



No. 11-177132-00000-0000

Fecha: 2011-12-22 16:40:16  
Tra. 11 PATENTE IYI  
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Eve: 378 FASENACIONAL  
Folios: 144

# **Industria y Comercio**

## **SUPERINTENDENCIA**

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

### SOLICITUD

# **PATENTE DE INVENCION**

21. EXPEDIENTE No. \_\_\_\_\_

54. TITULO COMPOSICIÓN HIGIENIZANTE

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL \_\_\_\_\_

71. SOLICITANTE EQ AG SOLUTIONS

DOMICILIO TEXAS, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

74. APODERADO JAI ME EDUARDO DELGADO VILLEGAS

22. BOGOTA, D.C., \_\_\_\_\_

## PETITORIO

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD  
PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 11-177132-00000-0000

Fecha: 2011-12-22 16:40:16  
Tra. 11 PATENTE I/II  
Act. 411 PRESENTACIONDep. 2020 DIR. NUEVAS C.R.  
Eve: 378 FASE NACIONAL I  
Folios: 1441 SOLICITUD DE: ☒ Patente de Invención ☐ Patente de Modelo de Utilidad☒ Capítulo I ☐ Capítulo II

|                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                        |
|-----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2<br>SOLICITANTE<br>(71)          | Nombre: <b>EQ AG SOLUTIONS</b><br>Dirección: <b>777 Enterprise Boulevard, Hewitt, Texas 76643, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</b><br>Nacionalidad o domicilio: <b>TEXAS, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</b><br>Lugar de Constitución: <b>TEXAS, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</b><br>Teléfono: _____ Fax: _____<br>E-mail: _____ | IDENTIFICACIÓN<br>C.C. <input type="checkbox"/> NIT <input type="checkbox"/><br>C.E. <input type="checkbox"/> Otro <input type="checkbox"/><br>Cual: _____<br>Número: _____                                            |
| 3<br>REPRESENTANTE<br>O APODERADO | Nombre: <b>JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS</b><br>Dirección: <b>Avda. Carrera 24 No. 37 - 31 Of. 202 BOGOTA D.C., COLOMBIA</b><br>Teléfono: <b>2444096</b> Fax: <b>2442496</b><br>E-mail: _____                                                                                                                     | IDENTIFICACIÓN<br>C.C. <input checked="" type="checkbox"/> NIT <input type="checkbox"/><br>C.E. <input type="checkbox"/> Otro <input type="checkbox"/><br>Cuál<br>Número: <b>19.270.955, T.P. 43.308 C.S.J. BOGOTA</b> |
| 4<br>INVENTOR (ES)<br>(72)        | Nombre: <b>CURRY, Patrick, J. Y DIEHL, Franklin, Irven</b><br>Dirección: <b>1334 Coyote Lane, McGregor, Texas 76643 y 301 14th Street S.W., Ruskin, Florida 33575 ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</b><br>Nacionalidad o Domicilio: _____                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                        |

5 PCT (86)  
Solicitud Internacional No. PCT/US2010/039433 Fecha: 22-06-10  
Publicación Internacional No. WO2011/005499 A2 Fecha: 13-01-11

6 Título (54)

COMPOSICIÓN HIGIENIZANTE

7 Clasificación internacional (51) \_\_\_\_\_

|   |                                                                                 |                                  |                                 |                                               |
|---|---------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------------|
| 8 | Prioridad<br>SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> | (33) País de Origen<br><u>US</u> | (32) Fecha<br><u>22/06/2009</u> | (31) Número de Solicitud<br><u>12/489,362</u> |
|---|---------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------------|

9 Comprobante de pago No. \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☐ Poderes, si fuere el caso.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12X12 cm.
- ☐ De ser el caso, información de otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas total o parcialmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional, Nuevas Reivindicaciones
- ☐ Otros: Informe de Búsqueda de Antecedentes Internacional junto con la traducción
- ☒ Publicación Internacional No. WO2011/005499 A2

FIGURA CARACTERISTICA

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS

FIRMA:

C.C. 19.270.955 BOGOTÁ

T.P. 43.308 C.S.J.

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página

From the INTERNATIONAL BUREAU

**PCT**NOTIFICATION CONCERNING  
SUBMISSION OR TRANSMITTAL  
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

|                                                                      |                                                                                                                                                          |
|----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Date of mailing (day/month/year)<br>08 July 2010 (08.07.2010)        | To:<br><br>PERDOK SHONKA, Monique, M.<br>Schwegman, Lundberg & Woessner, P.A.<br>P. O. Box 2938<br>Minneapolis, Minnesota 55402<br>ETATS-UNIS D'AMERIQUE |
| Applicant's or agent's file reference<br>2975001WO1                  | IMPORTANT NOTIFICATION                                                                                                                                   |
| International application No.<br>PCT/US2010/039433                   | International filing date (day/month/year)<br>22 June 2010 (22.06.2010)                                                                                  |
| International publication date (day/month/year)<br>Not yet published | Priority date (day/month/year)<br>22 June 2009 (22.06.2009)                                                                                              |
| Applicant<br>EQ AG SOLUTIONS et al                                   |                                                                                                                                                          |

1. By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
3. (If applicable) An asterisk (\*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

| Priority date             | Priority application No. | Country or regional Office<br>or PCT receiving Office | Date of receipt<br>of priority document |
|---------------------------|--------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 22 June 2009 (22.06.2009) | 12/489,362               | US                                                    | 02 July 2010 (02.07.2010)               |

|                                                                                               |                                                                                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| The International Bureau of WIPO<br>34, chemin des Colombettes<br>1211 Geneva 20, Switzerland | Authorized officer<br><br>Agnes Wittmann-Regis<br>e-mail <a href="mailto:PI06.PCT@WIPO.INT">PI06.PCT@WIPO.INT</a><br>Telephone No. +41 22 338 74 06 |
| Facsimile No. +41 22 338 82 70                                                                |                                                                                                                                                     |

Form PCT/IB/304 (October 2005)

I/EIQ2TM380

TO: GARY J. SPEIER COMPANY: SCHWEGMAN, LUNDBERG &amp; WOESSNER, P.A.

**UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**UNDER SECRETARY OF COMMERCE FOR INTELLECTUAL PROPERTY AND  
DIRECTOR OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

SEPTEMBER 08, 2009

\*700417161A\*

PTAS

GARY J. SPEIER  
SCHWEGMAN, LUNDBERG & WOESSNER, P.A.  
P.O. BOX 2938  
MINNEAPOLIS, MN 55402-0938UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE  
NOTICE OF RECORDATION OF ASSIGNMENT DOCUMENT

THE ENCLOSED DOCUMENT HAS BEEN RECORDED BY THE ASSIGNMENT DIVISION OF THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE. A COMPLETE MICROFILM COPY IS AVAILABLE AT THE ASSIGNMENT SEARCH ROOM ON THE REEL AND FRAME NUMBER REFERENCED BELOW.

PLEASE REVIEW ALL INFORMATION CONTAINED ON THIS NOTICE. THE INFORMATION CONTAINED ON THIS RECORDATION NOTICE REFLECTS THE DATA PRESENT IN THE PATENT AND TRADEMARK ASSIGNMENT SYSTEM. IF YOU SHOULD FIND ANY ERRORS OR HAVE QUESTIONS CONCERNING THIS NOTICE, YOU MAY CONTACT THE EMPLOYEE WHOSE NAME APPEARS ON THIS NOTICE AT 571-272-3350. PLEASE SEND REQUEST FOR CORRECTION TO: U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE, MAIL STOP: ASSIGNMENT SERVICES BRANCH, P.O. BOX 1450, ALEXANDRIA, VA 22313.

RECORDATION DATE: 09/04/2009

REEL/FRAME: 023190/0449  
NUMBER OF PAGES: 5BRIEF: ASSIGNMENT OF ASSIGNOR'S INTEREST (SEE DOCUMENT FOR DETAILS).  
DOCKET NUMBER: 2975.001US1ASSIGNOR:  
CURRY, PATRICK J.

DOC DATE: 08/25/2009

ASSIGNOR:  
DIEHL, FRANKLIN IRVEN

DOC DATE: 08/24/2009

ASSIGNEE:  
EQ AG SOLUTIONS  
777 ENTERPRISE BOULEVARD  
HEWITT, TEXAS 76643SERIAL NUMBER: 12489362  
PATENT NUMBER:  
TITLE: ANTIMICROBIAL COMPOSITIONFILING DATE: 06/22/2009  
ISSUE DATE:

TO: GARY J. SPEIER COMPANY: SCHWEGMAN, LUNDBERG & WOESSNER, P.A.

11

023190/0449 PAGE 2

TONYA LEE, EXAMINER  
ASSIGNMENT SERVICES BRANCH  
PUBLIC RECORDS DIVISION

TO: GARY J. SPEIER COMPANY: SCHWEGMAN, LUNDBERG &amp; WOESSNER, P.A.

09/04/09 11:08 FAX 8123393081

SCHWEGMAN, LUNDBERG, WOESSNER

002/006

09/04/2009  
700417161RECORDATION FORM COVER SHEET  
PATENTS ONLY

Atty Ref/Docket No.: 2975.001US1

Patent and Trademark Office

To the Director of the U.S. Patent and Trademark Office: Please record the attached original documents or copy thereof.

## 1. Name of conveying party(ies):

Patrick J. Curry and Franklin Irvan Diehl

Additional name(s) of conveying party(ies) attached?

[ ] Yes [X] No

## 3. Nature of conveyance:

[X] Assignment [ ] Merger  
[ ] Security Agreement [ ] Change of Name  
[ ] Other

Execution Date: August 25, 2009, August 24, 2009

## 2. Name and address of receiving party(ies):

Name: BQ Ag Solutions

Street Address: 777 Enterprise Boulevard

City: Hewitt State: TX Zip: 76643

Additional name(s) &amp; address(es) attached? [ ] Yes [X] No

## 4. Application number(s) or patent number(s):

If this document is being filed together with a new application, the execution date of the application is:

A. Patent Application No.(s)

B. Patent No.(s)

Serial No. 12/489,362, filed June 22, 2009

Additional numbers attached? [ ] Yes [X] No

## 5. Name and address of party to whom correspondence concerning document should be mailed:

Name: Gary J. Speier

Address:

Schwegman, Lundberg & Woessner, P.A.  
P.O. Box 2938  
Minneapolis, MN 55402-0938

## 6. Total number of applications and patents involved: 1

## 7. Total fee (37 CFR 3.41): \$ 40.00

[ ] Enclosed

[X] Authorized to be charged to deposit account  
19-0743

## 8. Please charge any additional fees or credit any over payments to our Deposit Account No.: 19-0743

DO NOT USE THIS SPACE

## 9. Statement and signature.

To the best of my knowledge and belief, the foregoing information is true and correct and any attached copy is a true copy of the original document.

Gary J. Speier/Reg. No. 45,458  
Name of Person Signing

Signature

Date

Total number of pages including cover sheet: 6

Mail documents to be recorded with required cover sheet information to:

Commissioner of Patents and Trademarks  
Mail Stop Assignment Recordation Services  
P.O. Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

# 7

## ASSIGNMENT

WHEREAS, We, Patrick J. Curry, residing at 1334 Coyote Lane, McGregor, TX 76643, and Franklin Irvn Diehl, residing at 301 14th Street S.W., Ruskin, FL 33575, made certain new and useful inventions and improvements for which we filed an application for Letters Patent of the United States on June 22, 2009, which application was assigned U.S. patent application serial number 12/489,362, and is entitled ANTIMICROBIAL COMPOSITION;

AND WHEREAS, EQ Ag Solutions, a corporation organized and existing under and by virtue of the laws of the State of Texas, and having an office and place of business at 777 Enterprise Boulevard, Hewitt, TX 76643 (hereinafter "Assignee"), is desirous of acquiring the entire right, priority right, title and interest in and to said inventions, improvements and application and in and to the Letters Patent to be obtained therefore;

NOW, THEREFORE, to all whom it may concern, be it known that for good and valuable consideration, the receipt and sufficiency whereof is hereby acknowledged, we have sold, assigned, and transferred, and by these presents do sell, assign and transfer unto said Assignee, its successors or assigns, the entire right, title and interest for all countries in and to all inventions and improvements disclosed in the aforesaid application, and in and to the said application, all divisions, continuations, continuations-in-part, or renewals thereof, all Letters Patent which may be granted there from, and all reissues or extensions of such patents, and in and to any and all applications which have been or shall be filed in any foreign countries for Letters Patent on the said inventions and improvements, including an assignment of all rights under the provisions of the International Convention, and all Letters Patent of foreign countries which may be granted there from; and we do hereby authorize and request the Commissioner of Patents and Trademarks to issue any and all United States Letters Patent for the aforesaid inventions and improvements to the said Assignee as the assignee of the entire right, title and interest in and to the same, for the use of the said Assignee, its successors and assigns.

AND, for the consideration aforesaid, we do hereby agree that we and our executors and legal representatives will make, execute and deliver any and all other instruments in writing including any and all further application papers, affidavits, assignments and other documents, and will communicate to said Assignee, its successors and representatives all facts known to us relating to said improvements and the history thereof and will testify in all legal proceedings and generally do all things which may be necessary or desirable more effectually to secure to and vest in said Assignee, its successors or assigns the entire right, title and interest in and to the said improvements, inventions, applications, Letters Patent, rights, titles, benefits, privileges and advantages hereby sold, assigned and conveyed, or intended so to be.

AND, furthermore, we covenant and agree with said Assignee, its successors and assigns, that no assignment, grant, mortgage, license or other agreement affecting the rights and property herein conveyed has been made to others by us and that full right to convey the same as herein expressed is possessed by us.

IN TESTIMONY WHEREOF, I have hereunto set my hand this 25<sup>th</sup> day of  
August, 20 09.

  
Patrick J. Curry

STATE OF Texas )  
 )ss  
COUNTY OF McLennan )

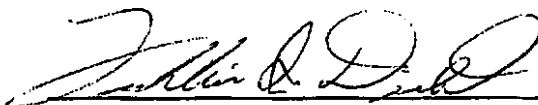
On this 25<sup>th</sup> day of August, 20 09 before me personally appeared Patrick J. Curry, to me known and known to me to be the person described in and who executed the foregoing instrument, and he/she duly acknowledged to me that he/she executed the same for the uses and purposes therein set forth.

[SEAL]



  
Notary Public

IN TESTIMONY WHEREOF, I have hereunto set my hand this 24 day of  
August, 2009.



Franklin Irven Diehl

STATE OF Florida

)ss

COUNTY OF Hillsborough

On this 24 day of August, 2009 before me personally appeared Franklin Irven Diehl, to me known and known to me to be the person described in and who executed the foregoing instrument, and he/she duly acknowledged to me that he/she executed the same for the uses and purposes therein set forth.



[SEAL]



Notary Public

## **COMPOSICIÓN HIGIENIZANTE**

### **Referencia cruzada con solicitudes relacionadas**

La presente solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud de Estados Unidos de Número de Serie 12/489.362, presentada el 22 de junio de 2009, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

### **Antecedentes**

Contaminantes tales como suciedad, fertilizantes, fungicidas, pesticidas, heces, mohos, insectos, bacterias y patógenos microbianos pueden ser la causa de un sabor desagradable en frutas y hortalizas crudas, y causar con frecuencia enfermedades y, a veces, muertes. Por lo tanto, la prevención o eliminación de la contaminación de productos alimenticios por microorganismos patógenos es importante para proteger la salud pública. Los brotes mortales recientes de infección por *Escherichia coli* después de la ingestión de alimentos infectados (por ejemplo, manteca de cacahuete) han divulgado la gravedad de este problema de salud pública. Muchos microorganismos patógenos pueden transmitirse a los alimentos, tales como productos agrícolas frescos, durante la recolección, preparación o manipulación. Además, con frecuencia las frutas y hortalizas son manipuladas por numerosas personas (desde los trabajadores agrícolas hasta los consumidores) en los canales de distribución de los alimentos, que proporcionan múltiples oportunidades para la infección de los alimentos con patógenos. Por lo tanto, los microorganismos pueden acumularse en una diversidad de puntos diferentes en una operación de fabricación de alimentos; cuantos más sean los puntos en los que puedan controlarse los microorganismos viables, menores serán las posibilidades de

contaminación alimentaria y más seguro será el procedimiento de fabricación.

Los científicos y oficiales de salud pública han buscado reducir la incidencia de infecciones humanas por bacterias patógenas tales como *Salmonella* y *Escherichia coli* ("E. coli"). Los productos alimenticios son una  
5 fuente importante de infección en seres humanos por patógenos. Los productos alimenticios animales pueden contaminarse con patógenos bacterianos de transmisión alimentaria como resultado de la exposición de la canal del animal a materia fecal. Asimismo, las frutas y hortalizas pueden contaminarse por contacto con bacterias patógenas. Después, los patógenos se transmiten a  
10 seres humanos durante el consumo del alimento contaminado.

A lo largo de los años se han usado agentes antimicrobianos para controlar o inhibir el crecimiento de diversos microorganismos en diversos productos, y particularmente en composiciones alimenticias. El uso aumentado de agentes antimicrobianos ha dado como resultado que numerosos  
15 microorganismos patógenos desarrollen nuevas cepas que son resistentes a muchos de los agentes antibacterianos usados comúnmente.

Por lo tanto, son necesarias composiciones/agentes antibacterianos y procedimientos que inhiban, inactiven, destruyan o eliminen eficazmente diversos patógenos (por ejemplo, *Salmonella*) que causan infecciones de  
20 transmisión alimentaria (por ejemplo, salmonelosis) de superficies durante procedimientos de fabricación de alimentos. Estos microorganismos patógenos pueden estar presentes, por ejemplo, en una superficie tópica de un ser humano, en una superficie del equipamiento usado en la industria alimentaria, una superficie de preparación de alimentos (por ejemplo, una superficie de  
25 cocina) o una superficie de almacenamiento de alimentos. Como alternativa, el

microorganismo patógeno puede estar presente, por ejemplo, en la superficie de un producto alimenticio (por ejemplo, fruta o hortaliza), antes o después de la recolección.

### Sumario

5 Las composiciones descritas en el presente documento son eficaces en la destrucción o disminución de una diversidad de organismos, tales como bacterias, mohos, levaduras, hongos y/o virus. Por ejemplo, en una realización las composiciones descritas en el presente documento destruyen el 99,9% de las bacterias nocivas incluyendo *Salmonella typhurium* y *Staphylococcus*  
10 *aureus*. Además, las composiciones descritas en el presente documento destruyen bacterias rápidamente (por ejemplo, en 30 segundos o menos) o reducen de otro modo el recuento de bacterias, por ejemplo, en superficies, incluyendo superficies de frutas y hortalizas crudas o superficies de preparación de alimentos (por ejemplo, encimeras, cuencos, utensilios) y  
15 superficies de animales, tales como manos humanas.

La materia objeto desvelada actualmente incluye una composición que incluye sulfato de etilhexilo o una sal del mismo; un ácido alquilbencenosulfónico o una sal del mismo; y un vehículo. El sulfato de etilhexilo, o sal del mismo; y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo,  
20 están presentes en una proporción en peso de al menos aproximadamente 1:2.

En una realización específica, la composición incluye: (a) al menos aproximadamente el 4 % en peso de sulfato de etilhexilo, o sal del mismo; (b) al menos aproximadamente el 6 % en peso de ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo; (c) al menos aproximadamente el 0,5 % en peso de hidróxido de  
25 sodio y (d) el resto de agua.

La composición puede estar en forma de una crema, gel, pasta, pomada, loción, líquido fluido, jabón líquido o pulverización en aerosol. Como alternativa, la composición puede estar físicamente presente en un trapo. El trapo puede incluir un paño flexible, en el que la composición se sitúa (es decir, se localiza) en al menos una porción de una superficie del paño flexible.

La composición, por ejemplo, en forma de una crema, gel, pasta, pomada, loción, líquido fluido, jabón líquido, pulverización en aerosol, o físicamente presente en un trapo, puede usarse para la limpieza antiséptica de una superficie tópica de un ser humano. Además, la composición puede usarse para la limpieza antiséptica de una superficie de equipamiento usado en la industria alimentaria. Además, la composición puede usarse como higienizante para manos. Además, la composición puede usarse como higienizante residencial, higienizante comercial e higienizante industrial.

La materia objeto desvelada actualmente proporciona un procedimiento de destrucción o inhibición de un microorganismo o patógeno. El procedimiento incluye poner el microorganismo o patógeno en contacto con una cantidad eficaz de la composición descrita en el presente documento, durante un periodo de tiempo eficaz para destruir o inhibir el microorganismo o patógeno. El microorganismo o patógeno puede ser una bacteria, bacteria gram-negativa, bacteria gram-positiva, bacteria entérica, virus, hongo, moho, mildiú o mildiú pulverulento.

La materia objeto desvelada actualmente también proporciona un procedimiento de lavado de una planta. El procedimiento incluye poner la planta en contacto con una cantidad eficaz de la composición descrita en el presente documento, durante un periodo de tiempo eficaz para lavar la planta.

Puede lavarse una parte comestible de la planta. Además, la planta puede lavarse antes de la recolección. Como alternativa, la planta puede lavarse después de la recolección.

La materia objeto desvelada actualmente también proporciona un  
5 procedimiento de higienización de una planta. El procedimiento incluye poner la  
planta en contacto con una cantidad eficaz de la composición descrita en el  
presente documento, durante un periodo de tiempo eficaz para higienizar la  
planta. Puede higienizarse una parte comestible de la planta. Además, la planta  
puede higienizarse antes de la recolección. Como alternativa, la planta puede  
10 higienizarse después de la recolección.

La materia objeto desvelada actualmente también proporciona un  
procedimiento de lavado (limpieza) de una superficie de equipamiento usado  
en la industria alimentaria. El procedimiento incluye poner la superficie en  
contacto con una cantidad eficaz de la composición descrita en el presente  
15 documento, durante un periodo de tiempo eficaz para lavar la superficie.

La materia objeto desvelada actualmente también proporciona un  
procedimiento de higienización de una superficie de equipamiento usado en la  
industria alimentaria. El procedimiento incluye poner la superficie en contacto  
con una cantidad eficaz de la composición descrita en el presente documento,  
20 durante un periodo de tiempo eficaz para higienizar la superficie.

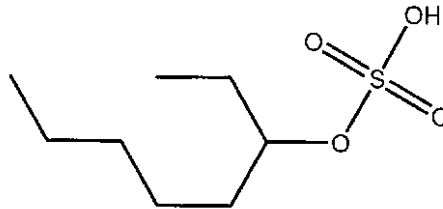
La materia objeto desvelada actualmente también proporciona un  
procedimiento de limpieza (lavado) de una superficie de preparación de  
alimentos, tal como una superficie de cocina, o una superficie de  
almacenamiento de alimentos. El procedimiento incluye poner la superficie en  
25 contacto con una cantidad eficaz de la composición descrita en el presente

documento, durante un periodo de tiempo eficaz para limpiar la superficie.

La materia objeto desvelada actualmente también proporciona un procedimiento de higienización de una superficie de preparación de alimentos, tal como una superficie de cocina o una superficie de almacenamiento de alimentos. El procedimiento incluye poner la superficie en contacto con una cantidad eficaz de la composición descrita en el presente documento, durante un periodo de tiempo eficaz para higienizar la superficie.

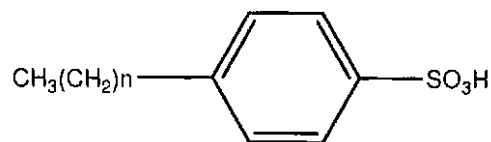
Una realización incluye el uso de una composición para, por ejemplo, limpiar/lavar superficies, incluyendo superficies de animales (por ejemplo, seres humanos), alimentos, plantas o superficies de preparación de alimentos, o para preparar un medicamento, que comprende:

(a) sulfato de etilhexilo de fórmula



o una sal del mismo; y

(b) un ácido alquilbencenosulfónico de fórmula



o una sal del mismo, en el que n es de aproximadamente 5 a aproximadamente 20; y

(c) un vehículo;

en el que el sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido

alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una proporción en peso de al menos aproximadamente 1:2.

#### Descripción detallada

Las composiciones descritas en el presente documento son eficaces  
5 frente a una diversidad de organismos, tales como bacterias, mohos, levaduras, hongos y/o virus. Por ejemplo, en una realización las composiciones descritas en el presente documento destruyen el 99,9% de las bacterias nocivas incluyendo *Salmonella typhurium* y *Staphylococcus aureus*. Además, las composiciones descritas en el presente documento destruyen bacterias  
10 rápidamente (por ejemplo, en 30 segundos o menos) o reducen de otro modo el recuento de bacterias, por ejemplo, en superficies, incluyendo superficies de frutas y hortalizas crudas y superficies de animales, tales como manos humanas.

