



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

ÁCIDO ACÉTICO COMO ESTRATEGIA DE
INTERVENCIÓN PARA LA DESCONTAMINACIÓN DE
CANALES DE BOVINO EN UN RASTRO MUNICIPAL.

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A

LAURA REYES CARRANZA

TUTOR: DR. RUBÉN DANILO MÉNDEZ MEDINA

COMITÉ TUTORAL:

DRA. MARÍA SALUD RUBIO LOZANO

DRA. MA. DEL CARMEN WACHER RODARTE

CIUDAD UNIVERSITARIA 2009.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

La autora da consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que la tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.

MVZ Laura Reyes Carranza.

DEDICATORIAS

Con todo cariño a mis más queridos familiares y amigos en cuyo esfuerzo y sacrificio se encuentran los cimientos de este proyecto.

A todos los que creyeron en mi y permanecieron conmigo incondicionalmente.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rubén Danilo Méndez Medina, mi tutor principal por su valiosa asesoría y apoyo dedicados al desarrollo del presente estudio.

A la Dra. María Salud Rubio Lozano por todas sus enseñanzas dentro y fuera de las aulas, por sus invaluable aportaciones en mi formación académica y personal, por su valiosa asesoría y apoyo.

A la Dra. Ma. del Carmen Wachter Rodarte por su inagotable paciencia y sus valiosas aportaciones en momentos difíciles.

Al MVZ MCV José Fernando Núñez Espinosa por el tiempo y esfuerzo dedicados en todo momento, por todas sus enseñanzas, por estar siempre dispuesto a apoyarme.

A la MVZ MCV Bertha Lucila Velázquez Camacho por la excelente calidad de tiempo y asesoría brindados en el laboratorio.

Al Dr. Evaristo Alvaro Barragán Hernández por su valioso tiempo dedicado y conocimientos compartidos.

A todo el personal que labora en el departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, particularmente al Dr. José Juan Martínez Maya por permitirme laborar en el Laboratorio de Medicina Preventiva y Salud Pública de la FMVZ, a la QBP Carolina Castro Martínez, la Q.A. Luz del Carmen Sierra Gómez Pedroso, la MVZ MCV Claudia Dolores Alcázar Montañez y al Sr. Nicolás Vázquez Briones por todo el apoyo y las atenciones prestadas.

Al Administrador del Rastro Frigorífico Los Reyes, La Paz, Sr. Alfredo Pérez Arizmendi por su apoyo para la realización de este trabajo.

RESUMEN

Reyes Carranza Laura. Ácido acético como estrategia de intervención para la descontaminación de canales de bovino en un rastro municipal (Asesor, Dr. Rubén Danilo Méndez Medina).

Se evaluó el efecto descontaminante del ácido acético al 2% a diferentes presiones y su combinación con dos lavados con agua a presión, sobre 71 canales de bovino en un rastro municipal de México, a través de la reducción de microorganismos indicadores de la carne como mesófilos aerobios (CMA) expresado en logaritmos de unidades formadoras de colonias por cm^2 (UFC \log/cm^2), microorganismos coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) cuyas determinaciones son expresadas como el número más probable (NMP).

Con la solución de ácido acético al 2% a 10-30psi a $22\pm 3^\circ\text{C}$ aplicada con aspersor manual en 60 s, se encontró la reducción del 8.8% en la determinación de CT por cm^2 , una reducción del 8.3% en la determinación de CF por cm^2 y para CMA una reducción de 12.4% por cm^2 de superficie, respecto a las canales control ($P<0.05$). El efecto descontaminante de la solución de ácido acético al 2% con aspersor manual más dos lavados con agua de la red municipal a 2100psi/120-180 s fue la reducción de 93.9%, 93.7 y 36.6% por cm^2 para las determinaciones de CT, CF y CMA respectivamente ($P<0.05$); mientras que el efecto de la solución de ácido acético al 2% a 1700psi/15 s más los dos lavados con agua de la red municipal a 2100psi/120-180 s para las determinaciones de CT, CF y CMA fueron de 78.3%, 84.5% y 21.7% por cm^2 respectivamente ($P<0.05$). Estos datos indican que la combinación de diversas estrategias de intervención, tales como el ácido acético y el agua a presión ejercen un importante efecto de descontaminación de canales, aunque no deben ser utilizadas para encubrir malas prácticas higiénicas en los rastros.

Palabras clave: Ácido acético; descontaminación, canales de bovino, microorganismos indicadores, poblaciones microbiológicas.

ABSTRACT

Reyes Carranza Laura. Acetic acid as an intervention strategy to decontaminate bovine beef carcasses in a municipal slaughterhouse (Adviser, Dr. Rubén Danilo Méndez Medina).

This study evaluated the effect of spraying 2% acetic acid at different pressures on the reduction of indicator bacteria concentration from 71 beef carcasses at a municipal slaughterhouse in México. Reduction was measured by quantifying mesophilic aerobic bacteria (MAB) log CFU/cm², total coliform (TC) and faecal coliform bacteria (FC), expressed as the most probable number (MPN/cm²). Results were expressed as percentage reduction of these counts. Results indicated that the use 2% acetic acid solution at 22±3°C sprayed using a manual sprinkler during 60 s reduces TC by 8.8% per cm², FC by 8.3% per cm² and MAB by 12.4% per cm² (P<0.05). The decontamination effect of spraying 2% acetic acid solution at 22±3°C during 60 s combined with two water washes (water from the network system) at 2100psi/120-180 s caused reductions of 93.9%, 93.7 and 36.6% per cm² for TC, FC and MAB respectively (P<0.05); whereas the decontamination effect of 2% acetic acid solution at 22°C ±3°C sprayed at 1700psi/15 s combined with two water washes at 2100psi/120-180 s reduced the counts of TC, FC and MAB 78.3%, 84.5% and 21.7% per cm² respectively (P<0.05). These data indicate that combination of different intervention strategies such as acetic acid and high pressure water induce an important carcass decontamination effect although they should not be used to hide the possible wrong execution of Good Manufacturing Practices at abattoirs.

Key words: Acetic acid; beef carcass decontamination, beef indicating microorganisms, microbiological populations.

CONTENIDO

	Página
I. INTRODUCCIÓN	5
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	6
II.1 Estrategias de intervención en el proceso de la carne	7
II.2 Agentes físicos	8
II.3 Agentes químicos	10
II.3.1 Ácidos orgánicos	10
II.3.1.1 Ácido acético	12
II.3.1.2 Mecanismo de acción del ácido acético	13
II.4 Resistencia bacteriana	13
II.5 Buenas prácticas de manufactura en rastros	15
III. OBJETIVOS	
III.1 Objetivo General	17
III.2 Objetivos específicos	17
IV. HIPÓTESIS	18
V. MATERIAL Y METODOLOGÍA	
V.1 Tipo de Estudio	19
V.2 Definición del lugar de trabajo	19
V.3 Definición del tamaño de muestra	19
V.4 Visita de verificación del establecimiento para obtener muestras del producto previamente a la aplicación de tratamientos	20
V.4.1 Etapa 1: Muestreo piloto	21
V.5 Selección de canales	21
V.5.1 Etapa 2: Parte experimental	21
V.6 Preparación del tratamiento de intervención	21
V.7 Aplicación de la estrategia de intervención y toma de muestras	22

V.7.1 Diseño Experimental	22
V.8 Determinaciones Microbiológicas	23
V.8.1 Determinaciones de coliformes totales y coliformes fecales	24
V.8.2 Determinaciones de mesófilos aerobios	24
V.8.3 Manejo de residuos peligrosos	24
V.9 Análisis estadístico	24
VI. RESULTADOS	
VI.1 Etapa 1. Muestreo piloto	26
VI.2 Etapa 2. Parte experimental	26
VI.2.1 Lavados con agua a 2100psi (grupo control)	
VI.2.2 Tratamiento A) Ácido acético al 2% aplicado con aspersor manual a una presión de entre 10 y 30psi/60 s a 22 ±3°C sin los lavados previos con agua de la red municipal	26
VI.2.3 Tratamiento B) Ácido acético al 2% aplicado con aspersor manual a una presión de entre 10 y 30psi/60s a 22°C ±3°C, aplicado después de 2 lavados con agua de la red municipal a 2100psi/120-180 s cada uno	27
VI.2.4 Tratamiento C) Ácido acético al 2% a 1700psi/15s/22°C ±3°C aplicado posteriormente a 2 lavados con agua de la red municipal a 2100psi/120-180 s cada uno.	27
VII. DISCUSION	29
VIII. CONCLUSIONES	34
IX. LITERATURA CITADA	35

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1.	44
Cuadro 2.	45
Cuadro 3.	46
Cuadro 4.	47
Cuadro 5.	48
Cuadro 6.	49
Cuadro 7.	50
Cuadro 8.	52
Cuadro 9.	54
Cuadro 10.	56

LISTA DE FIGURAS

	Página
Anexo 1.	58
Anexo 2.	59
Anexo 3.	60
Anexo 4.	61
Anexo 5.	62
Anexo 6.	63
Figura 1.	64
Figura 2.	65

I. INTRODUCCIÓN

Debido al actual intercambio comercial que guarda México con otros países del mundo en lo que a carne de res se refiere se ha vuelto necesario que contemos con diversos sistemas de calidad y sanidad que aseguren que los productos cárnicos producidos en nuestro país llegarán hasta el consumidor final con los máximos criterios de higiene a fin de garantizar su inocuidad y que por ello puedan también exportarse (Delazari, 1998); sin embargo, la globalización en el abasto de alimentos puede introducir nuevos riesgos sanitarios a la industria pecuaria de cada país a la vez que permite la distribución generalizada de alimentos contaminados (Johnston et al. 2006).

Desde hace más de una década se han intensificado las acciones para regular las concentraciones máximas tolerables de sustancias químicas y agentes patógenos en los alimentos (Delazari et al. 1998).

Innumerables estudios microbiológicos en diferentes establecimientos destinados al sacrificio de animales concuerdan en que los microorganismos más frecuentemente presentes en la carne en canal son: microorganismos indicadores como mesófilos aerobios (Ouattara et al. 1997) y bacterias coliformes cuya prevalencia la mayoría de las veces se asocia con la presencia de bacterias oportunistas y patógenos de importancia en salud pública como *Escherichia coli* (Ouattara et al. 1997; Delazari et al. 1998; Siragusa et al. 1999; Hernández et al. 2007; Koomaraie et al. 2007), *Salmonella spp* (Bouttier et al. 1996; Sammarco et al. 1997; Sofos et al. 1999; Hernández et al. 2007) y en menor medida *Campylobacter jejuni* (Grigoriadis et al. 1997; Lee et al. 1998; Rosenquist et al. 2006) entre otros microorganismos. A fin de contribuir en la disminución de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en México por consumo de carne de bovino, el presente estudio se realizó en un rastro municipal y tuvo como objetivo reducir el número de microorganismos indicadores de la carne como mesófilos aerobios, coliformes totales y coliformes fecales presentes en las superficies de las canales, mediante la combinación de estrategias de intervención utilizando aspersión de solución de ácido acético al 2% a temperatura ambiente ($22\pm 3^{\circ}\text{C}$) a diferentes presiones y duraciones en su aplicación con los lavados habituales del rastro con agua de la red municipal.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La contaminación de la carne con agentes patógenos ha suscitado gran preocupación en el comercio mundial (Sofos et al. 2000), según la Organización Mundial de la Salud, las ETA son una de las principales causas de enfermedad entre la población mundial. En México la prevalencia de ETA ocasionadas por consumo de carne o productos cárnicos, se ha convertido en un problema importante de salud pública que se va incrementando día con día (NOM-122-SSA1, 1994).

Para reducir la contaminación de la carne en muchos países se están estudiando diferentes estrategias de intervención y sus efectos sobre los microorganismos que tienen impacto tanto en el aspecto económico de los productores como en aspectos de salud pública. Bolder (1997) comenta al respecto que las estrategias de intervención por sí solas no conllevan a la sanidad total de los alimentos dado el constante flujo de bacterias en el ambiente y la inevitable contaminación cruzada dentro de una planta de procesamiento por lo que la eliminación de patógenos mediante la crianza de animales libres de patógenos específicos (SPF), podría ser la solución para combatir éste problema aunque resulta ser una medida muy costosa, por lo tanto, la descontaminación de canales, carne o productos cárnicos parece ser por ahora la única posibilidad de obtener productos libres de patógenos (Bolder, 1997).

Durante el proceso de obtención de la carne, ésta se contamina al entrar en contacto con la piel y el pelo, patas, sangre, contenido estomacal e intestinal, bilis y otras excreciones del animal, las instalaciones, equipo, manos y ropas de los trabajadores e incluso el ambiente (Rahkio and Korkeala, 1997; Sammarco et al. 1997; Tinney et al. 1997; Delazari et al. 1998; Siragusa et al. 1999; Sofos et al. 1999) durante las diferentes etapas del proceso como son corte de miembros (anteriores y posteriores), desollado (Baird et. al. 2006; Koomaraie et al. 2007), evisceración, división de la canal, lavado de medias canales, enfriamiento, almacenamiento y en su caso deshuese. (Escutia, 1996; Sammarco et al. 1997; McEvoy et al., 2007).

Sólo una fracción de esta flora microbiana es eliminada por el lavado de canales que se practica comúnmente en los rastros (Bouttier et al. 1996; Bolton

et al. 2001) por lo que la carne debe ser preservada por otros métodos para mantener su calidad intrínseca e inocuidad (Fernandes et al. 1998).

Las bacterias por lo general se encuentran confinadas a la superficie de las carnes durante la fase de crecimiento logarítmico, e interviene en su adhesión al sustrato la carga superficial de los microbios y su hidrofobicidad (Mossel, 2003).

