



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**MEDICIÓN DE LA EFICACIA ANTIBACTERIANA DEL PROGRAMA
DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE LA MESA DE DESPIECE EN UNA
PLANTA EMPACADORA DE CARNES FRÍAS DE LA CIUDAD DE
MÉXICO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

EFRAÍN GARCÍA CORTÉS

ASESOR:

M. en A. JORGE LÓPEZ PERÉZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES Y A MI ABUELITA

Por ser las personas que más quiero y admiro por el amor, esfuerzo y dedicación que incondicionalmente han brindado para sacar a su familia adelante y hacer de sus hijos y nietos personas de bien, a pesar de las situaciones adversas y momentos difíciles que se han presentado; por apoyarme y confiar en mí siempre y en todo momento; por comprenderme y aceptarme como soy. Gracias, todos sus sacrificios han valido la pena.

A MI TÍO EL DR. GABINO CORTÉS BARRERA

Por estar al pendiente de mí en todo momento y cuidarme durante toda mi vida, por su apoyo, cariño y confianza.

A LESLY, LEONARDO Y RODRIGO.

A pesar de los inconvenientes que se presentaron, son y serán siempre una motivación para ser una mejor persona cada día, en cada éxito y logro que haga siempre estarán presentes. Deseo que alguna vez lleguen a realizar todas sus metas y logren los éxitos posibles en su vida. Los quiero mucho.

A MIS TÍOS

Por estar conmigo, apoyarme y confiar en mí siempre, aún en los momentos difíciles, por hacerme más fuerte ante la vida, por su comprensión y paciencia.

A MIS HERMANOS Y PRIMOS

Por haber compartido su niñez, adolescencia, amigos y juegos, por apoyarme a su manera y ser personas que admiro por la responsabilidad, dedicación y perseverancia que siempre han demostrado para salir adelante y cumplir con todas sus metas.

A MIS AMIGOS

Arturo Leonel, Carlos, Alejandro, Héctor, David, Mauricio, Nelly, Luis Loyola, José de la O, Heidy, Sandra, Sagrario, Dolores, Jaime, Dalia, Jazmín, Ivette, Viviana, Norma, Claudia, Ricardo, Alberto, Francisco Javier, Alinee Balkis, Verónica, Patricia, Blanca, Ignacio, Carlos Villagrán, Ericka, Ángel, Ángeles. Gracias por su amistad, apoyo y por compartir conmigo tristezas y angustias, éxitos y fracasos, pero sobre todo por su incondicionalidad.

A Angélica, Alejandra, Elizabeth, Emilia, Fabiola, Karín, Karla, Laura, Liliana, Gabriela, Mónica, Paola, Rodrigo, Yessica, Andrea, Nora y a los que de alguna u otra forma contribuyeron en este trabajo, gracias por su apoyo, amistad y confianza.

A Valeria, gracias por tu amistad y por tu ayuda en este trabajo. Te quiero mucho.

A Sergio y Rocío gracias por su apoyo, confianza y por todos esos momentos que hemos pasado juntos y los que nos faltan, deseo que todos nuestros sueños se hagan una realidad. Espero que esto sea el comienzo de una larga amistad.

AGRADECIMIENTOS

A La Universidad Nacional Autónoma de México por ser la institución educativa que me permitió formar parte de su comunidad estudiantil, por darme la formación académica necesaria para desarrollarme como profesionista y por permitirme portar con orgullo el nombre de la Universidad.

A La Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán ya que dentro de sus instalaciones, inicie el camino hacia mi desarrollo profesional y por que me siento orgulloso de formar parte de ella no solo como alumno, sino también como parte del grupo de profesores que aportan su conocimiento para el crecimiento sustentable de cada estudiante y enaltecer aún más a nuestra Facultad.

Al M en A. Jorge López Pérez por haberme dado la oportunidad de realizar este trabajo, apoyarme y sobre todo, por su paciencia y tiempo dedicado a la asesoría del mismo. Gracias.

A la MVZ. Susana García Vázquez por su tiempo, orientación y ayuda durante la realización de este trabajo.

A la Empresa Empacadora de Carnes Frías por el tiempo otorgado para la realización de este proyecto, por toda la ayuda recibida y por confiar en mi para realizarlo.

Al Laboratorio de Medicina Preventiva de la FESC- UNAM por su orientación, apoyo y por haberme facilitado material y equipo para realizar este trabajo.

A la M en C. Esperanza García López y al Ing. Juan Rafael Garibay Bermudez de la FESC-UNAM por todos sus consejos y por las aportaciones que enriquecieron a este trabajo

INDICE

	Página
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. OBJETIVOS	3
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPÓTESIS	4
V. MATERIAL Y MÉTODOS	5
VI. MARCO TEORICO	
VI.1. LIMPIEZA	
VI.1.1. Bases higiénicas del proceso de producción	7
VI.1.2. Tipos de suciedad	9
VI.1.3. Eliminación de la suciedad	10
VI.1.4. Detergentes	12
VI.1.4.1. Propiedades deseables	12
VI.1.4.2. Clasificación de los detergentes	13
VI.1.4.2.1. Alcalis inorgánicos, cáusticos y no cáusticos	13
VI.1.4.2.2. Acidos inorgánicos y orgánicos	13
VI.1.4.2.3. Agentes de superficie activa	14
VI.1.4.2.4. Agentes secuestrantes	15
VI.1.4.3. Formulación de los detergentes	16
VI.1.4.4. Factores que influyen en la eficacia de los detergentes	17
VI.1.5. Tipos de limpieza mecánica	17
VI.1.5.1. Vapor a presión	17
VI.1.5.2. Aparatos hidráulicos	18
VI.1.5.3. Aire comprimido	18
VI.1.5.4. Ultrasonido	18
VI.1.5.5. Máquinas de limpieza portátiles	18
VI.1.5.6. Sistema de limpieza fijos	19
VI.1.5.7. Limpieza con espuma	19
VI.1.5.8. Limpieza del equipo pequeño	20
VI.1.6. Fundamentos de un programa de limpieza	20
VI.1.7. Idoneidad del sistema empleado	21
VI.2. DESINFECCIÓN	
VI.2.1. Concepto	22
VI.2.2. Clasificación	22
VI.2.3. Desinfección física	23
VI.2.3.1. Mecánica	23
VI.2.3.2. Calor	23
VI.2.3.3. Rayos solares	24
VI.2.3.4. Rayos ultravioleta	24
VI.2.3.5. Radiaciones ionizantes	25
VI.2.3.6. Radiaciones electromagnéticas (infrarroja)	25
VI.2.3.7. Ondas sónicas y ultrasónicas	25
VI.2.3.8. Frío	25

	Página
VI.2.4. Desinfección biológica	25
VI.2.5. Desinfección química	26
VI.2.5.1. Clasificación de los desinfectantes químicos	26
VI.2.5.2. Propiedades deseables en los desinfectantes químicos	27
VI.2.5.3. Métodos y medios de desinfección química	28
VI.2.5.3.1. Agentes que liberan cloro	28
VI.2.5.3.2. Compuestos de amonio cuaternario	30
VI.2.5.3.3. Iodóforos	31
VI.2.5.3.4. Compuestos anfóteros	32
VI.2.5.3.5. Compuestos fenólicos	32
VI.2.5.3.6. Detergentes-desinfectantes	32
VI.2.5.4. Condiciones que determinan la eficacia de la desinfección	33
VI.2.5.5. Aplicación de los desinfectantes	36
VI.2.5.6. Evaluación de los desinfectantes	37
VI.3. PRINCIPIOS BÁSICOS DE UN PROGRAMA DE LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN	
VI.3.1. Etapas del proceso de saneamiento	41
VI.3.2. Limpieza y sanitización de útiles, utensilios, suelos y superficies	43
VI.3.2.1. Sustancias empleadas	43
VI.3.2.2. Método de limpieza y sanitización	43
VI.3.2.3. Periodicidad de la limpieza	45
VI.3.3. Empleo de la mano de obra	46
VI.3.4. Papel de la gerencia	47
VI.3.5. Estado sanitario e higiénico del personal manipulador	47
VI.3.6. Diseño y empleo higiénico del equipo	50
VI.3.6.1. Materiales de construcción	51
VI.3.6.2. Diseño	53
VI.3.6.3. Accesibilidad de las superficies que contactan con los alimentos	53
VI.3.6.4. Protección de los alimentos	54
VI.3.6.5. Dispositivos de control y vigilancia	54
VI.3.6.6. Instalación del equipo	55
VI.3.6.7. Funcionamiento y mantenimiento	55
VI.3.7. Principios del control microbiológico	55
VI.3.7.1. Valoración sensorial	57
VI.3.7.2. Determinaciones físico-químicas	57
VI.3.7.3. Examen microbiológico	57
VI.3.7.3.1. Métodos biológicos	58
VI.3.7.3.2. Métodos físicos	59
VI.3.7.3.3. Métodos químicos	59
VI.3.7.3.4. Métodos inmunológicos	60
VI.3.7.3.5. Exámenes de superficies	61

Página

VI.4. PAPEL DE LOS PROFESIONISTAS EN SANIDAD DENTRO DE LA INSPECCIÓN SANITARIA	65
VII. RESULTADOS	
VII.1. Análisis del procedimiento de limpieza y sanitización que se realiza en la mesa de despiece	67
VII.2. Análisis microbiológico del programa de limpieza y sanitización que se realiza en la mesa de despiece	69
VII.3. Análisis estadístico	74
VIII. DISCUSIÓN	86
IX. CONCLUSIÓN	90
X. RECOMENDACIONES	91
XI. BIBLIOGRAFÍA	92
XII. ANEXOS	

I. RESUMEN

La higiene de los alimentos implica una variedad de acciones, entre las cuales, el evitar la contaminación ocupa un lugar relevante. Cada fuente de contaminación que puede actuar sobre los alimentos presenta sus propias peculiaridades y por ello requiere de métodos especiales para lograr su control. Así ocurre con el agua, con la tierra, con la fauna, con los manipuladores o con el equipo y envases que finalmente habrán de contenerlos.

En el caso del equipo este puede ser un vehículo pasivo de microorganismos, o puede constituirse en la base sobre la cual, con un aseo deficiente, entren en actividad y lleguen a introducirse por millares en el alimento.