La materia objeto desvelada actualmente incluye una composición que  
15 incluye sulfato de etilhexilo o una sal del mismo, un ácido alquilbencenosulfónico o una sal del mismo, y un vehículo. El sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una proporción en peso de al menos aproximadamente 1:2. Es decir, basándose en una base en peso, la proporción de sulfato de  
20 etilhexilo, o sal del mismo es de al menos la mitad (es decir, el 50%) de la del ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo.

En una realización específica, el sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una proporción en peso de al menos aproximadamente 1:1. Es decir, basándose en  
25 una base en peso, la proporción de sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, es al

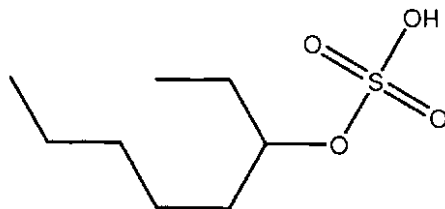
menos aproximadamente igual (es decir, 100%) a la del ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo.

En una realización más específica, el sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una proporción en peso de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 3:1. Es decir, basándose en una base en peso, la proporción de sulfato de etilhexilo, o sal del mismo es de al menos la mitad (es decir, 50%) de la del ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo; y no es más de aproximadamente tres veces (es decir, 300%) la del ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo.

En una realización más específica, el sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una proporción en peso de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 2:1. Es decir, basándose en una base en peso, la proporción de sulfato de etilhexilo, o sal del mismo es de al menos aproximadamente la mitad (es decir, 50%) de la del ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo; y no es más de aproximadamente dos veces (es decir, 200%) la del ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo.

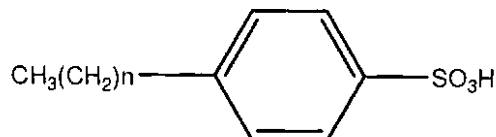
En una realización más específica, el sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una proporción en peso de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 1,5:1. Es decir, basándose en una base en peso, la proporción de sulfato de etilhexilo, o sal del mismo es de al menos aproximadamente la mitad (es decir, 50%) de la del ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo; y no es más de aproximadamente una y media veces (es decir, 150%) la del ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo.

El sulfato de etilhexilo se refiere a un compuesto de fórmula



El sulfato de etilhexilo sódico, N° Reg. CAS 126-92-1, como alternativa conocido como NAS 08 o NIAPROOF 08, está presente en el tensioactivo aniónico NIAPROOF 08 en el 38,5-40 % en peso. El tensioactivo aniónico NIAPROOF 08 también incluye cloruro sódico (1,5-2,5 % en peso) y el resto de agua. El tensioactivo aniónico NIAPROOF 08 está disponible en el mercado en Niacet Corp. (Niagara Falls, NY).

Un ácido alquilbencenosulfónico se refiere a un compuesto de fórmula



10

en el que n es de aproximadamente 5 a aproximadamente 20. En realizaciones específicas, n tendrá un valor promedio de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ó 20. En realizaciones específicas adicionales, n tendrá un valor promedio de aproximadamente 8 a aproximadamente 12. En realizaciones específicas adicionales, n tendrá un valor promedio de aproximadamente 9 a aproximadamente 11. El ácido alquilbencenosulfónico (C<sub>10</sub>-C<sub>16</sub>), N° Reg. CAS 68584-22-5, está presente en el Bio-Soft S-101 en más del 95,5%. El benceno y otros derivados aromáticos también están presentes en el Bio-Soft S-101 en el 2%. Además, el ácido sulfúrico (1,3%) está presente en el Bio-Soft S-101. El Bio-Soft S-101 está disponible en el mercado en

20

Stepan Co. (Northfield, IL).

#### Vehículo

La composición incluye un vehículo. Un vehículo se refiere a una sustancia en la que el sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, pueden disolverse o mezclarse. Puede  
5 emplearse cualquier vehículo adecuado y eficaz, con tal de que el vehículo sea estable durante los periodos de tiempo que se encuentran típicamente en la fabricación, envío y almacenamiento de la composición. Además, el vehículo será preferentemente químicamente y físicamente compatible con el sulfato de  
10 etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo.

En una realización específica, el vehículo incluye al menos uno de agua, etanol, trietilenglicol, etilenglicol, glicerina, propilenglicol, triacetina, 1,3-propanodiol, 2-metil-1,3-propanodiol, ricinoleato de glicerol, PEG-6 glicéridos caprílicos/cápricos, triglicéridos caprílicos/cápricos, dicaprilato/dicaprato de  
15 propilenglicol, monoestearato de glicerol, monocaprilato de glicerol, monolaurato de glicerol, alcohol neopentílico, 1-hexadecanol, beta-cyclodextrina de hidroxipropilo, vitamina E, acetato de vitamina E, ácido desoxicólico, ácido taurodesoxicólico, 3-[(3-colamidopropil)dimetilamonio]-1-propanosulfonato, BigCHAP, ácido cólico, colesterol NF, carbonato de  
20 propileno, lecitina y sales de los mismos. En una realización más específica, el vehículo incluye agua.

#### Base

En realizaciones específicas, la composición puede incluir opcionalmente además una base. La base puede ser una base orgánica o una  
25 base inorgánica. La base, cuando esté presente en la composición, producirá

eficazmente uno o más iones hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ). En una realización específica, la base puede incluir al menos un ión litio ( $\text{Li}^+$ ), un ión sodio ( $\text{Na}^+$ ), un ión potasio ( $\text{K}^+$ ), un ión calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) y un ión bario ( $\text{Ba}^+$ ). Más específicamente, la base puede incluir al menos uno de hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ) e hidróxido de potasio ( $\text{KOH}$ ).

La base puede estar presente en cualquier cantidad adecuada y apropiada. Por ejemplo, la base puede estar presente en una cantidad tal que el pH de la composición esté por encima de aproximadamente 6. En concreto, la base puede estar presente en una cantidad tal que el pH de la composición sea, por ejemplo, de aproximadamente 6 a aproximadamente 13. Más específicamente, la base puede estar presente en una cantidad tal que el pH de la composición sea, por ejemplo, de aproximadamente 7 a aproximadamente 9, o de aproximadamente 7 a aproximadamente 8,5. Además, la base puede emplearse, por ejemplo, no para ajustar el pH por encima de 7 (es decir, pH neutro), sino para neutralizar, o neutralizar parcialmente el ácido presente en la composición. Por ejemplo, la base puede emplearse para neutralizar, o neutralizar parcialmente el ácido sulfúrico presente a partir del Bio-Soft S-101.

La cantidad de base puede depender, por ejemplo, de la cantidad de sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo. Por ejemplo, la base (por ejemplo, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o combinación de los mismos) puede estar presente en una proporción en peso de menos de aproximadamente 1:4, respecto al sulfato de etilhexilo, o sal adecuada del mismo.

Cloruro sódico

El producto comercial NIAPROOF 08 incluye actualmente cloruro sódico (1,5-2,5 % en peso). Como tal, cuando la formulación actual de NIAPROOF 08 se emplea como fuente del sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, estará presente cloruro sódico en la composición. Como alternativa, cuando la formulación actual de NIAPROOF 08 no se emplea como fuente del sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, puede incluirse cloruro sódico dentro de la composición, o el cloruro sódico puede omitirse de la composición.

Cuando está presente, el cloruro sódico puede estar presente en hasta aproximadamente el 5 % en peso de la composición, hasta aproximadamente el 1 % en peso de la composición o hasta aproximadamente el 0,1 % en peso de la composición.

Ácido

El producto comercial Bio-Soft S-101 incluye actualmente ácido sulfúrico (1,3%). Como tal, cuando la formulación actual de Bio-Soft S-101 se emplea como fuente del ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, estará presente ácido sulfúrico en la composición. El ácido sulfúrico puede estar presente en la forma de ácido libre, o puede usarse para neutralizar cualquier base presente en la composición. Como alternativa, cuando la formulación actual de Bio-Soft S-101 no se emplee como fuente del ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, puede incluirse ácido sulfúrico dentro de la composición, o el ácido sulfúrico puede omitirse de la composición. Asimismo pueden emplearse otros ácidos adecuados (por ejemplo, ácido láctico) en la composición.

Cuando están presentes, cada uno de los ácidos puede estar presente independientemente en hasta aproximadamente el 5 % en peso de la

composición, hasta aproximadamente el 1 % en peso de la composición o hasta aproximadamente el 0,1 % en peso de la composición.

#### Desinfectante

La composición puede incluir opcionalmente además un desinfectante.

- 5 Además, los procedimientos descritos en el presente documento pueden incluir además el uso de un desinfectante, en combinación con la composición descrita en el presente documento. En tal situación, el uso del desinfectante puede ser coincidente con el uso de la composición, o puede ser secuencial al uso de la composición.
- 10 El desinfectante puede ser cualquier sustancia que inhiba o destruya eficazmente un microorganismo. Los desinfectantes específicos incluyen, por ejemplo, dióxido de cloro, gas de cloro o cualquier sustancia que genere eficazmente gas de cloro, por ejemplo, tras el contacto con la composición descrita en el presente documento. Los desinfectantes específicos adicionales
- 15 incluyen, por ejemplo, ozono (O<sub>3</sub>), ácido láctico, luz ultravioleta, peróxidos, ácido peracético (ácido peroxiacético o PAA), sorbato de potasio y ácido láctico.

#### Formulación

- La composición puede formularse en cualquier formulación adecuada y eficaz.
- 20 Las formulaciones específicas incluyen, por ejemplo, cremas, geles, pastas, pomadas, lociones, líquidos fluidos, jabones líquidos y pulverizaciones en aerosol.

- Como alternativa, la composición puede estar físicamente presente en un trapo. El trapo puede incluir un paño flexible, en el que la composición se
- 25 sitúa (es decir, se localiza) en al menos una porción de una superficie del paño

flexible. El paño flexible puede fabricarse a partir de cualquier material adecuado y eficaz. Por ejemplo, el paño flexible puede incluir una tela no tejida. En concreto, el paño flexible puede incluir al menos uno de fibras de polielulosa, fibras de poliéster, fibras de poliuretano, fibras de poliolefina, 5 fibras de poliamida, fibras de algodón, fibras y películas de copoliéster. Además, la composición puede estar al menos parcialmente embebida en al menos una porción del paño flexible.

#### Agente antibiótico

La composición puede incluir opcionalmente además un agente 10 antibiótico. Los agentes antibióticos específicos adecuados incluyen, por ejemplo, cilastatina, ácido clavulánico, ácido folínico, probenecid, piridoxina, sulbactam, dapsona, etambutol, isoniazid, pirazinamida, rifampina, estreptomicina, capreomicina, etionamida, ácido para-aminosalicílico, cicloserina, ciprofloxacina, ácido nalidíxico, norfloxacina, ofloxacina, imipenam, 15 meropenem, cilistatina, cefadroxil, cefazolina, cefalexina, cefalotina, cefactor, cefamandol, cefonicid, cefoxitina, cefuroxina, cefoperazona, cefotaxima, ceftazidima, ceftazidima, ceftizoxima, ceftriaxona, moxalactam, cefepina, bacitracina, vancomicina, aztreonam, amoxicilina, ácido clavulánico, benzatina, penicilina g, penicilina v, ampicilina, carbenicilina indamilo, carbenicilina, 20 mezlocilina, piperacilina, ticarcilina, cloxacilina, dicloxacilina, floxacilina, metilicina, nafcilina, oxacilina, colistmetato, polimixina b, trimetoprim, cotrimoxazol, mafenida, sulfadiazina, sulfacetamida sódica, sulfacitina, sulfadiazina, sulfametoxazol, sulfapiridina, sulfasalazina, sulfisoxazol, cloranfenicol, clindamicina, espectinomicina, azitromicina, claritromicina, 25 eritromicina, estolato de eritromicina, espiramicina, clortetraciclina,

demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, amikacina, kanamicina, neomicina, estreptomicina, tobramicina, nitrofurantoína, griseofulvina, yoduro de potasio, fluconazol, itraconazol, ketoconazol, miconazol, clotrimazol, anfotericina b, nistatina, niclosamida, nifurtimox, piperazina, praziquantel, 5 pamoato de pirantel, tiabendazol, amodiaquina, cloroquina, hidroxiclороquina, mefloquina, primaquina, pirimetamina, gluconato de quinidina, fansidar, furoato de diloxanida, melarsoprol, nifurtimox, paromomicina, pentamidina, estibogluconate sódico, suramina, metronidazol, foscarnet, 3-desoxitimidin-2-eno, didesoxicitosina, didesoxiinosina, lamivudina, azidotimidina, indinavir, 10 ritonavir, saquinavir, aciclovir, idoxuridina, ribavirina, vidarabina, amantidina, rinantidina, foscarnet, 3-desoxitimidin-2-eno, didesoxicitosina, didesoxiinosina, lamivudina, azidotimidina, indinavir, ritonavir, saquinavir, aciclovir, idoxuridina, ribavirina, vidarabina, amantidina, rinantidina y sales de los mismos.

El agente antibiótico puede estar presente en la composición en 15 cualquier cantidad adecuada y eficaz, con tal de que el agente antibiótico inhiba o destruya eficazmente la bacteria deseada. Las cantidades ejemplares específicas incluyen, por ejemplo, hasta aproximadamente el 10 % en peso de la composición, hasta aproximadamente el 5 % en peso de la composición, o hasta aproximadamente el 1 % en peso de la composición.

#### 20 Agente antiviral

La composición puede incluir opcionalmente además un agente antiviral. Los agentes antivirales específicos adecuados incluyen, por ejemplo, equinácea (*Echinacea angustifolia*, *E. pallida*, *E. purpurea*), saúco (*Sambucus nigra*), ajo (*Allium sativum*), melisa (*Glycyrrhiza glabra*), astrágalo (*Astragalus 25 membranaceus*), eufrasia (*Euphrasia officinalis*), salvia (*Salvia officinalis*),

milenrama (*Achillea millefolium*), ortigas (*Urtica dioica*), menta (*Menthe piperi*), efedra (*Ephedra sinica*), raíz de malvavisco (*Althea officinalis*), hojas o flores de gordolobos (*Verbascum* spp.), hoja de plántago (*Plantago lanceolata*, *P. major*), raíz de regaliz, tomillo (*Thymus vulgaris*), eupatorio  
 5 (*Eupatorium perfoliatum*), matricaria (*Tanacetum parthenium*), hierba gatera (*Nepeta cataria*), milenrama (*Achillea millefolium*), flor de saúco (*Sambucus nigra*, *S. mayadenis*), jengibre (*Zingiber officinale*), *Ginkgo biloba*, hierba de San Juan (*Hypericum perforatum* L.), cinc, lisina, foscarnet, 3-desoxitimidin-2-eno, didesoxicitosina, didesoxiinosina, lamivudina, azidotimidina, indinavir,  
 10 ritonavir, saquinavir, aciclovir, idoxuridina, ribavirina, vidarabina, amantidina, rinantidina, viracea, citoveno, famciclovir, valaciclovir, penciclovir, hexadeciloxipropil-cidofovir (HDP-CDV), nonoxinol-9, docosanol (n-docosanol, 1-docosanol o alcohol behenílico; que es un alcohol de cadena lineal de 22 carbonos saturado), triacontanol y sales de los mismos.

15 El agente antiviral puede estar presente en la composición en cualquier cantidad adecuada y eficaz, con tal de que el agente antiviral inhiba o destruya eficazmente los virus deseados. Las cantidades ejemplares específicas incluyen, por ejemplo, hasta aproximadamente el 10 % en peso de la composición, hasta aproximadamente el 5 % en peso de la composición, o  
 20 hasta aproximadamente el 1 % en peso de la composición.

#### Agente antimicrobiano o conservante

La composición puede incluir opcionalmente además un agente antimicrobiano o conservante. Los agentes antimicrobianos o conservantes específicos adecuados incluyen, por ejemplo, quat-15, un parabeno, alcohol  
 25 diclorobencílico, ácido etilendiaminotetraacético, formaldehído, goma de

benzoína, imidazolidinil urea, acetato fenil-mercúrico, poliaminopropil biguanida, galato de propilo, ácido sórbico, cresol, benzoato de cloroacetamida de sodio, clorometil-metilisotiazolinona, clorometil-metilisotiazolón, cloruro de benzalconio de clorometil-metilisotiazolinona, un compuesto de  
 5 octilisotiazolinona benzimidazol, clorometil-metilisotiazolinona octilisotiazolinona, o-fenilfenol benzisotiazolinona, o-fenilfenol bencisotiazolinona, bencisotiazolinona, una amina alifática de 2-tiopiridinóxido, ácido benzoico, ácido edítico, ácido fenólico, alcohol bencílico, alcohol isopropílico, cloruro de bencenetonio, bronopol, cetrimida, clorhexidina,  
 10 clorobutanol, clorocresol, fenol, fenoxietanol, alcohol fenil etílico, acetato fenilmercúrico, borato fenilmercúrico, nitrato fenilmercúrico, sorbato de potasio, propilenglicol, benzoato de sodio, propionato de sodio, timerosal y sales de los mismos.

El agente antimicrobiano o conservante puede estar presente en la  
 15 composición en cualquier cantidad adecuada y eficaz, con tal de que el agente antimicrobiano o conservante inhiba o destruya eficazmente el microorganismo. Las cantidades ejemplares específicas incluyen, por ejemplo, hasta aproximadamente el 10 % en peso de la composición, hasta aproximadamente el 5 % en peso de la composición, o hasta aproximadamente el 1 % en peso de  
 20 la composición.

#### Protector cutáneo

La composición puede incluir opcionalmente además un protector cutáneo. El protector cutáneo puede actuar como humectante tópico, acondicionador tópico o combinación de los mismos. Los protectores cutáneos  
 25 específicos adecuados incluyen, por ejemplo, aloe, lanolina, glicerina,

calamina, Vitamina E, acetato de Vitamina E, Vitamina C, alantoína, gel de hidróxido de aluminio, subnitrato de bismuto, ácido bórico, calamina, manteca de cacao, dimeticona, caolín, derivado de células de levadura vivas, vaselina, clorhidrato de piridoxina, aceite de hígado de tiburón, bicarbonato sódico, 5 azufre, ácido tánico, almidón tópico, trolamina, vaselina blanca, acetato de cinc, carbonato de cinc, óxido de cinc, sulfato de cinc y manteca de karité.

El protector cutáneo puede estar presente en la composición en cualquier cantidad adecuada y eficaz, con tal de que el protector cutáneo confiera el efecto acondicionador y/o hidratante deseado. Las cantidades 10 ejemplares específicas incluyen, por ejemplo, hasta aproximadamente el 10 % en peso de la composición, hasta aproximadamente el 5 % en peso de la composición, o hasta aproximadamente el 1 % en peso de la composición.

En diversas realizaciones, la composición descrita en el presente documento puede incluir opcionalmente además uno o más de un agente 15 gelificante (por ejemplo, un polímero sintético de ácido acrílico), un antiséptico (por ejemplo, al menos uno de un alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), sustituido con uno o más grupos hidroxilo tal como alcohol etílico, isopropanol, eritritol, etilenglicol, propilenglicol, trietilenglicol, tetraetilenglicol y/o sorbitol), una fragancia, un agente colorante y un aceite esencial.

20 En diversas realizaciones, la composición descrita en el presente documento puede destruir o inhibir eficazmente un microorganismo o patógeno, en la que el microorganismo o patógeno se pone en contacto con una cantidad eficaz de la composición, durante un periodo de tiempo eficaz para destruir o inhibir el microorganismo o patógeno. En realizaciones específicas, el contacto 25 puede suceder en la superficie de una planta o mamífero, o puede suceder en

una superficie residencial, comercial o industrial, tal como una superficie de preparación de alimentos (por ejemplo, una superficie de cocina) o una superficie de almacenamiento de alimentos.

### Planta

- 5            Como se usa en el presente documento, el término "planta" o "tejido vegetal" se refiere al tejido de cualquier organismo del reino vegetal, a diferencia de uno del reino animal o de los reinos de hongos, protistas o moneras. El tejido vegetal puede ser cualquier parte o partes de la planta (por ejemplo, corteza, raíces, hojas, flores, acículas, bulbos, bayas, rizomas,
- 10           patrones de raíz, tallos y semillas), así como la planta completa. Los tejidos de una planta ("tejido vegetal") se incluyen en general en tres categorías principales: tejido dérmico, tejido fundamental y tejido vascular. El tejido dérmico se refiere a la capa de "piel" de todos los órganos vegetales y es responsable de la interacción ambiental (paso de luz, intercambio gaseoso,
- 15           reconocimiento y protección frente a patógenos, exhibición de color, etc.). El tejido dérmico está compuesto por células epidérmicas, células estrechamente empaquetadas que secretan una cutícula cerosa que contribuye a la prevención de pérdidas de agua. El tejido fundamental se encuentra entre el tejido dérmico y el tejido vascular. El tejido fundamental comprende la mayor
- 20           parte del cuerpo vegetal primario. Las células de parénquima, colénquima y esclerénquima son comunes en el tejido fundamental. En las raíces, el tejido fundamental puede almacenar azúcares o almidones para servir de combustible al flujo de savia en primavera; en las hojas, el tejido fundamental es la capa responsable de la fotosíntesis (el mesófilo). El tejido vascular
- 25           transporta alimento, agua, hormonas y minerales dentro de la planta. El tejido

vascular incluye células de xilema, floema, parénquima y cámbium.

Como se usa en el presente documento, la "corteza" se refiere a la cubierta externa seca muerta de ramas leñosas, tallos y raíces de plantas que está muy definida y puede separarse de la propia madera. Incluye todos los tejidos fuera del cámbium (capa de crecimiento entre la corteza y la madera).

Como se usan aquí los términos "hoja" u "hojas" se refieren a aquellas partes de una planta que crecen a los lados de las ramas o tallos o en las bases de plantas. La mayoría son verdes y contienen clorofila, aunque varían en sus formas y tamaños. Las hojas son la parte de la planta que generalmente realiza la fotosíntesis (el proceso que convierte la luz solar y el dióxido de carbono en energía).

Como se usa en el presente documento, el término "acícula" se refiere en general a una hoja rígida estrecha, tal como las de coníferas (por ejemplo, pinos).

Como se usa en el presente documento, el término "raíz" se refiere a la parte de una planta, normalmente subterránea, que absorbe nutrientes y que ancla la planta al suelo.

Como se usa en el presente documento, el término "bulbo" se refiere a un cuerpo esferoidal que crece a partir de una planta por encima o por debajo del suelo (habitualmente por debajo), que habitualmente es una yema, que consiste en un grupo de hojas parcialmente desarrolladas, y que produce, a medida que crece, un tallo por encima y raíces por debajo (por ejemplo, el bulbo de la cebolla o del tulipán). Un bulbo verdadero es un paquete completo que contiene la planta del año siguiente (flor) ya formándose en su interior. El contenido del bulbo está con frecuencia encerrado en escamas carnosas

protectoras que se mantienen unidas por una pequeña placa basal. Las escamas son hojas modificadas que contienen suficientes nutrientes para mantener a la planta durante la latencia y el crecimiento temprano. Pueden estar sueltas y abiertas como las de una azucena, o estrechamente cerradas como las de un jacinto. En muchos bulbos, una túnica muy fina protege las escamas (las azucenas no tienen una túnica). Las raíces crecerán a partir de la placa basal del bulbo.

Como se usa en el presente documento, el término "baya" se refiere a cualquier fruto pequeño que es todo él pulposo o succulento, que tiene semillas libremente embebidas en la pulpa, tal como la grosella, la uva o el arándano azul. La baya puede definirse además como un fruto indehiscente derivado de un solo ovario y que tiene toda la pared carnosa, tal como la uva o el tomate. Además, las bayas vienen en diversas estructuras incluyendo simples, como uvas; arándano azul, arándano rojo, o agregadas, tales como la zarzamora; frambuesa, fresa o mora.

Como se usa en el presente documento, el término "rizoma" se refiere a un tallo habitualmente subterráneo horizontal que con frecuencia emite raíces y vástagos a partir de sus nudos (también denominado cepa de raíz o patrón de raíz).

Como se usa en el presente documento, el término "patrón de raíz" se refiere a una planta robusta que proporciona el sistema radicular en el injerto, también conocido como patrón del injerto. Los esquejes y yemas se injertan y se hacen brotar en un patrón de raíz o patrón de injerto. El patrón de raíz también se refiere a los rizomas alargados y con frecuencia gruesos de ciertas plantas herbáceas perennes tales como el lirio, la aspidistra y el sello de

Salomón.