La facilidad y firmeza con la cual una bacteria se adhiere a la superficie de las canales durante la matanza juega un papel importante en la calidad sanitaria de la carne resultante (Delazari et al. 1998). Si las bacterias se encuentran a no menos de 50nm de distancia de la superficie sólo intervienen fuerzas de van der Waals, mientras que a distancias de 10 a 20nm pueden tener lugar las fuerzas electrostáticas; para ambos tipos de interacción, la unión bacteriana a la superficie tiende a ser reversible. Si disminuye la distancia de las superficies involucradas, grupos hidrófobos de ambos lados excluirán agua del espacio entre ellas permitiendo así su interacción, dando como resultado la unión irreversible (Bouttier et al. 1996).

II.1 Estrategias de intervención en el proceso de la carne

A nivel mundial la creciente preocupación y conciencia en torno a las ETA ha originado la creación de métodos de preservación de la carne en canal como el uso de tratamientos antimicrobianos entre otros, es lo que se conoce como “Estrategias de Intervención”; de allí ha surgido la importancia de determinar los efectos que tienen estas diferentes estrategias sobre la ecología microbiana cuando las bacterias son introducidas a las canales durante el proceso de matanza (Dorsa et al. 1998).

Desde la década de los 90 en la Unión Europea, los productores de carne se vieron obligados a estudiar sus procesos de producción y encontrar, monitorear y controlar los puntos críticos mediante sistemas de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control. Derivado de esto, se han incluido en las cadenas de producción diferentes estrategias de intervención que ya forman parte de los procesos habituales de obtención de la carne (Bolder, 1997).

También, desde hace más de una década en los Estados Unidos de Norteamérica, muchas estrategias ya han sido aprobadas por el Departamento

de Agricultura a través del departamento de Sanidad de Alimentos y Servicios de Inspección (USDA-FSIS) (Castillo et al. 1998) y las plantas de procesamiento de carne requieren cumplir con los lineamientos del Reglamento Final para la Reducción de Patógenos, así como el Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control para carnes y aves (Federal Register. 1996 Pathogen Reduction; Hazard Analysis and Critical Control Point Systems, Final Rule. Fed. Regist. 61:38806-38989; Castillo et al. 1998).

Si bien existe un marco legal que determina los límites microbiológicos permitidos en la carne, la reducción de microorganismos representa un costo adicional de producción (Wray-Cahen et al. 1998) por lo que se están diseñando diferentes estrategias de intervención cada vez más eficientes para lograr la reducción de agentes patógenos en la carne al menor costo y se busca la forma de lograr llevarlas a cabo con éxito en los establecimientos destinados al sacrificio de animales (Bolder, 1997).

Se han descrito numerosos tratamientos los cuales pueden clasificarse en 4 grupos principales: Agentes físicos, agentes químicos, agentes biológicos y la combinación de éstos (Bolder, 1997; Hugas, 2008). (Anexo 1).

II.2 Agentes físicos

El problema de la contaminación de la carne ha sido abordado mediante diferentes perspectivas, hace ya décadas que se han utilizado diversas técnicas, como el uso de empaques al vacío (Ariyapitipun et al. 1999; Kain et al. 2001) y empaques con atmósferas controladas o modificadas en el producto terminado (Grigoriadis, 1997; Lee, 1998) lo que ha causado un gran avance en el control microbiano. También se ha utilizado el recorte, que es útil para la remoción física de áreas pequeñas de las canales que han sido contaminadas con materia fecal (Castillo et al. (1,2), 1998; Delazari et al. 1998). Por otro lado, se han establecido los lavados con agua potable (Castillo et al. 1998; Delazari et al. 1998; Dorsa et al. 1998; Castillo et al. 1999; Cutter, 1999) como método de reducción de contaminantes en las canales. Bolton et al. (2001) demuestran que los lavados con agua, además de eliminar restos de sangre y fragmentos de hueso llegan a reducir la contaminación bacteriana. Sin embargo, se encontró que su uso reduce el número de bacterias en sólo en sitios

específicos de la canal además de que las distribuye hacia otras áreas de la misma, por lo que el lavado con agua sólo se limita a mejorar la apariencia de las canales y no debe considerarse como método de descontaminación (Bolton et al., 2001). Por otro lado, se ha comprobado que su efectividad sólo se incrementa cuando se incrementa la temperatura del agua (Hugas, 2008).

Se ha investigado también el efecto del lavado de pieles de los animales en pie (Koomaraie et al. 2007), el uso de agua a alta presión (Castillo et al. 1998) y agua a alta temperatura (Castillo et al. 1998; Delazari et al. 1998; Dorsa et al. 1998; Ware et al. 1999). Adicionalmente Bolton et al. (2001), mencionan que el efecto microbiológico se debe a la temperatura más que al arrastre de bacterias, además de que ésta técnica puede provocar decoloración de las superficies de corte de las canales. Otros métodos como el vapor de agua (Delazari et al., 1998; Castillo et al., 1999; Bacon et al., 2000;) pasteurización con vapor (Bacon et al. 2000; Delazari et al. 1998) y vapor al vacío (Castillo et al. 1998) también han sido utilizados, sin embargo existen datos de que éstos métodos pueden reducir bacterias de origen fecal sobre canales de res aunque no han sido diseñados para descontaminar grandes áreas de superficie de las canales (Castillo et al. 1998).

También se ha estudiado la depilación química de animales en la que se ha visto que se incrementa la limpieza de las canales de forma visual pero no reduce las cuentas bacterianas cuando se comparan éstas con las cuentas bacterianas de canales no depiladas (Castillo et al. 1998), la aplicación de radiaciones (rayos gamma o ultravioleta) y pulsos eléctricos, que mediante su uso combinado con ácido acético al 2% se puede obtener una reducción de hasta 1 log UFC/cm² de superficie (Tinney et al. 1997) y el uso de bacteriocinas (nisina), aunque, si bien la nisina por si sola no es efectiva para limitar el crecimiento de microorganismos, se ha observado que en combinación con ácido láctico reduce significativamente el desarrollo de bacterias psicrófilas y mesófilas (*pseudomonas* y *enterobacterias*) hasta por 56 días. (Ariyapitipun et al. 1999).

II.3 Agentes químicos

Muchos agentes químicos han sido probados para la reducción de la contaminación bacteriana. Ransom et al. (2003) mencionan que en general los productos químicos pueden lograr la reducción de 1 a 3 logaritmos la incidencia de patógenos y otras cuentas bacterianas sobre las canales o sus cortes. (Ransom et al. 2003; Stopforth et al. 2003)

Entre los agentes químicos más utilizados en la industria de la carne se encuentran el trifosfato de sodio, (Xiong et al. 1998; Dorsa et al. 1998), el cloro (Koomaraie et al. 2007; Reyes et al. 2000; Xiong et al. 1998), el peróxido de hidrógeno (Delazari et al. 1998), ácidos orgánicos como: ácido láctico (Ariyapitipun et al. 1999; Castillo et al. 1998; Dorsa et al. 1998; Kain et al. 2001) y ácido acético (Bacon et al. 2000; Cutter, 1999; Delazari et al. 1998; Dorsa et al. Kain et al. 2001; Ouattara et al. 1997; Tinney et al. 1997; Ware et al. 1999).

Aunque Bolton (2001) citando a Smulders and Greer (1998) señala que mientras que en Estados Unidos de Norteamérica los ácidos orgánicos son utilizados como parte de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) su uso no está permitido por las regulaciones de la Unión Europea como descontaminante de canales (Bolton, 2001).

Otros ácidos como glucónico, sórbico, benzoico y cítrico (Delazari et al. 1998; Ouattara et al. 1997), solos o combinados (Cutter, 1999), a diferentes temperaturas, concentraciones y presiones (Castillo et al. 1998; Cutter, 1999) o incluso en combinación con métodos físicos (Bolder, 1997) también han sido estudiados.

II.3.1 Ácidos orgánicos

Entre los diversos tratamientos para la descontaminación de canales se incluye el uso de agentes sanitizantes como los ácidos orgánicos (Castillo et al. 1998), de éstos agentes puede esperarse la reducción de hasta 1.5 logaritmos de las cuentas bacterianas en la superficie de las canales (Smulders and Greer, 1998).

El lavado por aspersión con estas sustancias es una de las opciones más prácticas y estudiadas, debido a que presenta una serie de ventajas que

justifican su estudio y aplicación, por ejemplo: es de bajo costo, puede ser aplicado en cualquier lugar, requiere un mínimo espacio y no es necesario modificar la línea de proceso (Reyes et al. 1998). Según Smulders (1998) la aspersión de canales con ácidos orgánicos tiene mayores ventajas sobre otras estrategias de intervención por su actividad antimicrobiana residual tras largos períodos de almacenamiento, aunque por otro lado, Bolton (2001) señala que no hay evidencia de que tengan un efecto letal significativo por si mismos puesto que sólo mata algunas células bacterianas y daña a muchas otras en la superficie de las canales.

Muchos ácidos orgánicos se emplean como aditivos de alimentos, su efectividad antimicrobiana se relaciona con el pH y la forma no disociada del ácido es la responsable de la inhibición de los microorganismos (Ariyapitipun et al. 1999; Sawyer and Apple, 2007; Davidson, 2007), ésta forma penetra a la célula microbiana y se disocia dentro del citoplasma; la acidez afecta la respiración celular al interferir con las funciones enzimáticas y el transporte de la membrana (Ariyapitipun et al. 1999).

Los ácidos orgánicos también tienen influencia en la pared celular de células procariotas e interfieren de forma significativa con su síntesis de proteínas o su material genético. Los protones generados de la disociación intracelular acidifican el citoplasma y lo empujan hacia fuera de la célula (Davidson, 2007).

El período en que se mantiene un efectivo pH de los ácidos sobre la superficie de las canales depende de la concentración del ácido usado, su velocidad de difusión dentro de la carne y la capacidad buffer de ésta (Ariyapitipun et al. 1999). Los ácidos orgánicos son ácidos débiles cuyo pK se encuentra en un rango de 3 a 5 y poseen ciertos niveles de capacidad buffer (Fang, 2003). El uso de ácidos orgánicos generalmente se limita a alimentos con un $pH < 5.5$ (Davidson, 2007). Según Bolton (2001) los límites críticos para la utilización de ácidos orgánicos son: (i) Concentración del ácido: 2.5-10%, (ii) pH del ácido: 2.8, (iii) temperatura: 25-55°C, (iv) presión de aplicación: 13.8-27.6 Pa, (v) volumen aplicado: 500ml y (vi) duración de aplicación: 35 segundos.

La actividad antimicrobiana de los ácidos orgánicos se puede potenciar o incrementar combinando su uso con otros preservadores de alimentos (Venkitanarayanan, 1999).

Aunque se ha estudiado poco, se ha observado que el uso de ácidos orgánicos en carne puede incrementar la solubilidad del colágeno, reducir la fuerza de corte, reducir el pH y en particular mejorar el color de la carne fresca (Sawyer and Apple, 2008).

Si bien el mecanismo por el cual la acidez altera las propiedades postmortem de la carne no está bien entendido, algunos estudios han demostrado que un bajo pH puede inducir el incremento de tamaño de las fibras musculares y/o el tejido conectivo y acelerar el debilitamiento proteolítico de la estructura muscular y/o incrementar la solubilidad del colágeno durante el cocinado. Se sabe que el ácido láctico ha demostrado que previene la no deseada apariencia cruda o el color rosado persistente en empanadas provenientes de carnes de corte oscuro (Sawyer and Apple, 2008).

II.3.1.1 Ácido acético

El ácido acético (CH_3COOH) presenta una masa molecular de 60.05 kDa, es incoloro, transparente, solidifica a 17°C , punto de ebullición a 118°C y es miscible con el agua.

En forma natural se produce por bacterias del género *Acetobacter* por medio de la oxidación de ethyl-alcohol. En forma sintética se produce a partir de la oxidación de acetaldehído o carbohidratos (Lueck, 1980).

Este ácido inhibe principalmente levaduras y bacterias de los géneros *Bacillus spp*, *Clostridium spp*, *Pseudomonas spp*, *Campylobacter jejuni*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus* (Davidson, 2007), y las enterobacterias mesófilas, que son los microorganismos más sensibles a los ácidos orgánicos en comparación con otros patógenos (Smulders, 1998).

Delmore (2000) afirma que su uso al 2% en forma de spray o inmersión durante 10 segundos es uno de los tratamientos más efectivos para la reducción de microorganismos mesófilos aerobios, bacterias coliformes totales y *Escherichia coli* en diferentes órganos de bovino como intestino grueso,

labios, lengua, carrillos, hígado y cola. En alimentos que presentan un pH de entre 5 y 6 su acción se duplica (Lueck, 1980).

No existen reportes de toxicidad cuando se usa como preservador de alimentos y no hay restricciones de uso en la industria alimentaria; se considera como GRAS, es decir, Generalmente Reconocido como Seguro (por sus siglas en inglés) de acuerdo a lineamientos incluidos en el Code of Federal Regulations, Title 21 / 182.1005, pero se sabe de cierta toxicidad cuando se tienen concentraciones de hasta 30% en contacto directo con la piel (Lueck, 1980) y Bolton (2001) menciona que las canales pueden decolorarse y los operadores pueden experimentar irritación en ojos y piel al utilizarlo.

II.3.1.2 Mecanismo de acción del ácido acético

Las bacterias patógenas presentes en los alimentos pueden tener diferentes potenciales de patogenicidad y pueden responder de forma diferente ante las condiciones cambiantes del ambiente (Stopforth et al. 2007).

Uno de los principios fundamentales en la seguridad de los alimentos se basa en la división de éstos en ácido-bajos y ácido-altos y la aplicación de tratamientos de preservación se rige por estos dos casos. El límite de pH 4.6 se basa en la concentración de iones hidrógeno. Este principio parece adecuarse a la mayoría de los casos pero ocasionalmente ocurren fallas cuando un microorganismo es capaz de crecer en algún alimento, a veces la falla da como resultado el deterioro del alimento pero cuando se trata de un patógeno, las consecuencias para la salud pública pueden ser severas (Nakai et al. 2004).