Mucho dinero y esfuerzo es invertido en una planta para seleccionar materias primas e instalar equipo costoso y puede perderse si la limpieza y desinfección en general, o específicamente en los puntos críticos, no se realiza y evalúa su eficacia correctamente. Existen procesos de lavado y desinfección, que utilizan sustancias y condiciones de tratamiento previo para cada necesidad en distintas ramas de la industria de alimentos. Cuando las normas o recomendaciones para su aplicación se siguen con acierto, los resultados son claramente satisfactorios. El establecimiento de sistemas de higienización (limpieza y desinfección) adecuados al equipo, debidamente programados y en manos de personal responsable y adiestrado debiera ser una exigencia motivo de supervisión especial dentro de cada industria y por parte de la autoridad sanitaria competente. El laboratorio proporciona un valioso recurso que permite evaluar satisfactoriamente la eficacia de estos procesos.

Es por tanto, motivo de interés la realización de este estudio en una planta procesadora de carnes frías, que cuenta con un programa de control de calidad que incluye la higiene de la mesa de despiece, para evaluar la eficacia de este programa y la correlación de los resultados con las normas o recomendaciones asociadas a un saneamiento adecuado. Debido a que se cuenta con muy pocos trabajos prácticos de este tipo, se realizó un exhaustivo estudio microbiológico en el establecimiento, para conocer los valores microbiológicos encontrados en las superficies de estudio. Utilizando para este fin, el recuento de microorganismos indicadores reveladores de prácticas de higiene inadecuadas como un método sencillo y confiable, aunque necesariamente requiere de tiempo para disponer de los resultados. El número de microorganismos se establece mediante la cuenta de unidades formadoras de colonias, siguiendo las instrucciones del método y contando con un valor normativo, es posible decidir sobre el nivel de contaminación que prevalece en una superficie.

Las principales secciones del texto incluyen una breve pero detallada explicación sobre las Bases Higiénicas del proceso de producción; de los principios básicos de la microbiología alimentaria; de los procesos de producción prestando especial atención a la exposición a las posibles fuentes y formas de contaminación; a los efectos del proceso en el grado de contaminación; del cumplimiento con la legislación. La evaluación del sistema de limpieza y desinfección describe una detallada explicación del método para el control microbiológico; una clara exposición de los objetivos del método; pruebas de evaluación objetivas y subjetivas; hojas de registro de datos y análisis estadístico de los resultados. Además, el estudio presente puede servir como referencia para los técnicos de la Administración encargados de realizar inspecciones a industrias cárnicas y a los propios técnicos de los establecimientos encargados del autocontrol. Por esta razón, se han incluido numerosas referencias bibliográficas y de legislación, que permitan tomar en consideración la representatividad que ofrece este ensayo para sugerirlo a una planta o a un proceso en particular.

II. INTRODUCCIÓN

En el desarrollo de la producción de una planta empacadora de carnes frías, la obtención de las materias primas y su procesado tiene una gran importancia económica. Además, exigen un alto estándar higiénico para poder ofrecer al consumidor un producto alimenticio que suponga un riesgo sanitario mínimo. Por ello, la higiene tiene que estar completamente integrada en la moderna tecnología de los alimentos (2, 4,16).

La misión actual de la industria alimentaria estriba en reducir los riesgos totales que llevan consigo la obtención y preparación de los alimentos, con la finalidad de hacer estos riesgos evidenciables, mensurables y, cuando sea posible, modificables.

El riesgo de un alimento en sentido higiénico es la suma de todos los factores de influencia, pero no solamente en el aspecto físico, químico y/o microbiológico, sino también y sobre todo lo referente a la intensidad de los mismos, los cuales pueden tener un origen natural, ser ocasionados por elementos ambientales y por la obtención de los alimentos. A éstos se añaden los riesgos resultantes del proceso de preparación (17, 18, 21,32).

A este respecto, los métodos de comprobación y comparación, en lo referente a la eficacia de las medidas de control higiénico, deben ser lo suficientemente sensibles; con lo cual, se seguirán controlando posibles disminuciones del riesgo en pequeñas operaciones simples en apariencia.

Dentro de estas consideraciones debe tenerse en cuenta que muchas veces los riesgos son difíciles de detectar por separado. Frecuentemente se acumulan pequeños riesgos, manifestándose sólo mucho más tarde en la vida de almacén del producto y en su inocuidad; si bien los químicos son los más temidos por el consumidor y los físicos los más fácilmente identificables, los riesgos de tipo microbiológico son los más serios desde una perspectiva de salud pública (22,27,32,42).

En la fabricación de productos alimenticios, las medidas rutinarias de cada día encaminadas a asegurar la debida higiene, deben desarrollarse a partir de la integración coherente de las actividades de limpieza y desinfección; además es necesario establecer controles objetivos a través de los cuales se evalúe el efecto antimicrobiano de dichas actividades (29,34).

Dichos procedimientos son necesarios para mantener el control microbiológico, eliminando o reduciendo la población microbiana de las superficies, equipo, personal y ambiente. El control higiénico y la correcta limpieza de los útiles, utensilios, maquinaria, entre otros factores, reducen considerablemente el riesgo de que se deposite suciedad sobre el producto (35,38,64).

Para alcanzar y mantener un control microbiano, el proceso de limpieza debe reducir convenientemente la población microbiana. Para ello, el proceso de limpieza debe ir seguido de una desinfección que puede lograrse por procedimientos físicos, químicos o ambos, mediante efectos de destrucción e inhibición de gérmenes presentes en una superficie a un nivel que no dé lugar a una contaminación nociva. Se exigirá la mejor limpieza posible por parte del personal, así como de los locales y materiales empleados (30,39,40,42,63,64).

En las prácticas higiénicas de una planta empacadora, deben estar vinculados aspectos que permitan utilizar los métodos de aislamiento y recuento de microorganismos indicadores (coliformes), para comprobar la eficacia de la limpieza y desinfección en la industria alimentaria, así como la identificación de posibles puntos críticos y establecer las medidas de control, que le permitan a las empresas ofrecer productos con un mínimo de riesgos y que se encuentren bajo los límites que establecen las disposiciones sanitarias que deberían regular su actividad (21,32,42,64).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPÓTESIS

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La empresa sujeto de estudio, cuenta con un programa de control de calidad que incluye entre otros, los procedimientos de limpieza y sanitización de la mesa de despiece, sin embargo se desconoce en forma fehaciente la eficacia de dichos procedimientos, no obstante que existen indicadores (NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de Higiene y Sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos) permitirían evaluar las prácticas de higiene y sanidad, con las que debe cumplir la empresa. Es por tanto, primordial el planteamiento de objetivos secundarios que permitan una correlación con el objetivo principal, para la obtención confiable de resultados y su adecuada interpretación.

HIPÓTESIS

- El procedimiento de limpieza y sanitización que se aplica de manera rutinaria garantiza que la población bacteriana de coliformes totales se mantenga por debajo de los niveles permitidos conforme a la NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de Higiene y Sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.
- El procedimiento de limpieza y sanitización que se aplica de manera rutinaria no garantiza que la población bacteriana de coliformes totales se mantenga por debajo de los niveles permitidos conforme a la NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de Higiene y Sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.
- El procedimiento de limpieza y sanitización que se realiza en la mesa de despiece, se aplica conforme lo especifica el Manual de Procedimientos de dicha empresa.
- El procedimiento de limpieza y sanitización que se realiza en la mesa de despiece, no se aplica conforme lo especifica el Manual de Procedimientos de dicha empresa.
- La concentración, tiempos de acción, método, frecuencia y temperatura de los agentes utilizados, se aplican conforme lo especifica el fabricante.
- La concentración, tiempos de acción, método, frecuencia y temperatura de los agentes utilizados, no se aplican conforme lo especifica el fabricante.
- Los resultados obtenidos en las cuentas bacterianas se mantienen por debajo de los niveles permitidos en los estándares establecidos internacionalmente.
- Los resultados obtenidos en las cuentas bacterianas no se mantienen por debajo de los niveles permitidos en los estándares establecidos internacionalmente.

IV. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la eficacia antibacteriana sobre coliformes totales, del programa de limpieza y sanitización que se realiza en la mesa de despiece en una planta empacadora de carnes frías de la Ciudad de México.

OBJETIVOS PARTICULARES

- ❖ Determinar si el procedimiento de limpieza y sanitización que se aplica de manera rutinaria garantiza que la población bacteriana de coliformes totales se mantenga por debajo de los niveles permitidos conforme a la NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de Higiene y Sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.
- ❖ Analizar si el procedimiento de limpieza y sanitización que se realiza en la mesa de despiece, se aplica conforme lo especifica el Manual de Procedimientos de dicha empresa.
- ❖ Evaluar si la concentración, tiempos de acción, método, frecuencia y temperatura de los agentes utilizados, se aplican conforme lo especifica el fabricante.
- ❖ Comparar los resultados obtenidos en las cuentas bacterianas con estándares establecidos internacionalmente.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

1. MATERIAL (ANEXO 1)

2. MÉTODOS

❖ Tipo de Estudio.

- Observacional
- Descriptivo
- Longitudinal
- Prospectivo

❖ Sujeto de estudio

Mesas del área de despiece de la empacadora de carnes frías con las siguientes características: la mesa central mide 6 m de longitud, con una banda móvil de propileno que mide 12 m de largo por 0.65 m de ancho, a sus costados se ubican ocho mesas de trabajo con placas de nylamid, con dimensiones de 1 m de largo por 0.50 m de ancho cada una.

❖ Ubicación del estudio

Las muestras de análisis se obtuvieron de las mesas de despiece de una empresa empacadora de carnes frías de la Ciudad de México.

El análisis microbiológico y de los resultados, se realizaron en el Laboratorio de Medicina Preventiva, de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

❖ Eficacia del procedimiento

- Obtención y manejo de las muestras

Se realizó como lo especifica la NOM-109-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

- Preparación y procesamiento de las muestras

Se realizó como lo establece la NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de alimentos para su análisis microbiológico.

Además, de consultar para este punto al Manual de Procedimientos para el examen microbiológico de superficies y utensilios. SSA, Laboratorio Nacional de Salud Pública.

- Criterios de inclusión

Se trabajó con muestras obtenidas de manera sistemática los días martes y jueves; la razón por la que se tomaron las muestras dichos días se debe a que el sábado sólo se trabaja medio día, transcurriendo varias horas y formándose un vacío sanitario mayor para el día lunes, a diferencia de los otros días, la toma de muestras se realizó antes de iniciar la jornada y al término de la misma, antes de realizar la limpieza de las mesas para tratar de homogenizar el período transcurrido entre la finalización del proceso de limpieza y desinfección del día anterior, y el inicio del proceso de despiece del día siguiente.

Las superficies a muestrear, se ubicaron en las orillas laterales de la mesa de banda móvil y el centro de las mesas de trabajo, las muestras se obtuvieron de los puntos de mayor actividad (Anexo 2).

- Tipos de variables a estudiar
- Cualitativa nominal categórica

Identificación de coliformes totales conforme a la NOM-113-SSA1-1994. Método para la Cuenta de Microorganismos Coliformes totales en Placa.