Como se usa en el presente documento, el término "tallo" se refiere al eje principal (habitualmente aéreo) (a veces denominado tronco o caña) de un árbol, arbusto o planta. El "tallo" también se refiere a la parte de la planta que  
5 sirve de soporte a las hojas, flores o frutos de una planta, tal como el pedúnculo de un fruto o el pedicelo de una flor.

Como se usa en el presente documento, el término "semilla" se refiere a un óvulo maduro, que consiste en un embrión con uno o más integumentos o cubiertas, tal como una semilla de manzana, una semilla de grosella, semilla de  
10 eneldo o semilla de nuez de cola. Mediante la germinación, la mayoría de las semillas producen una nueva planta. El término "semilla" también se refiere a cualquier fruto pequeño de tipo semilla, aunque puede consistir en un pericarpo, o incluso un cáliz, así como la propia semilla, tal como una semilla de pastinaca o semilla de cardo. La propia semilla tiene un recubrimiento  
15 externo e interno, y dentro de estos la pepita o núcleo. la pepita es el embrión solamente, o el embrión encerrado en el albumen, que es el material para la nutrición del embrión en desarrollo. La cicatriz en una semilla dejada donde partía el tallo de la misma, se denomina hilo, y el orificio cerrado del óvulo, el micropilo.

20 En una realización específica, la planta o tejido vegetal incluye un fruto. En una realización más específica, la planta o tejido vegetal incluye una baja verdadera (por ejemplo, grosella negra, grosella roja, grosella espinosa, tomate, berenjena, guayaba, lúcuma, guindilla, granada, kiwi o uva); una pepónide (por ejemplo, calabaza gigante, calabaza, pepino o melón); un  
25 hesperidio (por ejemplo, naranja, limón, lima o pomelo); una falsa baya o

epigino (por ejemplo, plátano, arándano rojo o arándano azul); un fruto agregado (por ejemplo, zarzamora, frambuesa, baya de Boysen o naranjo de Luisiana); un fruto múltiple (por ejemplo, piña, higo o mora); u otro fruto accesorio (por ejemplo, manzana, albaricoque, melocotón, cereza, judía verde, 5 semilla de girasol, fresa o ciruela).

En una realización específica, la planta o tejido vegetal incluye una parte comestible de la planta. El término "hortaliza" se refiere generalmente a las partes comestibles de las plantas. El término "hortaliza" incluye por lo tanto, por ejemplo, champiñones que pertenecen al reino biológico de los hongos, no al 10 reino vegetal; así como nueces, semillas, granos, hierbas, especias y frutos culinarios.

En una realización más específica, la planta o tejido vegetal incluye una hortaliza de hoja y ensalada, una hortaliza de frutos y flores, una hortaliza de vaina, una hortaliza de bulbo y tallo, una hortaliza de raíz y tubérculo o una 15 hortaliza marina. Las hortalizas de hoja y ensalada, hortalizas de frutos y flores, hortalizas de vaina, hortalizas de bulbo y tallo y hortalizas de raíz y tubérculo ejemplares adecuadas se muestran en la Tabla I a continuación.

24  
Tabla I

| Hortalizas de hoja y<br>ensalada              | Hortalizas de frutos y<br>flores                    | Hortalizas de vaina                                           | Hortalizas de bulbo y<br>tallo                   | Hortalizas de raíz y<br>tubérculo                                     |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Amaranto<br>(Amaranthus cruentus)             | Fruta de pan<br>(Artocarpus altilis)                | Maní americano<br>(Apios americana)                           | Espárrago (Asparagus<br>officinalis)             | Ahipa (Pachyrhizus<br>ahipa)                                          |
| Acelgas (Beta<br>vulgaris subsp.<br>vulgaris) | Calabaza común<br>(Cucurbita pepo)                  | Poroto (Vigna<br>angularis)                                   | Cardo (Cynara<br>cardunculus)                    | Arracacha (Arracada<br>xanthorrhiza))                                 |
| Nabo<br>(Brassica rapa subsp.<br>rapa)        | Pepino armenio<br>(Cucumis melo<br>grupo Flexuosus) | Frijol ojo negro (Vigna<br>unguiculata subsp.<br>unguiculata) | Apio nabo (Apium<br>graveolens var.<br>rapaceum) | Vástago de bambú<br>Raíz de acelga (Beta<br>vulgaris subsp. vulgaris) |
| Hoja amarga (Vernonia<br>calvoana)            | Berenjena<br>(Solanum melongena)                    | Garbanzo (Cicer<br>arietinum)                                 | Apio (Apium<br>graveolens)                       | Comino negro (Bunium<br>persicum)                                     |
| Col china (Brassica<br>rapa grupo Chinensis)  | Pimiento morrón<br>(Capsicum annuum)                | Marango (Moringa<br>oleifera)                                 | Puerro silvestre<br>(Allium<br>ampeloprasum var. | Bardana (Arctium)<br>Punta de flecha de hoja<br>ancha (Sagittaria     |
| Col de Bruselas<br>(Brassica oleracea         | Balsamina<br>(Momordica<br>charantia)               | Dólco (Lablab<br>purpureus)                                   | ampeloprasum)<br>Hinojo de Florencia             | latifolia)<br>Camassia (Camassia)                                     |

|                         |                       |                          |                        |                      |
|-------------------------|-----------------------|--------------------------|------------------------|----------------------|
| grupo Gemmifera)        | Caigua (Cyclanthera   | fabá)                    | (Foeniculum vulgare    | Canna (Canna spp.)   |
| Coli repollo (Brassica  | pedata)               | Judía verde              | var. dulce)            | Zanahoria (Daucus    |
| oleracea grupo          | Capuli                | (Phaseolus vulgaris)     | Ajo (Allium            | carota)              |
| Capitata)               | (Physalis peruviana)  | Guar (Cyamopsis          | sativum)               | Mandioca (Manihot    |
| Oreja de gato           | Chile                 | tetragonoloba)           | Colirrábano (Brassica  | esculenta)           |
| (Hypochaeris radicata)  | (Capsicum frutescens) | Gramo de caballo         | oleracea grupo         | Alcachofa tuberosa   |
| Apio lechuga (Lactuca   | Chayote (Sechium      | (Macrotyloma             | Gongylodes)            | (Stachys affinis)    |
| sativa var. asparagina) | edule)                | uniflorum)               | Puerro egipcio (Allium | Rábano japonés       |
| Espinaca china          | Aji                   | Almorta (Lathyrus        | ampeloprasum var.      | (Raphanus sativus    |
| (Basella alba)          | (Capsicum annum       | sativus)                 | kurrat)                | grupo Longipinnatus) |
| Achicoria (Cichorium    | grupo Longum)         | Lenteja (Lens culinaris) | Puerro (Allium porrum) | Almorta tuberosa     |
| intybus)                | Pepino (Cucumis       | Frijol polilla (Vigna    | Raíz de loto (Nelumbo  | (Lathyrus tuberosus) |
| Malva china             | sativus)              | acontifolia)             | nucifera)              | Ñame pie de elefante |
| (Malva verticillata)    | Luffa (Luffa          | Judía Mung (Vigna        | Higuera chumba         | (Amorphophallus      |
| Hojas de crisantemo     | acutangula, Luffa     | radiata)                 | (Opuntia ficus-indica) | paeoniifolius)       |
| (Chrysanthemum          | aegyptiaca)           | Kimbombó                 | Cebolla (Allium cepa)  | Ensete (Ensete       |
| coronarium)             | Cidra cayote          | (Abelmoschus             | Espárrago prusiano     | ventricosum)         |

|                        |                       |                        |                          |                         |
|------------------------|-----------------------|------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Lechuga de campo       | (Cucurbita ficifolia) | esculentus)            | (Ornithogalum            | Jengibre (Zingiber      |
| (Valerianella locusta) | Parwal (Trichosanthes | Guisante (Pisum        | pyrenaicum)              | officinale)             |
| Berro (Lepidium        | dioica)               | sativum)               | Chalote (Allium cepa     | Gobo (Arctium lappa)    |
| sativum) judías verdes | Lycopersicon          | Cacahuete (Arachis     | grupo Aggregatum)        | Perejil de Hamburgo     |
| Diente de león         | esculentum var        | hypogaea)              | Cebollino inglés (Allium | (Petroselinum           |
| (Taraxacum officinale) | Tomate                | Guisante de paloma     | fistulosum)              | crispum var. tuberosum) |
| Endibia (Cichorium     | Pepino perenne        | (Cajanus               | Puerro silvestre (Allium | Alcachofa de Jerusalén  |
| endivia)               | (Coccinia grandis)    | cajan)                 | tricoccum)               | (Helianthus tuberosus)  |
| Epazote                | Calabaza (Cucurbita   | Frijol arroz (Vigna    |                          | Jicama (Pachyrhizus     |
| (Chenopodium           | maxima, Cucurbita     | umbellatta)            |                          | erosus)                 |
| ambrosioides)          | pepo)                 | Arroz (Vigna           |                          | Pastinaca (Pastinaca    |
| Cenizo blanco          | Calabaza Pattypan     | umbellatta)            |                          | sativa)                 |
| (Chenopodium album)    | Calabaza serpiente    | Judía escariata        |                          | Chufra (Conopodium      |
| Brotes de helecho      | (Trichosanthes        | (Phaseolus coccineus)  |                          | majus)                  |
| (Pteridium aquilinum,  | cucumerina)           | Soja (Glycine          |                          | Plectranthus            |
| Athyrium esculentum)   | Calabacín (también    | max)                   |                          | (Plectranthus spp.)     |
| Calabaza costillada    | conocido como         | Tarwi (tarhui, chocho; |                          | Patata (Solanum         |

|                          |                       |                          |                        |
|--------------------------|-----------------------|--------------------------|------------------------|
| (Telfairia occidentalis) | calabacita)           | Lupinus mutabilis)       | tuberosum)             |
| Hierba del cólico        | (Cucurbita pepo)      | Tepari                   | Nabo de pradera        |
| (Inula crithmoides)      | Maíz dulce, también   | (Phaseolus acutifolius)  | (Psoralea esculenta)   |
| Buen Enrique             | conocido como maíz    | Frijol mungo (Vigna      | Rábano (Raphanus       |
| (Chenopodium bonus-      | (Zea mays)            | mungo)                   | sativus)               |
| henricus)                | Pimiento dulce        | Frijol terciopelo        | Rutabaga (Brassica     |
| Jambú (Acmella           | (Capsicum annuum      | (Mucuna pruriens)        | napus                  |
| oleracea)                | grupo Grossum)        | Frijol alado             | grupo Napobrassica)    |
| Brócoli chino (Brassica  | Tinda (Praecitrullus  | (Psophocarpus            | Salsifi (Tragopogon    |
| rapa grupo Alboglabra)   | fistulosus)           | tetragonolobus)          | porrifolius)           |
| Komatsuna (Brassica      | Tomatillo (Physalis   | Frijol grande de América | Escorzonera            |
| rapa grupo Pervidis o    | philadelphica)        | (Vigna unguiculata       | (Scorzonera hispanica) |
| Komatsuna)               | Calabaza blanca       | subsp. sesquipedalis)    | Escaravia (Sium        |
| Kuka (Adansonia spp.)    | (Benincasa hispida)   |                          | sisarum)               |
| Bologi de Lagos          | Pepinillo de la india |                          | Patata dulce (Kumara)  |
| (Talinum fruticosum)     | occidental            |                          | Taro (Colocasia        |
| Berro de tierra          | (Cucumis anguria)     |                          | esculenta)             |

|                        |                        |  |  |                          |
|------------------------|------------------------|--|--|--------------------------|
| (Barbarea verna)       | Calabacín o calabacita |  |  | Ti (Cordyline fruticosa) |
| Cola de lagarto        | (Cucurbita pepo)       |  |  | Chufa (Cyperus           |
| (Houttuynia cordata)   | Alcachofa globo        |  |  | esculentus)              |
| Yute de fruto alargado | (Cynara scolymus)      |  |  | Nabo (Brassica rapa      |
| (Corchorus olitorius,  | Flores de calabaza     |  |  | grupo Rapifera)          |
| Corchorus capsularis)  | (Cucurbita spp.)       |  |  | Ulluco (Ullucus          |
| Mostaza japonesa       | Brócoli (Brassica      |  |  | tuberosus)               |
| (Brassica rapa         | oleracea)              |  |  | Wasabi (Wasabia          |
| grupo Nipposinica)     | Coliflor (Brassica     |  |  | japonica)                |
| Mostaza (Sinapis alba) | oleracea)              |  |  | Cabezas de negrito       |
| Napa/Col china         |                        |  |  | (Eleocharis dulcis)      |
| (Brassica rapa         |                        |  |  | Yacón (Smallanthus       |
| grupo Pekinensis)      |                        |  |  | sonchifolius)            |
| Espinaca de Nueva      |                        |  |  | Ñame (Dioscorea spp.)    |
| Zelanda (Tetragonia    |                        |  |  |                          |
| tetragonoides)         |                        |  |  |                          |
| Armuelle (Atriplex     |                        |  |  |                          |

|                      |  |  |  |  |
|----------------------|--|--|--|--|
| hortensis)           |  |  |  |  |
| Brotes/hojas de      |  |  |  |  |
| guisante             |  |  |  |  |
| (Pisum sativum)      |  |  |  |  |
| Ombú (Phytolacca     |  |  |  |  |
| americana)           |  |  |  |  |
| Achicoria roja       |  |  |  |  |
| (Cichorium intybus)  |  |  |  |  |
| Rúcula oruga (Eruca  |  |  |  |  |
| sativa)              |  |  |  |  |
| Hinojo marino        |  |  |  |  |
| (Crithmum maritimum) |  |  |  |  |
| Remolacha (Beta      |  |  |  |  |
| vulgaris             |  |  |  |  |
| subsp. maritima)     |  |  |  |  |
| Col marítima (Crambe |  |  |  |  |
| maritima)            |  |  |  |  |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |  |  |  |  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--|--|--|
| Bologi de Sierra Leona<br>(Crassocephalum spp.)<br>Mirabel (Celosia<br>argentea)<br>Acedera (Rumex<br>acetosa)<br>Verdolaga de verano<br>(Portulaca oleracea)<br>Acelga suiza (Beta<br>vulgaris subsp. cicla<br>var. flavesceus)<br>Tatsoi (Brassica rapa<br>grupo Rosularis)<br>Hojas de nabo<br>(Brassica rapa grupo<br>Rapífera)<br>Berro de agua |  |  |  |  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--|--|--|

|                         |  |  |  |  |
|-------------------------|--|--|--|--|
| (Nasturtium officinale) |  |  |  |  |
| Espinaca de agua        |  |  |  |  |
| (Ipomoea aquatica)      |  |  |  |  |
| Verdolaga de invierno   |  |  |  |  |
| (Claytonia perfoliata)  |  |  |  |  |
| Colza (Brassica napus)  |  |  |  |  |

41

### Procedimiento para preparar la composición

La composición descrita en el presente documento puede prepararse por cualquiera de las técnicas aplicables de formulaciones químicas. Muchas de tales técnicas se conocen bien en la materia. Por ejemplo, cada una de las

5 sustancias de la composición puede ponerse en contacto con otra y posteriormente mezclarse, removerse, sacudirse o agitarse de otro modo, para conseguir una mezcla relativamente homogénea. Véase, por ejemplo, el Ejemplo 1, en el presente documento.

### Utilidad

10 La composición descrita en el presente documento puede utilizarse, por ejemplo, como un higienizante residencial, higienizante comercial y/o higienizante industrial. Específicamente, la composición descrita en el presente documento puede utilizarse para limpieza antiséptica de una superficie de equipamiento usado en la industria alimentaria. Adicionalmente, la composición

15 descrita en el presente documento puede utilizarse, por ejemplo, para limpieza antiséptica de una superficie tópica de un ser humano u otro animal. Específicamente, la composición descrita en el presente documento puede utilizarse para un higienizante de manos.

La composición descrita en el presente documento puede aplicarse de

20 cualquier manera adecuada y eficaz. Específicamente, la composición puede formularse para aplicación a la superficie pretendida por contacto, baño, pulverización y/o revestimiento de la composición en la superficie pretendida.

La materia objeto desvelada en el presente documento proporciona un procedimiento para destruir o inhibir un microorganismo o patógeno. Como se

25 usa en el presente documento, "destruir" bacterias se refiere a bacterias que se

han inhibido o inactivado (ya no son patogénicas), o matado, así como retiradas de la superficie de interés (debido a, por ejemplo, lavado con una composición desvelada en el presente documento) y de este modo da como resultado un conteo bacteriano reducido. El procedimiento incluye poner en

5 contacto el microorganismo o patógeno con una cantidad eficaz de la composición descrita en el presente documento, durante un período de tiempo eficaz para destruir o inhibir el microorganismo o patógeno.

La puesta en contacto del microorganismo o patógeno con la cantidad eficaz de la composición puede ser *in vitro* o *in vivo*. Adicionalmente, la puesta

10 en contacto puede producirse en la superficie de la planta (por ejemplo, parte de una planta) o mamífero (por ejemplo, superficie tópica de un ser humano).

El microorganismo o patógeno puede ser una bacteria, bacterias Gram-negativas (incluyendo, pero sin limitación, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Hemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella*

15 *pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhi*), bacterias Gram-positivas (incluyendo, pero sin limitación, *Bacillus*, *Listeria*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Clostridium*), bacterias entéricas (incluyendo, pero sin limitación, bacterias de los géneros

20 *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bifidobacterium*, *Escherichia* y *Lactobacillus*), virus (por ejemplo, virus de ARN (por ejemplo, Reovirus, Picornavirus, Togavirus, Orthomyxovirus o Rhabdovirus), virus de ADN (por ejemplo, Adenovirus, Herpesvirus, Poxvirus o Parvovirus), o virus de

25 transcripción inversa (por ejemplo, Retrovirus o Hepadnavirus)), hongos

(incluyendo, pero sin limitación, hongos de tizón del arroz (por ejemplo, *Magnaporthe oryzae*), patógenos de árboles (tales como *Ophiostoma ulmi*, *Ophiostoma novo-ulmi* y *Cryphonectria parasitica*) y patógenos de plantas (por ejemplo, en los géneros *Fusarium*, *Ustilago*, *Alternaria* y *Cochliobolus*), así como hongos (por ejemplo, *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Histoplasma*, *Pneumocystis* y hongos dermatofíticos y queratinofílicos) que pueden provocar enfermedades en seres humanos, incluyendo, pero sin limitación, aspergilosis, candidiasis, coccidioidomicosis, criptococosis, histoplasmosis, micetomas, paracoccidioidomicosis, tiña y pie de atleta), moho (incluyendo, pero sin limitación, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Stachybotrys* o *Trichoderma*), mildiú (por ejemplo, moho u hongo, incluyendo especies de hongos que pertenecen al orden *Erysiphales*, mildiú algodonoso (por ejemplo, causado por organismos de tipo hongo de la familia *Peronosporaceae* (Oomycota)) o mildiú pulverulento (por ejemplo, el término dado al mildiú por los horticultores y jardineros).

El período de tiempo eficaz para destruir o inhibir el microorganismo o patógeno puede ser menos de aproximadamente 10 segundos. Como alternativa, el periodo de tiempo eficaz para destruir o inhibir al microorganismo o patógeno puede ser menos de aproximadamente 10 minutos, menos de 5 minutos o menos de un minuto.

El microorganismo o patógeno puede seleccionarse de *Acinetobacter* (*Acinetobacter baumannii*), *Aeromonas* (*Aeromonas hydrophila*), *Aspergillus* (*Aspergillus flavus*), *Bacillus* (*Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*), *Campylobacter* (*Campylobacter jejuni*), *Candida* (*Candida albicans*), *Clostridium* (*Clostridium difficile*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*

(conocido anteriormente como *Clostridium welchii*)), *Coronavirus* (*coronavirus humano 229E* (HCoV- 229E), *coronavirus humano NL63*, *coronavirus humano OC43* (HCoV-OC43)), *Corynebacterium* (*Corynebacterium diphtheriae*), *Enterobacter* (*Enterobacter aerogenes*), *Enterococcus* (*Enterococcus faecium*;  
5 *Enterococcus faecium* (resistente a multifármacos incluyendo vancomicina), *Enterococcus faecalis* (resistente a vancomicina, estreptomicina y gentamicina), *Escherichia* (*Escherichia coli*, *Escherichia coli* (productora de ESBL, resistente a multifármaco, derivada de aislado clínico, *Klebsiella pneumoniae* ATCC nº 14714), *Escherichia coli* (0157:H7)); *Influenzavirus A*,  
10 *Influenzavirus B*, *Influenzavirus C*, *Klebsiella* (*Klebsiella pneumoniae*), *Listeria* (*Listeria monocytogenes*), *Listeria* (*Listeria monocytogenes*), *Plesiomonas* (*Plesiomonas shigelloides*), *Proteus* (*Proteus mirabilis*, *Proteus hauseria* (*vulgaris*)), *Pseudomonas* (*Pseudomonas aeruginosa*), *Rhinovirus* (*rinovirus humano A*, *rinovirus humano B*), *Rotavirus* (*Rotavirus A*, *B* o *C*), *Rhizopus*  
15 (*Rhizopus stolonifer* (moho negro del pan)), *Salmonella* (*Salmonella choleraesuis* serotipo *typhimurium*), *Serratia* (*Serratia marcescens*), *Shigella* (*Shigella sonnei*), *Virus simple* (*virus del herpes simple 1 y 2* (VHS-1 y VHS-2)), *Staphylococcus* (*Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus aureus* (MRSA, tolerante a vancomicina), *Staphylococcus epidermidis*), *Streptococcus*  
20 (*Streptococcus pneumoniae* o *pneumococcus*, *Streptococcus pyogenes*), *Trichophyton* (*Trichophyton mentagrophytes*), *Yersinia* (*Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*) y *Vibrio* (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* (*Kommabacillus*), *Vibrio vulnificus*).

El microorganismo o patógeno puede seleccionarse del grupo de  
25 *Alternaria* (*Alternaria arborescens*, *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici*,

*Alternaria alternata*, *Alternaria solani*, *Leveillula taurica*, *Oidiopsis sicula*,  
*Botryotinia* (*Botryotinia fuckeliana*), *Athelia* (*Athelia rolfsii*), *Botrytis* (*Botrytis*  
*cinerea*), *Ceratocystis* (*Ceratocystis fimbriata*), *Cercospora* (*Cercospora*  
*fuligena*), *Chalara* (*Chalara elegans*), *Clavibacter* (*Clavibacter michiganensis* o  
5 *michiganensis*), *Colletotrichum* (*Colletotrichum coccodes*, *Colletotrichum*  
*dematium*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Glomerella cingulata*), *Corynespora*  
(*Corynespora cassiicola*), *Didymella* (*Didymella lycopersici*), *Erwinia* (*Erwinia*  
*carotovora*), *Fusarium* (*Fusarium oxysporum*f.sp. *radicis-lycopersici*, *Fusarium*  
*oxysporum*f.sp. *ly coper sic*), *Geotrichum* (*Geotrichum candidum*, *Geotrichum*  
10 *klebahnii*, *G. candidum* var. *citri-aurantii*, *Galactomyces geotrichum*),  
*Mycovellosiella* (*Fulvia fulva*, *Cladosporium fulvum*), *Geotrichum* (*Geotrichum*  
*candidum*), *Macrophomina* (*Macrophomina phaseolina*), *Phoma* (*Phoma*  
*destructiva*), *Phytophthora* (*Phytophthora capsici*, *Phytophthora drechsleri*,  
*Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*, *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora*  
15 *infestans*), *Pleospora* (*Pleospora tarda*, *Pleospora herbarum*, *Pleospora*  
*lycopersici*), *Pseudocercospora* (*Pseudocercospora fuligen*), *Pseudomonas*  
(*Pseudomonas syringae* pv., *Pseudomonas corrugata*, *Pseudomonas syringae*  
pv. *Syringae*), *Pyrenochaeta* (*Pyrenochaeta lycopersici*), *Pythium* (*Pythium*  
*aphanidermatum*, *Pythium arrhenomanes*, *Pythium debaryanum*, *Pythium*  
20 *myriotylum*, *Pythium ultimum*), *Ralstonia* (*Ralstonia solanacearum*), *Rhizoctonia*  
(*Rhizoctonia solani* y *Thanatephorus cucumeris*), *Rhizopus* (*Rhizopus*  
*stolonifer*), *Sclerotinia* (*Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotinia minor*), *Sclerotium*  
(*Sclerotium rolfsii*), *Septoria* (*Septoria lycopersici*), *Stemphylium* (*Stemphylium*  
*botryosum*, *Stemphylium lycopersici*, *Stemphylium herbarum*, *Stemphylium*  
25 *consortiale*, *Stemphylium botryosum* fsp. *lycopersici*, *Stemphylium floridanum*,

*Stemphylium solani*), *Thielaviopsis* (*Thielaviopsis basicola*), *Ulocladium* (*Ulocladium consortiale*), *Verticillium* (*Verticillium albo-atrum*, *Verticillium dahliae*), o *Xanthomonas* (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*).