II.4 Resistencia bacteriana

La virulencia de algunas bacterias se debe en parte a su habilidad para sobrevivir al bajo pH del estómago, la membrana permeable al ácido podría inducir genes reguladores de pH y el bajo pH en el citoplasma puede desencadenar la resistencia al ácido de bacterias como *E. coli*, por ejemplo (Diez-González, 1999).

Los patógenos sobrevivientes presentes en las canales que se han enfrentado a intervenciones de descontaminación son potencialmente

adaptables a los efectos residuales de estas intervenciones (Stopfoth et al. 2007).

En diversos microorganismos adaptados a ambientes ácidos se pueden observar efectos de protección cruzada dados por el uso de ácidos orgánicos.

Por ejemplo *Salmonella Typhimurium*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli*, aumentan su resistencia a otros factores estresantes como el calor, estresantes osmóticos, exposición al lactado de sodio y cloruro de sodio (Ryuand, 1999; Stopforth et al. 2007), lactoperoxidasas, cristal violeta e incluso irradiación cuando han sido expuestos a ácidos orgánicos. Las células en fase estacionaria son típicamente más resistentes a los ácidos que las células en fase exponencial y ello puede ser atribuido a la expresión de genes como *rpo-S* (Buchanan, 1999).

Hugas, (2008) citando a Samelis, (2005) menciona que el uso de ácidos orgánicos en las plantas de procesamiento de carne puede ser una causa potencial de selección de bacterias resistentes al ácido que pueden proliferar sobre las canales ya lavadas con ácidos cuando un nicho bacteriano se ha establecido ya en las instalaciones de la planta, pero si los ácidos orgánicos se usan en combinación con otros métodos, puede dar paso a un sinergismo efectivo para la inhibición o inactivación de microorganismos presentes en las canales dado que dos o más métodos utilizados a dosis reducidas son más efectivas que un sólo método a dosis óptima (Hugas, 2008).

Los microorganismos que se multiplican durante la fermentación de un alimento (p.e. salami, yogurt) experimentan adaptación ácida dado que el pH se reduce gradualmente y el caso del choque ácido se debe a cambios súbitos del pH. Esta forma de adaptación puede darse durante la contaminación cruzada de alimentos ácidos donde las bacterias no han crecido en ambientes ácidos (Ryuand, 1999; Stopfoth et al. 2007).

La virulencia de algunas cepas bacterianas es parcialmente dependiente de la habilidad de éstas para sobrevivir al bajo pH del estómago, por ejemplo *E. coli*. Los ácidos permeables en las membranas pueden inducir la formación de genes reguladores de pH, los descensos del pH en el citoplasma pueden disparar la resistencia a los ácidos.

Los mecanismos de sobrevivencia de las bacterias se encuentran asociados a factores sigma que facilitan la unión de RNA polimerasa al DNA.

Se sabe que bacterias *E. coli* O157:H7 mutantes que carecen del gen *rpoS* del factor sigma son más sensibles al choque ácido que las cepas silvestres. *E. coli* produce este gen cuando alcanza la fase estacionaria y su síntesis puede aumentar cuando se encuentra en un bajo pH y condiciones anaerobias, tal como sucede en el tracto digestivo de animales y humanos (Diez-González, 1999).

II.5 Buenas prácticas de manufactura en rastros

El cuidado esmerado de la higiene durante la faena puede reducir de modo importante la carga microbiana de las carnes. El tratamiento con soluciones de ácido láctico o de fosfato trisódico, por ejemplo, suele reducir las enterobacterias y otros microorganismos patógenos, si se aplican dentro de las dos horas después del sacrificio, que es el momento en el que las bacterias gram-negativas todavía no se han fijado a los tejidos (Mossel, 2003).

Desde el momento del sacrificio hasta la llegada del producto al consumidor, se debe mantener una serie de condiciones que impidan el crecimiento de microorganismos deterioradores y patógenos que por un lado, alteren las características sensoriales del producto, haciéndolo inaceptable para su consumo y que por otro lado, puedan significar un riesgo para la salud del consumidor (SAGARPA SENASICA, Consejo Mexicano de la Carne, 2001).

Autoridades sanitarias de diferentes países del mundo consideran prioritario establecer medidas de inocuidad en los alimentos de origen pecuario, mediante la ejecución de acciones que minimicen los riesgos de contaminación, desde las unidades de producción hasta la comercialización del producto final para disminuir la incidencia de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en la población (USDA FSIS, 1996).

En la industria de la carne para lograr este objetivo, se deben establecer Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) en los rastros, que de entre sus acciones básicas se desprenden los Procedimientos de Operación Estándares de Saneamiento (POES), que son documentos donde se describen detalladamente las actividades para llevar a cabo la higiene y desinfección antes, durante y después de la jornada de trabajo, se especifica, quién las debe aplicar, cuál es la frecuencia de aplicación, con qué utensilios, cuáles

sustancias se deben aplicar, el tiempo de contacto de éstas y se debe describir la forma de enjuagarlas; se debe contar con bitácoras o registros para poder realizar en caso necesario las acciones correctivas si se presentan desviaciones o incumplimiento de los procedimientos y debe haber un supervisor responsable de que se lleven a cabo estas actividades (SAGARPA SENASICA, Consejo Mexicano de la Carne, 2001).

Cabe destacar que, a grandes rasgos, algunas de las BPM básicas en un rastro incluyen la limpieza general de equipo, utensilios, paredes, pisos y techos en las diferentes áreas de proceso, limpieza del personal y su vestimenta cuando tienen contacto directo con el producto, contar con estaciones de lavado y desinfección de manos y utensilios distribuidos adecuadamente en las áreas de proceso y finalmente la capacitación del personal sobre el manejo adecuado del producto final, la carne (USDA FSIS, 1996; SAGARPA SENASICA, Consejo Mexicano de la Carne, 2001).

III. OBJETIVOS

III.1 Objetivo General

Reducir la cuenta de microorganismos deteriorantes de la carne (mesófilos aerobios, coliformes totales y coliformes fecales), utilizando como estrategia de intervención la aspersión de canales de bovino con una solución de ácido acético al 2% a temperatura ambiente (20-22° C aprox.) aplicándola, en un grupo de canales antes de los dos lavados habituales del rastro y en otros dos grupos de canales después de dichos lavados, en un rastro municipal para evaluar su efecto descontaminante.

III.2 Objetivos específicos

III.2.1 Evaluar el efecto descontaminante de una solución al 2% de ácido acético aplicado a una presión de entre 10 y 30psi mediante aspersor manual durante 60 s a temperatura ambiente ($22\pm 3^{\circ}\text{C}$) por cm^2 de superficie de carne de bovino en canal mediante las determinaciones microbiológicas de microorganismos mesófilos aerobios, coliformes totales y coliformes fecales.

III.2.2 Evaluar el efecto descontaminante del lavado con agua a 2100psi durante 120-180 s seguido de la aplicación de una solución al 2% de ácido acético aplicado a una presión de entre 10 y 30psi mediante aspersor manual durante 60 s a temperatura ambiente ($22\pm 3^{\circ}\text{C}$) por cm^2 de superficie de carne de bovino en canal mediante determinaciones microbiológicas de microorganismos mesófilos aerobios, coliformes totales y coliformes fecales.

III.2.3 Evaluar el efecto descontaminante del lavado con agua a 2100psi durante 120-180 s, seguido de la aplicación de una solución al 2% de ácido acético aplicado a 1700psi durante 15 s a temperatura ambiente ($22\pm 3^{\circ}\text{C}$) por cm^2 de superficie de carne de bovino en canal mediante las determinaciones microbiológicas de microorganismos mesófilos aerobios, coliformes totales y coliformes fecales.

IV. HIPÓTESIS

Con la aplicación de la solución de ácido acético al 2% a temperatura ambiente ($22\pm 3^{\circ}\text{C}$), cuando se utiliza sola y combinada con los lavados habituales del rastro, se logra una mayor reducción del número de bacterias deterioradoras que proliferan en las superficies musculares de las canales de bovino en los rastros en contraste con el tratamiento control que consiste en sólo dos lavados con agua potable a 2100psi.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

V.1 Tipo de Estudio

El estudio se define como experimental, en virtud de que se han modificado las variables consideradas como causa dentro de una relación causa efecto y se han asignado al azar las unidades a las diversas variantes al factor causal. Es prospectivo debido a que los resultados se han colectado posteriormente a la planeación de la investigación. Tiene carácter longitudinal porque se ha medido la evolución de las variables en diferentes unidades de tiempo y se considera comparativo dado que en el presente estudio se buscó contrastar hipótesis de dos o más variables, en este caso, los tratamientos aplicados (Méndez, 2006).

V.2 Definición del lugar de trabajo

El estudio se llevó a cabo en el Rastro Frigorífico Los Reyes, La Paz, ubicado en la carretera libre México-Puebla km 21, Estado de México, el cual procesa ganado para el abasto público proveniente de los estados de Tabasco, Veracruz, Jalisco, Guerrero, Querétaro y Estado de México entre otros estados.

El rastro cuenta con 2 líneas de matanza, una de porcinos y otra de bovinos, en ésta última tienen 2 horarios de faenado, a las 02:00 y a las 10:00hrs con un volumen aproximado de 1,200 cabezas por semana.

V.3 Definición del tamaño de muestra

El plan de muestreo se determinó de acuerdo la extensión del peligro potencial de los microorganismos coliformes totales, coliformes fecales y mesófilos aerobios presentes en la carne en canal. (ICMSF, 1999)

Debido a que las condiciones normales de manipulación y consumo de la carne (incluyen cocinado) después del muestreo reducen el riesgo de enfermar por la presencia de microorganismos mesófilos aerobios y coliformes,

éstos se clasifican dentro de las categorías 1 y 4 respectivamente del ICMSF (ICMSF, 1998), que los clasifica como:

Para el caso de microorganismos mesófilos aerobios: Sin riesgo directo para la salud (contaminación general, reducción de vida útil, alteración), por lo que se puede aplicar un programa de muestreo de 3 clases con un tamaño de muestra $n=5$, $c=3$; donde n =número de muestra y c =número máximo permisible de unidades de muestra con resultados insatisfactorios, y para el caso de microorganismos coliformes totales y coliformes fecales: Peligro para la salud bajo, indirecto (indicadores), por lo que se puede aplicar un programa de muestreo de 3 clases con un tamaño de muestra $n=5$, $c=3$; donde n =número de muestra y c =número máximo permisible de unidades de muestra con resultados insatisfactorios, dichos programas se ajustan al tamaño de muestra utilizado en el presente estudio. (ICMSF 1999, Wachter, 1998) (Anexo 3).

En el presente estudio el tamaño de muestra de cada grupo de trabajo es mayor a 5 unidades.

V.4 Visita de verificación del establecimiento para obtener muestras del producto previamente a la aplicación de tratamientos

Considerando un estudio previo en otro rastro en México (Escutia, 2000) en donde se realizó un análisis de peligros para un plan HACCP, se señalan las etapas de evisceración y lavado de medias canales como Puntos Críticos de Control por lo que en el presente estudio se eligieron estas etapas del proceso para tomar muestras de las canales en el muestreo piloto y posteriormente a la aplicación de tratamientos (Anexo 2).

V.4.1 Etapa 1:

Muestreo piloto: En abril de 2008 se realizaron 2 muestreos ($n=26$) de medias canales a las que no se les aplicó estrategia de intervención o lavado alguno con la finalidad de conocer el estatus bacteriano existente sobre las mismas para posteriormente conocer la reducción o incremento de microorganismos que permanecen sobre las canales que son sometidas al

lavado habitual del rastro, dado que las canales lavadas solamente con agua de la red municipal fueron consideradas en el grupo control.

V.5 Selección de canales

V.5.1 Etapa 2: Parte experimental

Un total de 115 canales fueron sometidas a diferentes tratamientos con el fin de evaluar la disminución en la contaminación de las mismas.

Las canales que se seleccionaron durante los muestreos, tanto las del muestro piloto, las canales control y las canales para la aplicación de tratamientos fueron las que al momento del eviscerado sufrieron ruptura de vísceras.

Los tratamientos se aplicaron sobre las medias canales izquierdas mientras que las mitades derechas que habían sido sometidas a los dos lavados con agua de la red municipal se tomaron como canales control.

V.6 Preparación del tratamiento de intervención

La concentración seleccionada de ácido acético a usarse para la aplicación de tratamientos fue del 2%, porque de acuerdo con Ariyapitipun, (1999) es la concentración óptima para no provocar decoloración sobre las canales y el tiempo efectivo de exposición va desde 15 hasta 300 segundos; con esta concentración según Smulders y Greer, (1998) se puede lograr una reducción de 1 a 2 log/cm² en el número de bacterias aerobias totales recuperables de la superficie de las canales sin provocar cambios sensoriales en la superficie de las canales como olores y sabores desagradables, así como la corrosión del equipo utilizado (Smulders and Greer, 1998; Bolder, 1997).

El ácido acético glacial al 99% se diluyó en agua de la red municipal del rastro para obtener una solución al 2%, lo que constituyó la solución de lavado de los tratamientos.

V.7 Aplicación de la estrategia de intervención y toma de muestras

Siguiendo el proceso de trabajo del rastro, como estrategia de intervención, se efectuó la aspersion con solución de ácido acético al 2% a temperatura ambiente ($22\pm 3^{\circ}\text{C}$) aplicándolo previa y posteriormente a la etapa de lavado habitual de las medias canales (dos lavados con agua de la red municipal) y se tomaron muestras de la superficie de las canales ($n=115$) previa y posteriormente a la aplicación de la solución de dicho ácido para su análisis en el laboratorio.

Las muestras fueron tomadas de la región del pecho (Figura 1) de acuerdo a los lineamientos de la legislación europea establecidos en el *Oficial Journal of the European Communities L165/48; European Directive 2001/471/EC (2001)*; los lineamientos establecidos en la legislación norteamericana *Federal Register 61 (144): 38805-38928 (1996)* y en el *Codex Alimentarius* (Código de prácticas de higiene para la carne, 2005).