- Cuantitativa discreta

Cuenta total de coliformes totales por cm² de superficie.

- Cálculo del tamaño de la muestra

Con el propósito de calcular el tamaño de la muestra y la estandarización de la prueba, se realizó un estudio piloto de 2 semanas.

Al concluir el estudio piloto, la cantidad de muestras obtenidas fue de 56 muestras, de las cuales el 90% resultaron con un valor superior a lo establecido por la NOM-093-SSA1-1994, esta proporción se utilizó para calcular el tamaño de la muestra del estudio final, según la siguiente fórmula:

$$n = z^2 pq/d^2$$

Donde:

$z = 1.96$ (valor de la tabla de áreas de la distribución normal que corresponde al 95% de nivel de confianza),

$p =$ frecuencia de presentación de UFC (unidades formadoras de colonias) mayor a los límites permitidos (NOM-093-SSA1-1994),

$q = 1 - p$,

$d = 5\%$ (error máximo permitido en la estimación) (8)

Con base en lo anterior, de la mesa de banda móvil se obtuvieron 4 muestras y de las mesas de trabajo 2; dichas muestras en total constituyeron 6 hisopados antes del inicio de la jornada y 6 al término de ésta, obteniendo un total de 12 muestras por día. El estudio final se realizó en 4 semanas, siendo los martes y jueves de cada semana los días de muestreo, por lo tanto, se tomaron 24 muestras por cada semana, multiplicando este valor por las cuatro semanas de muestreo en total se obtuvieron 96 muestras después de la realización de la limpieza y para realizar un estudio comparativo entre el antes y después de la limpieza, se tomaron 48 muestras (12 muestras por semana) antes de la realización de dicha limpieza, para un total de 144 muestras analizadas.

VI. MARCO TEÓRICO

VI.1. LIMPIEZA

VI.1.1. Bases higiénicas del desarrollo de producción

La Higiene es la parte de la Medicina que tiene como objetivo al hombre sano y la conservación de la salud del mismo. La palabra griega *hygieinos* comprende los conceptos de sano, limpio, íntegro, correcto y probo. Se pretende mantener todos estos conceptos en las relaciones existentes entre Tecnología e Higiene y no reducir esta última a una microbiología aplicada basada en la determinación de parámetros cuantitativos referentes a especies microbianas de importancia relevante. La FAO define la Higiene Bromatológica como “el conjunto de prevenciones y medidas que es necesario adoptar en la obtención, tratamiento, almacenado y venta de alimentos, con objeto de garantizar un producto en perfectas condiciones, sano y agradable, que sea apto para consumo humano” (6, 17, 21,45).

La obtención y tratamiento de materias primas alimenticias implica una forma de organización del proceso de producción que hace absolutamente obligatorio el cumplimiento de principios higiénicos básicos. Higiene y fabricación de alimentos deben estar relacionadas entre sí mediante medidas de organización, de manera tal que la higiene constituya un componente inseparable del proceso de producción de artículos alimenticios. Las medidas y fundamentos higiénicos de la organización constituyen en su conjunto el régimen higiénico de la industria alimenticia. Del grado de exigencia del régimen higiénico y de su responsable puesta en práctica en el transcurso del proceso de producción dependen decisivamente las condiciones higiénicas, y con ellas la calidad, de los productos elaborados (16, 17, 21,29).

Todas las materias primas alimenticias ingresadas en el establecimiento y la totalidad de los artículos con ellas producidos deben someterse a un estricto control higiénico en lo referente a su estado. En cada etapa de elaboración de alimentos se distinguen fases características de producción. El flujo de producción debe discurrir siempre de acuerdo con el principio del negro-blanco, que exige la separación de los materiales en una zona sucia y otra limpia, siempre que se trabaje con materias higiénicamente sospechosas o éstas se originen en la elaboración de los alimentos. La fabricación de cualquier alimento debe iniciarse con un control de entrada del estado higiénico de la materia prima en lo referente a clase, cantidad y calidad. Como materia prima se considera los animales vivos, sacrificados, capturados o abatidos, partes de los mismos o productos con ellos elaborados. Son materias primas higiénicamente admisibles la carne, grasa, vísceras, sangre y huesos de animales domésticos de abasto, así como otros alimentos de origen animal que se consideran aptos para el consumo en la inspección correspondiente. Se consideran materias primas higiénicamente sospechosas, aquellas que requieren un tratamiento y vigilancia especial durante el proceso de elaboración. El proceso de producción se organizará, por consiguiente, de manera que las materias higiénicamente censurables puedan convertirse con ayuda de métodos técnicos en productos admisibles, o bien sean dirigidas a otras instalaciones o ramas industriales que cuenten con medios para su adecuado tratamiento (2, 4, 10, 15, 16,21).

Con ayuda de controles complementarios del proceso de fabricación de alimentos (métodos físicos, químicos, enzimáticos y otros) se puede vigilar el mantenimiento de los parámetros industriales y a la vez, comprobar la inocuidad higiénica de los productos terminados. Este proceder refuerza la seguridad de la producción y reduce sus pérdidas. Sustituye, asimismo, hasta una cierta medida al control de la calidad final de los artículos terminados (22, 23,26).

En la fabricación de alimentos sólo se utilizarán como medios de producción utensilios, máquinas e instalaciones que no ejerzan ninguna influencia perjudicial sobre la calidad de los artículos alimenticios (38).

Estos medios evitarán en lo posible el contacto directo de los operarios con el alimento y garantizarán un flujo de producción continuo y en circuitos lo más cerrados posible.

Debido a la fácil descomposición de los alimentos de origen animal como consecuencia de su elevado contenido de proteínas y humedad, los procesos de tratamiento de los mismos deben llevarse a cabo con temperaturas que impidan la multiplicación de los microorganismos (29).

Orden y seguridad se consideran principios básicos del desarrollo del proceso laboral en la producción de alimentos. Todas las herramientas, instrumentos auxiliares, recipientes y vehículos requeridos para la producción deben hallarse antes de iniciar el proceso convenientemente ordenados, limpios y en perfecto estado de funcionamiento. Cabe mencionar al respecto del ordenamiento de productos intermedios u otros artículos en otras secciones del establecimiento. De esta adecuada organización depende el posterior estado higiénico y en buena medida la capacidad de conservación de los productos.

Las medidas de limpieza son componentes de las que integran la programación laboral de los establecimientos alimenticios (15, 16, 17, 21, 23,29).

Por ello, como todos los demás cometidos, se incluirán debidamente planificadas en el proceso de producción. Debido al alto grado de ensuciamiento que se registra en los establecimientos dedicados a la producción y tratamiento de la carne, en ellos es necesario llevar a cabo continuamente una limpieza en cada puesto de trabajo, la limpieza a fondo una vez concluidos los turnos de trabajo permite eliminar por completo cualquier residuo, reduce notablemente la presencia de gérmenes y crea un ambiente higiénicamente adecuado en los locales de producción.

El objetivo de la limpieza es eliminar la suciedad y residuos resultantes de los procesos de elaboración. En su transcurso hay que evitar acciones indeseables sobre los productos (contaminaciones). La frecuencia necesaria de la limpieza depende de la carga de suciedad (cantidad y reiteración) y de la precisa separación de las diversas operaciones de trabajo (eliminación de residuos) (21, 23, 26,29).

La forma en que debe realizarse, depende principalmente de: (1) la naturaleza de la suciedad o mugre que debe eliminarse; (2) el tipo de superficie a limpiar; (3) los materiales empleados para la limpieza; (4) el grado de dureza del agua y (5) el grado de limpieza requerido (30).

Las fases básicas de un programa de limpieza pueden resumirse así: (1) eliminación de la suciedad más grosera; (2) eliminación con detergentes de todo resto de la mugre o suciedad y (3) arrastre o enjuagado con agua para eliminar los detergentes y la suciedad. Pero frecuentemente la limpieza debe ir seguida de la desinfección o esterilización que implica otras dos nuevas fases, esto es, la desinfección o esterilización de las superficies con productos que destruyan los microorganismos y el arrastre o enjuague de aquellos.

A la hora de seleccionar un sistema se deben tener en cuenta los criterios siguientes:

1. Selección y concentración de los productos químicos a utilizar.
2. Temperatura del agua. La temperatura del agua debe ser correcta, ya que si se utilizan temperaturas bajas se puede favorecer el crecimiento bacteriano. Las temperaturas elevadas hacen que disminuya la adhesión de la suciedad, a la vez aumentan la velocidad de reacción de las sustancias contenidas en la solución limpiadora. Esta última también puede penetrar con más rapidez en la suciedad, aumenta la solubilidad y se funden las sustancias grasas, mientras que su viscosidad disminuye.
3. Tiempo de contacto de los productos de limpieza. Debe concederse el tiempo suficiente para que las sustancias activas, la suciedad y superficies a limpiar, entren en contacto, y que la solución limpiadora penetre a través de toda la suciedad, empape las materias resacas y emulsione las sustancias vehiculadoras de grasa.
4. Dureza del agua. Es un factor importante a tener en cuenta dependiendo de la suciedad a eliminar y de las características de los productos químicos utilizados.

5. Detergentes residuales. No se puede obviar de que existen diferentes tipos de detergentes, es importante determinar que en algunos no es necesario la realización de un aclarado y que en otros es necesario la buena realización de éste para eliminar los residuos de los productos químicos después de su utilización. Todos los productos empleados deben estar permitidos para su utilización en la industria de alimentos.
6. Cantidad y tipo de materia orgánica. Si las cantidades son altas deben emplearse sistemas de recogida, barrido, etc., que eliminen los restos más groseros antes de realizar una limpieza a fondo.
7. Tipo de superficies a limpiar.
8. Clases y cantidades de microorganismos que se tienen que eliminar (6,15,16,18,21,37)

VI.1. 2. Tipos de Suciedad

Los establecimientos productores y transformadores de alimentos están constituidos por esferas de producción que pueden ensuciarse de distinta manera. En las empresas empacadoras el despiece es una operación laboral que sirve bien para obtener cortes definidos de la carne, o bien para trocear la carne hasta tamaños que permitan su elaboración industrial.

El despiece destinado a la preparación de productos cárnicos comprende la separación de los huesos y la eliminación de las cortezas (piel), grasa y tendones más gruesos. Así se obtienen tajos de carne de distintas calidades en lo referente a porcentajes de tejido muscular, grasa y tendones, que encuentran empleo adecuado en las múltiples fórmulas de preparar embutidos y otros productos cárnicos (1, 6, 17,23).

El tipo de suciedad a eliminar varía de acuerdo con la composición del alimento y la naturaleza del proceso a que ha sido sometido. Los restos alimenticios de la superficie a limpiar pueden ser partículas secas y residuos desecados o cocidos, pegajosos, grasosos o viscosos (Cuadro 1).