El mamífero puede estar aquejado, o en riesgo de ello, de una  
5 enfermedad bacteriana, enfermedad viral, enfermedad fúngica o síntoma asociado con las mismas.

Específicamente, el mamífero puede estar aquejado, o en riesgo de ello, de al menos una enfermedad o síntoma seleccionado de calambres abdominales, dolor abdominal, abscesos (abscesos cerebrales y hepáticos o  
10 esplénicos), aspergilosis de los pulmones, bacteremia, distensión, septicemia, granos, botulismo, bronquitis, bronquiolitis, carbuncos, bacteremia asociada con catéter, foliculitis celulítica, cólera, enteritis necrotizante clostridial, conjuntivitis, estreñimiento, úlcera corneal, tos, dermatitis (dermatitis ampollar), diarrea (por ejemplo, diarrea asociada con antibióticos (AAD)), problemas  
15 digestivos, difteria, encefalitis, colecistitis enfisematosa, endocarditis, endoftalmitis, enteritis, entero-colitis, ectima gangrenoso, eritema nodoso, fiebre, intoxicación alimentaria, síndrome del arroz frito, forúnculos, gangrena, gastroenteritis (por ejemplo, gastroenteritis por rotavirus), síndrome hemolítico-urémico (HUS), cefalea, ileitis, impétigo, infarto, infección (de los pulmones  
20 (infecciones en el tracto respiratorio, infección de células epiteliales de las vías respiratorias, infecciones del tracto respiratorio inferior), infecciones corneales, otomicóticas y nasoorbitales, infecciones orales y genitales, infecciones del tracto unitario, infecciones de heridas, infección por estafilococos, infección de herida quirúrgica, infecciones de heridas, infecciones en piel y otros tejidos,  
25 infecciones de vejiga, próstata, conducto lacrimal, infecciones del epidídimo, e

infecciones intrauterinas o cervicales), inflamación, gripe, queratitis, piedras en el riñón, laringitis, listeriosis, linfadenopatía, malestar, meningitis (meningitis bacteriana, meningitis neonatal), meningoencefalitis, mastitis, adenitis mesentérica, dolores musculares, mionecrosis, náuseas, herpes oral,

5 osteomielitis (osteomielitis endocarditis), otitis (por ejemplo, otitis media), conjuntivitis, fiebre paratifoidea, pericarditis, peritonitis, necrosis de la placa de Peyer, faringitis (faringitis estreptocócica), espinillas, colitis pseudo membranosa, neumonía (por ejemplo, neumonía Gram negativa), ojos rojos, rinitis, rinorrea, salmonelosis de nariz mucosa o bloqueada, sepsis, artritis

10 séptica, septicemia, síndrome de la piel escaldada, shigelosis, sinusitis, estornudos, dolor de garganta, necrosis tisular, síndrome de choque tóxico (TSS), fiebre tifoidea, vómitos e infecciones de levadura.

La planta puede estar aquejada, o en riesgo de ello, de una enfermedad bacteriana, una enfermedad fúngica o un síntoma asociado con las mismas.

15 Específicamente, la planta puede estar aquejada, o en riesgo de ello, de al menos una enfermedad o síntoma seleccionado del grupo de cancro bacteriano, motas bacterianas, manchas bacterianas, podredumbre caulinar y podredumbre de la fruta bacterianas, marchitamiento bacteriano, necrosis de la médula, mancha foliar por *Syringae*, cancro del tallo por *Alternaria*, Antracnosis,

20 podredumbre por moho negro, podredumbre de raíz negra, lomo negro, podredumbre de la raíz y la fruta por *Phytophthora*, moho de la hoja *Cercospora*, tizón, traqueomicosis, podredumbre del tallo por *Didymella*, roya temprana, podredumbre de raíz y corona por *Fusarium*, marchitamiento por *Fusarium*, mancha foliar gris, moho gris, roya tardía, moho de la hoja,

25 podredumbre por *Pythium*, mildiú pulverulento, corrido de la flor y podredumbre

de la fruta por *Rhizoctonia*, podredumbre por *Rhizopus*, mancha foliar por *Septoria*, podredumbre ácida, roya del sur, mancha en diana, marchitamiento por *Verticillium* y moho blanco.

La materia objeto desvelada en el presente documento también  
5 proporciona un procedimiento para lavar una planta. El procedimiento incluye poner en contacto la planta con una cantidad eficaz de la composición descrita en el presente documento, durante un periodo de tiempo eficaz para lavar la planta.

Puede lavarse una parte comestible de la planta. Adicionalmente, la  
10 planta puede lavarse antes de su recolección. Como alternativa, la planta puede lavarse después de su recolección.

El periodo de tiempo eficaz para lavar la planta puede ser menos de aproximadamente 10 segundos. Como alternativa, el periodo de tiempo eficaz para lavar la planta puede ser menos de aproximadamente 10 minutos, menos  
15 de 5 minutos o menos de un minuto.

La materia objeto desvelada en el presente documento también proporciona un procedimiento para lavar una superficie de equipamiento usada en la industria alimentaria. El procedimiento incluye poner en contacto la superficie con una cantidad eficaz de la composición descrita en el presente  
20 documento, durante un periodo de tiempo eficaz para lavar la superficie.

La materia objeto desvelada en el presente documento también proporciona un procedimiento para desinfectar una superficie de equipamiento usado en la industria alimentaria. El procedimiento incluye poner en contacto la superficie con una cantidad eficaz de la composición descrita en el presente  
25 documento, durante un periodo de tiempo eficaz para desinfectar la superficie.

El equipamiento usado en la industria alimentaria puede incluir un material de envasado, una instalación de envasado, un dispositivo de refrigeración, un dispositivo de almacenamiento, el interior de un vehículo de transporte, una cinta o transportador usado para transportar frutas o verduras, un recipiente o vagón usado para transportar productos, un cubo o balde usado para recolectar frutas o verduras, una mordaza de plástico, un cesta de pinta o un cuchillo o dispositivo de corte usado en la recolección de frutas o verduras. En una realización específica, la superficie de preparación de alimentos (por ejemplo, una superficie de cocina) o la superficie de almacenamiento de alimentos puede incluir al menos uno de un refrigerador, un congelador, un horno, una estufa, una encimera, una tabla de cortar, un horno microondas, un fregadero, una cocina, una parrilla, un fogón, una campana, una olla, una cazuela, una sartén, una fuente de horno, un tazón y un utensilio de cocina.

La materia objeto desvelada en el presente documento también proporciona un procedimiento para limpiar una superficie de preparación de alimentos (por ejemplo, una superficie de cocina) o una superficie de almacenamiento de alimentos. El procedimiento incluye poner en contacto la superficie con una cantidad eficaz de la composición descrita en el presente documento, durante un periodo de tiempo eficaz para limpiar la superficie.

La materia objeto desvelada en el presente documento también proporciona un procedimiento para desinfectar una superficie de preparación de alimentos (por ejemplo, una superficie de cocina) o una superficie de almacenamiento de alimentos. El procedimiento incluye poner en contacto la superficie con una cantidad eficaz de la composición descrita en el presente documento, durante un periodo de tiempo eficaz para desinfectar la superficie.

La superficie de preparación de alimentos (por ejemplo, una superficie de cocina) o la superficie de almacenamiento de alimentos puede estar presente en una vivienda residencial, por ejemplo, en una cocina de una vivienda personal. Como alternativa, la superficie de preparación de alimentos  
5 (por ejemplo, una superficie de cocina) o la superficie de almacenamiento de alimentos puede estar presente en un edificio comercial, por ejemplo, en una cocina de un restaurante.

La materia objeto desvelada en el presente documento también proporciona un procedimiento para lavar una superficie presente en un hospital,  
10 clínica de salud o residencia de ancianos. El procedimiento incluye poner en contacto la superficie con una cantidad eficaz de la composición descrita en el presente documento, durante un periodo de tiempo eficaz para lavar la superficie.

La materia objeto desvelada en el presente documento también  
15 proporciona un procedimiento para desinfectar una superficie presente en un hospital, clínica de salud o residencia de ancianos. El procedimiento incluye poner en contacto la superficie con una cantidad eficaz de la composición descrita en el presente documento, durante un periodo de tiempo eficaz para desinfectar la superficie.

20 Los procedimientos descritos en el presente documento pueden incluir adicionalmente el uso de un desinfectante, en combinación con la composición descrita en el presente documento. En una situación tal, el uso del desinfectante puede ser simultáneo con el uso de la composición descrita en el presente documento o puede ser secuencial con el uso de la composición  
25 descrita en el presente documento.

Las composiciones descritas en el presente documento pueden usarse en combinación con otras sustancias para sus usos pretendidos descritos en el presente documento. Por ejemplo, cuando se usan para destruir o inhibir un microorganismo o un patógeno, las composiciones descritas en el presente documento pueden usarse en combinación con otras sustancias que se sabe que matan o inhiben un microorganismo o un patógeno. Cuando se usan para lavar una planta, las composiciones descritas en el presente documento pueden usarse en combinación con otras sustancias que se sabe que lavan plantas. Cuando se usan para lavar una superficie de equipamiento usada en la industria alimentaria o una superficie en una instalación de envasado de alimentos, las composiciones descritas en el presente documento pueden usarse en combinación con otras sustancias que se sabe que lavan una superficie de equipamiento usada en la industria alimentaria o una superficie en una instalación de envasado de alimentos. Adicionalmente, cuando se usan para limpiar o desinfectar una superficie de preparación de alimentos (por ejemplo, una superficie de cocina) o una superficie de almacenamiento de alimentos, las composiciones descritas en el presente documento pueden usarse en combinación con otras sustancias que se sabe que limpian o desinfectan una superficie de preparación de alimentos (por ejemplo, una superficie de cocina) o una superficie de almacenamiento de alimentos. En cada una de las situaciones anteriores, las composiciones descritas en el presente documento pueden usarse independientemente a la vez (es decir, simultáneamente), que la otra sustancia o sustancias o pueden usarse secuencialmente con la otra sustancia o sustancias.

Las composiciones descritas en el presente documento pueden tener

actividad biológica adecuada contra uno cualquiera o más de los organismos y/o enfermedades descritos en la Tabla II a continuación.

Tabla II

| Organismos           |                                | Enfermedades (ejemplos)                                                                                                                                         |
|----------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Género               | Especie                        |                                                                                                                                                                 |
| <i>Acinetobacter</i> |                                |                                                                                                                                                                 |
|                      | <i>Acinetobacter baumannii</i> | Neumonía, meningitis, septicemia, infecciones del tracto urinario y respiratorio.                                                                               |
| <i>Aeromonas</i>     |                                |                                                                                                                                                                 |
|                      | <i>Aeromonas hydrophila</i>    | Diarrea humana, celulitis, mionecrosis y ectima gangrenosa.                                                                                                     |
| <i>Aspergillus</i>   |                                |                                                                                                                                                                 |
|                      | <i>Aspergillus flavus</i>      | Infarto.                                                                                                                                                        |
| <i>Bacillus</i>      |                                |                                                                                                                                                                 |
|                      | <i>Bacillus megaterium</i>     | <i>Bacillus megaterium</i> se considera no patogénico, pero formando endosporas puede contaminar casi cualquier cosa que no se mantenga en un ambiente estéril. |
|                      | <i>Bacillus cereus</i>         | Enfermedad portata por alimentos, Síndrome del Arroz Frito, síndrome diarreico y de vómitos eméticos.                                                           |
| <i>Campylobacter</i> |                                |                                                                                                                                                                 |

54

| Organismos         |                              | Enfermedades (ejemplos)                                                                                                    |
|--------------------|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Género             | Especie                      |                                                                                                                            |
|                    | <i>Campylobacter jejuni</i>  | Intoxicación alimentaria, enteritis, dolor abdominal, diarrea, fiebre y malestar.                                          |
| <i>Candida</i>     |                              |                                                                                                                            |
|                    | <i>Candida albicans</i>      | Infecciones por levadura.                                                                                                  |
| <i>Clostridium</i> |                              |                                                                                                                            |
|                    | <i>Clostridium difficile</i> | Diarrea asociada con antibióticos AAD, colitis pseudo membranosa, distensión, estreñimiento y diarrea con dolor abdominal. |
|                    | <i>Clostridium botulinum</i> | botulismo humano                                                                                                           |

| Organismos      |                                                                                                    | Enfermedades (ejemplos)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Género          | Especie                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|                 | <i>Clostridium perfringens</i><br><i>conocida anteriormente</i><br><i>como Clostridium welchii</i> | Necrosis tisular, bacteremia, colecistitis enfisematosa y gangrena gaseosa, que también se conoce como mionecrosis clostridial. Las manifestaciones típicamente incluyen calambres abdominales y diarrea, los vómitos y la fiebre son poco habituales. Se sabe que casos fatales muy pocos habituales de enteritis necrotizante clostridial implican cepas "Tipo C" del organismo, que producen una toxina $\beta$ potentemente ulcerosa. |
| Coronavirus     |                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|                 | <i>Coronavirus humano 229E</i><br><i>HCoV- 229E</i>                                                | Infección de las células epiteliales de las vías respiratorias                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|                 | <i>Coronavirus humano NL63</i>                                                                     | Bronqueolitis                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|                 | <i>Coronavirus humano OC43</i><br><i>HCoV- OC43</i>                                                | Fiebre, tos, dolor de garganta, problemas digestivos, rinitis, rinorrea, faringitis, laringitis, otitis, bronquitis, bronqueolitis y neumonía. Infecciones del tracto respiratorio inferior.                                                                                                                                                                                                                                              |
| Corynebacterium |                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

| Organismos          |                                                                                                   | Enfermedades (ejemplos)                                                                                                                             |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Género              | Especie                                                                                           |                                                                                                                                                     |
|                     | <i>Corynebacterium diphtheriae</i>                                                                | Difteria                                                                                                                                            |
| <i>Enterobacter</i> |                                                                                                   |                                                                                                                                                     |
|                     | <i>Enterobacter aerogenes</i>                                                                     | <i>E. aerogenes</i> es una bacteria nosocomial y patogénica que provoca infecciones oportunistas en piel y otros tejidos.                           |
| <i>Enterococcus</i> |                                                                                                   |                                                                                                                                                     |
|                     | <i>Enterococcus faecium</i>                                                                       | <i>E. faecium</i> es un patógeno que provoca bacteremia nosocomial, infección de herida quirúrgica, endocarditis e infecciones del tracto urinario. |
|                     | <i>Enterococcus faecium</i><br><i>resistente a multifármacos</i><br><i>incluyendo Vancomicina</i> | <i>E. faecium</i> es un patógeno que provoca bacteremia nosocomial, infección de herida quirúrgica, endocarditis e infecciones del tracto urinario. |

| Organismos              |                                                                                                                                                                         | Enfermedades (ejemplos)                                                                                                                                                                                                                            |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Género                  | Especie                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                    |
|                         | <i>Enterococcus faecalis</i><br><i>resistente a Vancomicina</i><br><i>Estreptomicina y</i><br><i>Gentamicina</i>                                                        | <i>E. faecalis</i> puede provocar endocarditis, así como infecciones de vejiga, próstata y epidídimo.                                                                                                                                              |
| <i>Escherichia coli</i> |                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                    |
|                         | <i>Escherichia coli</i> Productora<br>de ESBL, resistente a<br>multifármacos derivada del<br>aislado clínico de <i>Klebsiella</i><br><i>pneumoniae</i> ATCC nº<br>14714 | Gastroenteritis, infecciones del tracto urinario y meningitis neonatal. En casos menos habituales, las cepas virulentas también son responsables de síndrome hemolítico-urémico (HUS), peritonitis, mastitis, septicemia y neumonía Gram-negativa. |

| Organismos            |                                  | Enfermedades (ejemplos)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Género                | Especie                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|                       | <i>Escherichia coli</i> 0157:H7; | <i>Enfermedad gastrointestinal</i><br><br>La infección por <i>E. coli</i> 0157:H7 con frecuencia provoca diarrea con sangre grave aguda, aunque también es posible diarrea sin sangre y calambres abdominales. Habitualmente está presente poca o ninguna fiebre y la enfermedad se resuelve en 5 a 10 días. También puede ser asintomática. |
| <i>Influenzavirus</i> |                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|                       | <i>Influenzavirus A</i>          | Gripe: los síntomas habituales de la enfermedad son escalofríos y fiebre, faringitis, dolores musculares, cefalea grave, tos, debilidad y malestar general.                                                                                                                                                                                  |
|                       | <i>Influenzavirus B</i>          | Gripe: los síntomas habituales de la enfermedad son escalofríos y fiebre, faringitis, dolores musculares, cefalea grave, tos, debilidad y malestar general.                                                                                                                                                                                  |

| Organismos         |                               | Enfermedades (ejemplos)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------------|-------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Género             | Especie                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|                    | <i>Influenzavirus C</i>       | Gripe: los síntomas habituales de la enfermedad son escalofríos y fiebre, faringitis, dolores musculares, cefalea grave, tos, debilidad y malestar general.                                                                                                                                                                                  |
| <i>Klebsiella</i>  |                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|                    | <i>Klebsiella pneumoniae</i>  | <i>K pneumoniae</i> puede provocar neumonía bacteriana.                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <i>Listeria</i>    |                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|                    | <i>Listeria monocytogenes</i> | <i>L. monocytogenes</i> provoca la enfermedad de listeriosis. Las manifestaciones de listeriosis incluyen septicemia, meningitis o meningoencefalitis, encefalitis, úlcera corneal, neumonía e infecciones intrauterinas o cervicales en mujeres embarazadas, que pueden dar como resultado aborto espontáneo de 2º/3º trimestre o mortinato |
| <i>Plesiomonas</i> |                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

| Organismos         |                                  | Enfermedades (ejemplos)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|--------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Género             | Especie                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                    | <i>Plesiomonas shigelloides</i>  | La gastroenteritis es la enfermedad en la que se ha implicado <i>P. shigelloides</i> . La gastroenteritis por <i>P. shigelloides</i> es habitualmente una enfermedad autolimitante leve con fiebre, escalofríos, dolor abdominal, náuseas, diarrea o vómitos.                                                                                                                                                           |
| <i>Proteus</i>     |                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                    | <i>Proteus mirabilis</i>         | Esta bacteria en forma de bastón tiene la capacidad de producir altos niveles de ureasa. La ureasa hidroliza urea a amoníaco NH <sub>3</sub> y de este modo hace a la orina más alcalina. Si se deja sin tratar, la alcalinidad aumentada puede conducir a la formación de cristales de estruvita, carbonato cálcico y/o apatita. <i>Proteus</i> también puede provocar infecciones de heridas, septicemia y neumonías. |
|                    | <i>Proteus hauseria vulgaris</i> | Se sabe que provoca infecciones del tracto urinario e infecciones de heridas.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <i>Pseudomonas</i> |                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                    | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>    | Inflamación y sepsis. Dermatitis                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

| Organismos        |                           | Enfermedades (ejemplos)                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-------------------|---------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Género            | Especie                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <i>Rhinovirus</i> |                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|                   | <i>Rinovirus humano A</i> | Nariz mucosa o bloqueada, estornudos, dolor de garganta, tos seca, ojos rojos y una sensación general de cansancio.                                                                                                                                                                                        |
|                   | <i>Rinovirus humano B</i> | Nariz mucosa o bloqueada, estornudos, dolor de garganta, tos seca, ojos rojos y una sensación general de cansancio.                                                                                                                                                                                        |
|                   | <i>Rinovirus humano C</i> | Resuello febril y exacerbaciones asmáticas.                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <i>Rotavirus</i>  |                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|                   | <i>Rotavirus A</i>        | Pueden producirse infecciones por Rotavirus A durante toda la vida: la primera habitualmente produce síntomas, pero las infecciones posteriores son típicamente asintomáticas, la gastroenteritis por Rotavirus es una enfermedad de leve a grave caracterizada por vómitos, diarrea acuosa y fiebre baja. |
|                   | <i>B</i>                  | diarrea del adulto                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                   | <i>C</i>                  | El Rotavirus C se ha asociado con casos esporádicos y poco habituales de diarrea.                                                                                                                                                                                                                          |

| Organismos        |                                                               | Enfermedades (ejemplos) |
|-------------------|---------------------------------------------------------------|-------------------------|
| Género            | Especie                                                       |                         |
|                   | <i>D</i>                                                      |                         |
|                   | <i>E</i>                                                      |                         |
|                   | <i>o F</i>                                                    |                         |
| <i>Rhizopus</i>   |                                                               |                         |
|                   | <i>Moho del pan negro</i><br><i>Rhizopus stolonifer</i>       |                         |
| <i>Salmonella</i> |                                                               |                         |
|                   | <i>Salmonella choleraesuis</i><br><i>serotipo typhimurium</i> | Septicemia              |
| <i>Serratia</i>   |                                                               |                         |

| Organismos      |                            | Enfermedades (ejemplos)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Género          | Especie                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|                 | <i>Serratia marcescens</i> | <p><i>S. marcescens</i> está implicado en infecciones nosocomiales, particularmente bacteremia asociada con catéter, infecciones del tracto urinario e infecciones de heridas y es responsable del 1,4 % de casos de bacteremias nosocomiales en los Estados Unidos. Se halla habitualmente en los tractos respiratorio y urinario de adultos hospitalizados y en el sistema gastrointestinal de niños.</p> <p><i>Marcescens</i> puede provocar infección en varios sitios, incluyendo el tracto urinario, tracto respiratorio, heridas y el ojo, en el que puede provocar conjuntivitis, queratitis, endoftalmitis, e infecciones de los conductos lacrimales. También es una causa poco habitual de endocarditis y osteomielitis, particularmente en los que usan drogas recreativas intravenosas, neumonía y meningitis.</p> |
| <i>Shigella</i> |                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

| Organismos          |                                                   | Enfermedades (ejemplos)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|---------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Género              | Especie                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|                     | <i>Shigella sonnei</i>                            | Shigellosis.<br><br>Enfermedades disentéricas. El síntoma más habitual es heces con sangre y diarrea de leve a grave. Otros síntomas en algunas personas son fiebre de leve a alta, malestar y tenesmo.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <i>Simplexvirus</i> |                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|                     | <i>Virus del herpes simple 1 y2 VHS-1 y VHS-2</i> | <i>Herpes oral</i> , los síntomas visibles del cual se denominan coloquialmente úlceras, infecta la cara y boca. El herpes oral es la forma más habitual de infección. La infección de los genitales, habitualmente conocida como herpes, es la segunda forma más habitual de herpes. Otros trastornos tales como panadizo herpético, herpes gladiatorum, queratitis de herpes ocular, encefalitis por infección de herpes cerebral, meningitis de Mollaret, herpes neonatal y posiblemente parálisis de Bell están todas provocadas por virus del herpes simple. |

65.