Los hisopos fueron frotados sobre un área de 10 x 10 cm de la superficie del pecho de las medias canales izquierdas mediante 10 movimientos en sentido vertical y 10 movimientos en sentido horizontal, prehumedecidos en los 15 ml del agua peptonada contenida en los tubos de transporte. Se tomaron 2 hisopos de cada media canal; los tubos con las muestras se depositaron en una hielera a temperatura de refrigeración y se trasladaron al laboratorio dentro de las primeras 3 horas desde su obtención, de acuerdo al Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos.

V.7.1 Diseño Experimental

En la Etapa 2. Parte experimental, se establecieron 4 grupos de trabajo:

Grupo 1) constituido por las medias canales control que son sometidas a dos lavados con agua de la red municipal a 2100psi/120-180 s cada lavado y sin tratamiento con ácido acético ($n=44$).

Los grupos 2, 3, y 4 correspondieron a las medias canales sujetas a los tres tratamientos que se evaluaron como estrategias de intervención y que

consistieron en la aplicación de solución de ácido acético al 2% a 22°C \pm 3°C sobre las superficies de la región del pecho de las medias canales, los cuales se describen como:

Grupo 2 o tratamiento A) Aspersión manual con la solución de ácido acético al 2% a una presión de 10-30psi/60 s utilizando 1000 ml de solución por cada media canal y aplicado después del eviscerado y antes de los dos lavados con agua de las medias canales, las muestras se tomaron a los 5-8 minutos después de la aplicación debido a que es el tiempo que transcurre entre estos dos pasos del proceso de matanza ($n=16$).

Grupo 3 o tratamiento B) Aspersión manual con la solución de ácido acético al 2% a una presión de 10 a 30psi/60 s utilizando 1000 ml de solución por cada media canal, aplicado después de los dos lavados con agua de las medias canales y cuya recolección de muestras se realizó 60 minutos después de la aplicación ($n=32$).

Grupo 4 o tratamiento C) Aspersión con bomba de motor de la solución de ácido acético al 2% durante 15 s a una presión de 1700psi utilizando 10 lt de solución por cada media canal, aplicado después de los 2 lavados con agua de las medias canales, las muestras se recolectaron 60 minutos después de la aplicación ($n=23$). (Anexo 4).

V.8 Determinaciones Microbiológicas

Se hicieron determinaciones de microorganismos deterioradores de la carne como coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) mediante la técnica del número más probable (NMP) y cuenta de mesófilos aerobios mediante la técnica de cuenta en placa (CMA).

En este estudio los métodos utilizados para el aislamiento y recuento de los microorganismos que se encuentran en la carne requieren un tratamiento de preenriquecimiento de la muestra para liberar en un medio fluido aquellos microorganismos que pueden estar aprisionados en el interior del alimento o en las superficies secas o gelatinosas (ICMSF, 1998).

V.8.1 Determinaciones de coliformes totales y coliformes fecales

Para determinar la presencia y cuantificación de coliformes totales y coliformes fecales se siguió la técnica establecida en la *NOM-112-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Determinación de Bacterias Coliformes. Técnica del número más probable (NMP)*. (Anexo 5)

V.8.2 Determinaciones de mesófilos aerobios

El método de prueba para determinar la presencia y cuantificación de Microorganismos Mesófilos Aerobios se realizó de acuerdo a la *NOM-092-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de Bacterias Aerobias en Placa*. (Anexo 6).

V.8.3 Manejo de residuos peligrosos

La disposición final de los cultivos y cepas del laboratorio utilizados se llevó a cabo de acuerdo a lo establecido en el Procedimiento para el Manejo de Residuos Peligrosos (PMRP-UNAM-MV-01) del Soporte Documental del Sistema de Gestión de la Calidad (CIMARPE, 2005).

V.9 Análisis estadístico

Dado que en el presente estudio se encontró una amplia variabilidad en los resultados de cada grupo de estudio se hicieron contrastaciones de hipótesis de nulidad (H_0) mediante pruebas no paramétricas de Bonferroni a través de ANOVA del paquete SPSS versión 10.0 para Windows. Se plantearon las siguientes hipótesis:

H_0 = No existe diferencia significativa entre el efecto antimicrobiano de los diferentes tratamientos y la carga microbiana de las canales control.

H_a = Existen diferencias significativas entre el efecto antimicrobiano de los diferentes tratamientos y la carga microbiana de las canales control.

Como variables independientes se utilizaron los tratamientos con ácido acético de la siguiente forma:

- Tratamiento A) Ácido acético al 2% aplicado con aspersor manual a una presión de 10-30psi, a $22\pm 3^{\circ}$ C.
- Tratamiento B) Dos lavados con agua a 2100psi seguidos del lavado con ácido acético al 2% aplicado con aspersor manual una presión de 10-30psi a $22\pm 3^{\circ}$ C.
- Tratamiento C) Dos lavados con agua a 2100psi seguidos del lavado con ácido acético al 2% aplicado con bomba de motor una presión de 1700psi a $22\pm 3^{\circ}$ C.

Como variables dependientes de los tratamientos aplicados se midieron:

- Número más probable de coliformes totales por cm^2 de superficie de las canales.
- Número más probable de coliformes fecales por cm^2 de superficie de las canales.
- Logaritmo base de unidades formadoras de colonias de mesófilos aerobios por cm^2 de superficie de muestra.

VI. RESULTADOS

VI.1 Etapa 1. Muestreo piloto

Las muestras analizadas en el laboratorio, tomadas de las medias canales que no recibieron tratamiento ni los dos lavados habituales con agua de la red municipal, dieron como resultado en las determinaciones de coliformes el número más probable (NMP) de 338.5 \pm 85.73 de coliformes totales (CT) por cm² de superficie de las canales, el NMP de 230.8 \pm 67.22 de coliformes fecales (CF) por cm² de superficie (Cuadro 1) y 3.3 \pm 0.3849 logaritmo de unidades formadoras de colonias por cm² (UFC log/cm²) de Microorganismos Mesófilos Aerobios (CMA) sobre la superficie de las medias canales (P<0.05) (Cuadro 2).

VI.2 Etapa 2. Parte experimental

VI.2.1 Lavados con agua a 2100psi (grupo control)

Las 44 muestras analizadas de las medias canales del grupo control que fueron lavadas 2 veces a 2100psi durante 60-90 s en cada lavado, dieron como resultado para coliformes totales un NMP de 34.7 \pm 12.3 CT/cm², para coliformes fecales un NMP de 34.7 \pm 15.29 CF/cm² (Cuadro 3) y para mesófilos aerobios 3.9 \pm 8.36 UFC log/cm² (Cuadro 4). En ésta última determinación el número de microorganismos mesófilos aerobios después de los lavados con agua se encuentra incrementado significativamente con respecto a los resultados de canales no lavadas en el muestreo piloto (P<0.05).

VI.2.2 Tratamiento A) Ácido acético al 2% aplicado con aspersor manual a una presión de entre 10 y 30psi/60 s a 22 \pm 3°C sin los lavados previos con agua de la red municipal.

El ácido acético al 2% a 10-30psi aplicado con aspersor manual durante 60 segundos sobre las medias canales previo al lavado habitual del rastro, mostró actividad antimicrobiana de forma que la reducción de coliformes totales

el NMP/cm² fue de: 34.7 a 31.6 (8.83%), la reducción de coliformes fecales fue de 34.7 a 31.8 NMP/cm² (8.31%) (Cuadro 5) y para mesófilos aerobios la reducción fue de 3.9 a 3.4 (12.38%) UFC log/cm² (Cuadro 6). En este caso existe una reducción significativa (P<0.05) de microorganismos respecto a las canales control.

VI.2.3 Tratamiento B) Ácido acético al 2% aplicado con aspersor manual a una presión de entre 10 y 30psi/60 s a 22°C ±3°C, aplicado después de 2 lavados con agua de la red municipal a 2100psi/120-180 s cada uno.

En el caso de las medias canales sobre las que se efectuaron los dos lavados habituales del rastro con agua a 2100psi durante 120-180 s cada lavado, seguidos de la aplicación la solución de ácido acético al 2% a presión con aspersor manual durante 60 s se encontró que la reducción de microorganismos en las determinaciones microbiológicas fueron: para coliformes totales de 34.7 a 4.0 (88.7%) NMP/cm², para coliformes fecales el NMP/cm² se redujo de 34.7 a 4.0 (88.47%) (Cuadro 7) y para mesófilos aerobios la reducción fue de 3.9 a 2.5 (36.6%) UFC log/cm² (Cuadro 8) con lo cual se hace evidente el efecto del ácido acético sobre la población microbiana de la superficie de las canales (P<0.05).

VI.2.4 Tratamiento C) Ácido acético al 2% a 1700psi/15s/22°C ±3°C aplicado posteriormente a 2 lavados con agua de la red municipal a 2100psi/120-180 s cada uno.

Los resultados de este grupo de estudio en el cual las medias canales recibieron los dos lavados habituales del rastro con agua a 2100psi durante 120-180 s cada uno, además de la aplicación la solución de ácido acético al 2% a 1700psi durante 15 s a 22±3°C, mostraron una reducción microbiana de coliformes totales de 34.7 a 7.5 NMP/cm² (reducción del 78.32%) para coliformes fecales de 34.7 a 5.4 NMP/cm² (reducción de 84.46%) (Cuadro 9) y en el caso de mesófilos aerobios fueron de 3.4 a 3.0 UFC log/cm² (reducción de 21.65%) (Cuadro 10) en este caso se aprecia una reducción altamente

significativa ($P < 0.05$) de microorganismos en las tres determinaciones microbiológicas con respecto a las medias canales del grupo control.

VII. DISCUSION

El principal objetivo de la utilización de algunas bacterias como indicadores de prácticas no sanitarias es revelar deficiencias en la manipulación higiénica de las canales que conllevan un peligro potencial, peligro que no está necesariamente presente en la muestra particular examinada pero que es probable que pueda encontrarse en muestras paralelas (ICMSF, 1998).

Si bien la NOM 213-SSA1-2002. (Productos y Servicios. Productos cárnicos procesados. Especificaciones sanitarias. Métodos de prueba, señala que no existe un número límite máximo de microorganismos coliformes fecales y mesófilos aerobios en la carne cruda, es importante recordar que la presencia de estos microorganismos son indicadores de las malas prácticas sanitarias de los rastros, por lo que la probabilidad de que existan microorganismos patógenos asociados sobre la carne es alta (ICMSF, 1998).

En el presente estudio se observó una amplia variabilidad en los resultados individuales de cada tratamiento que puede deberse a que el ganado que se procesa en el rastro proviene de diferentes estados de la República Mexicana y por lo tanto la cantidad de microorganismos presente en los animales es muy heterogénea, que a su vez puede deberse a un contenido intestinal diferente y diferencias en los períodos de estancia y ayuno en el rastro previos al sacrificio.

En la etapa 1, el muestreo piloto mostró que la carga bacteriana de CT y CF presente en las canales cuando no se utiliza ninguna estrategia de intervención fue menor con respecto a la carga bacteriana presente sobre las canales en un estudio realizado por Castillo et al. (1997) donde canales que no han sido tratadas por algún tipo de intervención mostraron $7.4 \log_{10}$ UFC/cm² en mesófilos aerobios y $5.1 \log_{10}$ UFC/cm² en coliformes totales logrando la reducción de $3.4 \log_{10}$ UFC/cm² y $3.9 \log_{10}$ UFC/cm² tras aplicar un método de intervención, en este caso depilación química.

En el caso de las canales control sometidas a los dos lavados habituales del rastro en donde se usa agua de la red municipal, los resultados coinciden con los de un estudio de Ariyapitipun et al. (1999) en el que al comparar diferentes estrategias de intervención sobre chuletas de res, muestra que con

lavados con agua o incluso con un tratamiento con nisina, no se inhibe significativamente el crecimiento de microorganismos psicrótrofos y mesófilos del género *Enterobacteriaceae* y bacterias del género *Pseudomonas* sino hasta el día 56 de tratamiento.

En los Cuadros 5 y 6, se observa que en el experimento 2, en el grupo de las canales sometidas solamente al tratamiento de ácido acético al 2% utilizando aspersor manual, a 10-30psi durante 60 s, comparando con el grupo control, se logró una reducción de microorganismos pese a que en el grupo de canales tratadas, el período de acción del tratamiento fue de 5 a 8 minutos debido a que las muestras se tomaron antes de que las canales fueran sometidas a los dos lavados habituales del rastro. Resultados de Delazari et al. (1997) indican que con el uso de ácido acético al 1.5% a 20° C en las muestras obtenidas inmediatamente después de su aplicación se observa la reducción de $<0.3 \log \text{ UFC/cm}^2$ de *E. coli* O157:H7 previamente inoculado y, también coincidiendo con Dorsa et al. (1998) se pueden obtener reducciones de microorganismos patógenos como *E. coli*, *Listeria innocua*, *Salmonella typhimurium* y *pseudomonas* utilizando solución de ácido acético al 2% dentro de los primeros 30 minutos después de su aplicación.