De acuerdo con el tipo de suciedad pueden distinguirse dos grupos:

- Suciedades hidrosolubles, esponjables, que se eliminan mecánicamente después de su reblandecimiento con agua fría.
- Suciedades insolubles en agua, no esponjables, pero que se pueden disolver saponificadas y/o dispersas, con agua caliente y productos químicos auxiliares y se eliminan mecánicamente.

Las suciedades del primer grupo predominan en rampas de carga, calles, zonas de conducción, locales sociales y administrativos. El segundo grupo se presenta en unidades de producción en que se generan con preferencia suciedades grasas: secciones de embutidos cocidos, escaldados y madurados, fundición de grasas, producción de conservas, etc.

Ofrecen una problemática especial aquellos departamentos en que coinciden ambos tipos de suciedades, como por ejemplo, los mataderos, salas de despiece, líneas de tratamiento de pescado, etc (1,6,12,15,17,18,21,23,29,30,34).

CUADRO 1. Características de la suciedad

Componente	Solubilidad	Limpieza	Cambios al calentar
Azúcar	Hidrosoluble	Fácil	Caramelización; más difícil de limpiar
Grasa	Insoluble en agua, Soluble en álcali	Difícil	Polimerización; más difícil de limpiar
Proteína	Insoluble en agua, Soluble en álcali Poco soluble en ácidos	Muy difícil	Desnaturalización; muy difícil de limpiar
Sales minerales	Hidrosolubilidad variable, la mayoría ácido solubles	Fácil a difícil	Insignificante

Fuente: HAYES (1993). Microbiología e Higiene de los Alimentos. ACRIBIA, 1ª Edición, España.

VI.1.3. Eliminación de la suciedad

En una limpieza inicial se eliminan los residuos y suciedades groseras. A continuación conviene efectuar un remojado preparatorio para empapar bien y reblandecer la suciedad, antes de comenzar la operación de limpieza propiamente dicha, los productos limpiadores adecuados se utilizarán en las concentraciones prescritas por el fabricante. La limpieza concluye con la eliminación del líquido que arrastra la suciedad (enjuagado).

Puesto que la principal misión de un detergente es facilitar la eliminación de la suciedad, podría argumentarse que todas las operaciones preliminares de la limpieza convencional resultan innecesarias y tal vez perdidas desde el punto de vista de la mano de obra utilizada. A esto puede oponerse, como contrapartida que si se elimina la mayor parte de la suciedad en un proceso de limpieza previo, la cantidad de detergente necesario para eliminar la restante será mucho menor y mejor aprovechada; este último proceder es el recomendado siempre que sea factible y deberá iniciarse tan pronto como sea posible después de terminado el proceso (6, 17, 18, 21, 29,34).

Las partes a limpiar conviene que tengan superficies lo más lisas posible, que exhiban formas que faciliten dicha limpieza (sin grietas ni ángulos muertos, etc.) y que resistan la corrosión tanto frente a las suciedades, como a las soluciones limpiadoras. La limpieza preliminar de piezas pequeñas de equipo, puede implicar su inmersión en agua caliente o fría para eliminar la suciedad que llevan adherida.

La suciedad más persistente puede eliminarse por cepillado o rascado manual en agua, a unos 45° C aproximadamente. Las cerdas de los cepillos serán lo más duras posible, pero incapaces de dañar las superficies a limpiar. A este respecto no deben emplearse abrasivos como los estropajos de acero y los cepillos de alambre; porque no solo dañan muchas superficies, incluidas las de acero inoxidable; sino que pueden pasar a los alimentos partículas metálicas, con las consiguientes reclamaciones de los compradores (32,34).

Los polvos abrasivos tienen un empleo limitado, siempre que se empleen es imprescindible arrastrarlos o enjuagarlos con agua.

La elección del producto y procedimiento de limpieza depende de la naturaleza de la suciedad y del grado de limpieza que se desee conseguir. En la industria cárnica se trata con preferencia de restos vehiculadores de grasa y proteína, que se adhieren con facilidad a las superficies hasta que resultan desnaturalizados y eliminados (Cuadro 2).

Se utilizan diversas clases de medios limpiadores: con máxima frecuencia se emplean sustancias *alcalinas*; sirven bien para eliminar lo mismo residuos grasos y proteicos, que depósitos de humo. Se trata en estos casos de medios frecuentemente muy activos, que se comportan como agentes corrosivos y que por ello, deben tantearse previamente en cada caso concreto; en su utilización hay que observar las medidas necesarias de precaución (18,21).

Además, se utilizan productos limpiadores *ácidos* para eliminar proteína, sangre, grasa, restos especialmente de mucho tiempo, así como manchas de óxido y sedimentos de sales de cal. En la práctica es recomendable incluir por lo menos una limpieza ácida por semana.

Productos limpiadores más suaves son los *neutros*, que tienen su oportunidad de empleo en superficies lisas de acero, aluminio y plástico. Carecen de acción corrosiva y no dañan las manos ni los utensilios.

Para mejores efectos, se añaden cada vez con mayor frecuencia a los medios limpiadores *sustancias tensodepresoras*. Se trata de sustancias que reducen la tensión superficial existente entre la solución limpiadora y el objeto a limpiar.

Con ello se desprende la suciedad y queda suspendida en la solución limpiadora. Sobre superficies verticales y en objetos difíciles de limpiar en virtud de su forma; estos medios limpiadores se aplican como *espuma*. Tras un enjuagado previo con agua tibia, se genera una espuma más o menos estable, haciendo actuar aire a presión sobre soluciones limpiadoras que contengan sustancias tensodepresoras; la espuma actuando a altas temperaturas (40-60°C) durante 10-30 minutos reblandece, levanta y desprende la suciedad, para por último enjuagarla con agua tibia.

El agua a gran presión puede emplearse para limpiar ciertas partes del equipo, si bien debe comprobarse que se elimina la suciedad y que la temperatura del agua es la adecuada, por ejemplo, en la carne cruda una temperatura del agua demasiado alta dará lugar a la desnaturalización proteica, haciendo más difícil la limpieza. Con las sustancias secas debe preferirse la limpieza a vacío, dado que la utilización de aire comprimido tiende a diseminar la suciedad por el entorno; esto resulta a menudo útil cuando están implicados los residuos más persistentes (6, 23, 29, 32, 34, 38,45).

CUADRO 2. Ventajas e inconvenientes de las diferentes técnicas de acción en la limpieza de superficie en la industria de la carne

TÉCNICA DEL PROCEDIMIENTO	VENTAJAS	INCONVENIENTES
Limpeza manual	Puede eliminarse todas las suciedades; la técnica de acción puede adaptarse a las necesidades	Elevadas necesidades de personal, tiempo y costos; el éxito de la limpieza depende del cuidado puesto por el personal
Limpeza mecánica	Ahorra personal, tiempo y costos	No todas las suciedades pueden eliminarse
Alta presión	Buena acción limpiadora sobre suciedades proteicas y grasas, si se utiliza con el debido cuidado	Variaciones superficiales Formación de aerosoles Redeposito de suciedad
Presión	Destrucción parcial de los gérmenes por el vapor	Intensa formación de vahos y agua condensada
Espuma	Se reblandecen las suciedades proteicas resacas, adherencia de la espuma a las superficies verticales	La grasa no se disuelve y elimina

Fuente: PRÄNDAL, Oskar y FISHER, Albert (1994). Tecnología e Higiene de la Carne. ACRIBIA, 1ª Edición, España, pp. 680.

VI.1. 4. DETERGENTES

VI.1. 4.1. Propiedades deseables

Los detergentes deben de poder eliminar muchos tipos de suciedad bajo circunstancias distintas; por lo tanto, la relación de propiedades exigidas a un buen detergente es grande. El detergente ideal debería:

1. Ser fácilmente soluble en agua a la temperatura necesaria.
2. No ser corrosivo para las superficies del equipo.
3. Carecer de acción irritante sobre la piel y los ojos y no ser tóxico.
4. Inodoro.
5. Biodegradable; los detergentes han creado problemas al formar espuma en los sistemas de eliminación de efluentes, si bien actualmente han sido superados con el empleo de detergentes que son degradables por las bacterias del efluente.
6. De empleo económico; el precio más bajo por unidad de volumen puede no corresponder necesariamente al que resulta de empleo más económico.
7. Fácilmente arrastrables con agua; las soluciones de detergentes deben enjuagarse sencillamente, de forma que no queden restos adheridos a las superficies limpias.
8. Estables durante períodos de almacenamiento largos.
9. Limpiadores efectivos de todo tipo de suciedad; debido al gran espectro de sustancias que deben eliminarse con los detergentes, tienen que poder:
 - (a) Humedecer la superficie del material sucio, es decir, rebajar la tensión superficial del agua de forma que ésta pueda penetrar en la suciedad y eliminarla más fácilmente de la superficie a limpiar.
 - (b) Dispersar los materiales insolubles, que en otro caso formarían agregados, y mantenerlos en suspensión de forma que puedan ser arrastrados antes de que se redepositen en la superficie limpia.
 - (c) Disolver las suciedades solubles, tanto orgánicas como inorgánicas; cuanto más rápida sea la solución mejor será el detergente.
 - (d) Emulsionar las grasas y aceites, es decir, descomponerlos en glóbulos pequeños y dispersarlos de forma que permanezcan suspendidos en solución.
 - (e) Saponificar las grasas, es decir, convertir las grasas en jabones solubles.
 - (f) Secuestrar (es decir, ligar e inactivar) las sales de calcio y magnesio disueltas en las aguas duras, de forma que se evite su precipitación y no disminuya la eficacia de la limpieza. Ejemplo de esta precipitación es la formada al emplear jabón para lavar con agua dura. En esencia los detergentes tienen que poder ablandar al agua dura cuando sea necesario, si bien debe anticiparse que en las regiones de aguas duras han de instalarse sistemas de ablandamiento.

Nótese que no se espera que los detergentes posean propiedades bactericidas, si bien algunos las tienen en la práctica. Sin embargo, los detergentes eliminan físicamente un gran número de bacterias durante la limpieza lo que facilita la desinfección posterior.

Puesto que hasta ahora, ningún producto químico posee todas las propiedades citadas, deben mezclarse varios para obtener formulaciones equilibradas de detergentes aptas para una necesidad de limpieza específica (6,16,18,21,23,26,27,29,37,45,65).

VI.1. 4. 2. Clasificación de los detergentes

Los detergentes pueden clasificarse como sigue:

1. Alkalís inorgánicos, cáusticos y no cáusticos.
2. Ácidos inorgánicos y orgánicos.
3. Agentes de superficie activa: aniónicos, no-aniónicos, catiónicos y anfotéricos.
4. Agentes secuestrantes inorgánicos y orgánicos (29,34).