| Organismos            |                                      | Enfermedades (ejemplos)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-----------------------|--------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Género                | Especie                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <i>Staphylococcus</i> |                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|                       | <i>Staphylococcus aureus</i><br>MRSA | <i>S. aureus</i> puede provocar una serie de enfermedades desde infecciones cutáneas menores, tales como espinillas, el impétigo también puede estar provocado por <i>Streptococcus pyogenes</i> , granos, celulitis foliculitis, forúnculos, carbuncos, síndrome de piel escaldada y abscesos, a enfermedades con riesgo para la vida tales como neumonía, meningitis, osteomielitis endocarditis, síndrome de choque tóxico TSS y septicemia. Su incidencia es de infecciones cutáneas, de tejido blando, respiratorias, de hueso, de articulaciones, endovasculares a heridas. Aún es una de las cuatro causas más habituales de infecciones nosocomiales, provocando con frecuencia infecciones de heridas posquirúrgicas. |

| Organismos           |                                     | Enfermedades (ejemplos)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|----------------------|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Género               | Especie                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|                      | <i>MRSA tolerante a Vancomicina</i> | <i>S. aureus</i> puede provocar una serie de enfermedad desde infecciones cutáneas menores, tales como espinillas, el impétigo también puede estar provocado por <i>Streptococcus pyogenes</i> , granos, celulitis foliculitis, forúnculos, carbuncos, síndrome de piel escaldada y abscesos, a enfermedades con riesgo para la vida tales como neumonía, meningitis, osteomielitis endocarditis, síndrome de choque tóxico TSS y septicemia. Su incidencia es de infecciones cutáneas, de tejido blando, respiratorias, de hueso, de articulaciones, endovasculares a heridas. Aún es una de las cuatro causas más habituales de infecciones nosocomiales, provocando con frecuencia infecciones de heridas posquirúrgicas. |
|                      | <i>Staphylococcus epidermidis</i>   | Las cepas de <i>Staphylococcus epidermidis</i> representan la causa más frecuente de sepsis nosocomial y los agentes más habituales de infecciones con dispositivos médicos implantados.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <i>Streptococcus</i> |                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

| Organismos |                                                          | Enfermedades (ejemplos)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|------------|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Género     | Especie                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|            | <i>Streptococcus pneumoniae</i><br><i>o pneumococcus</i> | El organismo provoca muchos tipos de infección neumocócica distinta de neumonía, incluyendo sinusitis aguda, otitis media, meningitis, bacteremia, osteomielitis, artritis séptica, endocarditis, peritonitis, pericarditis, celulitis y abscesos cerebrales.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|            | <i>Streptococcus pyogenes</i>                            | <p><i>S. pyogenes</i> es la causa de muchas enfermedades humanas importantes que varían de infecciones de piel superficial leves a enfermedades sistémicas con riesgo para la vida. Las infecciones típicamente comienzan en la garganta o piel. Los ejemplos de infecciones por <i>S. pyogenes</i> leves incluyen faringitis de "faringitis estreptocócica" e infección cutánea localizada "impétigo".</p> <p>Erisipelas y celulitis se caracterizan por multiplicación y proliferación lateral de <i>S. pyogenes</i> en capas profundas de la piel.</p> <p>La invasión y multiplicación de <i>S. pyogenes</i> en la fascia puede conducir a fascitis necrotizante, una afección potencialmente con riesgo para la vida que requiere tratamiento quirúrgico.</p> |

| Organismos          |                                    | Enfermedades (ejemplos)                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|---------------------|------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Género              | Especie                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <i>Trichophyton</i> |                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|                     | <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | Conocido como "prurito de Malabar", una infección cutánea que consiste en una erupción de varios anillos concéntricos de escamas solapantes que forman placas papulo escamosas está provocada por el hongo.                                                                                                                |
| <i>Yersinia</i>     |                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|                     | <i>Yersinia enterocolitica</i>     | Las infecciones por <i>Y. enterocolitica</i> agudas producen diarrea grave en seres humanos, junto con necrosis de placas de Peyer linfadenopatía crónica y abscesos hepáticos o esplénicos. Los síntomas adicionales pueden incluir entero-colitis, fiebre, adenitis mesentérica, eritema nodos e ileitis terminal aguda. |
|                     |                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

| Organismos    |                                    | Enfermedades (ejemplos)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|---------------|------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Género        | Especie                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|               | <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> | <p>En animales, <i>Y. pseudotuberculosis</i> puede provocar síntomas de tipo tuberculosis, incluyendo necrosis tisular localizada y granulomas en el bazo, hígado y ganglio linfático.</p> <p>Los síntomas son similares a los de la infección con <i>Y. enterocolitica</i> fiebre y dolor abdominal en el lado derecho, excepto que el componente diarreico con frecuencia está ausente, lo que en ocasiones hace a la afección resultante difícil de diagnosticar.</p> <p>Las infecciones por <i>Y. pseudotuberculosis</i> pueden asemejarse a apendicitis, especialmente en niños y adultos jóvenes y, en casos poco habituales la enfermedad puede provocar lesiones cutáneas, eritema nodoso, rigidez de las articulaciones y artritis sensible al dolor o proliferación de bacterias a la bacteremia sanguínea.</p> |
| <i>Vibrio</i> |                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|               | <i>Vibrio parahaemolyticus</i>     | Diarrea acuosa acompañada de náuseas, vómitos, calambres abdominales y en ocasiones fiebre.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

| Organismos |                                                | Enfermedades (ejemplos)                                                             |
|------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| Género     | Especie                                        |                                                                                     |
|            | <i>Vibrio cholerae</i><br><i>Kommabacillus</i> | Cólera                                                                              |
|            | <i>Vibrio vulnificus.</i>                      | Los síntomas incluyen vómitos, diarrea, dolor abdominal y una dermatitis ampollosa. |

Obviamente, son posibles numerosas modificaciones y variaciones de la materia objeto desvelada en el presente documento a la luz de las enseñanzas anteriores. Debe entenderse por lo tanto que dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas, la materia objeto desvelada puede practicarse de modo distinto a como se ha descrito específicamente en el presente documento.

Cualquier patente, documento de patente o referencia desvelada en el presente documento se incorpora como referencia en la presente materia objeto desvelada y forma parte de la presente materia objeto desvelada. La materia objeto desvelada en el presente documento puede ilustrarse por los siguientes ejemplos no limitantes.

### **Ejemplos**

Ejemplo 1: Preparación de composición – Producto Eq Ag Fórmula “B”  
(Sustancia de Ensayo/Producto)

El recipiente deseado para la mezcla de componentes de Fórmula B puede contener un dispositivo para mezcla o agitación.

La adición lenta de sosa cáustica (hidróxido sódico, (NaOH)) al volumen total de agua (H<sub>2</sub>O) se desea para mantener una reacción exotérmica mínima. La sosa cáustica (23,2 g) se diluye en agua (1280 ml) y se agita durante un periodo corto de tiempo, 3-6 minutos hasta que se combina completamente con el agua. Se añade después Biosoft s-101 (176,6 g) de una manera continua, uniforme, durante aproximadamente 3-6 minutos hasta que también se diluye completamente en la mezcla. Se añade después Niaproof 08 (520 g) de una manera continua y uniforme, durante 3-6 minutos y se agita hasta que se ha mezclado todo completamente. La mezcla puede después dejarse reposar

durante 24 horas, para asegurar la mezcla total del producto. El resultado final es 2000 ml de producto.

Ejemplo 2: Evaluación de la Cinética de Destrucción en el Tiempo de la actividad Antimicrobiana del Producto Eq Ag Fórmula "B" frente a *Salmonella typhimurium* Gram Negativa y *Staphylococcus aureus* Gram Positiva.

### **Materiales y Procedimientos**

#### Medios de Cultivo:

Se preparó Caldo de Nutrientes (BBL) de acuerdo con las instrucciones del fabricante (tal como de Remel (Lenexa, KS), Baltimore Biological Labs o BD (Becton, Dickison and Company, Franklin Lakes, NJ, Estados Unidos)). Se distribuyeron cantidades de 10 ml en tubos de ensayo 20 x 150 mm, se taparon y se esterilizaron por autoclave durante 20 minutos a 121 °C.

Se preparó Agar de Nutrientes (BBL) de acuerdo con las instrucciones del fabricante (tal como de Remel (Lenexa, KS), Baltimore Biological Labs o BD (Becton, Dickison and Company, Franklin Lakes, NJ, Estados Unidos)). Se distribuyeron cantidades de 10 ml en tubos de ensayo 20 x 150 mm, se taparon y se esterilizaron por autoclave durante 20 minutos a 121 °C. Se inclinó hasta que se enfrió y se solidificó.

#### Medio de Subcultivo:

Se preparó Agar de Extracto de Glucosa de Triptona (BBL) de acuerdo con las instrucciones del fabricante (tales como de Remel (Lenexa, KS), Baltimore Biological Labs o BD (Becton, Dickison and Company, Franklin Lakes, NJ, Estados Unidos)). Se distribuyó en cantidades adecuadas para manejo fácil y técnica aséptica. Se esterilizó por autoclave durante 20 minutos a 121 °C.

El caldo de cultivo FCD (BBL) comprende producto de digestión pancreático de caseína (20 g; Remel (Lenexa, KS)), lecitina de soja (10 g; Sigma Aldrich (St. Louis, MO)), polisorbato 20 (40 ml; también puede usarse polisorbato 80 (Sigma Aldrich)), tiosulfato  $\text{Na}_2$  (5 g; Sigma Aldrich), Tritón X-100 (1 ml; Sigma Aldrich) y agua purificada (960 ml). Se preparó caldo de cultivo FCD disolviendo el producto de digestión pancreático de caseína y lecitina de soja en 960 ml de agua, calentando en un baño de agua de aproximadamente 48 °C a aproximadamente 50 °C durante aproximadamente 30 minutos. Después se añadieron polisorbato,  $\text{Na}_2$  tiosulfato, Tritón X-100 y agua. El caldo de cultivo se mezcló después, se distribuyó en cantidades de 99 ml en frascos de dilución de leche o 9 ml en tubos de ensayo 25 x 150 ml (procedimiento modificado) y se esterilizó por autoclave durante aproximadamente 20 minutos a aproximadamente 121 °C.

#### Reactivos y Aparatos

15 Procedimiento de Coeficiente de Fenol (una medida de la actividad bactericida de un compuesto químico en relación con fenol), AOC 14: Capítulo 4, pág. 65 (analizado adicionalmente posteriormente).

1. Solución Madre de Fenol (5% p/v)
2. Reserva de Tampón Fosfato (0,25 M)

20 Se disolvieron 34,0 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en 500 ml de agua Milli-Q y se ajustó a pH 7,2 con NaOH 1 N y se diluyó a 1 l.

3. Agua de Dilución de Tampón Fosfato.

Se añadieron 1,25 ml de reserva de tampón fosfato 0,25 M a 1 l de agua Milli-Q y se mezcló. Se distribuyó en partes de 99 ml en frascos de dilución de leche. Se esterilizó por autoclave durante 20 minutos a 121 °C.

4. Material de vidrio

Se cubrieron vasos de precipitados de 50 ml con barras de agitación magnéticas con papel de aluminio y se esterilizaron durante 20 minutos a 121 °C. Para estudio modificado, se usaron tubos de centrifuga de 50 ml desechables estériles (Baxter Cat. nº C3920-50A o equivalente).

5. Placas de Petri

Placas de Petri desechables estériles 15 x 100 mm.

6. Pipetas

Pipetas desechables estériles.

10 7. Bucles de transferencia

Los bucles de transferencia se mantuvieron en un soporte adecuado con un diámetro adecuado de 4 mm de platino-rodio, 24,5 cm de largo y doblado a un ángulo de 30 grados y se usaron, por ejemplo, en transferencia de volumen durante el ensayo. Se usaron bucles de transferencia desechables de plástico o metal, por ejemplo, durante la transferencia de cultivo diaria.

8. Placa de agitación magnética.

9. Mezclador de tipo vórtex (procedimiento modificado)

Sistemas de Ensayo

|    |                               |                   |
|----|-------------------------------|-------------------|
|    | <i>Salmonella typhimurium</i> | (ATCC nº (14028)) |
| 20 | <i>Staphylococcus aureus</i>  | (ATCC nº (6538))  |

Se mantuvieron en medios inclinados de agar con nutrientes por transferencias mensuales. Los medios inclinados se almacenaron a 4 °C. A partir del cultivo madre se inoculó un tubo de caldo de cultivo con nutrientes y se realizaron aproximadamente 3 transferencias consecutivas de 24 horas en caldo de cultivo con nutrientes incubado a 37 °C +/-2 °C antes de usar el cultivo

para ensayos. El cultivo de caldo de cultivo de 22-26 horas de organismos crecidos en caldo de cultivo con nutrientes a 37 °C +/-2 °C se agitó en vórtex y se permitió que se asentara durante 15 minutos antes de los ensayos.

#### Controles

- 5            Se realizaron controles negativos para todos los medios por incubación de medios no inoculados. Se realizaron controles positivos para todos los organismos sembrando directamente en el medio apropiado empleado para el ensayo. Los caldos de cultivo se ensayaron con respecto a crecimiento positivo por inoculación con el organismo apropiado.

10    Técnica de Funcionamiento – Estudio de Destrucción en el Tiempo

1.        Se colocaron 10 ml de producto de ensayo antibacteriano en un vaso de precipitados de 50 ml y se colocó en una placa con agitador magnético. La velocidad del mezclador se ajustó para mezcla rápida sin crear burbujas de aire.
- 15    2.        Se añadieron 0,2 ml de organismo de ensayo al producto de ensayo antibacteriano.
3.        Después de cada tiempo de exposición deseado (tal como 15, 30 ó 60 segundos), se retiró 1,0 ml de producto de ensayo antibacteriano inoculado y se subcultivó en 99 ml de Caldo de Cultivo FCD. Esto representa una dilución
- 20    de  $10^{-2}$ . Se subcultivó de nuevo del primer frasco de Caldo de Cultivo FCD al segundo frasco de Caldo de Cultivo FCD. Esto representa una dilución de  $10^{-4}$ .
4.        Enumeración por diluciones seriadas y técnica de siembra por vertido en placas. (Para producto de ensayo antibacteriano, se sembraron  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  por duplicado).
- 25    5.        Para cada organismo de ensayo ensayado, se determinaron los

números de organismos iniciales de ensayo. Esto se consiguió reemplazando 10 ml de jabón antibacteriano con 10 ml de tampón fosfato y repitiendo las etapas 1-4 con la excepción del tiempo de exposición. (Se sembraron  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$  en placas por triplicado para control de números).

5 Técnica de Funcionamiento – Estudio de Destrucción en el Tiempo Modificado

- Se colocaron 10 ml de la sustancia de ensayo en un tubo de centrifuga de 50 ml. Se permitió que la sustancia de ensayo en el tubo se equilibrara a temperatura de ensayo durante 40 minutos. Se añadieron 0,2 ml de un cultivo de caldo de cultivo de 24 horas a 10 ml de la sustancia de ensayo y se agitó en
- 10 vórtex enérgicamente durante 10 segundos. Quince segundos después de añadir la suspensión, se retiró un 1 ml de la mezcla de suspensión de cultivo/sustancia de ensayo con una jeringa de 1 ml y se transfirió a 9 ml de neutralizador (una dilución de  $10^{-1}$ ). El mismo procedimiento se repitió durante la exposición de 30 segundos. Se transfirió 1 ml del neutralizador inicial (una
- 15 dilución  $10^{-2}$ ). Ambas diluciones  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  del segundo tubo neutralizador se sembraron en placas añadiendo 1 ml y 0,1 ml respectivamente a placas de Petri separadas. Se diluyó 1 ml de la  $10^{-2}$  a 99 ml de agua de dilución tamponada con fosfato (PBDW) para dar como resultado una dilución  $10^{-4}$ . Se añadió 1 ml de la dilución  $10^{-4}$  a una placa de Petri. Se usó la técnica de
- 20 siembra por vertido en placas con el medio de subcultivo para enumeración de supervivientes. Los números de inóculos se enumeraron añadiendo 0,2 ml del cultivo de caldo de cultivo de 24 horas a 10 ml de PBDW, se agitó en vórtex y después se diluyó en serie en PBDW. También se llevó a cabo enumeración usando técnica de siembra por vertido en placas en diluciones  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$ .
- 25 Todas las placas se incubaron durante 48 horas a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Time Kill

Study and Modified Time Kill Study Protocol CFR, Vol. 59, nº 116, Sección 333.470 Official Methods of Analysis (15ª Ed.), Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA 1990.)

#### Cálculo

5 I = Conteo de Suspensión Bacteriana Inicial

S = Conteo de Supervivientes (Sustancia de Ensayo)

% de R =  $I - S / I \times 100$

Los resultados se indicaron como un % de reducción en relación con el tiempo de exposición.

#### 10 Controles

##### 1. Procedimiento de Resistencia de Fenol

A partir de la solución madre de fenol 5%, se realizaron las diluciones apropiadas el cultivo a ensayar. Se colocaron tubos de ensayo que contenían 5 ml de cada dilución a ensayar en un baño de agua a 20 °C durante 10 minutos.

15 Se añadieron 0,5 ml de cultivo de ensayo a la primera dilución de fenol y 30 segundos después se sembró la segunda dilución y así sucesivamente hasta que habían pasado 4,5 minutos. Después de añadir el cultivo, los tubos se agitaron suavemente para distribuir las bacterias. Cinco minutos después de sembrar el primer tubo de ensayo, se transfirió una carga completa de mezcla

20 de cultivo de fenol a un tubo de subcultivo. Este procedimiento se repitió hasta que todos los tubos se transfirieron después de 5, 10 y 15 minutos de exposición. Los tubos de subcultivo se incubaron a 37 °C +/- 2 °C durante 48 horas.

##### 2. Procedimiento de Neutralización.

25 Procedimientos realizados por duplicado

### Estudio de Destrucción en Función del Tiempo:

Las siguientes soluciones se inocularon con 0,1 ml de una dilución del sistema de ensayo de 10 a la -3.

- a. 99 ml de neutralizante + 1 ml de solución de uso de sustancia de ensayo
- 5 b. 99 ml de neutralizante + 1 ml de dilución de sustancia de ensayo
- c. 100 ml de agua de dilución de tampón fosfato

Después de un tiempo de contacto de 10 minutos, las bacterias se enumeraron usando la técnica de diluciones en serie y vertido en placa. Las placas se incubaron a 37 °C durante 48 horas (o a una temperatura apropiada para el

10 cultivo del sistema de ensayo).

### Estudio de Destrucción en Función del Tiempo Modificado

Las siguientes soluciones se inocularon con 0,1 ml de una dilución del sistema de ensayo de 10 a la -3.

- a. 9 ml de neutralizante + 1 ml de solución de uso de sustancia de ensayo
- 15 b. 9 ml de neutralizante + 1 ml de dilución de sustancia de ensayo
- c. 10 ml de agua de dilución de tampón fosfato

Después de un tiempo de contacto de 10 minutos, las bacterias se enumeraron usando la técnica de diluciones en serie y vertido en placa. Las placas se incubaron a 37 °C durante 48 horas (o a una temperatura apropiada para el

20 cultivo del sistema de ensayo).

El neutralizante es eficaz si  $a = b$ . El neutralizante no es perjudicial para el sistema de ensayo si  $b = c$ .

- 3. Caldo FCD estéril

Para este ensayo se sembró en placa 1 ml de caldo FCD (preparado

25 como se ha descrito anteriormente).

4. Agua de dilución de tampón fosfato estéril

Para este ensayo se sembró en placa 1 ml de tampón fosfato estéril.

Resultados

1. Producto de ENSAYO - EQ Ag Fórmula "B" Diluido 1:200 en agua
- 5 *Salmonella typhimurium* (ATCC N° (14028)

RESULTADOS DE DATOS DE MUESTRA

Reducción porcentaje indicada para los puntos de tiempo del ensayo.

Nota: SC = Sin Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

- 10 Recuento medio bacteriano inicial =  $63,6 \times 10^7$  cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Población Inicial  | Promedio de Supervivencia (UFC) | Media del porcentaje de reducción |
|---------------------|--------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| 30 segundos         | $63,6 \times 10^7$ | $38,0 \times 10^4$              | 99,94%                            |
| 1 minuto            | $63,6 \times 10^7$ | $31,0 \times 10^4$              | 99,95%                            |
| 5 minutos           | $63,6 \times 10^7$ | $31,5 \times 10^4$              | 99,95%                            |
| 10 minutos          | $63,6 \times 10^7$ | $31,0 \times 10^4$              | 99,95%                            |
| 15 minutos          | $63,6 \times 10^7$ | $35,0 \times 10^4$              | 99,94%                            |
| Controles positivos | C                  | C                               | C                                 |
| Controles negativos | NC                 | NC                              | NC                                |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa procedimientos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica.

- 2 Producto de ENSAYO - EQ Ag Fórmula "B" Diluido 1:400 en Agua
- 15 *Salmonella typhimurium* (ATCC N° (14028).

RESULTADOS DE DATOS DE MUESTRA

Reducción porcentaje indicada para los puntos de tiempo del ensayo.

Nota: SC = Sin Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

5 Recuento medio bacteriano inicial =  $63,6 \times 10^7$  cuentas por 0.2 ml

| Punto de Tiempo     | Población Inicial  | Promedio de Supervivencia (UFC) | Media del porcentaje de reducción |
|---------------------|--------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| 30 segundos         | $63,6 \times 10^7$ | $71,5 \times 10^4$              | 99,89%                            |
| 1 minuto            | $63,6 \times 10^7$ | $65,0 \times 10^4$              | 99,90%                            |
| 5 minutos           | $63,6 \times 10^7$ | $49,0 \times 10^4$              | 99,92%                            |
| 10 minutos          | $63,6 \times 10^7$ | $33,5 \times 10^4$              | 99,95%                            |
| 15 minutos          | $63,6 \times 10^7$ | $35,0 \times 10^4$              | 99,94%                            |
| Controles positivos | C                  | C                               | C                                 |
| Controles negativos | NC                 | NC                              | NC                                |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa procedimientos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica.

3. Producto de ENSAYO - EQ Ag Fórmula "B" Diluido 1:200 en Agua + 50

10 PPM sin cloro

*Salmonella typhimurium* (ATCC N° (14028)

RESULTADOS DE DATOS DE MUESTRA

Reducción porcentaje indicada para los puntos de tiempo del ensayo.

Nota: SC = Sin Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

15 C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial =  $62,1 \times 10^7$  cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Población Inicial  | Promedio de Supervivencia (UFC) | Media del porcentaje de reducción |
|---------------------|--------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| 30 segundos         | $62,1 \times 10^7$ | 1,0                             | 99,999%                           |
| 1 minuto            | $62,1 \times 10^7$ | 1,0                             | 99,999%                           |
| 5 minutos           | $62,1 \times 10^7$ | 1,0                             | 99,999%                           |
| 10 minutos          | $62,1 \times 10^7$ | 1,0                             | 99,999%                           |
| 15 minutos          | $62,1 \times 10^7$ | 1,0                             | 99,999%                           |
| Controles positivos | C                  | C                               | C                                 |
| Controles negativos | NC                 | NC                              | NC                                |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa procedimientos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica.

- 5
4. Producto de ENSAYO - EQ Ag Fórmula "B" Diluido 1:600 en Agua  
*Salmonella typhimurium* (ATCC N° (14028)

RESULTADOS DE DATOS DE MUESTRA

Reducción porcentaje indicada para los puntos de tiempo del ensayo.

Nota: SC = Sin Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

- 10
- C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial =  $90,5 \times 10^7$  cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Población Inicial  | Promedio de Supervivencia (UFC) | Media del porcentaje de reducción |
|---------------------|--------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| 30 segundos         | $90,5 \times 10^7$ | $665,0 \times 10^3$             | 99,93%                            |
| 1 minuto            | $90,5 \times 10^7$ | $498,5 \times 10^3$             | 99,95%                            |
| 5 minutos           | $90,5 \times 10^7$ | $498,0 \times 10^3$             | 99,95%                            |
| 10 minutos          | $90,5 \times 10^7$ | $438,5 \times 10^3$             | 99,96%                            |
| 15 minutos          | $90,5 \times 10^7$ | $413,0 \times 10^3$             | 99,96%                            |
| Controles positivos | C                  | C                               | C                                 |
| Controles negativos | NC                 | NC                              | NC                                |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa procedimientos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica

- 5
5. Producto de ENSAYO - EQ Ag Fórmula "B" Diluido 1:600 en Agua  
*Staphylococcus aureus* (ATCC N° (6538)

RESULTADOS DE DATOS DE MUESTRA

Reducción porcentaje indicada para los puntos de tiempo del ensayo.

Nota: SC = Sin Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

- 10
- C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial =  $67,7 \times 10^7$  cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Población Inicial  | Promedio de Supervivencia (UFC) | Media del porcentaje de reducción |
|---------------------|--------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| 30 segundos         | $67,7 \times 10^7$ | $346,0 \times 10^3$             | 99,95%                            |
| 1 minuto            | $67,7 \times 10^7$ | $346,0 \times 10^3$             | 99,95%                            |
| 5 minutos           | $67,7 \times 10^7$ | $308,0 \times 10^3$             | 99,95%                            |
| 10 minutos          | $67,7 \times 10^7$ | $258,0 \times 10^3$             | 99,96%                            |
| 15 minutos          | $67,7 \times 10^7$ | $237,0 \times 10^3$             | 99,96%                            |
| Controles positivos | C                  | C                               | C                                 |
| Controles negativos | NC                 | NC                              | NC                                |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa procedimientos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica

5 Análisis

La fórmula "B" del producto EQ Ag es sistemáticamente eficaz al ejercer una reducción bacteriana logarítmica mayor de tres (3) cuando se ensaya contra *Salmonella typhimurium*. La Fórmula B de EQ Ag muestra una reducción logarítmica mayor de (3) cuando se ensaya contra *Staphylococcus aureus*. La

- 10 fórmula "B" del producto EQ Ag es eficaz en concentraciones de 1:200 a través de un intervalo de dilución de 1:600 y presenta una eficacia continua al ejercer Actividad Bactericida por contacto contra *Salmonella typhimurium*. Las reducciones fueron coherentes con una cinética de tipo "meseta" en relación con la concentración de la fórmula "B" del producto EQ Ag.