En un estudio de Bacon et al. (2000) en donde se combinan diferentes intervenciones de descontaminación de canales, se encontró que al incrementar el número de éstas se tienen importantes reducciones de microorganismos sobre las canales, por ejemplo, el autor hace un lavado de canales seguido de un enjuague con solución de ácido acético a una concentración de 1.6-2.6%, antes del eviscerado y el mismo procedimiento después del eviscerado, el autor encontró que en muestras tomadas antes del eviscerado, la cuenta bacteriana de coliformes totales fue de 4.8 UFC log/100cm², para mesófilos aerobios fue de 8.0 UFC log/100cm² y para el caso de *Escherichia coli* de 3.9 UFC log/100cm², mientras que en muestras tomadas después del eviscerado (dos lavados más dos enjuagues acumulados) las cuentas de microorganismos fueron de 4.3 UFC log/cm² en coliformes totales, en tanto que para mesófilos aerobios fue de 8.5 UFC log/cm² y para *E. coli* fue de 3.8 UFC log/cm², éstos resultados comparados con los del presente estudio en el caso de la combinación de los 2 lavados de agua a 2100psi seguidos del lavado con ácido acético al 2% utilizando aspersor manual a presión de 10-

30psi durante 60 segundos la reducción de microorganismos fue del 93.9% para coliformes totales, 93.7% de coliformes fecales y 36.6% para el caso de mesófilos aerobios; mientras que con el tratamiento de ácido acético a la misma concentración y a presión de 10-30psi, utilizando aspersor manual pero sin los lavados previos con agua de la red municipal las reducciones fueron de 8.8% en coliformes totales, 8.3% en coliformes fecales y de 12.4% para mesófilos aerobios. Por otro lado, en un trabajo de Tinney (1996), donde se aplicó ácido acético al 2% en spray en muestras de carne, encontró 61% menos bacterias coliformes y al usar ácido acético en combinación con pulsos eléctricos encontró 65% menos bacterias coliformes respecto a las muestras de carne control (muestras previamente inoculadas con *E. coli* O157:H7). Delazari et al. (1997) en su estudio muestran que con la combinación del lavado con agua, seguido de la aplicación de ácido acético al 2% a 55° C a una presión de 40lb/pulgada, se obtiene la reducción de 2.4 a 3.7 log UFC/cm² (Cuadro 7).

En el presente estudio, para las canales a las que se aplicaron los 2 lavados habituales del rastro seguidos de la aplicación del tratamiento de ácido acético a una presión de 1700psi/15 s a 22 ±3°C, los resultados indican que hubo una notable reducción de microorganismos con respecto a las canales control, pero, como puede observarse en la reducción de microorganismos resultó ser menor a la reducción obtenida en el segundo tratamiento donde se aplica una presión menor. Lo anterior puede sugerir que a pesar de la similitud en la concentración y temperatura del ácido acético en cada tratamiento, la duración en el tiempo de lavado puede tener influencia en el efecto de reducción de microorganismos; en estas canales se redujo el tiempo de exposición al tratamiento porque, como lo señala Bolton (2001), puede ocurrir la decoloración temporal de las canales y en el presente estudio los grupos de experimentación eran canales que salen a la venta para el abasto público (Cuadros 9 y 10).

Citando a Bacon et al. (2000) los elevados niveles de contaminación en el tratamiento C del presente estudio pueden atribuirse a los efectos individuales de la evisceración o los efectos del lavado del rastro u otra forma de contaminación durante el proceso de faenado.

Coincidiendo con Hugas (2008), se hace patente que al incrementar el número de intervenciones sobre las canales, la acción del tratamiento con

ácido acético se potencializa aún cuando se utilizan las mismas dosis, tiempos de aplicación, presiones y temperaturas a diferencia del tratamiento aplicado de forma independiente.

Resultados obtenidos por Delmore (2000) después de usar ácido acético al 2% durante 10 s a diferentes vísceras, indican que al menos en los intestinos en los que existía una contaminación inicial de 2.1 log UFC/cm² (previo a la inmersión en la solución) y 2.4 log UFC/cm² (previo a la aplicación de spray de la misma solución) log UFC/cm² de coliformes totales, obtuvo una reducción de 1.4 y 1.5 log UFC/cm² respectivamente.

Por otro lado, los resultados globales obtenidos en la presente investigación contrastan con los de Avens (1996) en un estudio que realizó para determinar la eficacia del ácido acético en plantas de sacrificio aplicando 2 tratamientos consistentes en el uso de solución de 10ml/L ácido acético en spray aplicados después de retirar piel y cabezas y la aplicación de la misma solución después del lavado final de las canales. Avens, encontró que las cuentas bacterianas fueron notablemente bajas y no hubo diferencias significativas entre los tratamientos antes mencionados, encontró también mayor incidencia de *Listeria monocytogenes* en las 2 plantas en donde aplicó el ácido acético a diferencia de las 2 plantas en donde no lo utilizó, concluyendo así, que esta práctica de intervención no resulta efectivo en plantas cuyas canales presentan bajas cuentas bacterianas y baja incidencia de patógenos y cuyas cuentas bacterianas se encuentran en los niveles promedio más bajos de contaminación bacteriana (menor a log₁₀ =4) y que además, no realizan intervención alguna.

Los resultados del presente estudio muestran que el número más probable de células provenientes de muestras obtenidas por medio de frotamiento de hisopo, concuerdan con los valores máximos del NMP que señala la NOM-112-SSA1-1994. *Bienes y Servicios. Determinación de Bacterias Coliformes. Técnica del número más probable (NMP)*; lo anterior contrasta con un estudio de Ware (1999) en el que concluye que el método más efectivo para la obtención de muestras es el de escisión de tejido porque a diferencia del esponjeo (método similar al utilizado en este estudio) con la escisión existe menor variación en las cuentas bacterianas, y el autor, citando a Kotrola (1997), menciona que durante la exposición de suspensiones de

células de *E. coli* expuestas a las esponjas de muestreo se puede reducir el número de células hasta un 99% que puede atribuirse al diluyente utilizado, a las propiedades antimicrobianas de las esponjas o bien a los residuos químicos presentes en los recipientes de transporte de las muestras (Ware and Lorenzo, 1999).

Cabe mencionar que, en otro estudio realizado por Mc Evoy et al. (2004) cuyos resultados también contrastan con los resultados del presente estudio, se concluye que de muestras tomadas por medio de esponjeo se obtiene sólo el 20% de las cuentas bacterianas que se podrían obtener mediante el muestreo por escisión.

Por otro lado, al contrario de los dos autores anteriores, Dorsa et al. (1997) mencionan que el esponjeo, es un método adecuado para recuperar cuentas bajas de bacterias patógenas en cualquier etapa del proceso de los rastros aunque en canales congeladas a -20° C la recuperación del número de células de *Salmonella typhimurium* se reduce cuando se encuentra a niveles muy bajos (<10 UFC/100cm²).

VIII. CONCLUSIONES

Importantes ventajas se han encontrado en la reducción de la contaminación bacteriana en canales con la utilización de estrategias químicas de intervención.

El lavado con agua de la red municipal aumentó las cuentas de mesófilos aerobios por lo que se recomienda utilizar agua tratada para disminuir este riesgo significativo a la salud en los rastros municipales de México.

Los resultados obtenidos en el presente estudio han mostrado que la aplicación de ácido acético después de la evisceración es un método recomendable de intervención para disminuir la contaminación en canales que han tenido ruptura visceral en el proceso de matanza.

Es primordial que se lleven a cabo las BPM antes de pensar en la aplicación de ésta o de cualquier otra estrategia de intervención.

Resulta conveniente evaluar la eficacia de otras estrategias de intervención para la descontaminación de canales de bovino en las diferentes etapas de proceso de los rastros y dependiendo de las posibilidades de cada rastro, se puede pensar en la adopción de una (o más) estrategia (s), debe considerarse también, la rotación periódica de ésta (s) a fin de prevenir la resistencia bacteriana a la (s) estrategia (s) seleccionada (s).

IX. LITERATURA CITADA

Ariyapitipun, Tipayanate, Mustapha Azlin, and Clarke Andrew D. Microbial Shelf Life Determination of Vacuum-Packaged Fresh Beef Treated with Polilactic Acid, Lactic Acid and Nisin Solutions. *J. Food Prot.* (62) 8. 1999. 913-920.

Avens J.S.; Clayton P.; Jones D.S.; Bolin R.; Lloyd W.; Jankow D. Acetic Acid Spray Ineffective on Beef Carcasses With Low Bacteria Counts *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, (29), 1, 1996. 28-32.

Bacon, R.T, Sofos, J.N., K.E. Belk, K.E., Smith,G.C. A Comparision of Three Commercial Beef Carcass Decontamination Systems. 2000 Research Report. The Department of Animal Sciences Colorado State University.

Baird, B.E., Lucia,L.M., Acuff, G.R., Harris, K.B., Savell, J.W. Beef hide antimicrobial interventions as a means of reducing bacterial contamination. Department of Animal Science, Texas Agricultural Experiment Station, Texas A&M University, Meat Science Section, 2471 MTAMU,College Station, TX 77843-2471, USA)

Bolder, N.M. Decontamination of Meat and Poultry Carcasses. Review. *Trends in Food Science & Technology*. (8) July, 1997

Bolton, D.J., Doherty, A.M., Sheridan, J.J. Beef HACCP: intervention and non-intervention systems *International Journal of Food Microbiology* (66) 2001. 119–129.

Bouttier, S., Linxe, C., Ntsama, C., Morgant, G., Bellon-Fontaine, M.N. and Fourniat, J. Attachment of *Salmonella cholerasius cholerasius* to Beef Muscle and Adipose Tissues. *J. Food Prot.* (60) 1. 1996. 16-22

Buchanan, R.L. and Edelson, S.G. Effect of pH-dependent, stationary phase acid resistance on the thermal tolerance of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiology*, 1999, 16, 447^458

Castillo, A., Dickson, J.S., Clayton, R.P., Lucia, L.M., and Acuff, G.R. Chemical Dehairing of Bovine Skin to Reduce Pathogenic Bacteria and Bacteria of Fecal Origin. Research Note. J. Food Prot. (61). 5. 1998. 623-625

Castillo, A., Lucia, L.M., Goodson, K.J., Savell, J.W., and Acuff, G.R. Comparison of Water Wash, Trimming, and Combined Hot Water and Lactic Acid Treatments for Reducing Bacteria of Fecal Origin on Beef Carcasses. J. Food Prot. (61) 7 1998. 823-828

Castillo, A., Lucia, L.M., Goodson, K.J., Savell, J.W., and Acuff, G.R. Decontamination of Beef Carcass Surface tissue by Steam Vacuuming Alone and Combined with Hot Water and Lactic Acid Sprays. J. Food Prot. (61) 7 1998. 823-828

Castillo, A., Lucia, L.M., Goodson, K.J., Savell, J.W., and Acuff, G.R. Decontamination of Beef Carcass Surface tissue by Steam Vacuuming Alone and Combined with Hot Water and Lactic Acid Sprays. J. Food Prot. (62) 2 1999. 146-151

Castillo, A., Lucia, L.M., Goodson, K.J., Savell, J.W., and Acuff, G.R. Use of Hot Water for Beef Carcass Decontamination. J. Food Prot. (61) 1 1998. 19-25

CIMARPE. 2005. Procedimiento para el Manejo de Residuos Peligrosos (PMRP-UNAM-MV-01) del Soporte Documental del Sistema de Gestión de la Calidad. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.

Codex Alimentarius (Código de prácticas de higiene para la carne, 2005)

Cutter, Catherine N. Combination Spray Washes of Saponin with Water or Acetic Acid to Reduce Aerobic and Pathogenic Bacteria on Lean Beef Surfaces. Research Note. J. Food Prot. (62) 3 1999. 280-283

Davidson Michael P., Taylor Matthew T. Chemical Preservatives and Natural Compounds. Food Microbiology Fundamentals and Frontiers. 3th Edition. 2007. ASM Press. Washington, D.C.)

Delazari, Ivone, Iaria, Sebastiao Timo., Riemann, Hans P., Cliver, Dean O, an Mori Theodore. Decontaminating Beef for Escherichia coli O157:H7. J Food Prot. (61) 5 547-550.)

Delmore, R.J., Sofos, J.N.; Schmidt, G.R. Belk, K.E., Lloyd, W.R., Smith.G.C. Interventions to Reduce Microbiological Contamination of Beef Variety Meats J. Food Prot. (63) 1, 2000. 44-50

Diez-Gonzalez, F. and Russell, J.B. Factors affecting the extreme acid resistance of Escherichia coli O157:H7. Food Microbiology, 1999, 16, 367-374

Dorsa, W.J., Siragusa, G.R., Cutter, C.N, Berry, E.D and Koohmaraie, M. Efficacy of using a sponge sampling method to recover low levels of Escherichia coli O157:H7, Salmonella typhimurium, and aerobic bacteria from beef carcass surface tissue. Food Microbiology, 1997, 14, 63-69

Dorsa, Warren J., Cutter, Catherine N. and Siragusa, Gregory R. Long-Term Bacterial Profile of Refrigerated Ground Beef made from Carcass Tissue, Experimentally Contaminated with Pathogens and Spoilage Bacteria after Hot Water, Alkaline or Organic Acid Washes. J. Food Prot. (61) 12. 1998. 1615-1622

Dorsa, Warren J., Cutter, Catherine N. and Siragusa, Gregory R. Long-Term Effect of Alkaline, Organic Acid or Hot Water Washes on the Microbial Profile of Refrigerated Beef Contaminated with Bacterial Pathogens after Washing. J. Food Prot. (61) 3. 1997. 300-306

Escutia Sánchez, Ismael. Análisis de Riesgos e Identificación de Puntos Críticos de Control en el Procesamiento de Canales de Bovino para el Abasto en un Rastro Municipal Tipo del Estado de México. (Tesis para la obtención del grado de Maestro). 1996, México.

Fang, T.J., Tsai, H.C. Growth patterns of Escherichia coli O157:H7 in ground beef treated with nisin, chelators, organic acids and their combinations immobilized in calcium alginate gels. Food Microbiology 20 (2003) 243-253

Federal Register 61 (144): 38805-38928 (1996).

Fernandes, Custy F., Flick, George J., Cohen Jennifer, and Thomas, Tasha B. Role of Organic Acids During Processing to Improve Quality of Channel Catfish Fillets. *J. Food Prot.* (61) 4 495-498.

Grigoriadis, S.G., Koidis, P.A., Varelziz, K.P. and Batzios, C.A. Survival of *Campylobacter jejuni* inoculated in Fresh and Frozen Beef Hamburgers stored Under Various Temperatures and Atmospheres. *J. Food Prot.* (60) 8. 1997. 903-907

Hernández San Juan Sagrario, Zúñiga Estrada Armida, Sánchez Ortega Irais, Castro Rosas Javier, Román Gutiérrez Alma Delia, Santos López Eva María. Microbiological Conditions During the Slaughter Process at a Municipal Slaughterhouse in Hidalgo, México. *Vet. Mex.* 38 (2) 2007.