VI.1. 4. 2.1. Alkalís inorgánicos, cáusticos y no cáusticos

El principal ingrediente de muchos detergentes es un álcali. El *hidróxido sódico* (sosa cáustica) es el más fuerte de los alkalís y además barato. Posee excelentes propiedades disolventes, es bactericida. Sin embargo, es muy corrosivo para los metales y en especial para el aluminio; debe tenerse cuidado al manipularlo pues puede producir graves quemaduras en la piel; por esta razón cuando se trabaja con este detergente, deben emplearse ropas y anteojos protectores, además de guantes de goma resistentes. Como todos los detergentes alcalinos el hidróxido sódico precipita las sales cálcicas y magnésicas insolubles del agua dura por lo que en cualquier formulación de estos detergentes deben añadirse secuestrantes a los limpiadores alcalinos.

El *metasilicato sódico*, aunque es un álcali fuerte no es cáustico y por lo tanto, es mucho menos corrosivo que el hidróxido sódico. De hecho el metasilicato sódico suprime el efecto corrosivo del hidróxido sódico por lo que ambos se combinan con frecuencia. Sin embargo, constituye por sí mismo un buen agente de limpieza al poseer capacidades dispersantes y emulsificantes eficaces y ser fácilmente enjuagable; tiene el inconveniente de ser relativamente caro.

El *ortosilicato sódico* y el *sesquisilicato sódico* tienen una buena capacidad saponificante y ambos son eficaces limpiadores del material proteico. Desgraciadamente los dos, pero sobre todo el ortosilicato son corrosivos para el aluminio.

De los alkalís no cáusticos el carbonato sódico y el fosfato trisódico son los ejemplos más característicos. El *carbonato sódico* es un detergente relativamente débil, algo corrosivo y precipita las sales cálcicas y magnésicas de las aguas duras. Sin embargo, es barato y posee un buen poder tampón (esto es, estabiliza el pH), por lo que frecuentemente se incorpora a fórmulas de detergentes. El *fosfato trisódico* (TSP) es un buen emulsionante y saponificante, dotado de fuertes propiedades dispersantes, tiene la habilidad de ablandar el agua precipitando sus sales como flóculos y no como partículas. Aunque también es algo corrosivo forma parte a menudo de los detergentes (26, 29, 34,38).

VI.1. 4. 2.2. Ácidos inorgánicos y orgánicos

Los ácidos se emplean poco en la industria alimentaria ya que son corrosivos en mayor o menor extensión y carecen de versatilidad como agentes de limpieza; además, muchos son peligrosos y pueden causar quemaduras graves por lo que deben usarse ropas protectoras. Dentro de los inorgánicos antiguamente se empleaban en la industria lechera el *clorhídrico*, *sulfúrico* y *nítrico* para eliminar los precipitados del agua dura y otros depósitos minerales (por ejemplo, la <pedra de la leche> que es un depósito de proteína, carbonato cálcico y otras sales y que se forma en pasteurizadoras cuando se eliminan por completo las partículas lácteas), pero debido a su naturaleza tan corrosiva han sido sustituidos por ácidos más débiles.

Entre ellos se encuentran el *fosfórico* y el *sulfámico* que son menos corrosivos que los citados y que, cuando se acoplan con un inhibidor de la corrosión, son muy eficaces. No obstante, cuando el depósito precipitado es excesivo pueden emplearse concentraciones bajas de ácidos más fuertes.

Los ácidos orgánicos que poseen acción bacteriostática, son mucho más débiles que los inorgánicos y por lo tanto más seguros durante su manejo. Entre los ácidos orgánicos que se incorporan a las fórmulas de detergentes se encuentran los siguientes: *glucónico*, *hidroxiacético*, *cítrico* y *tartárico*. Los detergentes ácidos generalmente llevan inhibidores de la corrosión y agentes humectantes y como tales pueden emplearse para eliminar los depósitos inorgánicos y la piedra de la leche y para el lavado de botellas (23, 26, 29,34).

VI.1. 4. 2.3. Agentes de superficie activa

Los agentes de superficie activa o surfactantes disminuyen la tensión superficial del agua para facilitar el mojado. El agente de superficie activa clásico es el jabón que está constituido corrientemente de sales potásicas o sódicas de los ácidos grasos, como el esteárico, palmítico y oleico. Los jabones son razonablemente eficaces con el agua blanda, pero su menor solubilidad en agua fría supone un inconveniente; además, los jabones forman precipitados con el calcio de las aguas duras originando depósitos insolubles. Por estas razones han sido sustituidos en gran parte por los detergentes sintéticos que son aniónicos, catiónicos, no iónicos y anfotéricos, dependiendo de su carga eléctrica activa cuando están en solución. Cuando predominan las cargas negativas el surfactante se clasifica como aniónico, si los hacen positivas como catiónico, mientras que si no se disocian en solución se denominan no iónicos. Cuando la carga predominante varía, según que prevalezcan las condiciones ácidas o alcalinas, el surfactante se denomina anfotérico.

Los agentes de superficie activa tienen una estructura molecular formada por una porción hidrofílica y otra hidrófoba. Por lo tanto, un extremo de la molécula es atraído por el agua y el otro repelido, pero atraído por las grasas y aceites (es decir, es lipófila); en consecuencia se establece un puente entre el aceite y el agua, lo que constituye ya el fundamento de la acción limpiadora de los agentes de superficie activa (34,38).

Actualmente se dispone de muchos cientos de agentes de superficie activa que forman parte de las fórmulas de detergentes. Los surfactantes son corrientemente excelentes agentes emulsionantes, tienen buenas propiedades humectantes y poderes de penetración, no son corrosivos, ni irritantes y son arrastrados fácilmente por el agua.

Además, son muy solubles en agua fría, en gran parte no son afectados por el agua dura y muchos son estables en condiciones ácidas y alcalinas; dadas estas propiedades tan variadas no sorprende su amplia utilización en la actualidad.

Mientras que la actividad bactericida de los detergentes aniónicos y no aniónicos es escasa, la de los catiónicos es excelente si bien son peores como detergentes y esterilizantes (23, 29,45).

Muchos surfactantes originan grandes cantidades de espuma, sobre todo cuando se origina turbulencia durante la limpieza, por ejemplo, en sistemas de limpieza CIP (clearing in place). Para evitar dicha formación se incorpora a menudo a sus fórmulas agentes antiespumantes con el fin de conseguir detergentes que formen poca espuma, que son los requeridos para la mayoría de las operaciones de este tipo de limpieza en la industria alimentaria (34).

1. *Agentes aniónicos tensoactivos*. Estos agentes son el grupo mayor de los surfactantes, por lo que se mencionan los grupos principales utilizados en la industria de alimentos. El jabón es un ejemplo de surfactante aniónico pero, como se ha mencionado, presenta una serie de propiedades que limitan mucho su empleo.

Los principales surfactantes aniónicos actualmente empleados son los alquilsulfatados (esto es, una cadena de 12 a 18 átomos de carbono saturados con hidrógeno = cadena alquílica) y los alquil benceno sulfonatos.

Las porciones hidrofílicas de las moléculas están representadas, respectivamente, por los grupos alquilo (por ejemplo, laurilo) y benceno, mientras que las hidrofílicas las constituyen sulfatos y sulfonatos; los cationes son corrientemente sodio o potasio (18, 26, 29,34).

2. *Agentes de superficie activa no aniónicos.* Estos surfactantes no se disocian en solución y pueden usarse tanto con agentes aniónicos, como catiónicos. Son emulsionantes poderosos a los que no les afecta el agua dura y varían mucho en sus características espumantes.

Muchos son muy solubles en agua y se emplean principalmente como detergentes líquidos. Sin embargo, algunos de los surfactantes no iónicos exhiben unas propiedades solubles muy características ya que al calentarlos se separan de la solución que se enturbia; la temperatura a la que esto sucede se le denomina <punto de enturbiamiento>. Se puede aprovechar en la práctica esta propiedad utilizando los surfactantes no iónicos a temperaturas mayores que las del punto de enturbiamiento; a las que inducen sus propiedades antiespumantes, tan importantes en la limpieza a presión con detergentes. A temperaturas menores el detergente se disuelve y este cambio facilita el enjuagado frío subsiguiente (21, 26,38).

Como en el caso de los aniónicos, la lista de surfactantes no iónicos es muy grande. Dos de los grupos principales se basan en productos formados por reacciones de condensación entre el óxido de etileno y los alcoholes sintéticos de cadena larga (por ejemplo, etoxilato de laurilo) o entre el óxido de etileno y los fenoles alquílicos (por ejemplo, etoxilato de nonilfenol). Los primeros representan el grupo principal de los surfactantes poco espumantes del Reino Unido.

3. *Agentes de superficie activa anfóteros.* Los surfactantes anfóteros en solución como catiónicos o aniónicos, dependiendo del pH. Se basan en aminoácidos y tienen de fórmula general $R-NH-CH_2-COOH$, en donde R corresponde generalmente a un radical alquilo.

Un ejemplo es la dodecil diaminoetilglicina cuya actividad detergente corresponde al estado aniónico. Los agentes anfóteros son emulsionantes relativamente buenos, siendo estables tanto en ácidos como en álcalis y toleran bastante bien al agua dura. Además, los detergentes empleados presentan actividad bactericida; sin embargo, son relativamente caros, carecen de algunas buenas propiedades y por lo tanto, su empleo es algo limitado. Debido a sus propiedades suaves se incorporan frecuentemente a los detergentes de tocador y a los champús (26, 29,34).

VI.1.4.2.4. Agentes secuestrantes

El agua verdaderamente blanda posee propiedades limpiadoras que van disminuyendo progresivamente a medida que se disuelven en ella cada vez más sales de calcio y magnesio; es decir, el agua se vuelve más dura ocasionando una mayor tendencia a precipitar y formar escaras. Los agentes secuestrantes se adicionan a los detergentes para evitar la precipitación de las sales, aunque a la larga resulta mucho más barato ablandar el agua que añadir grandes concentraciones de secuestrantes a los detergentes. Obviamente, la cantidad de secuestrantes que se adicionan depende de la dureza del agua y de la fórmula general del detergente (18).

1. *Agentes secuestrantes inorgánicos.* Como secuestrantes se emplean mucho los polifosfatos que además, les proporcionan a los detergentes otras propiedades convenientes; muchos son buenos emulgentes, agentes disolventes y dispersantes y generalmente facilitan el enjuagado.