Las propiedades bactericidas del producto de Fórmula "B" EQ Ag se potencian significativamente en presencia de bajos niveles de cloro, 50 ppm, al ejercer eficazmente una reducción bacteriana logarítmica mayor de cinco (5) cuando se ensaya contra *Salmonella typhimurium*. Nota, la actividad bacteriana en la  
5 reducción completa del inóculo bacteriano de *Salmonella typhimurium* fue tan precoz como 30 segundos.

Ejemplo 3: Se ensayó la cinética de la destrucción en función del tiempo de la actividad antimicrobiana del lavado de frutas y vegetales con EQ Ag (EQ Ag de Formula B) contra organismos de ensayo bacterianos (*Staphylococcus*,  
10 *Pseudomonas* y *Salmonella*) gram negativos. El ensayo de destrucción en función del tiempo modificado se diseñó para mostrar la cinética de destrucción rápida asociada con el producto (EQ Ag de Formula B). Se ensayó una solución neutralizante para determinar que cualquier producto residual se inactivaba cuando el punto de ensayo de tiempo se sembraba en placas sobre  
15 agar de cultivo microbiano

### **Materiales y Procedimientos**

#### Medio de Cultivo

Se preparó caldo nutritivo (BBL) de acuerdo con las instrucciones del fabricante (véase anteriormente). Se dispensaron cantidades de 10 ml en tubos de  
20 ensayo 20 X 150 mm, se taparon, y se esterilizaron en autoclave durante 20 minutos a 121 °C.

Se preparó agar nutritivo (BBL) de acuerdo con las instrucciones del fabricante (véase anteriormente). Se dispensaron cantidades de 10 ml en tubos de ensayo 20 X 150 mm, se taparon y se esterilizaron en autoclave durante 20  
25 minutos a 121 °C. Se inclinaron hasta enfriado y solidificación.

### Medio de Subcultivo

Se preparó agar de extracto de glucosa con triptona (BBL) siguiendo las instrucciones del fabricante (véase anteriormente). Se dispensó en cantidades adecuadas para facilitar la manipulación y técnicas asépticas. Se esterilizó en  
5 autoclave durante 20 minutos a 121 °C.

Se preparó caldo Letheen (BBL) de acuerdo con las instrucciones del fabricante (tal como de Remel ( Lenexa, KS). Baltimore Biological Labs o BD (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA)). Se dispensó en cantidades de 99 ml en frascos de dilución con leche o 9 ml en tubos de  
10 ensayo 25 X 150 ml (procedimiento modificado).

Se esterilizó en autoclave durante 20 minutos a 121 °C.

### Reactivos y Aparatos

Procedimiento del Coeficiente Fenólico, AOC 14: Capítulo 4, página 65.

1. Solución Madre con Fenol (5% P/V)
- 15 2. Reserva de tampón fosfato (0,25 m)

Se disolvieron 34,0 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en 500 ml de agua Milli-Q y se ajustó a pH 7,2 con NaOH 1N y se diluyó a 1 l.

3. Agua de Dilución con Tampón Fosfato

Se añadieron 1,25 ml de reserva de tampón fosfato 0,25 M a 1 l de agua Milli-Q y se mezcló. Se dispensó en partes de 99 ml en frascos de dilución con  
20 leche. Se esterilizó en autoclave durante 20 minutos a 121 °C.

4. Artículos de vidrio

Vasos de precipitado de 50 ml con barras de agitación magnética se cubrieron con papel de aluminio y se esterizaron durante 20 minutos a 121 °C. Para el  
25 estudio modificado, se usaron tubos de centrifuga de 50 ml desechables

(Baxter Cat. N° C3920-50A o equivalente)

5. Placas de Petri

Placas de Petri desechables estériles 15 X 100 mm.

6. Pipetas

5 Pipetas desechables estériles.

7. Asas de transferencia

En un soporte adecuado se sujetaron asas de transferencia con un diámetro de 4 mm de platino-rodio, 2,54 cm de longitud y se doblaron a un ángulo de 30 grados y durante el ensayo se usaron, por ejemplo, en transferencia de volumen). Se usaron asas de transferencia desechables metálicas o de plástico adecuadas, por ejemplo, durante la transferencia de cultivo diaria.

8. Placa de agitación magnética

9. Mezclador de agitación vorticial (procedimiento modificado)

Sistemas de Ensayo

15. *Pseudomonas aeruginosa* (ATTC N° 14028)

*Staphylococcus aureus* (ATTC N° 6538)

*Salmonella typhimurium* (ATTC N° 14028)

Para transferencias mensuales se conservaron en agar nutritivo inclinadas. Se conservaron inclinadas a 4 °C. A partir del cultivo de reserva un tubo de caldo nutritivo se inoculó y se realizaron al menos 3 transferencias consecutivas en 24 horas en cultivo nutritivo incubado a 37 grados +/- 2 °C antes de usar el cultivo para ensayo. (Si solamente se había omitido un día de transferencia no era necesario repetir las 3 transferencias consecutivas). El cultivo de los organismos en caldo que crecían en caldo nutritivo durante 22-26 horas a 37 °C +/- 2 °C se sometió a agitación vorticial y se dejó establecer durante 15

minutos antes del ensayo.

### Controles

Se realizaron controles negativos para todos los medios por incubación de medio no inoculado. Se realizaron controles positivos para todos los organismos sembrando en placa directamente sobre el medio apropiado empleado para el ensayo. Los caldos se ensayaron para detectar crecimiento positivo por inoculación con el organismo apropiado.

### Técnica operativa - Estudio de Destrucción en Función del Tiempo

1. Se colocaron 10 ml de producto de ensayo antibacteriano en un vaso de precipitado de 50 ml y se colocó sobre una placa de agitación magnética. La velocidad de mezclado se ajustó para un mezclado rápido sin crear burbujas de aire.
2. Se añadieron 0,2 ml de organismo de ensayo al producto de ensayo antibacteriano.
3. Después de cada tiempo de exposición deseado (tal como 15, 30 o 60 segundos), 1,0 ml de producto de ensayo antibacteriano inoculado se retiró y se subcultivó en 99 ml de Caldo Leethen. Esto representa una dilución de 10 a la -2. De nuevo se subcultivó a partir del primer frasco de Caldo Letheen al segundo frasco de Caldo Letheen. Esto representa una dilución de 10 a la -4.
4. Se enumeró por la técnica de dilución en serie y vertido en placa. (Para el producto de ensayo antibacteriano, se sembraron, por duplicado, 10 a la -2, 10 a la -3, 10 a la -4.)
5. Para cada organismo de ensayo ensayado, se determinaron los números de organismo de ensayo inicial. Esto se consiguió sustituyendo 10 ml de sopa antibacteriana con 10 ml de tampón fosfato y repitiendo las etapas 1-4

con la excepción del tiempo de exposición. (Para el nº de control se sembraron, por triplicado, 10 a la -5, 10 a la -6)

Técnica Operativa - Estudio de Destrucción en Función del Tiempo Modificado

Se colocaron 10 ml de la sustancia de ensayo en un tubo de centrífuga de 50 ml. La sustancia de ensayo en el tubo se dejó equilibrar a la temperatura de ensayo durante 40 minutos. Se añadieron 0,2 ml de un caldo de cultivo de 24 horas a 10 ml de la sustancia de ensayo y de manera vigorosa se agitó vorticialmente durante 10 segundos. Quince segundos después de añadir la suspensión, se retiró 1 ml de la mezcla de sustancia de ensayo/suspensión de cultivo con una jeringa de 1 ml y se transfirió a 9 ml de neutralizante (a una dilución de 10 a la -1). Se repitió el mismo procedimiento para la exposición de 30 segundos. Se transfirió 1 ml del neutralizante inicial (a una dilución de 10 a la -2). Las diluciones de 10 a -2 y 10 a la -3 del caldo del segundo tubo neutralizante se sembraron en placas añadiendo 1 ml y 0,1 ml respectivamente a distintas placas de Petri. 1 ml de la dilución 10 a la -2 se diluyó en 99 ml de agua de dilución tamponada con fosfato (PBDW) para dar como resultado una dilución de 10 a la -4. 1 ml de la dilución 10 a la -4 se añadió a una placa de Petri. Se usó la técnica de vertido en placa con el medio de subcultivo para enumerar los supervivientes. Los números de inculo se enumeraron añadiendo 0,2 ml del caldo de cultivo de 24 horas a 10 ml de PBDW, se agitó vorticialmente y después se diluyó en serie en PBDW. La enumeración se realizó también usando la técnica de vertido en placa de diluciones 10 a la -5 y de 10 a la -6. Todas las placas se incubaron durante 48 horas a 37 °C +/- 2 °C. (Protocolo de Estudio de Destrucción en Función del Tiempo y Estudio de Destrucción En Función del Tiempo Modificado CFR, Vol. 59, Nº 116, Sección

333.470 Official Methods of Analysis (15<sup>a</sup> Ed.), Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA 1990.)

#### Cálculo

I = Recuento de suspensión bacteriana inicial

5 S = recuento de supervivientes (Sustancia de ensayo)

$$\%R = I-s/I \times 100$$

Los resultados se indicaron como una reducción en % en relación al tiempo de exposición. En una realización, para ser un antimicrobiano eficaz de acuerdo con este procedimiento de ensayo, debe conseguirse una reducción de

10 >99,99%.

#### Controles

##### 1. Método de Resistencia a Fenol

A partir de la solución madre de fenol al 5% se realizaron las diluciones apropiadas para el cultivo a ensayar. Los tubos de ensayo que contenían 5 ml

15 de cada dilución a ensayar se colocaron en un baño con agua a 20 °C durante 10 minutos. Se añadieron 0,5 ml del cultivo de ensayo a la primera dilución con fenol y 30 segundos después se añadió la segunda dilución y así sucesivamente hasta transcurridos 4,5 minutos. Después de añadir el cultivo, los tubos se agitaron suavemente para distribuir las bacterias. Cinco minutos

20 después de sembrar el primer tubo de ensayo, se transfirió un asa completa de mezcla de cultivo de fenol al tubo de subcultivo. Este procedimiento se repitió hasta que todos los tubos se hubieron transferido después de 5, 10 y 15 minutos de exposición. Los tubos de subcultivo se incubaron a 37 °C +/-2 °C durante 48 horas.

25 2. Procedimiento de neutralización.

Procedimientos realizados por duplicado

Para el Estudio de Destrucción en Función del Tiempo:

Se inocularon las siguientes soluciones con 0,1 ml de una dilución 10 a la -3 del sistema de ensayo.

- 5 a. 99 ml de neutralizante + 1 ml de solución de uso de sustancia de ensayo
- b. 99 ml de neutralizante + 1 ml de dilución de sustancia de ensayo
- c. 100 ml de agua de dilución de tampón fosfato

Después de un tiempo de contacto de 10 minutos, las bacterias se enumeraron usando la técnica de diluciones en serie y vertido en placa. Las placas se  
10 incubaron a 37 °C durante 48 horas (o a una temperatura apropiada para el cultivo del sistema de ensayo).

Para el Estudio de Destrucción en Función del Tiempo Modificado

Se inocularon las siguientes soluciones con 0,1 ml de una dilución de 10 a - 3 del sistema de ensayo.

- 15 a. 9 ml de neutralizante + 1 ml de solución de uso de sustancia de ensayo
- b. 9 ml de neutralizante + 1 ml de dilución de sustancia de ensayo
- c. 10 ml de agua de dilución de tampón fosfato

Después de un tiempo de contacto de 10 minutos, las bacterias se enumeraron usando la técnica de diluciones en serie y vertido en placa. Las placas se  
20 incubaron a 37 °C durante 48 horas (o a una temperatura apropiada para el cultivo del sistema de ensayo).

El neutralizante es eficaz si  $a = b$ . El neutralizante no es perjudicial para el sistema de ensayo si  $b = c$ .

3. Caldo Letheen estéril

25 Para este ensayo se sembró en placa 1 ml de caldo Letheen

4. Agua de dilución de tampón fosfato estéril

Para este ensayo se sembró en placa 1 ml de tampón fosfato estéril.

Resultados

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado

- 5 Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - Muestras A, B, C, D (C + ácido láctico al 2%)

Muestra E - solución de control de cloro 150 ppm recién preparada

*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC N° 9027)

Muestra A (1406-8)

- 10 Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 30.000.000 cuentas por 0.2 ml

| Punto de Tiempo     | Porcentaje de Reducción |         |         |         |
|---------------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| 30 segundos         | 99,00%                  | 99,00%  | 99,840% | 98,947% |
| 60 segundos         | 99,60%                  | 99,530% | 99,50%  | 99,543% |
| 5 minutos           | 99,920%                 | 99,940% | 99,90%  | 99,920% |
| 10 minutos          | 99,990%                 | 99,990% | 99,90%  | 99,960% |
| 15 minutos          | 99,990%                 | 99,990% | 99,990% | 99,990% |
| Controles Positivos | C                       | C       | C       | C       |
| Controles Negativos | NC                      | NC      | NC      | NC      |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más

- 15 bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica..

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado:

Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - Muestras A, B, C, D (C + ácido láctico al 2%)

Muestra E - solución de control de cloro 150 ppm recién preparada

Pseudomonas aeruginosa (ATCC N° 9027)

5 Muestra B (1407-8)

Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 30.000.000 cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Porcentaje de Reducción |         |         |         |
|---------------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| 30 segundos         | 99,500%                 | 99,580% | 99,550% | 99,543% |
| 60 segundos         | 99,990%                 | 99,980% | 99,960% | 99,977% |
| 5 minutos           | 99,990%                 | 99,990% | 99,990% | 99,990% |
| 10 minutos          | 99,990%                 | 99,990% | 99,990% | 99,990% |
| 15 minutos          | 99,990%                 | 99,990% | 99,990% | 99,990% |
| Controles Positivos | C                       | C       | C       | C       |
| Controles Negativos | NC                      | NC      | NC      | NC      |

10 Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica.

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado:

Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - Muestras A, B, C, D (C + ácido láctico al 2%)

15

Muestra E - solución de control de cloro 150 ppm recién preparada

Pseudomonas aeruginosa (ATCC N° 9027)

Muestra C (1408-8)

Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

5    Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

          C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 30.000.000 cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Porcentaje de Reducción |         |         |         |
|---------------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| 30 segundos         | 99,550%                 | 99,480% | 99,530% | 99,520% |
| 60 segundos         | 99,750%                 | 99,760% | 99,790% | 99,767% |
| 5 minutos           | 99,990%                 | 99,990% | 99,990% | 99,990% |
| 10 minutos          | 99,990%                 | 99,990% | 99,990% | 99,990% |
| 15 minutos          | 99,990%                 | 99,990% | 99,990% | 99,990% |
| Controles Positivos | C                       | C       | C       | C       |
| Controles Negativos | NC                      | NC      | NC      | NC      |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la

10    determinación de la Cinética Bacteriológica.

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado:

Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - Muestras A, B, C, D (C + ácido láctico al 2%)

Muestra E - solución de control de cloro 150 ppm recién preparada

Pseudomonas aeruginosa (ATCC N° 9027)

Muestra D (1409-8) - (Muestra C + ácido láctico al 2%)

Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

5    Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

          C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 30.000.000 cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Porcentaje de Reducción |         |         |         |
|---------------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| 30 segundos         | 99,70%                  | 99,620% | 99,570% | 99,630% |
| 60 segundos         | 99,80%                  | 99,850% | 99,750% | 99,800% |
| 5 minutos           | 99,880%                 | 99,880% | 99,860% | 99,873% |
| 10 minutos          | 99,990%                 | 99,990% | 99,990% | 99,990% |
| 15 minutos          | 99,990%                 | 99,990% | 99,990% | 99,990% |
| Controles Positivos | C                       | C       | C       | C       |
| Controles Negativos | NC                      | NC      | NC      | NC      |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la

10    determinación de la Cinética Bacteriológica.

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado:

Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - Muestras A, B, C, D (C + ácido láctico al 2%)

Muestra E - solución de control de cloro 150 ppm recién preparada

*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC N° 9027)

Muestra E (1410-8) - control con cloro 150 PPM

Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

5 Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 30.000.000 cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Porcentaje de Reducción |         |         |         |
|---------------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| 30 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 60 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 5 minutos           | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 10 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 15 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| Controles Positivos | C                       | C       | C       | C       |
| Controles Negativos | NC                      | NC      | NC      | NC      |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más

10 bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica.

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado:

Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - Muestra que conservan B Original

Staphylococcus aureus (ATCC N° 6538)

Muestra B presentada

5 Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 23.000.000 cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Media de porcentaje de reducción |          |          |          |
|---------------------|----------------------------------|----------|----------|----------|
| 30 segundos         | 99,9531%                         | 99,9568% | 99,9623% | 99,9574% |
| 60 segundos         | 99,9635%                         | 99,9542% | 99,9682% | 99,9620% |
| 5 minutos           | 99,9697%                         | 99,8938% | 99,9712% | 99,9449% |
| 10 minutos          | 99,9739%                         | 99,9822% | 99,9711% | 99,9757% |
| 15 minutos          | 99,9979%                         | 99,9881% | 99,9557% | 99,9801% |
| Controles Positivos | C                                | C        | C        | C        |
| Controles Negativos | NC                               | NC       | NC       | NC       |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más

10 bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado:

Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - Muestra Original B

Pseudomonas aeruginosa (ATCC N° 9027)

Muestra B presentada

5 Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 23.000.000 cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Porcentaje de Reducción |         |         |         |
|---------------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| 30 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 60 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 5 minutos           | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 10 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 15 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| Controles Positivos | C                       | C       | C       | C       |
| Controles Negativos | NC                      | NC      | NC      | NC      |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más

10 bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado:

Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - Muestra Original B

Salmonella choleraesuis (ATTCC N° 14028)

Muestra B presentada

5 Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 23.000.000 cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Porcentaje de Reducción |         |         |         |
|---------------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| 30 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 60 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 5 minutos           | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 10 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 15 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| Controles Positivos | C                       | C       | C       | C       |
| Controles Negativos | NC                      | NC      | NC      | NC      |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más

10 bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado:

Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - Muestra B K080522

Staphylococcus aureus (ATCC N° 6538)

Muestra B producida por Labs Kappa - K080522

5 Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 30.000.000 cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Porcentaje de Reducción |          |          |          |
|---------------------|-------------------------|----------|----------|----------|
| 30 segundos         | 99,8989%                | 99,8568% | 99,9757% | 99,9104% |
| 60 segundos         | 99,9739%                | 99,9862% | 99,9749% | 99,9783% |
| 5 minutos           | 99,9375%                | 99,9529% | 99,9491% | 99,9465% |
| 10 minutos          | 99,9677%                | 99,9818% | 99,9599% | 99,9698% |
| 15 minutos          | 99,9854%                | 99,9863% | 99,9734% | 99,9817% |
| Controles Positivos | C                       | C        | C        | C        |
| Controles Negativos | NC                      | NC       | NC       | NC       |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más

10 bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica

121

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado:

Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - Muestra B K080522

*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC N° 9027)

Muestra B producida por Labs Kappa - K080522

5    Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 30.000.000 cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Porcentaje de Reducción |         |         |         |
|---------------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| 30 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 60 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 5 minutos           | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 10 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 15 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| Controles Positivos | C                       | C       | C       | C       |
| Controles Negativos | NC                      | NC      | NC      | NC      |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más

10    bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado:  
Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - K080603 - solución de ácido láctico al 2%

Salmonella choleraesuis (ATCC N° 14028)

5 Muestra B producida por Labs Kappa - K080603

Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 30.000.000 cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Porcentaje de Reducción |         |         |         |
|---------------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| 30 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 60 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 5 minutos           | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 10 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 15 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| Controles Positivos | C                       | C       | C       | C       |
| Controles Negativos | NC                      | NC      | NC      | NC      |

10 Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado:  
Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - K080603 - solución de ácido láctico al 2%

Staphylococcus aureus (ATCC N° 6538)

5                    Muestra B Producida por Labs Kappa - K080603

Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 30.000.000 cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Porcentaje de Reducción |          |          |          |
|---------------------|-------------------------|----------|----------|----------|
| 30 segundos         | 99,9391%                | 99,9523% | 99,9478% | 99,9464% |
| 60 segundos         | 99,9802%                | 99,9845% | 99,9745% | 99,9797% |
| 5 minutos           | 99,9625%                | 99,9556% | 99,9699% | 99,9627% |
| 10 minutos          | 99,9781%                | 99,9888% | 99,9856% | 99,9842% |
| 15 minutos          | 99,9870%                | 99,9916% | 99,9819% | 99,9868% |
| Controles Positivos | C                       | C        | C        | C        |
| Controles Negativos | NC                      | NC       | NC       | NC       |

10    Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado:  
Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - K080603 - solución de ácido láctico al 2%

Pseudomonas aeruginosa (ATCC N° 14028)

5 Muestra B Producida por Labs Kappa - K080603

Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 30.000.000 cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Porcentaje de Reducción |         |         |         |
|---------------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| 30 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 60 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 5 minutos           | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 10 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 15 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| Controles Positivos | C                       | C       | C       | C       |
| Controles Negativos | NC                      | NC      | NC      | NC      |

10 Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica

105

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado:

Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - Control con cloro 150 PPM

Salmonella choleraesuis (ATTCC N° 14028)

Muestra B Producida por Labs Kappa - K080603

5 Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 30.000.000 cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Porcentaje de Reducción |         |         |         |
|---------------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| 30 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 60 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 5 minutos           | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 10 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 15 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| Controles Positivos | C                       | C       | C       | C       |
| Controles Negativos | NC                      | NC      | NC      | NC      |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más

10 bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado:

Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - Control con cloro 150 PPM

Staphylococcus aureus (ATCC N° 6538)

Solución de control 150 PPM reciente

5 Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 30.000.000 cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Porcentaje de Reducción |         |         |         |
|---------------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| 30 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 60 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 5 minutos           | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 10 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 15 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| Controles Positivos | C                       | C       | C       | C       |
| Controles Negativos | NC                      | NC      | NC      | NC      |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más

10 bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado:

Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - Control con cloro 150 PPM

*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC N° 14028)

Solución de control 150 PPM reciente

5 Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 30.000.000 cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Porcentaje de Reducción |         |         |         |
|---------------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| 30 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 60 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 5 minutos           | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 10 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 15 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| Controles Positivos | C                       | C       | C       | C       |
| Controles Negativos | NC                      | NC      | NC      | NC      |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más

10 bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica

Ensayo de Destrucción en Función del Tiempo Modificado:

Lavado de frutas y verduras con EQ Ag - Control con cloro 150 PPM

Salmonella choleraesuis (ATTCC N° 14028)

Solución de control 150 PPM reciente

5 Porcentaje de Reducción indicado para los puntos de tiempo de ensayo.

Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Recuento medio bacteriano inicial = 30.000.000 cuentas por 0,2 ml

| Punto de Tiempo     | Porcentaje de Reducción |         |         |         |
|---------------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| 30 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 60 segundos         | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 5 minutos           | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 10 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| 15 minutos          | 99,999%                 | 99,999% | 99,999% | 99,999% |
| Controles Positivos | C                       | C       | C       | C       |
| Controles Negativos | NC                      | NC      | NC      | NC      |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa el valor más

10 bajo de dos (2) procedimientos analíticos realizados por cuadruplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica

Ensayo de destrucción en función del tiempo modificado:    Resumen químico:

Lavado de frutas y verduras con EQ Ag

Sumario de la formulación

Los Laboratorios Kappa produjeron tres (3) soluciones para variar las  
5    concentraciones de los principios activos ensayados.

