelczar, Michael J. (2001). Microbiology. Encyclopaedia Britannica [En línea]. Recuperado el 5 de agosto del 2017, de <https://www.britannica.com/science/microbiology>
- Lane, Nick (2015). The unseen world: reflections on Leeuwenhoek (1677) ‘Concerning little animals’. The Royal Society [En línea]. Recuperado el 10 de agosto de 2017, de <http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/370/1666/20140344>
- Lasa Uzcudun, Íñigo (2004). Biofilms bacterianos. Instituto de Agrobiotecnología y Recursos Naturales y Departamento de Producción Agraria, Universidad Pública de Navarra. Recuperado el 10 de agosto del 2017, de https://www.sem microbiologia.org/pdf/actualidad/SEM37_14.pdf
- Pascual Vidal, Andrés (2013). Diseño Higiénico y EHEDG. European Hygienic Engineering & Design Group. Recuperado el 28 de agosto del 2017, de <http://mexico.um.dk/es/~media/Mexico/Conferencia%20DH%20%20EHEDG%20MEXICO%20Andres%20Pascual%20Vidal%201.pdf>
- International Organization for Standardization (2016). ISO 14159:2002, Safety of machinery – Hygiene requirements for the design of machinery. En International Organization for Standardization [En línea]. Recuperado el 30 de agosto de 2017, de <https://www.iso.org/standard/23748.html>
- Dionicio Padilla, Eusebio (2000). Aplicaciones de los aceros inoxidable. Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Geología, Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas. Recuperado el 20 de diciembre de 2017, de http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/publicaciones/geologia/v02_n3/aplicaciones.htm

- Tovatech (2017). How do Ultrasonic Cleaners work? En Tovatech [En línea]. Recuperado el 31 de agosto de 2017, de <https://store.tovatech.com/how-do-ultrasonic-cleaners-work/>
- Agri-Food & Veterinary Authority of Singapore (2015). Good Cleaning and Sanitation Practices. En Agri-Food & Veterinary Authority of Singapore (AVA) [En línea]. Recuperado el 11 de agosto de 2017, de [http://www.ava.gov.sg/docs/default-source/tools-and-resources/resources-for-businesses/\(english\)-good-cleaning-and-sanitation-practices](http://www.ava.gov.sg/docs/default-source/tools-and-resources/resources-for-businesses/(english)-good-cleaning-and-sanitation-practices)
- Merriam-Webster Online Dictionary (2017). Procedure. En Merriam-Webster [En línea]. Recuperado el 18 de septiembre de 2017, de <https://www.merriam-webster.com/dictionary/procedure>
- Lenntech (2014). Cleaning in CIP processes. En Lenntech [En línea]. Recuperado el 20 de septiembre de 2017, de <http://www.lenntech.com/cleaning-cip.htm>
- Nebrera Herrera, Jaime (2000). Introducción a la Calidad. Curso de Calidad por Internet – CCI. En Curso de Calidad por Internet. Recuperado el 25 de agosto de 2017, de http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/infodir/introduccion_a_la_calidad.pdf
- Pharmacists Pharma Journal (2010). Validation in Pharmaceutical Industry Types of Pharma Validation. En Pharmacists Pharma Journal (PPI). Recuperado el 25 de septiembre de 2017, de <http://www.pharmacistspharmajournal.org/2010/03/validation-in-pharmaceutical.html#.WcwuhbpFzIU>
- Hojo, Taisuke (2004). Quality Management Systems – Process Validation Guidance. En Global Harmonization Task Force [En línea]. Recuperado el 30 de septiembre de 2017, de <http://www.imdrf.org/docs/ghtf/final/sg3/technical-docs/ghtf-sg3-n99-10-2004-qms-process-guidance-04010.pdf>
- Food and Drug Administration (2011). Validation of Cleaning Processes (7/93): Guide to Inspections. En Food and Drug Administration [En línea]. Recuperado el 30 de marzo de 2017, de <https://www.fda.gov/ICECI/Inspections/InspectionGuides/ucm074922.htm>
- Food and Drug Administration (2015). Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics. En Food and Drug Administration [En línea]. Recuperado el 30 de septiembre de 2017, de <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM386366.pdf>
- Vernet Vernet & Asociados (2007). Proceso de pasivado en acero inoxidable. En Vernet Vernet & Asociados [En línea]. Recuperado el 25 de octubre de 2017, de <http://vernet.com.mx/PROCESO%20PASIVADO.htm>
- Wikipedia, the free encyclopedia (2014). Petrifilm. En Wikipedia, the free encyclopedia [En línea]. Recuperado el 25 de octubre de 2017, de <https://en.wikipedia.org/wiki/Petrifilm>