De los polifosfatos el *pirofosfato tetrasódico* es barato y muy empleado, pero corrientemente actúa principalmente como precipitante, siendo mejor secuestrante del magnesio que de calcio. El *tripolofosfato sódico* y el *tetrafosfato sódico* son verdaderos secuestrantes, es decir, eliminan los iones calcio y magnesio del agua formando un complejo; sin originar una precipitación perjudicial de fosfatos de calcio y magnesio.

En los detergentes incorrectamente formulados, los polifosfatos, sobre todo a temperaturas altas, generalmente pierden su poder secuestrante debido a que en solución se convierten en compuestos más sencillos, ortofosfatos, que son de escaso poder.

El *hexametáfosfato sódico* es el menos estable de los polifosfatos y resulta caro; es el mejor agente secuestrante del calcio, pero mucho menos eficaz frente al magnesio (18, 21,23).

2. *Agentes secuestrantes orgánicos.* Los principales secuestrantes orgánicos, llamados también agentes quelantes son el *ácido etilendiaminotetra-acético* (EDTA) y el *ácido nitriloacético* (NTA). Sus sales sódicas y potásicas y las sales sódicas de los *ácidos glucónico* y *heptónico*. A pesar de su costo, se utilizan mucho en las fórmulas de detergentes líquidos debido a su gran solubilidad.

El NTA es el secuestrante orgánico cuya relación precio-eficacia es la mejor. El EDTA es todavía más eficaz, pero resulta relativamente caro, incluso en forma de sal tetrasódica, la más utilizada corrientemente. El gluconato sódico y el heptonato sódico son secuestrantes muy potentes en condiciones de alcalinidad débiles; están especialmente indicadas para quelar el hierro y pueden emplearse para tratar la corrosión (34, 38,45).

VI.1.4.3. Formulación de detergentes

Las fórmulas modernas de detergentes son mezclas cuidadosamente preparadas, de distintas sustancias químicas, cada una de las cuales contribuye a las propiedades buscadas en el detergente. El precio es un factor importante por lo que hasta donde sea posible, los detergentes no contendrán productos inaprovechables y se emplearán a las concentraciones que lleven a cabo, de la forma más económica posible y dependiendo del tipo de limpieza deseado. Cada tipo de suciedad a eliminar y cada superficie a limpiar exigen, en condiciones ideales, un detergente distinto, pero en la práctica, con tres o cuatro fórmulas distintas puede ser suficiente.

En el comercio existen detergentes en polvo y líquidos. Los primeros tienen la ventaja de estar corrientemente más concentrados, es más difícil que se pierda material al preparar sus soluciones, pero éstos deben prepararse convenientemente. Posiblemente los líquidos se distribuyen y miden con más facilidad y exactitud, pero en la práctica se pierde bastante detergente concentrado debido a que se preparan soluciones demasiado fuertes (23,34).

Un agente de limpieza de tipo general debe contener sustancias alcalinas para disgregar la grasa, surfactante para facilitar la humectación, la dispersión y el enjuagado, y secuestrantes para estabilizar el magnesio y el calcio; el nivel de secuestrantes debe ajustarse cuidadosamente de acuerdo con el grado de dureza del agua y con la concentración a utilizar.

También puede incluirse como agente de limpieza, metasilicato sódico, que presenta la ventaja adicional de ser un inhibidor de la corrosión, especialmente cuando deben limpiarse metales sensibles, como el aluminio. Una fórmula de detergente en polvo de la mejor calidad y de múltiples aplicaciones, podría ser la siguiente: 30% de carbonato sódico, 35% de metasilicato sódico, 5% de alquil aril sulfonato y 30% de tripolifosfato sódico. A 1 000 partes de agua habría que añadir de 3 a 5 del producto para obtener una solución de limpieza. Si se desea un agente de limpieza fuertemente alcalino para grasas y proteínas tratadas por el calor la fórmula contendrá, además, hidróxido sódico, un secuestrante estable en condiciones alcalinas y un detergente no iónico. Por lo tanto, una fórmula de este tipo podría ser: hidróxido sódico 12%, carbonato sódico 20%, metasilicato sódico 45%, tripolifosfato sódico 20% y un surfactante no iónico 3%. Además, incluir un agente de limpieza ácido para utilizarlo una vez por semana, un agente no iónico de baja espuma y un inhibidor de la corrosión. Una fórmula líquida típica debe constar de 35% de ácido fosfórico, 1% de surfactante y 64% de agua.

Sin embargo, la prueba final de eficacia de cualquier detergente se mide por el grado de limpieza alcanzado en la práctica; por el tiempo, por el esfuerzo y dinero necesarios para alcanzarlo. En ocasiones se necesitan modificar las formulaciones cuando se observan dificultades, pero ello deberá realizarse después de consultar con los fabricantes de detergentes (21, 23, 29,34).

VI.1.4.4. Factores que influyen en la eficacia de los detergentes

La importancia de controlar la dureza del agua, ablandándola o adicionándole agentes secuestrantes ha sido ya mencionada; sin embargo, otros factores influyen también en la eficacia de los detergentes. Entre ellos deben citarse: concentración y temperatura de la solución del detergente, tiempo durante el que actúa y fuerza con que se aplica.

Todo detergente tiene una concentración mínima necesaria para una limpieza eficiente bajo una serie de circunstancias dadas; el aumentar la concentración por encima de ese mínimo, mejora el efecto limpiador, pero con unos rendimientos cada vez menores y con unos costos cada vez mayores, por lo que hay una concentración óptima que debe buscarse en condiciones comerciales.

A medida que aumenta la temperatura, la velocidad de la reacción del detergente y la suciedad también lo hacen, lo mismo que la solubilidad de los productos solubles, todo lo cual se traduce en que la suciedad se elimina de las superficies más fácilmente. Otra ventaja de las temperaturas mayores es que generalmente disminuyen la viscosidad, lo que da lugar a un aumento de la turbulencia. Los efectos del tiempo se parecen a los de la concentración en que hay un tiempo mínimo y óptimo de contacto entre la suciedad y el detergente.

Evidentemente se puede realizar la limpieza aplicando simplemente cierta fuerza (por ejemplo, empleando cepillos en la limpieza manual), pero es una limpieza muy deficiente. Los detergentes se emplean en parte para disminuir la necesidad de fuerza, aunque en la práctica se combinan frecuentemente ambos factores (6, 15, 20, 23, 28,34).

VI.1.5. Tipos de limpieza mecánica

Actualmente la mayoría de la maquinaria de procesado, las paredes y suelos de las fábricas de alimentos se limpian manualmente; pero se dispone en el comercio de una serie de utensilios y aparatos mecánicos que hacen más ligera esta labor. El personal de limpieza debe realizar su tarea tan rápidamente como sea posible y con el mínimo esfuerzo; por lo tanto debe proporcionársele un equipo de limpieza completo y variado, de forma que la limpieza se vea facilitada al emplear para cada operación el instrumento ideal (20, 26,29).

VI.1.5.1. Vapor a presión

Como ya se ha señalado, el vapor como tal no es un agente de limpieza, aunque se emplee fundamentalmente para la desinfección de las superficies metálicas. Sin embargo, si se le proporciona suficiente presión (aproximadamente unos 700 kPa) pueden utilizarse pistolas de vapor para eliminar la suciedad. Desgraciadamente el aerosol originado dificulta al operario el establecer la eficacia del procedimiento; las pistolas de vapor también pueden ser peligrosas para el personal y para la maquinaria si no se usan convenientemente. Los chorros de vapor a baja presión no deben utilizarse.

Las pistolas de vapor también se ajustan a menudo para trabajar como lanzas de vapor y se encuentran en el comercio formas distintas de mezclar el vapor con la solución de detergente o con el agua a las concentraciones requeridas; se usan bastante en la industria alimentaria y tienen las ventajas de bajos costos de mantenimiento y gran duración (23, 26,40).

VI.1.5.2. Aparatos hidráulicos

Los chorros de agua a baja presión tienen poca utilidad en las fábricas de alimentos y en el mejor de los casos su empleo se limita a la limpieza de suelos. Los chorros de agua a gran presión, con presiones en la cabeza rociadora de 200-1.500 kg/cm² se usan y abusan mucho. Aunque por el efecto de la fuerza mecánica pueden eliminar la suciedad de partes de la maquinaria difícilmente accesibles por otros medios, no puede evitarse que parte de la suciedad permanezca sin alterarse; ¡sería mucho mejor que la maquinaria se diseñase sin partes inaccesibles! Los chorros de agua a gran presión se emplean con éxito en la limpieza de suelos, de las superficies de algunas paredes y de las partes externas de ciertas zonas del equipo. Todos los útiles a emplear con el agua a gran presión debe poseer cabezas intercambiables adaptadas a los distintos fines que han de cumplir (21, 29, 26,34).

VI.1.5.3. Aire comprimido

El aire comprimido puede utilizarse como una fuerza motriz de los chorros de agua, pero su principal empleo es para eliminar el polvo y la suciedad pulverulenta de las superficies del equipo. Tales chorros tienen la ventaja de bajos costos de mantenimiento y buena duración, pero su empleo está limitado por la disponibilidad de aire comprimido y tienen el inconveniente de que más que eliminar, extienden el polvo. (34, 38,40)

VI.1.5.4. Ultrasonidos

La técnica de limpieza por ultrasonidos es muy cara y ruidosa, se emplean en piezas pequeñas y delicadas del equipo como las de plástico, que de otra forma serían difíciles de limpiar o que se dañarían con las técnicas de limpieza tradicional. Las partes a limpiar se sumergen en tanques con soluciones detergentes a 60-70°C. Un generador ultrasónico convierte la fuerza eléctrica en energía eléctrica de alta frecuencia (30 000-40 000 ciclos / segundo) y transductores *ad hoc* convierten la energía en vibraciones mecánicas ultrasónicas. Estas vibraciones dan lugar a millones de burbujas de vacío microscópicas que explotan formando torbellinos en la solución de detergente. Este proceso conocido como <cavitación>, es el responsable del efecto limpiador (34).

VI.1.5.5. Máquinas de limpieza portátiles

Existen muchos tipos de máquinas portátiles movidas eléctricamente, que realizan diversas tareas. Debe tenerse cierta cautela al comprar estas máquinas, ya que suelen ser caras; deben hacerse comprobaciones para establecer su buen funcionamiento. Deben ser mecánicas y eléctricamente robustas y es importante asegurarse de que se dispone de mantenimiento garantizado y de piezas de recambio en el comercio.