Hugas, M., Tsigarida, E. Pros and cons of carcass decontamination: The role of the European Food Safety Authority *Meat Science* 78 (2008) 43–52

ICMSF *Ecología Microbiana de los Alimentos 2. Productos Alimenticios.* Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.) 1998

ICMSF *Microorganismos de los Alimentos 1. Su significado y Métodos de Enumeración, Microorganismos Indicadores.* 2ª Edición, Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España, 1998.

ICMSF *Microorganismos de los Alimentos 1. Su significado y Métodos de Enumeración, Microorganismos Indicadores.* 2ª Edición, Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España, 1998

ICMSF *Microorganismos de los Alimentos 1. Su Significado y Métodos de Enumeración. Métodos Recomendados para el Análisis Microbiológico de los Alimentos.* ICMSF. 2ª edición. Ed Acribia S.A., Zaragoza, España).

ICMSF *Microorganismos de los Alimentos 2. Métodos de Muestreo para Análisis Microbiológicos: Principios y Aplicaciones Específicas.* 2ª Edición. Editorial ACRIBIA España. 1999.

Johnston Lynette M., Jaykus Lee-Ann, Moll Deborah, Anciso Juan, Mora Brenda, Moe Christine L. A Field Study of Microbiological Quality of Fresh Produce of Domestic and Mexican Origin. *International J. Food Microb.* 112 (2006) 83-95.

Kain, M.L., Samelis, J., Sofos, J.N., Scanga, J.A., Belk, K.E., Smith, G.C. Application of Antimicrobials as Processing Solutions to Control *Listeria monocytogenes* on Sliced Pork Bologna Stored at 4°C in Vacuum Packages. 2001 Animal Sciences Research Report. The Department of Animal Sciences, Colorado State University.

Koomaraie, M., Arthur, T.M., Bosilevac, J.M., Brichta, D.M., Kalchanayad, N., Shackelford, S.D. and Wheeler, T.L. Interventions to reduce/eliminate *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef. *Meat Science* 77 (2007) 90-96.

Lee, A., Smith, S.G., Coloe, P.J. Survival and Growth of *Campylobacter jejuni* after Artificial Inoculation onto Chicken Skin as a Function of Temperature and Packaging Conditions. *J. Food Prot.* (61) 12. 1998. 1609-1614

Lueck., Erich Antimicrobial Food Additives. Characteristics. Uses. Effects. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg, New York. 1980.)

McEvoy, J.M., Sheridan, J.J., Blair, I.S and McDowell, D.A. Microbial contamination on beef in relation to hygiene assessment based on criteria used in EU Decision 2001/471/EC. *International Journal of Food Microbiology* 92 (2004) 217– 225)

Méndez, I.R., Nahimira, D.G., Moreno, L.A., Sosa, C.M. El Protocolo de Investigación. Lineamientos para su Elaboración y Análisis. Décima reimpresión. 2006. México.)

Mossel, D.A.A., *Microbiología de Alimentos* 2a edición, Editorial Acribia. Zaragoza, España. 2003

NOM-092-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de Bacterias Aerobias en Placa.

NOM-109-SSA1-1994. (Proyecto de Norma Oficial Mexicana) Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos.

NOM-112-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Determinación de Bacterias Coliformes. Técnica del número más probable (NMP)

NOM-122-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Productos de la Carne, Productos Cárnicos Curados y Cocidos, y Curados Emulsionados y Cocidos. Especificaciones Sanitarias.

NOM 213-SSA1-2002. (Productos y Servicios. Productos cárnicos procesados. Especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

Oficial Journal of the European Communities L165/48; European Directive 2001/471/EC (2001)

Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.P and Bégin, A. Inhibitory Effect of Organic Acids upon Meat Spoilage Bacteria. J. Food Prot. (60) 3 1997. 246-253.

Rahkio, T.M. and Korkeala H.J. Airborne Bacteria and Carcass Contamination in Slaughterhouses. J. Food Prot. (60) 1 1997. 38-42

Ransom, J.R., Belk, K.E., Sofos, J.N., Stopforth, J.D., Scanga, J.A. and Smith, G.C. Comparison of Intervention Technologies for Reducing Escherichia coli O157:H7 on Beef Cuts and Trimmings. Food Protection Trends, Vol. 23 (2003), No. 1, Pages 24-34.

Reyes Juan E., Aguirre Cristián., Vargas Cristian., Petzold Guillermo., Valencia Carlos., y Luarte Fabiola. Reducción de la Contaminación Bacteriana en Piezas Cárnicas de Bovino Mediante el Lavado por Aspersión con Dióxido de Cloro, Ozono y Kilo®. Facultad de Ciencias de la Salud y de los Alimentos, Universidad del Bío-Bío, Av. Andrés Bello S/N, Casilla 447, Chillán, Chile

Rosenquist Hanne, Sommer Helle M., Nielsen Niels L., Christiansen Bjarke B. The Effect of Slaughter Operations on the Contamination of Chicken Carcasses with Termotolerant Campylobacter. International J. Food Microb. 108 2006. 226-232.

Ryuand, J.H., Beuchat, L.R. Changes in heat tolerance of *Escherichia coli* O157:H7 after exposure to acidic environments. *Food Microbiology*, 1999, 16, 317-324.

SAGARPA SENASICA, Consejo Mexicano de la Carne. Manual de Buenas Prácticas de Manufactura y Procedimiento operacional de sanitización estándar para la industria empacadora no TIF de carnes frías y embutidos. 2001

Sammarco Michela Lucia, Ripabelli Giancarlo, Ruberto Addolorato, Iannitto Giorgio, and Grasso Guido Maria. Prevalence of *Salmonellae*, *Listeriae* and *Yersinia* in the Slaughterhouse Environment and on Work Surfaces, Equipment and Workers. *J. Food Prot.* (60) 4 1997. 367-371.

Sawyer, J.T., Apple, J.K., Johnson, Z.B. The impact of lactic acid concentration and sodium chloride on pH, water-holding capacity, and cooked color of injection-enhanced dark-cutting beef. *Meat Science* 79 (2008) 317-325 Department of Animal Science, University of Arkansas, Fayetteville, AR 72701, USA)

Siragusa Gregory R., Dorsa Warren J., Cutter Catherine N., Bennet Gary L., Keen James E., and Koohmaraie Mohammad. The Incidence of *Escherichia coli* on Beef Carcasses and its association with Aerobic Mesophilic Plate Count Categories During the Slaughter Process. *J. Food Prot.* (61)10. 1999. 1269-1274

Smulders, F.J.M., Greer, G.G. Integrating microbial decontamination with organic acids in HACCP programmes for muscle foods: prospects and controversies. *International Journal of Food Microbiology* 44 (1998) 149-169

Sofos, J.N. Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Science* 78 (2008) 3-13

Sofos, J.N., Kochevar, S.L., Bellinger, G.R., Buege D.R., Hacock, D.D., Ingham, S.C., Morgan, J.B., Reagan, J.O., Smith, G.C. Sources and Extent of Microbiological Contamination of Beef Carcasses in Seven United States Slaughtering Plants. *J. Food Prot.* (62) 2. 1999. 140-145.

Sofos, John N., Kochevar, Sherri L., Reagan, J.O, and Smith, Gary C. Incidence of Salmonella on Beef Carcasses Relating to the U.S. Meat and Poultry Inspections Regulations. *J. Food Prot.* (62) 5. 1999. 467-473.

Sofos, J.N., Belk, K.E., Scanga, J.A. and Tatum, J.D. Pathogen Contamination of Cattle and Beef; Challenges and Opportunities in Process Control. Presented at the XXI World Buiatrics Congress, on December 5, 2000 in Punta del Este, Uruguay.

Stopforth, J.D., Skandamis, P.N., Geornaras, I., Sofos, J.N. Acid tolerance of acid-adapted and nonacid-adapted *Escherichia coli* O157:H7 strains in beef decontamination runoff fluids or on beef tissue. *Food Microbiology* 24 (2007) 530–538

Stopforth, J.D., Samelis, J., Sofos, J.N., Kendall, P.A., Smith, G.C. Influence of organic acid concentration on survival of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in beef carcass wash water and on model equipment surfaces. *Food Microbiology* 20 (2003) 651–660

Tinney, Kara S., Miller, Mark F., Ramsey, Boyd, Thompson, Leslie and Karr, Mandy A. Reduction of Microorganisms on Beef Surfaces with Electricity and Acetic Acid. *J. Food Prot.* (60) 6 1997. 625-628

U.S. Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service, Human Resource Development Division. FSIS Pre-HACCP, Sanitation Standard Operating Procedures (SSOP, Reference Guide, 1996)

Venkitanarayanan, K.S., Zhao, T. and Doyle, M.P. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 by combinations of GRAS chemicals and temperature. *Food Microbiology*, 1999, 16, 75-82.

Wacher Rodarte Ma. del Carmen. Planes de Muestreo y Criterios Microbiológicos. Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química. UNAM.

Ware, Lorenzo M., Kain, Mindy L., Sofos, John N., Belk, Keith E., and Smith, Gary C. Comparison of Spicing and Excising as Sampling Procedures for Microbiological Analysis of Fresh Beef-Carcass Tissue. *J. Food Prot.* (62) 11. 1999. 1255-1259,

Wray-Cahen, C.D., Kerr, D.E., Evock-Clover, C.M, and Steele, N.C. Redefining body composition: Nutrients, Hormones, and Genes in Meat Production. *Annu. Rev. Nutr.* 1998. 18:63–92.)

Xiong Hua, Li Yanbin, Slavik Michael F., and Walter Joel T. Spraying Chicken skin with Selected chemicals to Reduce Attached *Salmonella typhimurium*. *J. Food Prot.* (61) 3. 1998. 272-275

Cuadro 1. Determinación del número más probable (NMP) de Coliformes Totales (CT) y Coliformes Fecales (CF) por cm² de superficie en el muestreo piloto (n=26).

Determinación	Grupo de trabajo	n	Media NMP/cm²	Desv. estándar	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo
Coliformes Totales	Muestreo Piloto	26	338.5	437.1	85.7	4	>1100
Coliformes Fecales	Muestreo Piloto	26	230.8	342.7	67.2	4	>1100

Cuadro 2. Determinación del logaritmo de unidades formadoras de colonias por cm² de superficie (UFC log/cm²) de microorganismos mesófilos aerobios en el muestreo piloto (n=26).

Determinación	Grupo de trabajo	n	Media UFC log/cm²	Desv. estándar	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo
Mesófilos Aerobios	Muestreo Piloto	26	3.3	1.9	0.38	0.0	5.5

Cuadro 3. Microorganismos encontrados en las canales sin lavar y sin tratamiento y microorganismos encontrados en canales con dos lavados con agua a presión de 2100psi/120-180 s.

Determinación	Grupos de trabajo	n	Media NMP/cm ²	Desv. estándar	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo	F calculada
Coliformes totales	Muestreo piloto	26	338.5 _a	437.12	85.73	4.0	>1100	20.27
	Control	44	34.7 _b	81.20	12.24	0.0	460	
Coliformes fecales	Muestreo piloto	26	230.8 _a	342.75	67.21	4.0	>1100	12.645
	Control	44	34.7 _b	101.40	15.28	0.0	460	

a y b con diferentes subíndices indican diferencias significativas

Ho: No existen diferencias entre las canales sin tratamiento alguno y las canales con 2 lavados con agua

Ha: Existen diferencias significativas entre las canales sin tratamiento y las canales con 2 lavados con agua.

Valor de F de tablas: 4.001.

El valor de F calculada es mayor que F de tablas tanto para coliformes totales como para coliformes fecales con una significancia de 0.000 y 0.001, respectivamente, por lo tanto se rechaza Ho.

Cuadro 4. Comparación entre canales sin lavar y canales con dos lavados con agua a presión de 2100psi/120-180 s. Determinación de mesófilos aerobios en número logarítmico de unidades formadoras de colonias por cm².

Determinación	Grupos de trabajo	n	Media UFC log/cm ²	Desv. Estándar	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo	F calculada
Mesófilos aerobios	Muestreo piloto	26	3.3 _a	1.96	0.38	0.0	5.5	3.52
	Control	44	3.9 _a	0.55	8.36	3.0	5.5	

Ho: No existen diferencias entre las canales sin tratamiento alguno y las canales con 2 lavados con agua

Ha: Existen diferencias significativas entre las canales sin tratamiento y las canales con 2 lavados con agua.

Valor de F de tablas: 4.001.

El valor de F calculada es menor que F de tablas para mesófilos aerobios con una significancia de 0.065, por lo tanto, no se rechaza Ho.

Cuadro 5. Comparación entre el efecto de los dos lavados con agua a 2100psi/120-180 s (n=44) y el efecto de canales lavadas con ácido acético al 2% a 10-30psi, aplicado con aspersor manual/60seg/22°C ±3°C (n=16) en la determinación del número más probable (NMP) de coliformes totales y coliformes fecales por cm² de muestra.

Determinación	Grupos de trabajo	n	Media NMP/cm ²	Desv. estándar	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo	F calculada
Coliformes totales	Control	44	34.7 _a	81.20	12.24	0.0	460	0.021
	Acético 2% a 10-30psi	16	31.6 _b	36.46	9.11	2.9	93	
Coliformes fecales	Control	44	34.7 _a	101.40	15.28	0.0	460	0.012
	Acético 2% a 10-30psi	16	31.8 _b	40.20	10.05	2.9	120	

Ho: No existen diferencias entre las canales con 2 lavados con agua (control) y las canales lavadas con ácido acético a 10-30psi.

Ha: Existen diferencias significativas entre las canales con 2 lavados con agua y las canales lavadas con ácido acético a 10-30psi.

Valor de F de tablas: 4.001.

El valor de F calculada es menor que F de tablas tanto para coliformes totales como para coliformes fecales con baja significancia, de 0.885 y 0.913 respectivamente, por lo tanto se puede rechazar Ho.