Muestra "A"

La Muestra "A" tiene un 12 % de principios activos Biosoft - un 2 % más que las  
mezclas normales

(Muestra "C"=8,83 %)

|                                           |         |
|-------------------------------------------|---------|
| Perlas de sosa cáustica                   | 1,39 %  |
| Principio activo Biosoft S-101 al 96 %    | 10,83 % |
| Sulfato de Etilhexilo Niaproof 08 al 39 % | 10,00 % |

10

Muestra "B"

La Muestra "B" tiene un 26 % de principios activos de sulfato de etilhexilo - un  
16 % más que las mezclas normales.

|                                           |         |
|-------------------------------------------|---------|
| Perlas de sosa cáustica                   | 1,16 %  |
| Principio activo Biosoft S-101 al 96 %    | 8,83 %  |
| Sulfato de Etilhexilo Niaproof 08 al 39 % | 26,00 % |

Muestra "C"

La Muestra "C" tiene un 10 % de principios activos de sulfato de etilhexilo -  
Mezcla normal

|                                           |         |
|-------------------------------------------|---------|
| Perlas de sosa caústica                   | 1,16 %  |
| Principio activo Biosoft S-101 al 96 %    | 8,83 %  |
| Sulfato de Etilhexilo Niaproof 08 al 39 % | 10,00 % |

5

Sumario de la producción500 ml de Solución nº K080522B

- Etapa nº 1: Pesar NaOH y transferirlo a un vaso de precipitados de vidrio de 600 ml. Añadir 100 ml de agua y mezclar para disolver. Elevar la temperatura de 36 °C a 37 °C en 2 minutos.
- 10 Etapa nº 2: Añadir Biosoft (viscoso) continuamente con agitación constante. La temperatura aumenta (reacción exotérmica) a 47 °C, la solución es turbia pero con la mezcla empieza a combinarse para convertirse en una solución clara amarilla/ámbar. Enjuagar el vaso de precipitados con agua y verter dentro la solución.
- 15 Etapa nº 3: Añadir Niaproof 08 - el Niaproof 08 es menos viscoso y parece mezclarse bien en la solución original.

Análisis

- El lavado de frutas y verduras EQ Ag fue coherentemente eficaz ejerciendo una actividad bactericida por contacto a un nivel >99,99 % de destrucción en tiempos de exposición de tan pronto como aproximadamente 30 segundos con resultados coherentes cuando se somete a ensayo por encima de aproximadamente 15 minutos.
- 20

Ejemplo 4:

Ensayo de destrucción en función del tiempo modificado: "Fórmula B" EQ Ag

Medio de cultivo:

El caldo nutritivo (BBL) se preparó de acuerdo con las instrucciones del fabricante (véase a continuación). Se dispensaron cantidades de 10 ml en tubos de ensayo de 20 x 150 mm, tapados y esterilizados en autoclave durante 20 minutos a 121 °C.

El agar nutritivo (BBL) se preparó de acuerdo con las instrucciones del fabricante (véase a continuación). Se dispensaron cantidades de 10 ml en tubos de ensayo de 20 x 150 mm, tapados y esterilizados en autoclave durante 20 minutos a 121 °C. Inclinado hasta que se enfrió y solidificó.

Medio de subcultivo:

Se preparó agar de extracto de glucosa con triptona (BBL) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se dispensó en cantidades adecuadas para un fácil manejo y técnica aséptica. Se esterilizó en autoclave durante 20 minutos a 21 °C.

El caldo FCD (BBL) se preparó como se indica a continuación. Se dispensó en cantidades de 99 ml en frascos de dilución con leche o 9 ml en tubos de ensayo de 25 x 150 ml (procedimiento modificado). Se esterilizó en autoclave durante 20 minutos a 121 °C.

Reactivos y Aparatos

Procedimiento de coeficiente fenólico, AOC 14: Capítulo 4, pág. 65.

1. Solución madre de fenol (5 % P/V)
2. Reserva de tampón fosfato (0,25 M)

Se disolvieron 34,0 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en 500 ml de agua Milli-Q, se ajustó el

pH a 7,2 con NaOH 1 N y se diluyó hasta 1 l.

3. Agua de dilución de tampón fosfato

Se añadieron 1,25 ml de reserva de tampón fosfato 0,25 M a 1 l de agua Multi-Q y se mezclaron. Se dispensaron en porciones de 99 ml en botellas  
5 de dilución con leche. Se esterilizaron en autoclave durante 20 minutos a 121 °C.

4. Artículos de vidrio

Se cubrieron con hojas de aluminio vasos de precipitados de 50 ml con barras de agitación magnética y se esterilizaron durante 20 minutos a 121 °C.

10 Para el estudio modificado, se usaron tubos de centrifugación desechables, estériles, de 50 ml (Nº de Cat. Baxter C3920-50A o equivalente).

5. Placas Petri

Placas Petri desechables, estériles de 15 x 100 mm.

6. Pipetas

15 Pipetas desechables, estériles.

7. Asas de transferencia

Asas de transferencias soportadas en un soporte adecuado con diámetro de 4 mm de platino/rodio, 1 pulgada de largo y con una inclinación angular de 30 grados y usarlas, por ejemplo, en transferencias de volumen  
20 durante el ensayo. Se usaron asas de transferencia desechables plásticas o metálicas adecuadas, por ejemplo, durante la transferencia de cultivo diaria.

8. Placa magnética agitadora

9. Mezclador vortical (procedimiento modificado)

Sistemas de ensayo

*Salmonella typhimurium* (ATCC N° (14028))

*Staphylococcus aureus* (ATCC N° (6538))

Mantenidos en agar nutritivo inclinados por transferencias mensuales.

- 5 Almacenados inclinados a 4 °C. Se inoculó un tubo de caldo nutritivo de la reserva de cultivo y se incubaron al menos 3 transferencias consecutivas durante 24 horas en un caldo nutritivo incubado a 37 °C +/- 2 °C antes de usar cultivo para ensayo. (Si solo se ha omitido una transferencia diaria, no es necesario repetir las 3 transferencias consecutivas). Se sometió a agitación
- 10 vorticial caldo de cultivo de 22-26 horas de organismos creciendo en caldo nutritivo a 37 °C +/- 2 °C, y se permitió que se asentaran durante 15 minutos antes de someterse a ensayo.

Controles

- Se realizaron controles negativos para todos los medios por incubación
- 15 de medios sin inocular. Los controles positivos se realizaron para todos los organismos sembrando en placa directamente en el medio apropiado empleado para el ensayo. Los caldos se ensayaron para la inoculación de crecimiento positivo con los organismos adecuados

Técnica de operación - Estudio de Destrucción en el Tiempo

- 20 1. Se colocaron 10 ml de producto de ensayo antibacteriano en un matraz de 50 ml y se colocaron en una placa de agitación magnética. La velocidad del mezclador se ajustó para mezclado rápido sin crear burbujas de aire.
2. Se añadieron 0,2 ml de organismos de ensayo a producto de ensayo antibacteriano
- 25 3. Después de cada tiempo de exposición deseado (tal como 15, 30 o 60

segundos), se retiró 1,0 ml de producto de ensayo antibacteriano inoculado y se subcultivó en 99 ml de caldo FCD. Esto representa una dilución de 10 a la -2. Se subcultivó otra vez de la primera botella de caldo FCD a la segunda botella de caldo FCD. Esto representa una dilución de 10 a la -4.

- 5 4. Se enumeraron por diluciones en serie y técnica de placa vertida. (Para el producto de ensayo antibacteriano, 10 a la -2, 10 a la -3, 10 a la -4 se sembraron en placa por duplicado).
5. Para cada organismo sometido a ensayo, se determinaron los números de organismo de ensayo iniciales. Esto se logró reemplazando 10 ml de  
10 tampón fosfato por 10 ml de jabón antibacteriano y repitiendo las etapas 1-4 con la excepción del tiempo de exposición. (Placa 10 a la -5, 10 a la -6, por triplicado para n° de control.)

#### Técnica de operación - Estudio de Destrucción en Función del Tiempo

- 15 Se colocaron 10 ml de la sustancia de ensayo en un tubo de centrifugación de 50 ml. Se permitió que la sustancia de ensayo en el tubo se equilibrara a la temperatura de ensayo durante 40 minutos.

- 20 Se añadieron 0,2 ml de un caldo de cultivo de 24 horas a 10 ml de la sustancia de ensayo y se sometieron a agitación vorticial vigorosamente durante 10 segundos. Quince segundos después de añadir la suspensión, se retiró 1 ml de la mezcla de suspensión de sustancia/cultivo de ensayo con una jeringa de 1 ml y se transfirió a 9 ml de neutralizador (una dilución 10 a la -1). Se repitió el mismo procedimiento durante los 30 segundos de exposición. Se transfirió 1 ml del neutralizador inicial (una dilución 10 a la -2). Se sembraron en placa ambas diluciones, 10 a la -2 y 10 a la -3 del segundo tubo neutralizador  
25 añadiendo 1 ml y 0,1 ml, respectivamente, a placas Petri separadas. Se diluyó

1 ml de la dilución 10 a la -2 en 99 ml de tampón de agua de dilución en tampón fosfato (PBDW) para dar como resultado una dilución de 10 a la -4. Se añadió 1 ml de la dilución 10 a la -4 a una placa Petri. La técnica de vertido en placa se usó con el medio subcultivado para enumerar los supervivientes. Se

5 enumeraron los números de inóculos añadiendo 0,2 ml del medio de cultivo de 24 horas a 10 ml de PBDW, se sometieron a agitación vorticial y después se diluyeron en serie en PBDW. La enumeración de las diluciones 10 a la -5 y 10 a la -6 también se llevó a cabo usando la técnica de vertido en placa. Todas las placas se incubaron durante 48 horas a 37 °C +/- 2 °C.

#### 10 Cálculo

I = Recuento de suspensión de bacterias inicial

S = Recuento de supervivientes (Sustancia de ensayo)

$$\%R = I-s/I \times 100$$

Los resultados se presentaron como un % de reducción en relación al tiempo

15 de exposición.

#### Controles

##### 1. Procedimiento de resistencia fenólica

A partir de solución madre de fenol al 5 %, se crearon las diluciones apropiadas para que se ensayara el cultivo. Los tubos de ensayo que

20 contenían 5 ml de cada dilución a ensayar se colocaron en un baño de agua a 20 °C durante 10 minutos. Se añadieron 0,5 ml de cultivo de ensayo a la primera dilución de fenol y 30 segundos más tarde se sembró la segunda dilución y así hasta que habían pasado 4,5 minutos. Después de añadir el cultivo, los tubos se agitaron suavemente para distribuir las bacterias. Cinco

25 minutos después de sembrar el primer tubo de ensayo, se transfirió un asa

llena de mezcla de fenol al tubo de subcultivo. Se repitió este procedimiento hasta que todos los tubos se habían transferido después de 5, 10 y 15 minutos de exposición. Los tubos de subcultivo se transfirieron a 37 °C +/- 2 °C durante 48 horas.

5 2. Procedimiento de neutralización

Procedimientos realizados por duplicado.

Para el estudio de destrucción en función del tiempo:

Se inocularon las siguientes soluciones con 0,1 ml de una dilución 10 a la -3 del sistema de ensayo.

- 10 a. 99 ml de neutralizador + 1 ml de solución de uso de sustancia de ensayo  
b. 99 ml de neutralizador + 1 ml de dilución de sustancia de ensayo  
c. 100 ml de tampón de agua de dilución en tampón fosfato

Después de un tiempo de contacto de 10 minutos, las bacterias se enumeraron usando diluciones en serie y la técnica de vertido en placa. Las  
15 placas se incubaron a 37 °C durante 48 horas (o a una temperatura apropiada para el cultivo del sistema de ensayo).

Para el estudio de destrucción en función del tiempo modificado:

Se inocularon las siguientes soluciones con 0,1 ml de una dilución de 10 a la -3 del sistema de ensayo.

- 20 a. 9 ml de neutralizador + 1 ml de solución de uso de sustancia de ensayo  
b. 9 ml de neutralizador + 1 ml de dilución de sustancia de ensayo  
c. 10 ml de agua de dilución en tampón fosfato

Después de un tiempo de contacto de 10 minutos, las bacterias se enumeraron usando diluciones en serie y la técnica de vertido en placa. Las  
25 placas se incubaron a 37 °C durante 48 horas (o a una temperatura apropiada

para el cultivo del sistema del ensayo). El neutralizador es eficaz si a = b. El neutralizador no es perjudicial para el sistema de ensayo si b = c.

3. Caldo FCD estéril

Para este ensayo se sembró en placa 1 ml de caldo FCD.

5 4. Tampón de agua de dilución en tampón fosfato estéril

Para este ensayo se sembró en placa 1 ml de agua de dilución en tampón fosfato estéril.

Resultados

Producto de ensayo - Fórmula EQ Ag "B" Diluida 1:200 agua

10 *Salmonella typhimurium* (ATCC N° (14028)

RESULTADOS DE DATOS DE LA MUESTRA

Reducción del porcentaje indicada para los puntos de tiempo del ensayo.

Nota: SC = Sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = Crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

15 Media de recuentos bacterianos iniciales =  $63,6 \times 10^7$  cuentas por 0,2 ml

| Punto de tiempo     | Población Inicial  | Promedio de supervivencia (CFU) | Media de porcentaje de reducción |
|---------------------|--------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| 30 segundos         | $63,6 \times 10^7$ | $38,0 \times 10^4$              | 99,94 %                          |
| 1 minuto            | $63,6 \times 10^7$ | $31,0 \times 10^4$              | 99,95 %                          |
| 5 minutos           | $63,6 \times 10^7$ | $31,5 \times 10^4$              | 99,95 %                          |
| 10 minutos          | $63,6 \times 10^7$ | $31,0 \times 10^4$              | 99,95 %                          |
| 15 minutos          | $63,6 \times 10^7$ | $35,0 \times 10^4$              | 99,94 %                          |
| Controles positivos | C                  | C                               | C                                |

|                     |    |    |    |
|---------------------|----|----|----|
| Controles negativos | NC | NC | NC |
|---------------------|----|----|----|

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa los procedimientos realizados por duplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica.

Producto de ensayo - EQ Ag Fórmula "B" Diluida 1:400 Agua

5

*Salmonella typhimurium* (ATCC N° (14028)

RESULTADOS DE LOS DATOS DE LA MUESTRA

Porcentaje de reducción indicado para los puntos de tiempo del ensayo.

Nota: NC = sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

10 Media de recuentos bacterianos iniciales =  $63,6 \times 10^7$  cuentas por 0,2 ml

| Punto de tiempo     | Población inicial  | Media de superviviente (CFU) | Media de porcentaje de reducción |
|---------------------|--------------------|------------------------------|----------------------------------|
| 30 segundos         | $63,6 \times 10^7$ | $71,5 \times 10^4$           | 99,89 %                          |
| 1 minuto            | $63,6 \times 10^7$ | $65,0 \times 10^4$           | 99,90 %                          |
| 5 minutos           | $63,6 \times 10^7$ | $49,0 \times 10^4$           | 99,92 %                          |
| 10 minutos          | $63,6 \times 10^7$ | $33,5 \times 10^4$           | 99,95 %                          |
| 15 minutos          | $63,6 \times 10^7$ | $35,0 \times 10^4$           | 99,94 %                          |
| Controles positivos | C                  | C                            | C                                |
| Controles negativos | NC                 | NC                           | NC                               |

Nota: valor de destrucción en función del tiempo representa los procedimientos realizados por duplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica

Producto de ensayo - EQ Ag Fórmula "B" Diluido 1:200 Agua + 50 PPM sin cloro

*Salmonella typhimurium* (ATCC N° (14028)

RESULTADOS DE LOS DATOS DE LA MUESTRA

5 Porcentaje de reducción indicado para los Puntos de Tiempo.

Nota: NC = sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Promedio de recuentos bacterianos iniciales =  $62,1 \times 10^7$  cuentas por 0,2 ml

| Punto de tiempo     | Población inicial  | Media de superviviente (CFU) | Media de porcentaje de reducción |
|---------------------|--------------------|------------------------------|----------------------------------|
| 30 segundos         | $62,1 \times 10^7$ | 1,0                          | 99,999 %                         |
| 1 minuto            | $62,1 \times 10^7$ | 1,0                          | 99,999 %                         |
| 5 minutos           | $62,1 \times 10^7$ | 1,0                          | 99,999 %                         |
| 10 minutos          | $62,1 \times 10^7$ | 1,0                          | 99,999 %                         |
| 15 minutos          | $62,1 \times 10^7$ | 1,0                          | 99,999 %                         |
| Controles positivos | C                  | C                            | C                                |
| Controles negativos | NC                 | NC                           | NC                               |

Nota: valor de destrucción en función del tiempo representa los procedimientos

10 realizados por duplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica

Producto de ensayo - EQ Ag Fórmula "B" Diluido 1:600 Agua  
*Salmonella typhimurium* (ATCC N° (14028)

RESULTADOS DE LOS DATOS DE LA MUESTRA

Porcentaje de reducción indicado para los Puntos de Tiempo.

- 5    Nota: NC = sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación  
          C = crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Media de recuentos bacterianos iniciales =  $90,5 \times 10^7$  cuentas por 0,2 ml

| Punto de tiempo     | Población inicial  | Media de superviviente (CFU) | Media de porcentaje de reducción |
|---------------------|--------------------|------------------------------|----------------------------------|
| 30 segundos         | $90,5 \times 10^7$ | $665,0 \times 10^3$          | 99,93 %                          |
| 1 minuto            | $90,5 \times 10^7$ | $498,5 \times 10^3$          | 99,95 %                          |
| 5 minutos           | $90,5 \times 10^7$ | $498,0 \times 10^3$          | 99,95 %                          |
| 10 minutos          | $90,5 \times 10^7$ | $438,5 \times 10^3$          | 99,96 %                          |
| 15 minutos          | $90,5 \times 10^7$ | $413,0 \times 10^3$          | 99,96 %                          |
| Controles positivos | C                  | C                            | C                                |
| Controles negativos | NC                 | NC                           | NC                               |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa los procedimientos realizados por duplicado para la determinación de la Cinética

- 10    Bacteriológica.

Producto de ensayo - EQ Ag Fórmula "B" Diluido 1:600 Agua  
*Staphylococcus aureus* (ATCC N° (6538)

RESULTADOS DE LOS DATOS DE LA MUESTRA

Porcentaje de reducción indicado para los Puntos de Tiempo.

- 5    Nota: NC = sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación  
          C = crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Media de recuentos bacterianos iniciales =  $67,7 \times 10^7$  cuentas por 0,2 ml

| Punto de tiempo     | Inicial Población  | Media de superviviente (CFU) | Media de porcentaje de reducción |
|---------------------|--------------------|------------------------------|----------------------------------|
| 30 segundos         | $67,7 \times 10^7$ | $346,0 \times 10^3$          | 99,95 %                          |
| 1 minuto            | $67,7 \times 10^7$ | $346,0 \times 10^3$          | 99,95 %                          |
| 5 minutos           | $67,7 \times 10^7$ | $308,0 \times 10^3$          | 99,95 %                          |
| 10 minutos          | $67,7 \times 10^7$ | $258,0 \times 10^3$          | 99,96 %                          |
| 15 minutos          | $67,7 \times 10^7$ | $237,0 \times 10^3$          | 99,96 %                          |
| Controles positivos | C                  | C                            | C                                |
| Controles negativos | NC                 | NC                           | NC                               |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa los procedimientos realizados por duplicado para la determinación de la Cinética

- 10    Bacteriológica.

Producto de ensayo - EQ Ag Fórmula "B" Diluido 1:600 + 25 ppm de cloro libre  
*Salmonella typhimurium* (ATCC N° (6538)

RESULTADOS DE LOS DATOS DE LA MUESTRA

Porcentaje de reducción indicado para los Puntos de Tiempo.

- 5    Nota: NC = sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación  
          C = crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Media de recuentos bacterianos iniciales =  $7,52 \times 10^6$  cuentas por 0,2 ml

| Punto de tiempo     | Población Inicial  | Media de superviviente (CFU) | Media de porcentaje de reducción |
|---------------------|--------------------|------------------------------|----------------------------------|
| 30 segundos         | $7,52 \times 10^6$ | $1,90 \times 10^3$           | 99,98 %                          |
| 1 minuto            | $7,52 \times 10^6$ | $1,85 \times 10^3$           | 99,98 %                          |
| 5 minutos           | $7,52 \times 10^6$ | $1,20 \times 10^3$           | 99,99 %                          |
| 10 minutos          | $7,52 \times 10^6$ | 0                            | 99,99 %                          |
| 15 minutos          | $7,52 \times 10^6$ | 0                            | 99,99 %                          |
| Controles positivos | C                  | C                            | C                                |
| Controles negativos | NC                 | NC                           | NC                               |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa los procedimientos realizados por duplicado para la determinación de la Cinética

10    Bacteriológica.

Producto de ensayo - EQ Ag Fórmula "B" Diluido 1:400 agua + ácido láctico al 2 %

*Salmonella typhimurium* (ATCC N° (14028)

RESULTADOS DE LOS DATOS DE LA MUESTRA

5 Porcentaje de reducción indicado para los Puntos de Tiempo.

Nota: NC = sin crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

C = crecimiento detectado a las 48 horas de incubación

Media de recuentos bacterianos iniciales = 7,57 x 10<sup>6</sup> cuentas por 0,2 ml

| Punto de tiempo     | Población Inicial      | Media de superviviente (CFU) | Media de porcentaje de reducción |
|---------------------|------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| 30 segundos         | 7,57 x 10 <sup>6</sup> | 6,00 x 10 <sup>2</sup>       | 99,99 %                          |
| 1 minuto            | 7,57 x 10 <sup>6</sup> | 0                            | 99,99 %                          |
| 5 minutos           | 7,57 x 10 <sup>6</sup> | 0                            | 99,99 %                          |
| 10 minutos          | 7,57 x 10 <sup>6</sup> | 0                            | 99,99 %                          |
| 15 minutos          | 7,57 x 10 <sup>6</sup> | 0                            | 99,99 %                          |
| Controles positivos | C                      | C                            | C                                |
| Controles negativos | NC                     | NC                           | NC                               |

Nota: El valor de destrucción en función del tiempo representa los

10 procedimientos realizados por duplicado para la determinación de la Cinética Bacteriológica.

Análisis

El producto Formula "B" EQ Ag es coherentemente eficaz ejerciendo una reducción bacteriana superior a log de tres (3) cuando se ensaya frente a

15 *Salmonella typhimurium*. La Formula B EQ Ag exhibió una reducción superior a

log de tres (3) cuando se ensayó frente a *Staphylococcus aureus*. El producto Formula "B" EQ Ag es eficaz en concentraciones de 1:200 a través de un intervalo de dilución de 1:600 porque tiene una efectividad continuada ejerciendo una actividad bactericida por contacto frente a *Salmonella typhimurium*. Las reducciones fueron coherentes con un "altiplano" al igual que las cinéticas referidas a la concentración de producto Formula "B" EQ Ag.

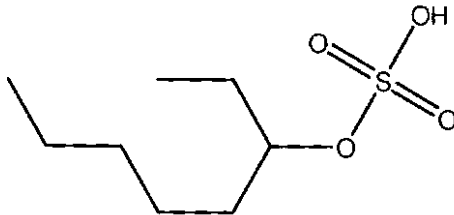
Las propiedades bactericidas del producto Formula "B" EQ Ag se potencian significativamente en presencia de niveles bajos de cloro, 50 ppm, ejerciendo efectivamente reducciones bacterianas superiores a log de cinco (5) cuando se ensayan frente a *Salmonella typhimurium*. Debe apreciarse que la actividad bactericida en la reducción completa de inóculos bacterianos de *Salmonella typhimurium* fue tan temprana como 30 segundos.

En conclusión, las diluciones del Ejemplo 4 demostraron la superioridad y unos resultados sorprendentes e inesperados de la Formula B sobre la mezcla comercial ensayada en el estudio completo con toda su fuerza en el Ejemplo 3.

**REIVINDICACIONES**

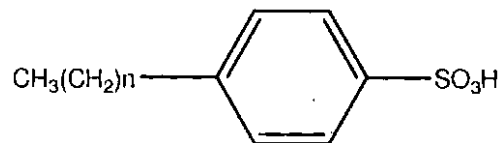
1. Un procedimiento para destruir o inhibir un microorganismo o un patógeno, comprendiendo el procedimiento poner en contacto el microorganismo o el patógeno con una cantidad eficaz de una composición que comprende:

(a) sulfato de etilhexilo de fórmula



o una sal del mismo; y

- 10 (b) un ácido alquilbencenosulfónico de fórmula



o una sal del mismo, en el que n es de aproximadamente 5 a aproximadamente 20; y

(c) un vehículo;

- 15 en el que el sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una relación en peso de al menos aproximadamente 1:2;

durante un periodo de tiempo eficaz para destruir o inhibir el microorganismo o el patógeno.

20

2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una relación en peso de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 2:1.

5

3. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que n tiene un valor medio de aproximadamente 9 a aproximadamente 11.

4. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la composición  
10 comprende adicionalmente al menos uno de hidróxido sódico e hidróxido potásico.

5. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la composición  
comprende adicionalmente al menos uno de hidróxido sódico e hidróxido  
15 potásico, y en el que el hidróxido sódico, el hidróxido potásico, o una combinación de los mismos, están presentes en una relación menor de aproximadamente 1:4, relativa al sulfato de etilhexilo, o sal del mismo.

6. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el vehículo comprende  
20 agua.

7. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la composición comprende:

(a) al menos aproximadamente un 4 % en peso de sulfato de  
25 etilhexilo, o sal del mismo;

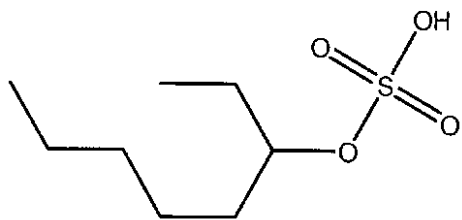
- (b) al menos aproximadamente un 6 % en peso de ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo;
  - (c) al menos aproximadamente un 0,5 % en peso de hidróxido sódico, y
  - 5 (d) agua
- 8. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el contacto es *in vitro*.
- 9. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el contacto es *in vivo*.
- 10 10. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el contacto tiene lugar sobre una superficie de una planta o sobre una superficie tópica de un mamífero.
- 15 11. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el microorganismo o el patógeno es al menos uno de una bacteria, un virus, un hongo, un mohó y un mildiú.
- 12. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el microorganismo o el
- 20 patógeno es al menos uno de una bacteria gram-negativa, bacteria gram-positiva y una bacteria entérica.
- 13. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que período de tiempo eficaz para destruir o inhibir el microorganismo o el patógeno es menor de
- 25 aproximadamente 30 segundos.

14. El procedimiento de la reivindicación 10, en el que el mamífero está aquejado de, o está en riesgo de, al menos uno de una enfermedad bacteriana, una enfermedad vírica y una enfermedad fúngica.

5 15. El procedimiento de la reivindicación 10, en el que la planta está aquejada de, o está en riesgo de, al menos uno de una enfermedad bacteriana y una enfermedad fúngica.

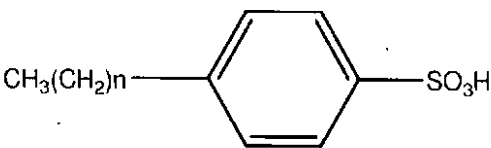
10 16. Un procedimiento de lavado de una planta, comprendiendo el procedimiento poner en contacto la planta con una cantidad eficaz de una composición que comprende:

(a) sulfato de etilhexilo de fórmula



o una sal del mismo, y

15 (b) un ácido alquilbencenosulfónico de fórmula:



o una sal del mismo, en el que n es de aproximadamente 5 a aproximadamente 20; y

(c) un vehículo;

20 en el que el sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido

alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una relación en peso de al menos aproximadamente 1:2;

durante un período de tiempo eficaz para lavar la planta.

- 5 17. El procedimiento de la reivindicación 16, en el que el sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una relación en peso de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 2:1.
- 10 18. El procedimiento de la reivindicación 16, en el que n tiene un valor medio de aproximadamente 9 a aproximadamente 11.
- 15 19. El procedimiento de la reivindicación 16, en el que la composición comprende adicionalmente al menos uno de hidróxido sódico e hidróxido potásico.
- 20 20. El procedimiento de la reivindicación 16, en el que la composición comprende adicionalmente al menos uno de hidróxido sódico e hidróxido potásico, y en el que el hidróxido sódico, el hidróxido potásico, o combinación de los mismos, están presentes en una relación menor de aproximadamente 1:4, relativa al sulfato de etilhexilo, o sal del mismo.
21. El procedimiento de la reivindicación 16, en el que el vehículo comprende agua.

22. El procedimiento de la reivindicación 16, en el que la composición comprende:

- (a) al menos aproximadamente un 4 % en peso de sulfato de etilhexilo, o sal del mismo;
- 5 (b) al menos aproximadamente un 6 % en peso de ácido dodecibencenosulfónico, o sal del mismo;
- (c) al menos aproximadamente un 0,5 % en peso de hidróxido sódico, y
- (d) agua.

10 23. El procedimiento de la reivindicación 16, en el que se lava una parte comestible de la planta.

24. El procedimiento de la reivindicación 16, en el que la planta se lava antes de cosecharse.

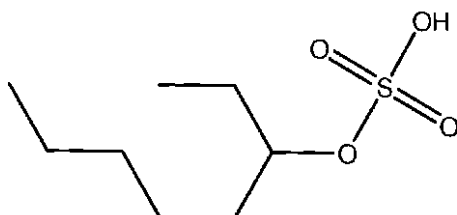
15

25. El procedimiento de la reivindicación 16, en el que la planta se lava después de cosecharse.

26. El procedimiento de la reivindicación 16, en el que el período de tiempo  
20 eficaz para lavar la planta es menor de aproximadamente 30 segundos.

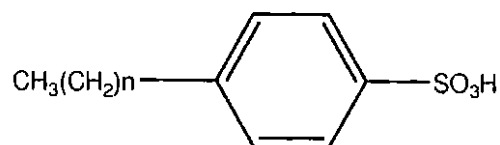
27. Un procedimiento de lavado de una superficie de equipamiento usado en la industria alimentaria o una superficie en una instalación de embalaje de alimentos, comprendiendo el procedimiento poner en contacto la superficie con  
25 una cantidad eficaz de una composición que comprende:

(a) sulfato de etilhexilo de fórmula



o una sal del mismo, y

(b) un ácido alquilbencenosulfónico de fórmula



5

o una sal del mismo, en el que n es de aproximadamente 5 a aproximadamente 20; y

(c) un vehículo;

10 en el que el sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una relación en peso de al menos aproximadamente 1:2;

durante un período de tiempo eficaz para lavar la superficie.

28. El procedimiento de la reivindicación 27, en el que el sulfato de  
15 etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una relación en peso de aproximadamente 1:2 a aproximadamente 2:1.

29. El procedimiento de la reivindicación 27, en el que n tiene un valor

medio de aproximadamente 9 a aproximadamente 11.

30. El procedimiento de la reivindicación 27, en el que la composición comprende adicionalmente uno de hidróxido sódico e hidróxido potásico.

5

31. El procedimiento de la reivindicación 27, en el que la composición comprende adicionalmente al menos uno de hidróxido sódico e hidróxido potásico, y en el que el hidróxido sódico, el hidróxido potásico, o combinación de los mismos, están presentes en una relación menor de aproximadamente

10 1:4, relativa al sulfato de etilhexilo, o sal del mismo.

32. El procedimiento de la reivindicación 27, en el que el vehículo comprende agua.

15 33. El procedimiento de la reivindicación 27, en el que la composición comprende:

(a) al menos aproximadamente un 4 % en peso de sulfato de etilhexilo, o sal del mismo,

20 (b) al menos aproximadamente un 6 % en peso de ácido dodecilbencenosulfónico, o sal del mismo,

(c) al menos aproximadamente un 0,5 % en peso de hidróxido sódico, y

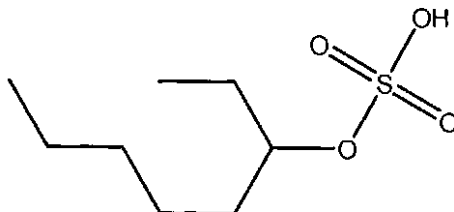
(d) agua.

25 34. El procedimiento de la reivindicación 27, en el que el que el equipamiento usado en la industria alimentaria comprende al menos uno de:

- material de envasado de alimentos,  
 un dispositivo de refrigeración de alimentos,  
 un dispositivo de almacenamiento de alimentos  
 el interior de un vehículo de transporte de alimentos,
- 5 una cinta o transportador usado para transportar fruta u hortalizas,  
 un recipiente o vagón usado para transportar productos,  
 un cubo o balde usado para recolectar fruta u hortalizas,  
 una mordaza de plástico,  
 una cesta de pinta, y
- 10 un cuchillo o dispositivo de corte usado en la recolección de fruta u hortalizas.

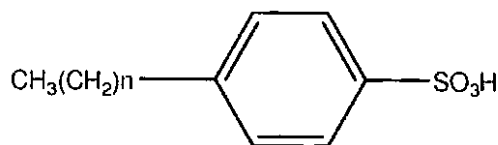
35. Un procedimiento de limpieza o desinfección de una superficie de preparación de alimentos o una superficie de almacenamiento de alimentos,
- 15 comprendiendo el procedimiento poner en contacto la superficie de preparación de alimentos o la superficie de almacenamiento de alimentos con una cantidad eficaz de una composición que comprende:

(a) sulfato de etilhexilo de fórmula



- 20 o una sal del mismo; y

(b) un ácido alquilbencenosulfónico de fórmula



o una sal del mismo, en el que  $n$  es de aproximadamente 5 a aproximadamente 20; y

(c) un vehículo;

5 en el que el sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una relación en peso de al menos aproximadamente 1:2;

durante un período de tiempo eficaz para limpiar o desinfectar la superficie de preparación de alimentos o la superficie de almacenamiento de  
10 alimentos.

36. El procedimiento de la reivindicación 35, en el que el sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una relación en peso de aproximadamente 1:2 a  
15 aproximadamente 2:1.

37. El procedimiento de la reivindicación 35, en el que  $n$  tiene un valor medio de aproximadamente 9 a aproximadamente 11.

20 38. El procedimiento de la reivindicación 35, en el que la composición comprende adicionalmente al menos uno de hidróxido sódico e hidróxido potásico.

39. El procedimiento de la reivindicación 35, en el que la composición comprende adicionalmente al menos uno de hidróxido sódico e hidróxido potásico, y en el que el hidróxido sódico, el hidróxido potásico o combinación de los mismos, están presentes en una relación menor de aproximadamente 1:4, relativa al sulfato de etilhexilo, o sal del mismo.

40. El procedimiento de la reivindicación 35, en el que el vehículo comprende agua.

41. El procedimiento de la reivindicación 35, en el que la composición comprende:

(a) al menos aproximadamente un 4 % en peso de sulfato de etilhexilo, o sal del mismo,

(b) al menos aproximadamente un 6 % en peso de ácido dodecibencenosulfónico, o sal del mismo,

(c) al menos aproximadamente un 0,5 % en peso de hidróxido sódico, y

(d) agua.

42. El procedimiento de la reivindicación 35, en el que la superficie de preparación de alimentos o la superficie de almacenamiento de alimentos están presentes en una vivienda residencial.

43. El procedimiento de la reivindicación 35, en el que la superficie de preparación de alimentos o la superficie de almacenamiento de alimentos están presentes en un edificio comercial o industrial.

44. El procedimiento de la reivindicación 17, en el que la superficie de preparación de alimentos o la superficie de almacenamiento de alimentos comprenden al menos uno de un refrigerador, un congelador, un horno, una estufa, una encimera, una tabla de cortar, un horno de microondas, un fregadero, una cocina, una parrilla, un fogón, una campana extractora, una olla, una cazuela, una sartén, una fuente de horno, un tazón y un utensilio de cocina.

### RESUMEN

Una composición que incluye sulfato de etilhexilo o una sal del mismo, un ácido alquilbencenosulfónico o una sal del mismo, y un vehículo. El sulfato  
5 de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una proporción en peso de al menos aproximadamente 1:2. La composición puede usarse para destruir o inhibir un microorganismo o patógeno (por ejemplo, bacterias, bacterias gram-negativas, bacterias gram-positivas, bacterias entéricas, virus, hongos, mohos, mildiú o  
10 mildiú pulverulento).

**SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

**DIVISION DE NUEVAS CREACIONES**

**TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS**

PATENTE DE INVENCION ☒ PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD ☐ DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(21) N° de solicitud:

(22) Fecha de solicitud:

(51) Clasificación Internacional:

(71) Solicitante (s) **EQ AG SOLUTIONS**

(72) Inventor(es) **CURRY, Patrick, J. Y DIEHL, Franklin, Irven**

(74) Apoderado: **JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS**

| (30) Prioridad | (31) | No. Prioridad | (32) | Fecha      | (33) | País |
|----------------|------|---------------|------|------------|------|------|
|                |      | 12/489,362    |      | 22/06/2009 |      | US   |

(85) Fecha inicio fase nacional: **22/01/2012**

(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT

Fecha de presentación de la solicitud: **22-06-10**

No. de solicitud **PCT/US2010/039433**

(87) Publicación internacional

Fecha: **13-01-11** Fecha (dd/mm/aa)

N° publicación: **WO2011/005499 A2**

(54) Título: **COMPOSICIÓN HIGIENIZANTE**

736

## SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

## DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

## TARJETA ARCHIVO TEMATICO

PATENTE DE INVENCION ☒ PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD ☐ DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(21) N° de solicitud:

(22) Fecha de solicitud

(51) Clasificación Internacional:

(71) Solicitante(s) **EQ AG SOLUTIONS**(72) Inventor(es): **CURRY, Patrick, J. Y DIEHL, Franklin, Irvén**(74) Apoderado: **JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS**

| Prioridad | (31) | No. Prioridad     | (32) | Fecha             | (33) | País      |
|-----------|------|-------------------|------|-------------------|------|-----------|
|           |      | <b>12/489,362</b> |      | <b>22/06/2009</b> |      | <b>US</b> |

(85) Fecha límite inicio fase nacional: **22/01/2012**

(86) Datos relativos a la presentación de la solc. PCT

Fecha de presentación de la solicitud: **22-06-10**No. de solicitud **PCT/US2010/039433**

(87) Publicación internacional:

Fecha: **13-01-11**No. Publicación: **WO2011/005499 A2**(54) Título: **COMPOSICIÓN HIGIENIZANTE**

(57) Resumen: Una composición que incluye sulfato de etilhexilo o una sal del mismo, un ácido alquilbencenosulfónico o una sal del mismo, y un vehículo. El sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una proporción en peso de al menos aproximadamente 1:2. La composición puede usarse para destruir o inhibir un microorganismo o patógeno (por ejemplo, bacterias, bacterias gram-negativas, bacterias gram-positivas, bacterias entéricas, virus, hongos, mohos, mieldiú o mieldiú pulverulento). CONTINUA AL RESPALDO

|                                                                                                                                                               |                                         |                                                                                                                                                                             |                        |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
|  <b>Industria y Comercio</b><br>SUPERINTENDENCIA                             |                                         | <b>SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO</b><br><b>DIVISION DE NUEVAS CREACIONES</b><br><b>EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN</b><br><b>SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT</b> |                        |
| (21) N° de solicitud:<br>22) Fecha de solicitud:                                                                                                              |                                         | (51) Int Cl:<br>(71) Solicitante(s) <b>EQ AG SOLUTIONS</b>                                                                                                                  |                        |
| (30) Prioridad                                                                                                                                                | (31) No. Prioridad<br><b>12/489,362</b> | (32) Fecha<br><b>22/06/2009</b>                                                                                                                                             | (33) Pais<br><b>US</b> |
| (72) Inventor(es) <b>CURRY, Patrick, J.</b><br><b>DIEHL, Franklin, Irvén</b>                                                                                  |                                         | (74) Apoderado: <b>JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS</b>                                                                                                                       |                        |
| (85) Fecha limite inicio fase nacional: <b>22/01/2012</b>                                                                                                     |                                         | (87) Publicación Internacional<br>Fecha: <b>13 - 01 - 11</b><br>Fecha (dd/mm/aa)<br>N° publicación: <b>WO2011/005499 A2</b>                                                 |                        |
| Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT<br>Fecha de presentación de la solicitud <b>22 -06 -10</b><br>No. de solicitud <b>PCT/US2010/039433</b> |                                         |                                                                                                                                                                             |                        |
| (54) Título: <b>COMPOSICIÓN HIGIENIZANTE</b>                                                                                                                  |                                         |                                                                                                                                                                             |                        |

# Resumen

Una composición que incluye sulfato de etilhexilo o una sal del mismo, un ácido alquilbencenosulfónico o una sal del mismo, y un vehículo. El sulfato de etilhexilo, o sal del mismo, y el ácido alquilbencenosulfónico, o sal del mismo, están presentes en una proporción en peso de al menos aproximadamente 1:2. La composición puede usarse para destruir o inhibir un microorganismo o patógeno (por ejemplo, bacterias, bacterias gram-negativas, bacterias gram-positivas, bacterias entéricas, virus, hongos, mohos, mildiú o mildiú pulverulento).

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  
NIT : 800.176.089-2  
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 123861

Bogotá D.C., Diciembre 21 de 2011 - 09:35:53

RECIBIDO DE : MARIO DELGADO ECHEVERRY E HIJOS LTDA NI 800.020.909

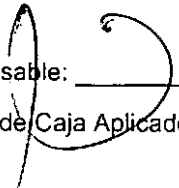
\*\*\* Soporte del Pago \*\*\*

| TIPO PAGO    | BANCO           | CUENTA    | No. PAGO  | FECHA PAGO | VR. PAGO      |
|--------------|-----------------|-----------|-----------|------------|---------------|
| CONSIGNACION | BANCO DE BOGOTA | 062754387 | 467303244 | 21/12/2011 | 16.430.000.00 |

\*\*\* Conceptos Pagados \*\*\*

| CANT. RENTISTICO          | CONCEPTO                                   | Vr. UNDITARIO | Vr. CONCEPTO |
|---------------------------|--------------------------------------------|---------------|--------------|
| 1 50005-01-01 SOLICITUDES | 1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN | 571.000.00    | 571.000.00   |
|                           |                                            |               | \$571.000.00 |

SON: \*\*QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE\*\*

Responsable:   
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. \_\_\_\_\_

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  
  
No. 11-177132-00000-0000  
Fecha: 2011-12-22 16:40:16 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 144

*Este recibo debe ser utilizado  
Únicamente para tramites de  
Mario Delgado Echeverry e Hijos Ltda.  
Marca: PC1/032010/039433  
Expediente No. \_\_\_\_\_*

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  
NIT : 800.176.089-2  
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 111398

Bogotá D.C., Noviembre 16 de 2011 - 13:08:11

RECIBIDO DE : MARIO DELGADO ECHEVERRY E HIJOS LTDA

NI 800.020.909

\*\*\* Soporte del Pago \*\*\*

| TIPO PAGO    | BANCO           | CUENTA    | No. PAGO  | FECHA PAGO | VR. PAGO      |
|--------------|-----------------|-----------|-----------|------------|---------------|
| CONSIGNACION | BANCO DE BOGOTA | 062754387 | 410761131 | 16/11/2011 | 24.050.000.00 |

\*\*\* Conceptos Pagados \*\*\*

| CANT. | RENTISTICO              | CONCEPTO                                                     | Vr. UNIDITARIO | Vr. CONCEPTO |
|-------|-------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------|--------------|
| 1     | 50005-01-01 SOLICITUDES | 1136 CANCELACION REGISTRO MARCARIO POR NO USO Y/O VULGARIZAC | 687.000.00     | 687.000.00   |
|       |                         |                                                              |                | \$687.000.00 |

SON: \*\*SEISCIENTOS OCHENTA Y SIETE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE\*\*\*

Responsable: \_\_\_\_\_  
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. \_\_\_\_\_

Este recibo debe ser utilizado  
Únicamente para tramites de  
Mario Delgado Echeverry e Hijos Ltda.  
Marca: 061/032010 1039433  
Expediente: \_\_\_\_\_

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-177132- -00000-0000

Fecha: 2011-12-22 16:40:16 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 144

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: [www.sic.gov.co](http://www.sic.gov.co) e-mail: [info@sic.gov.co](mailto:info@sic.gov.co) Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Noviembre 16 de 2011 - 13:09:35

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  
NIT : 800.176.089-2  
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0098436

Bogotá D.C., Octubre 06 de 2011 - 11:40:41

RECIBIDO DE : MARIO DELGADO ECHEVERRY E HIJOS LTDA NI 800.020.909

\*\*\* Soporte del Pago \*\*\*

| TIPO PAGO    | BANCO           | CUENTA    | No. PAGO  | FECHA PAGO | VR. PAGO      |
|--------------|-----------------|-----------|-----------|------------|---------------|
| CONSIGNACION | BANCO DE BOGOTA | 062754387 | 410763706 | 06/10/2011 | 13.328.600.00 |

\*\*\* Conceptos Pagados \*\*\*

| CANT. | RENTISTICO              | CONCEPTO                                             | Vr. UNDITARIO | Vr. CONCEPTO |
|-------|-------------------------|------------------------------------------------------|---------------|--------------|
| 1     | 50005-01-01 SOLICITUDES | 83 INVOCACION DE UNA PRIORIDAD EN SIGNOS DISTINTIVOS | 160.000.00    | 160.000.00   |
|       |                         |                                                      |               | \$160.000.00 |

SON: \*\*CIENTO SESENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE\*\*

Responsable:

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-177132- -00000-0000

Fecha: 2011-12-22 16:40:16 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 144

Este recibo debe ser utilizado  
Únicamente para tramites de  
Mario Delgado Echeverry e Hijos Ltda.  
Marca: Pajus 2010 1039433  
Expediente:

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Octubre 6 de 2011 - 11:40:44

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  
NIT : 800.176.089-2  
- / -

Industria y Comercio  
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 118364

Bogotá D.C., Diciembre 06 de 2011 - 11:53:13

RECIBIDO DE : MARIO DELGADO ECHEVERRY E HIJOS LTDA NI 800.020.909

\*\*\* Soporte del Pago \*\*\*

| TIPO PAGO    | BANCO           | CUENTA    | No. PAGO  | FECHA PAGO | VR. PAGO      |
|--------------|-----------------|-----------|-----------|------------|---------------|
| CONSIGNACION | BANCO DE BOGOTA | 062754387 | 392425800 | 06/12/2011 | 16.969.000.00 |

\*\*\* Conceptos Pagados \*\*\*

| CANT. | RENTISTICO                                          | CONCEPTO                           | VR. UNDITARIO | VR. CONCEPTO |
|-------|-----------------------------------------------------|------------------------------------|---------------|--------------|
| 1     | 50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL | 99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS | 81.000.00     | 81.000.00    |
|       |                                                     |                                    |               | \$81.000.00  |

SON: \*\*OCHENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE\*\*

Responsable: \_\_\_\_\_

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. \_\_\_\_\_

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 11-177132-00000-0000

Fecha: 2011-12-22 16:40:16 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Tra. 11 PATENTEYII Eve: 378 FASENACIONALI  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 144

Este recibo debe ser utilizado  
Únicamente para tramites de  
Mario Delgado Echeverry e Hijos Ltda.  
Marca: 8071030010 1039433

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C. - Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Diciembre 6 de 2011 - 11:53:28

|                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <div>Industria y Comercio<br/>SUPERINTENDENCIA</div> | <div>SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO</div> <div></div> <div>No. 11-177132-00000-0000</div> <div>Fecha: 2011-12-22 16:40:16    Dep. 2020 DIR.NUEVASCR<br/>Tra. 11 PATENTEIYII    Eve: 378 FASENACIONALI<br/>Act. 411 PRESENTACION    Folios: 144</div> |
|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

PATENTE DE INVENCION ☐      MODELO DE ☐

|                                                                       |                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/>                                              | Indicación que se solicita una patente.                                             |
| <input type="checkbox"/>                                              | Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud   |
| <input type="checkbox"/>                                              | Descripción de la invención                                                         |
| <input type="checkbox"/>                                              | Dibujos de ser estos pertinentes                                                    |
| <input type="checkbox"/>                                              | Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento) |
| Completa <input type="checkbox"/> Incompleta <input type="checkbox"/> |                                                                                     |

PATENTE DE INVENCION PCT ☒      MODELO DE UTILIDAD PCT ☐      Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

|                                                                       |                                                                                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/>                                   | Indicación que se solicita una PCT                                                                                      |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                   | Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen) |
| <input type="checkbox"/>                                              | Dibujos de ser estos pertinentes                                                                                        |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                   | Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)                                     |
| Completa <input type="checkbox"/> Incompleta <input type="checkbox"/> |                                                                                                                         |

DISEÑO INDUSTRIAL ☐      (Art. 119 Decisión 486/00)

|                                                                       |                                                                                                           |
|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/>                                              | Indicación que se solicita Diseño industrial                                                              |
| <input type="checkbox"/>                                              | Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud                         |
| <input type="checkbox"/>                                              | Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño |
| <input type="checkbox"/>                                              | Comprobante de pago de las tasas establecidas                                                             |
| Completa <input type="checkbox"/> Incompleta <input type="checkbox"/> |                                                                                                           |

ESQUEMA DE TRAZADO ☐      (Art. 92 Decisión 486/00)

|                                                                       |                                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/>                                              | Indicación que se solicita un esquema de trazado                                  |
| <input type="checkbox"/>                                              | Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud |
| <input type="checkbox"/>                                              | Representación gráfica de un esquema de trazado                                   |
| <input type="checkbox"/>                                              | Comprobante de pago de las tasas establecidas                                     |
| Completa <input type="checkbox"/> Incompleta <input type="checkbox"/> |                                                                                   |