Las aspiradoras que pueden trabajar en condiciones de humedad o de sequedad, se emplean mucho y en general se prefieren a los chorros de aire comprimido ya que, como se ha mencionado la suciedad pulverulenta no se elimina. Otras máquinas combinan la limpieza a vacío con el cepillado, rascado y pulimentado del suelo. Cepillos, seca superficies de goma y rascadoras de este mismo material; se utilizan todavía para limpiar la suciedad durante el procesado, pero sólo determinadas zonas se limpian de esta forma. Las limpiadoras móviles a presión son muy utilizadas; pueden aplicar agua caliente o fría y solución detergente por una gran variedad de cabezas y algunas se emplean para la limpieza con espuma. En las áreas de recepción de mercancías, de facturación y zonas vecinas pueden emplearse cepillos grandes accionados por vehículos dotados de potentes motores (21, 34,40).

VI.1.5.6. Sistemas de limpieza fijos

Como alternativa al empleo de máquinas de limpieza móviles, puede instalarse en puntos estratégicos de la fábrica estaciones de limpieza permanentemente fijas. Tales estaciones proporcionan aportes de vapor a presión y de agua de enjuagado, así como soluciones de detergentes y desinfectantes que pueden utilizarse aplicando a la máquina los correspondientes accesorios. Una modificación de este sistema es la denominada central, en el que los líquidos de limpieza se bombean y envían desde un punto central a todas las partes de la factoría; de la misma manera y por las correspondientes líneas se distribuyen aire comprimido y vapor. En puntos estratégicos se sitúan válvulas de salida a las que se aplica el equipo de limpieza. El principio en que se basa la limpieza es el mismo en todos los casos e implica la circulación secuencial del agua, de los detergentes y de los desinfectantes por las tuberías y el equipo de procesado que no se desmantela. Las secuencias de las operaciones básicas son: (1) un prelavado con agua fría para eliminar la suciedad grosera; (2) circulación del detergente para eliminar la suciedad residual; (3) un lavado intermedio con agua fría para arrastrar el detergente; (4) circulación de desinfectante para la destrucción de cualquier microorganismo residual; (5) un lavado final con agua fría para arrastrar el desinfectante. Puede haber variaciones en la secuencia, como por ejemplo, el empleo de un detergente-desinfectante en sustitución de las fases (2) a (4); pero los principios fundamentales implicados en la limpieza convencional se cumplen totalmente (29,34).

A parte de los efectos químicos de los detergentes y desinfectantes, la fuerza mecánica generada por el flujo de los líquidos por las tuberías y por las cabezas nebulizadoras, ayuda a la eliminación de la suciedad de las superficies que contactan con los alimentos; en el caso de tuberías se requiere una velocidad aproximada de 1.5 m/segundo para obtener la turbulencia deseada (26).

Las ventajas de este sistema son: (1) menor costo de mano de obra; (2) funcionamiento más económico por un aprovechamiento óptimo de las soluciones de limpieza y de desinfección; (3) mejores estándares de higiene al seguirse exactamente los programas de limpieza y desinfección; (4) mejor aprovechamiento de la fábrica con una limpieza rápida y una reutilización tan inmediata como es posible; (5) menos fugas y menos desgaste mecánico de tuberías y equipo al no tener que desmantelarlos y montarlos continuamente; y (6) mejor seguridad al: (a) disminuir la manipulación de materias peligrosas, como álcalis y ácidos fuertes y (b) evitar la necesidad de penetrar en los grandes depósitos y de limpiarlos manualmente (15, 23,26).

VI.1.5.7. Limpieza con espuma

La limpieza con espuma se ha popularizado últimamente en paredes, suelos, zonas inaccesibles, vehículos y utillaje de grandes superficies en contacto con los alimentos. En este tipo de limpieza se adiciona un agente espumante a la fórmula, detergente que produzca una espuma densa muy persistente y de fácil aclarado, que permite que los agentes de limpieza contacten bastante tiempo con la suciedad; esto se ve facilitado por las propiedades adhesivas de la espuma que incluso se mantiene pegada a las superficies verticales, siempre que éstas estén sucias. Una vez que se ha aplicado la espuma el operario puede desentenderse por cierto tiempo. Las superficies pueden cubrirse a un ritmo de 25 m²/segundo; la espuma se deja actuar durante 10-20 minutos, dependiendo de la suciedad, antes de proceder al enjuagado.

Generalmente en la solución de lavado se incluyen agentes bactericidas, utilizando a este fin generalmente los cuaternarios de amonio (QACs). Otras ventajas de la limpieza con espuma son que las zonas tratadas se reconocen fácilmente y que se necesita menos solución de limpieza puesto que 1 parte de agua se convierte en 10 de espuma.

Las limitaciones de este tipo de limpieza son la necesidad de un sistema para generar presión, tener que asegurarse de que la espuma permanezca húmeda y la necesidad de emplear concentraciones de detergente algo mayores ya que las espumas se utilizan a temperatura ambiente.

La limpieza con geles se basa en el mismo principio que la limpieza con espuma, con la diferencia de que en su formulación se emplea un agente gelificante en vez de un espumante (12, 29, 34,38).

VI.1.5.8. Limpieza del equipo pequeño

La limpieza del equipo pequeño o de los componentes de fácil manejo pertenecientes a equipos mayores, debe ajustarse siempre a los cinco pasos fundamentales de la limpieza. Por lo tanto, si la fase de desinfección es verdaderamente necesaria, en la limpieza manual está justificado un sistema de cinco tanques (eliminación de la suciedad grosera, solución caliente de detergente, enjuagado, solución de desinfectante y lavado final); al menos deben practicarse siempre las tres primeras fases. Como alternativa al lavado manual puede instalarse un equipo de lavado automático, pero observando la misma secuencia básica de limpieza (34).

VI.1.6. Fundamentos de un programa de limpieza

Los programas de limpieza deben elaborarse de forma que cubran todas las partes del equipo y todas las zonas de la fábrica. Aseos, guardarropas, comedores y zonas de descanso deben incluirse en los planes de limpieza. Los programas de limpieza contendrán la siguiente información esencial:

- Método de limpieza, que comprenderá características (y a ser posible peligros) de los agentes de limpieza y desinfectantes a utilizar, junto con las cantidades y soluciones necesarias y exactamente el método, tiempo y temperatura que debe seguirse al aplicar las soluciones.
- La secuencia de la limpieza debe ser tal que impida la recontaminación del equipo previamente limpiado.
- La profundidad con que debe desmantelarse el equipo y si se necesita la ayuda de un mecánico (obviamente, siempre que sea posible, se instalará una máquina fácil de desmontar).
- Detalles de los posibles puntos negros que requieran un cuidado extra debido a defectos del diseño del equipo.
- El tiempo a invertir en las distintas operaciones de limpieza.
- Las personas responsables de cada operación de limpieza y la persona cuya responsabilidad sea el comprobar que todas las operaciones se han realizado bien.

Cuando no se utilice limpieza automática, deben establecerse medidas para evitar malgastar detergentes y desinfectantes, debe darse tiempo suficiente para que la limpieza se lleve a cabo convenientemente; independientemente de las necesidades de producción, el mantenimiento de la calidad del producto es crucial por lo que el tiempo dedicado a la limpieza debe considerarse intocable. La misma filosofía se aplica al considerar la frecuencia de la limpieza; que una vez más debe reflejar la necesidad de una calidad uniforme; por lo tanto, ciertas partes del equipo pueden necesitar una limpieza extra durante el procesado, o bien habrá que instalar un sistema de limpieza continuo para prevenir el aumento significativo de bacterias (18, 24, 27, 32, 34, 40,45).

Por lo que concierne a los métodos de limpieza, a veces se cambian sin analizar por completo los posibles efectos perjudiciales que el cambio puede suponer a largo tiempo, para el estado físico del equipo y para la eficacia de su acción en contra de microorganismos residuales.

Algunos vendedores resultan muy convincentes y presentan brillantes propagandas que contienen cifras impresionantes de descenso bacteriano que resaltan las virtudes de sus productos; tales cifras pueden representar bajo condiciones experimentales resultados totalmente distintos a las del ambiente en el que el producto debe desenvolverse comercialmente. Por ello es importante comprobar siempre los detergentes, bajo las típicas condiciones industriales, antes de aplicarlos a gran escala en la fábrica. Por otra parte nunca debe suponerse que los métodos de limpieza son eficaces por que lo hayan sido en el pasado (de cuando en cuando se realizarán pruebas para confirmar su eficacia) (26, 30,34).

La eficacia de la higiene de la línea de procesado se comprueba por inspección visual y mediante técnicas microbiológicas. La inspección visual es un método simple, pero incierto, que no establece el grado de limpieza microbiológica alcanzado. A pesar de los inconvenientes la inspección visual merece la pena hacerse con tal que se realice asiduamente. Debe llevarse a cabo durante o inmediatamente después de la limpieza, o incluso poco antes de iniciar el siguiente turno de trabajo. Las inspecciones se realizan al azar, de forma que los operarios implicados en la limpieza ignoren cuando tendrán lugar. Se dispondrá de una lista de comprobación de diferentes partes del equipo, que una vez limpiadas e inspeccionadas, se califican por su grado de limpieza y se comprobarán los valores alcanzados en las inspecciones procedentes. Todos los resultados se recogerán en el informe del inspector. Además se conservarán las anotaciones de los materiales de limpieza, diluciones y tiempos de aplicación utilizados (40).

VI.1.7. Idoneidad del sistema empleado

Para definir este punto es necesario fijarse en los siguientes aspectos:

1. Tipo de productos alimenticios que se manipulan.
2. Características del diseño de la empresa.
3. Aspectos operativos y funcionales.

Todos los criterios de la selección del sistema adecuado pueden ser modificados teniendo en cuenta los aspectos de la idoneidad del sistema empleado.

La administración debe tener en cuenta, a la hora de supervisar el empleo de ciertas sustancias de limpieza y desinfección, la influencia sobre la salud de los operarios, la inocuidad de los productos y el impacto sobre el medio ambiente. No se debe olvidar la responsabilidad de la empresa productora, que deberá facilitar información sobre la composición de los agentes químicos, las necesidades para realizar su correcto almacenamiento y, en su caso, las limitaciones de su uso (6, 18, 21, 22, 23, 29,38).

VI.2. DESINFECCIÓN

VI.2.1. CONCEPTO

Al desinfectar las superficies que contactan con los alimentos y las tuberías en raras ocasiones se necesita alcanzar la esterilidad absoluta. El fin corrientemente perseguido es disminuir el número de microorganismos, de forma que las que sobrevivan (por ejemplo, algunas esporas bacterianas y posiblemente unas pocas formas vegetativas muy resistentes) no influyan en la calidad microbiológica de los alimentos que contacten con dichas superficies. Por esta razón el término absoluto de “esterilizar” es muy poco apropiado, por lo que en su lugar se empleará el de “desinfectar” (26, 29,34).