Cuadro 6. Comparación entre el efecto de los 2 lavados con agua a 2100psi/120-180s (n=44) y el efecto de canales lavadas con ácido acético al 2% a 10-30psi, aplicado con aspersor manual/60seg/22°C ±3°C (n=16) en la determinación del logaritmo de unidades formadoras de colonias por cm² de mesófilos aerobios.

Determinación	Grupos de trabajo	n	Media UFC log/cm ²	Desv. estándar	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo	F calculada
Mesófilos aerobios	Control	44	3.9 _a	0.55	8.36	3.0	5.5	2.86
	Acético 2% a 10-30psi	4	3.4 _b	0.31	0.16	3.0	3.7	

H₀: No existen diferencias entre las canales con 2 lavados con agua (control) y las canales lavadas con ácido acético a 10-30psi.

H_a: Existen diferencias significativas entre las canales con 2 lavados con agua y las canales lavadas con ácido acético a 10-30psi.

Valor de F de tablas: 4.057

El valor de F calculada es menor que F de tablas para mesófilos aerobios aunque el nivel de significancia es bajo, 0.097, se puede rechazar H₀.

Cuadro 7. Grupo control (n=44) comparado con el efecto de canales lavadas con ácido acético al 2% a baja presión aplicado con aspersor manual/60seg/22°C ±3°C (n=16) y canales lavadas con 2 lavados con agua a 2100psi/120-180s más la aplicación de ácido acético al 2% a 10-30psi, aplicado con aspersor manual/60seg/22°C ±3°C (n=32) en la determinación del número más probable (NMP) de coliformes totales y coliformes fecales por cm².

Determinación	Grupos de trabajo	n	Media NMP/cm ²	Desv. estándar	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo	F calculada
Coliformes totales	Control	44	34.7 _a	81.20	12.24	0.0	460	3.1
	Acético 2% a 10-30psi	16	31.6 _b	36.46	9.11	2.9	93	
	Agua + Acético 2% a 10-30psi	32	2.1 _c	1.47	0.26	0.0	4	
Coliformes fecales	Control	44	34.7 _a	101.40	15.28	0.0	460	2.01
	Acético 2% a 10-30psi	16	31.8 _b	40.20	10.05	2.9	120	
	Agua + Acético a 10-30psi	32	2.1 _c	1.68	0.29	0.0	7	

Ho: No existen diferencias entre las canales con 2 lavados con agua (control), las canales lavadas con ácido acético a 10-30psi y las canales lavadas con agua seguidas del lavado con ácido acético 10-30psi.

Ha: Existen diferencias significativas entre las canales con 2 lavados con agua (control), las canales lavadas con ácido acético a 10-30psi y las canales lavadas con agua seguidas del lavado con ácido acético a 10-30psi.

Valor de F de tablas: 3.111

El valor de F calculada es menor que F de tablas tanto para coliformes totales como para coliformes fecales con un bajo nivel de significancia, 0.050 y 0.140 respectivamente, por lo tanto se puede rechazar Ho.

Prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples. Grupo control (n=44) comparado con el efecto de canales lavadas con ácido acético al 2% a 10-30psi, aplicado con aspersor manual/60seg/22°C ±3°C (n=16) y canales lavadas con 2 lavados con agua a 2100psi/120-180 s más la aplicación de ácido acético al 2% a 10-30psi, aplicado con aspersor manual/60seg/22°C ±3°C (n=32).

	(I) tratamiento	(J) tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Significancia
Coliformes totales	Control	Acético 2% a 10-30psi	3.06	17.05	1.0
		Agua + acético 2% a 10-30psi	32.58	13.57	0.05
	Acético 2% a 10-30psi	Control	-3.06	17.05	1.0
		Agua + acético 2% a 10-30psi	29.52	17.88	0.3
	Agua + acético 2% a 10-30psi	Control	-32.58	13.57	0.05
		Acético 2% a 10-30psi	-29.52	17.88	0.3
Coliformes fecales	Control	Acético 2% 10-30psi	2.88	21.13	1.0
		Agua + acético 2% a 10-30psi	32.48	16.82	0.17
	Acético 2% a 10-30psi	Control	-2.88	21.13	1.0
		Agua + acético 2% a 10-30psi	29.60	22.17	0.5
	Agua + acético 2% a 10-30psi	Control	-32.49	16.82	0.17
		Acético 2% a 10-30psi	-	22.17	0.5

***La diferencia de medias es significativa a 0.05 de nivel significancia.**

No existen diferencias significativas entre las canales control y los tratamientos de ácido acético a 10-30psi y agua seguido de ácido acético a 10-30psi.

Cuadro 8. Efecto de los 2 lavados con agua a 2100psi/120-180 s (Control, n=44) comparado con el efecto de canales lavadas con ácido acético al 2% a 10-30psi, aplicado con aspersor manual/60seg/22°C ±3°C (n=16) y canales lavadas con 2 lavados con agua a 2100psi/120-180 s seguidos de la aplicación de ácido acético al 2% a 10-30psi, aplicado con aspersor manual/60seg/22°C ±3°C (n=32) en la determinación del logaritmo de unidades formadoras de colonias por cm² (UFC log/cm²) de mesófilos aerobios.

Determinación	Grupos de trabajo	n	Media UFC log/cm ²	Desv. estándar	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo	F Calculada
Mesófilos aerobios	Control	44	3.9 _a	0.55	8.36	3.0	5.5	58.554
	Acético 2% a 10-30psi	4	3.4 _b	0.31	0.16	3.0	3.7	
	Agua + Acético 2% a 10-30psi	32	2.5 _c	0.59	0.10	1.3	3.5	

H₀: No existen diferencias entre los tres tratamientos

H_a: Existen diferencias en al menos uno de los tratamientos.

Valor de F de tablas: 3.111

El valor de F calculada es mayor que F de tablas para mesófilos aerobios con un alto nivel de significancia, 0.000, por lo tanto se rechaza H₀.

Prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples. Determinación de mesófilos aerobios

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Significancia
Control	Acético 10-30psi	0.4973	0.2942	0.322
	Agua + acético 2% a 10-30psi	1.4153*	0.1309	0.000
Acético 10-30psi	Control	-0.4973	0.2942	0.322
	Agua + acético 2% a 10-30psi	0.9359*	0.2987	0.007
Agua + acético 10-30psi	Control	-1.4153*	0.1309	0.000
	Acético 2% a 10-30psi	-0.9359 *	0.2987	0.007

***La diferencia de medias es significativa a 0.05 de nivel significancia.**

El tratamiento en el que existen diferencias significativas respecto al grupo control es el de los 2 lavados con agua seguidos con ácido acético al 2% a 10-30psi.

Cuadro 9. Efecto de los tratamientos sobre las canales lavadas con ácido acético al 2% a 10-30psi, aplicado con aspersor manual/60seg/22°C ±3°C (n=16), canales lavadas con 2 lavados con agua a 2100psi/120-180 s más la aplicación de ácido acético al 2% a 10-30psi, aplicado con aspersor manual/60seg/22°C ±3°C (n=32) y canales con 2 lavados con agua a 2100psi/120-180 s más la aplicación de ácido acético al 2% a 1700psi/15seg/22°C ±3°C (n=23) en la determinación del número más probable (NMP) de coliformes totales y coliformes fecales por cm².

Determinación	Grupos de trabajo	n	Media NMP/cm ²	Desv. estándar	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo	F calculada
Coliformes totales	Acético 2% a 10-30psi	16	31.7 _a	36.46	9.11	2.9	93.0	14.14
	Agua + Acético 2% a 10-30psi	32	2.1 _b	1.47	0.26	0.0	4.0	
	Agua + Acético 2% a 1700psi	23	7.5 _c	11.80	2.46	0.0	43.0	
Coliformes fecales	Acético 2% a 10-30psi	16	31.8 _a	40.20	10.05	2.9	120.0	13.21
	Agua + Acético 2% a 10-30psi	32	2.2 _b	1.68	0.29	0.0	7.0	
	Agua + Acético 2% a 1700psi	23	5.4 _c	8.3	1.73	0.0	23.0	

Ho: No existen diferencias entre los tres tratamientos con ácido acético

Ha: Existen diferencias significativas en por lo menos uno de los 3 tratamientos con ácido acético.

Valor de F de tablas: 3.111

El valor de F calculada es mayor que F de tablas tanto para coliformes totales como para coliformes fecales con un alto nivel de significancia, de 0.000 para ambos casos, por lo tanto se rechaza Ho.

Prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples. Determinación de coliformes totales y fecales en canales lavadas con ácido acético al 2% a 10-30psi, aplicado con aspersor manual/60seg/22°C ±3°C (n=16), canales lavadas con 2 lavados con agua a 2100psi/120-180 s más la aplicación de ácido acético al 2% a 10-30psi, aplicado con aspersor manual/60seg/22°C ±3°C (n=32) y canales con 2 lavados con agua a 2100psi/120-180 s más la aplicación de ácido acético al 2% a 1700psi/15seg/22°C ±3°C (n=23)

	(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Significancia
Coliformes totales	Acético 2% a 10-30psi	Agua + acético a 10-30psi	29.59*	5.64	0.000
		Agua + acético 1700psi	24.10*	5.99	0.000
	Agua + acético 2% a 10-30psi	Acético a 10-30psi	-29.59*	5.64	0.000
		Agua + acético 1700psi	-5.42	5.03	0.856
	Agua + acético 2% a 1700psi	Acético 10-30psi	-24.10*	5.99	0.000
		Agua + acético a 10-30psi	5.42	5.03	0.856
Coliformes fecales	Acético 2% a 10-30psi	Agua + acético a 10-30psi	29.60*	5.97	0.000
		Agua + acético 1700psi	26.41*	6.34	0.000
	Agua + acético 2% a 10-30psi	Acético a 10-30psi	-29.60*	5.97	0.000
		Agua + acético 1700psi	-3.20	5.33	1.0
	Agua + acético 2% a 10-30psi	Acético a 10-30psi	-26.41*	6.34	0.000
		Agua + acético 1700psi	3.20	5.33	1.0

***La diferencia de medias es significativa a 0.05 de nivel significancia.**

El tratamiento en el que existen diferencias significativas es en el de los 2 lavados con agua seguidos del lavado con ácido acético a 10-30psi.

Cuadro 10. Efecto de los tratamientos sobre las canales lavadas con ácido acético al 2% a 10-30psi, aplicado con aspersor manual/60seg/22°C ±3°C (n=16), canales lavadas con 2 lavados con agua a 2100psi/120-180s más la aplicación de ácido acético al 2% a 10-30psi, aplicado con aspersor manual/60seg/22°C ±3°C (n=32) y canales con 2 lavados con agua a 2100psi/120-180 s más la aplicación de ácido acético al 2% a 1700psi/15seg/22°C ±3°C (n=23) en la determinación del logaritmo de unidades formadoras de colonias por cm².

Determinación	Grupos de trabajo	n	Media NMP/cm ²	Desv. Estándar	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo	F calculada
Mesófilos aerobios	Acético 2% a 10-30psi	4	3.4 _a	0.31	0.16	3.0	3.70	4.5
	Agua + Acético a 10-30psi	32	2.5 _b	0.59	0.10	1.3	3.50	
	Agua + Acético a 1700psi	23	3.03 _c	1.12	0.23	0.5	4.40	

Ho: No existen diferencias entre los tres tratamientos con ácido acético.

Ha: Existen diferencias significativas en por lo menos alguno de los tratamientos con ácido acético

Valor de F de tablas: 3.111

El valor de F calculada es mayor que F de tablas para mesófilos aerobios aunque con una significancia de 0.015, por lo tanto se rechaza Ho.

Prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples. Determinación de mesófilos aerobios de canales lavadas con ácido acético al 2% a 10-30psi, aplicado con aspersor manual/60seg/22°C ±3°C (n=16), canales lavadas con 2 lavados con agua a 2100psi/120-180 s más la aplicación de ácido acético al 2% a 10-30psi baja presión aplicado con aspersor manual/60seg/22°C ±3°C (n=32) y canales con 2 lavados con agua a 2100psi/120-180 s más la aplicación de ácido acético al 2% a 1700psi/15seg/22°C ±3°C (n=23)

	(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Significancia
Mesófilos Aerobios	Acético a baja presión	Agua + acético 2% a baja presión	0.93	0.44	0.115
		Agua + acético 2% a 1700psi	0.36	0.45	1.0
	Agua + acético a baja presión	Acético 2% a baja presión	-0.93	0.44	0.115
		Agua + acético 2% a 1700psi	-0.57*	0.23	0.043
	Agua + acético a 1700psi	Acético a baja presión	-36.09	0.45	1.0
		Agua + acético 2% a baja presión	-0.57*	0.23	0.043

*La diferencia de medias es significativa a 0.05 de nivel significancia.

El tratamiento en el que existen diferencias significativas es en el de los 2 lavados con agua seguidos del lavado con ácido acético a 10-30psi.

Anexo 1. Métodos físicos y químicos para la descontaminación de canales y/o superficies inertes.

AGENTES QUÍMICOS:

Cloro (hipoclorito, ClO₂)

Ácidos orgánicos (Láctico, acético, cítrico, glucónico, etc.)

Fosfatos inorgánicos (Fosfato trisódico, polifosfatos)

Preservativos orgánicos (Benzoatos, propionatos)

Oxidantes (Peróxido de hidrogeno, ozono)

AGENTES FÍSICOS:

Agua (Enjuague, spray, vapor)

Ultra-alta presión

Irradiación

Pulsos eléctricos

Energía ultrasónica

Rayos ultravioleta

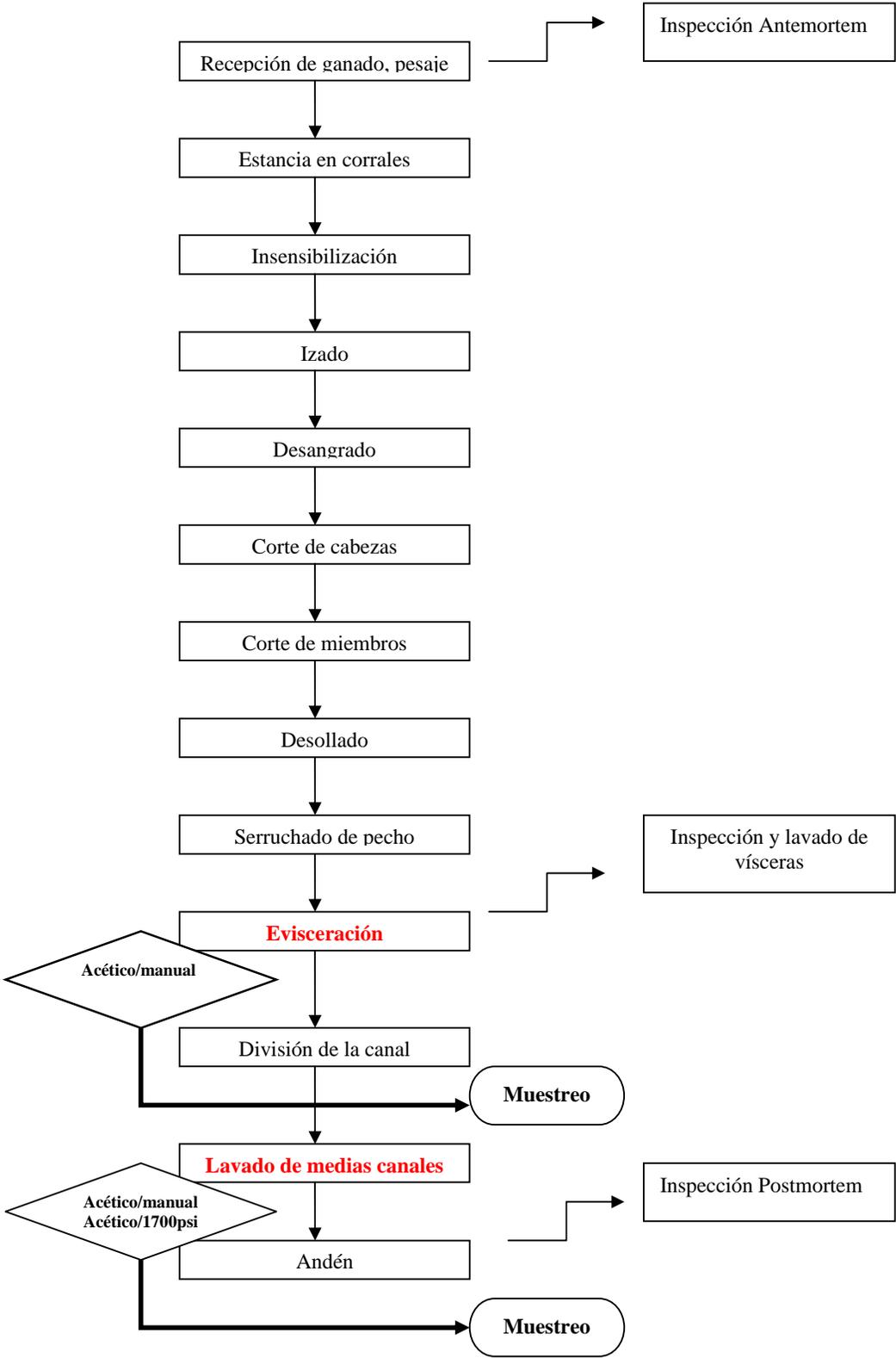
AGENTES BIOLÓGICOS:

Bacteriocinas (Nisina, magainina)

COMBINACIONES DE LOS ANTERIORES

Bolder, N.M. Decontamination of Meat and Poultry Carcasses. Review. Trends in Food Science & Technology. (8) July, 1997

Anexo 2. Diagrama de flujo de proceso del Rastro Frigorífico Los Reyes, La Paz donde se señalan los sitios de Intervención y muestreo.



Anexo 3. Programa de Muestreo recomendado para combinaciones de grados de peligrosidad y condiciones de manipulación.

Condiciones en que se espera que el alimento sea manipulado y consumido después del muestreo*			
Grado de importancia en relación con la alteración y el peligro para la salud	Condiciones que reducen el grado de peligrosidad	Condiciones que no modifican el grado de peligrosidad	Condiciones que pueden aumentar el grado de peligrosidad
Sin peligro directo para la salud. Vida útil y alteración	**Aumento de la vida útil Categoría 1 3-clases n=5, c=3	Sin modificación Categoría 2 3-clases n=5, c=2	Reducción de la vida útil Categoría 3 3-clases n=5, c=1
Peligro para la salud bajo, indirecto (indicadores)	**Peligrosidad reducida Categoría 4 3-clases n=5, n=3	Sin modificación Categoría 5 3-clases n=5, c=2	Peligrosidad aumentada Categoría 6 3-clases n=5, c=1
Moderado, directo, difusión limitada.	Categoría 7 3-clases n=5, c=2	Categoría 8 3-clases n=5, c=1	Categoría 9 3-clases n=10, c=1
Moderado, directo, difusión potencialmente extensa	Categoría 10 2-clases n=5, c=0	Categoría 11 2-clases n=10, c=0	Categoría 12 2-clases n=20, c=0
Grave directo	Categoría 13 2-clases n=15, c=0	Categoría 14 2-clases n=30, c=0	Categoría 15 2-clases n=60, c=0

* Deben emplearse programas de muestreo más rigurosos para alimentos destinados a poblaciones especialmente sensibles

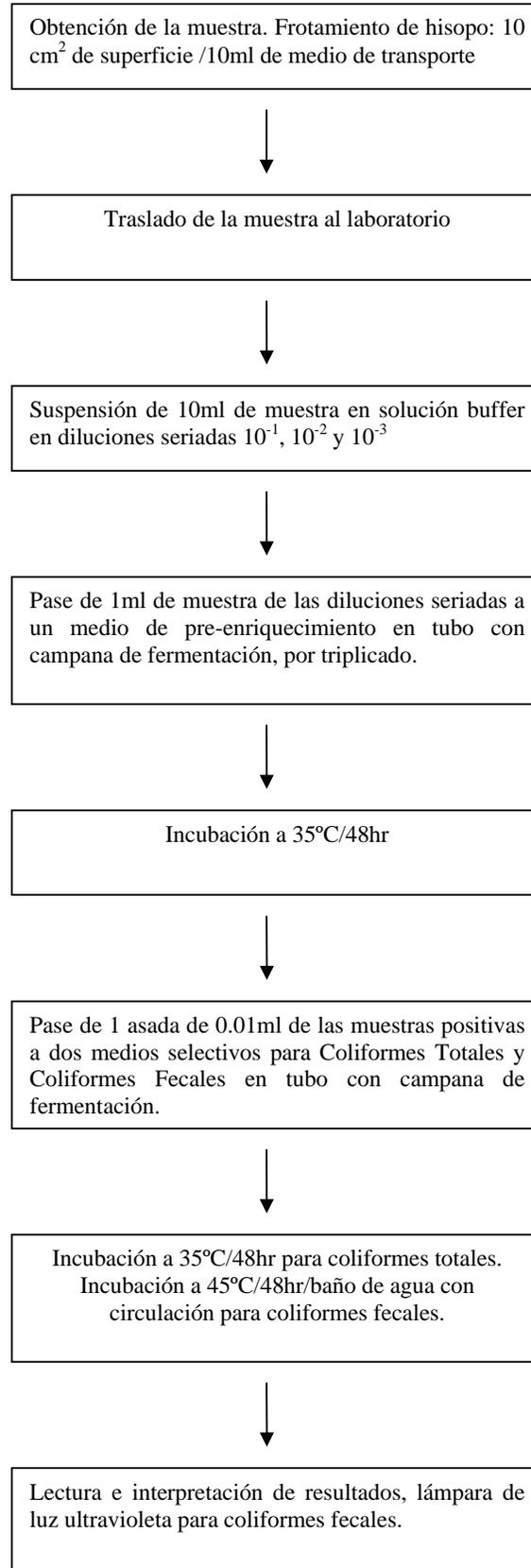
Fuente: ICMSF (1982)

**Se señala en negritas la peligrosidad de los microorganismos que fueron analizados en el presente estudio. Categoría 1 para microorganismos mesófilos aerobios y Categoría 4 para microorganismos coliformes totales y fecales.

Anexo 4. Diseño experimental

Grupos de trabajo	No. de canales (n)	Aplicación del tratamiento	Recolección de muestras
Muestreo piloto	26	-----	Después del eviscerado
Control: 2 lavados con agua a 2100psi/ 120-180seg	44	-----	Andén
Ac. acético 10-30psi /60s/22 ±3°C	16	Después del eviscerado	Antes de los lavados con agua
2 lavados con agua más Ac. acético a 10-30psi/ 60s/22 ±3°C	32	Después de los lavados con agua.	Andén
2 lavados con agua más Ac. acético a 1700psi/ 15s/22 ±3°C	23	Después de los lavados con agua	Andén

Anexo 5. Diagrama de flujo para la determinación de Coliformes Totales y Fecales



Anexo 6. Diagrama de flujo para la determinación de Mesófilos Aerobios

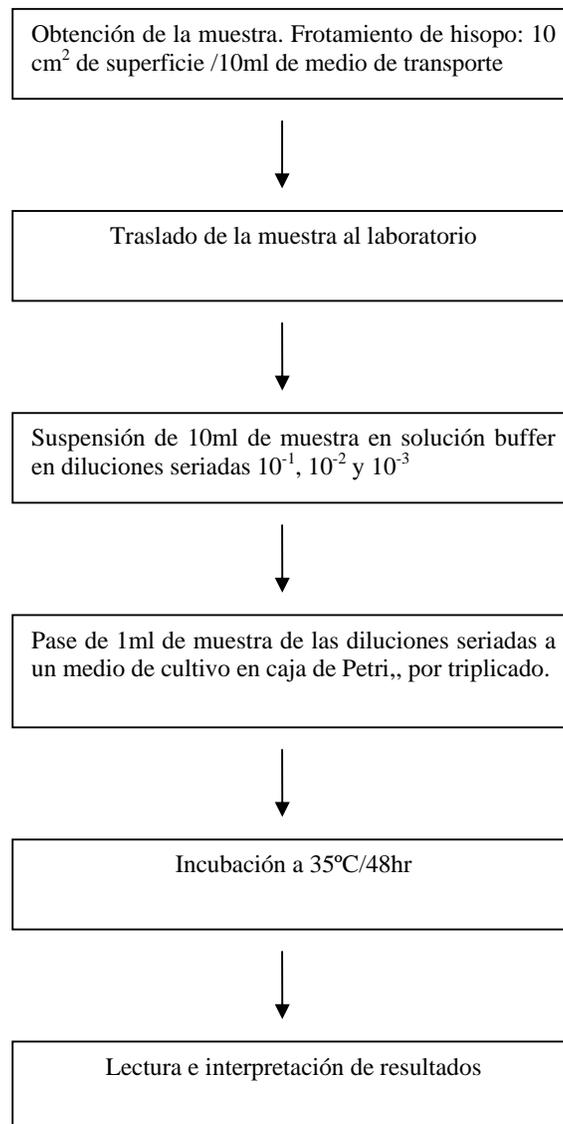


Figura 1. Localización de las áreas de muestreo para canales de bovino de acuerdo al Federal Register, vol. 61 (144), 1996.

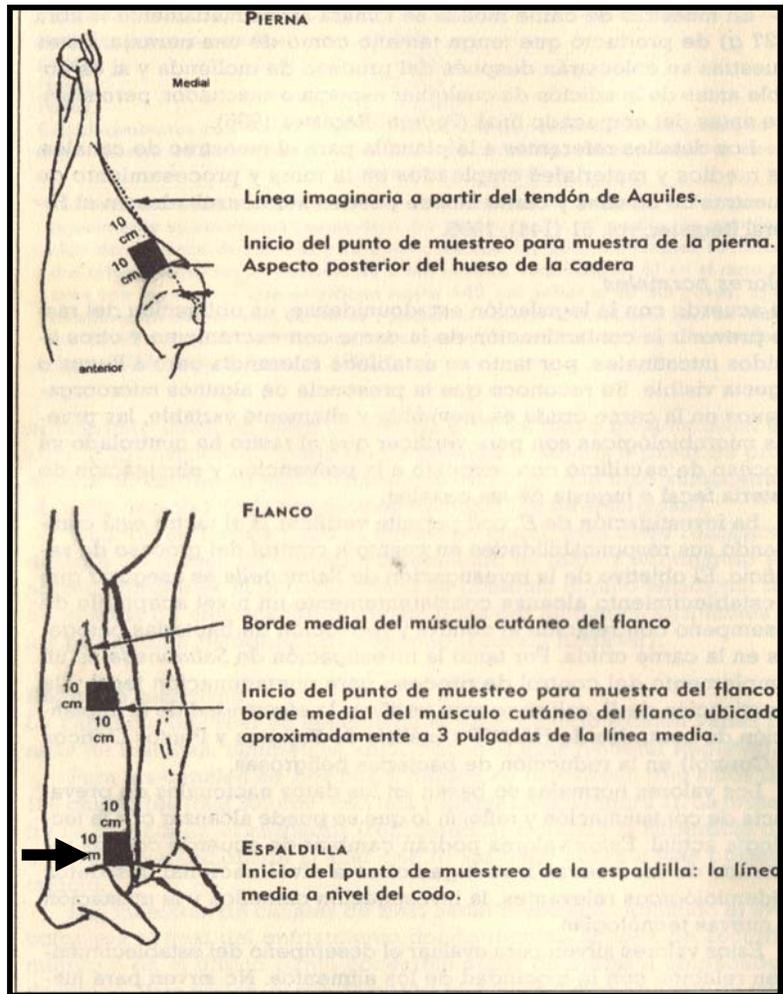


Figura 1. Localización de áreas de muestreo de canales de bovino, la flecha señala el área de muestreo durante el presente estudio.

Figura 2. Toma de muestras mediante frotamiento de hisopo en un área de 10cm x 10cm.



Figura 2. Toma de muestras mediante frotamiento de hisopo.