La desinfección se define como el conjunto de medidas o procedimientos técnicos (físicos, químicos o ambos tipos simultáneamente aplicados y los biológicos) puestos en práctica con el objeto de reducir, eliminar o destruir las cargas microbianas del medio inanimado; con esto se trata de modificar las condiciones ambientales para interrumpir la cadena epizootiológica, ayudando así a la preservación de la salud de los animales y/o del hombre.

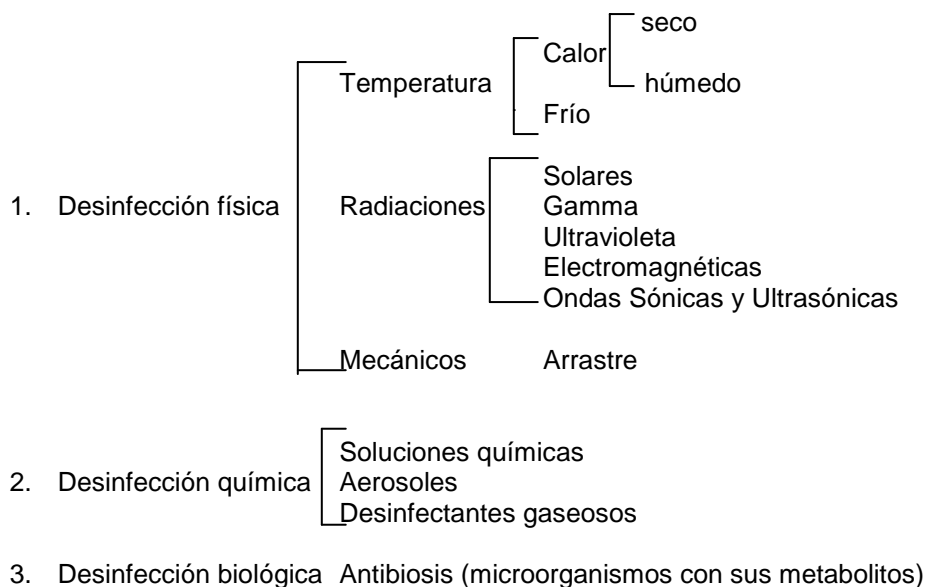
La liquidación o eliminación de los gérmenes que se encuentran en el medio ambiente depende de la frecuencia y del tipo de desinfección (3,6,10,20,21,23,26,29,34,38,45).

El término sanitización es prácticamente igual que el de desinfección, salvo que en este caso se acota el nivel de eliminación de microorganismos remanentes, implicando que ella ocurre hasta un nivel que resulte seguro para el usuario (21, 29, 34,45).

VI.2.2. CLASIFICACIÓN

Se distinguen 3 tipos o formas de desinfección:

1. Desinfección física. Se basa en acciones térmicas o en el empleo de fuentes de radiación. Esta particularmente indicada para la desinfección de instalaciones mecánicas muy articuladas o difícilmente accesibles. Empleando aparatos limpiadores de alta presión, puede combinarse el efecto limpiador con la acción desinfectante siempre que se utilice vapor o agua caliente como medio.
2. Desinfección química. Se emplean soluciones químicas o gaseosas, que actúan de manera específica sobre los microorganismos. El mecanismo de acción de estos agentes se basa en la coagulación de proteínas y en la muerte de los gérmenes mediante la desnaturalización de sus estructuras proteicas.
3. Desinfección biológica. Se fundamenta en la utilización de ciertos microorganismos que se encuentran en los alimentos y por esta razón podrían ser considerados como naturales. Su aplicación principal ha sido para inhibir la excrescencia de algunas bacterias presentes en los alimentos, siendo esta inhibición de manera muy específica (antibiosis) (10,41,46).



VI.2.3. DESINFECCIÓN FÍSICA

Es la disminución de microorganismos total o parcial de un medio inanimado mediante procedimientos físicos como:

VI.2.3.1. Mecánica

Se considera toda medida de limpieza y desinfección en los lugares donde se requiere eliminar los agentes productores de enfermedades, es decir, se basa en la eliminación del polvo, las basuras, los desechos de material orgánico, restos de alimento y otras impurezas capaces de conservar o proteger los agentes etiológicos. Se incluyen aquí procedimientos tan usuales como el cepillado, fregado, filtración, eliminación de las capas superiores de los pisos y de las paredes en mal estado, el lavado con agua a chorro o a presión, etc. (41).

Tiene como objetivo principal, disminuir por medios mecánicos la cantidad de microorganismos en el ambiente y eliminar sustancias que podrían disminuir la efectividad de los medios desinfectantes o impedir que el mismo se ponga en contacto con los microorganismos (26).

Muchos autores plantean que este tipo de desinfección disminuye el número de microorganismos considerablemente, encontrándose cifras en la literatura de decremento microbiano que van desde 30 a 99.9%, los decrementos altos se han encontrado en la práctica cuando la desinfección mecánica se ha realizado bajo vigilancia profesional (20, 41,45).

VI.2.3.2. Calor

Puede aplicarse como vapor, agua caliente o aire caliente.

1. *Calor húmedo.* Requiere de menor temperatura para su efecto bactericida y viricida que el calor seco. Generalmente las bacterias no esporuladas son destruidas por calor húmedo, alrededor de 60°C. De la misma forma, la mayoría de los virus se destruyen a esta temperatura.

Las esporas bacteriales son mucho más resistentes al calor húmedo y se requieren temperaturas mayores de 100°C para destruirlas. La aplicación de vapor es muy útil cuando se trata de equipo, pero se puede incrementar su poder incorporando detergente y desinfectante con dicho vapor de agua caliente (15, 21, 26,35).

2. *Vapor*. Las superficies deben estar expuestas durante un lapso de 5 minutos como mínimo pero tiene el inconveniente, que al condensarse en el ambiente, las pequeñas gotitas favorecen el desarrollo de los gérmenes que aún continúan activos. Para la desinfección superficial puede aplicarse la corriente de vapor en cuyo caso no actúa a presión y es necesario un período de acción de 30 a 40 minutos. Si el vapor es generado en un recipiente cerrado y los objetos o sustancias que se vayan a desinfectar a presión se colocan dentro del mismo basta un período de 20 minutos a 120°C o de 15 minutos a 125°C, para la esterilización (26).
3. *Agua caliente*. Se le utiliza generalmente para el lavado de utensilios, equipo e instalaciones. Su acción desinfectante efectiva se limita a los dos primeros, se recomienda exponer a una temperatura de 77°C durante 2 minutos a los utensilios y durante 5 minutos a los equipos, al igual que el vapor, tiene el inconveniente de aumentar la humedad del medio y favorecer el desarrollo posterior de nuevas colonias (15,35).
4. *Ebullición*. Mata a los gérmenes patógenos en un tiempo de 10 a 15 minutos, pero para mayor seguridad es mejor prolongar la ebullición más allá de lo recomendado. Se puede utilizar para la desinfección de ropa y de utensilios metálicos o de cristal (15,21).
5. *Calor seco*. No es tan eficaz como el calor húmedo y puede ser peligroso para edificios de madera si no se adoptan las medidas de seguridad pertinentes. La muerte por efecto térmico en bacterias que no esporulan fluctúa entre unas 5 horas a 45°C, 60 minutos a 54°C o bien, 5 minutos a 60°C (35).

VI.2.3.3. Rayos solares

Constituyen el medio más amplio y económico de desinfección masiva, pero tiene importancia solamente complementaria porque la fuerza de su efectividad depende de muchos factores del ambiente exterior (el calor, la humedad y el grado de impurezas de las capas atmosféricas) las cuales son inestables y actúan superficialmente, no penetran profundamente.

La acción bactericida de los rayos solares directamente consiste en la acción conjunta de 4 factores: la luz, el secado, el calentamiento y rayos ultravioleta. (45)

VI.2.3.4. Rayos ultravioleta

La susceptibilidad de las bacterias a la acción de la luz ultravioleta es muy variada (2540 a 2800 Å de longitud de onda). Las especies esporógenas son más resistentes, dada la naturaleza compacta de la spora. Las formas vegetativas de los diversos gérmenes patógenos no difiere mucho al tiempo requerido para ser destruidos por la luz solar directa, que en la mayoría de los casos oscila en torno a 5 minutos.

A parte de la luz solar, se pueden usar lámparas del arco de Cooper Hewitt, las del arco de vapor mercurial y las del arco de carbón y vidrios de cuarzo. Se utilizan con frecuencia durante la desinfección del aire en hospitales, laboratorios bacteriológicos, en la industria alimenticia, etc. Se recomienda su uso fundamentalmente como un método adicional después de una desinfección química.

Daña el DNA o RNA microbial en longitud de onda de 260 nm, ya que produce dimerización de tiamina, la cual bloquea la replicación del DNA e inactiva efectivamente microorganismos (34).

VI.2.3.5. Radiaciones Ionizantes

Son enérgicos desinfectantes. Es necesario que se tomen precauciones adecuadas para prevenir al hombre a la exposición de radiación nociva. Es producida por cobalto 60, es letal para todos los microorganismos, pero se recomienda principalmente con propósitos de esterilización a gran escala (45).

VI.2.3.6. Radiación electromagnética (Infra-roja)

Tiene longitud de onda diferente a la de la luz visible. En ella, los microorganismos mueren por oxidación, como resultado del calor generado. Es un método que se usa en forma industrial para esterilizar grandes cantidades de jeringas que son expuestas a la radiación durante 10 minutos a una temperatura de 190°C (21, 34,45).

VI.2.3.7. Ondas sónicas y ultrasónicas

Es uno de los métodos modernos de lavado. Un generador electrónico con frecuencia de 18 a 20 mil ciclos por segundo o dentro de los límites de los supersonidos (ultrasonidos- con varios centenares de miles de vibraciones por segundo-), se conectan a un transductor que convierte la energía eléctrica en mecánica y las ondas ultrasónicas crean presión negativa en la superficie de los instrumentos, eliminando toda la suciedad. Las sondas sónicas desnaturalizan proteínas, dispersan diversos materiales y destruyen bacterias (35,41).

VI.2.3.8. Frío

No es desinfectante como tal, en el mejor de los casos actúa con lentitud excesiva para que se le pueda considerar como tal, sin embargo, impide la multiplicación de las bacterias. La congelación prolongada a varias semanas logra sin embargo, eliminar bacterias y parásitos de la carne y otros derivados cuando esta temperatura es lo suficientemente baja (-20 a -30°C) durante 30 a 40 días (41).

VI.2.4. DESINFECCIÓN BIOLÓGICA

En la actualidad, la industria alimentaria ha buscado introducir nuevas técnicas de desinfección y/o conservación de los productos alimenticios, de tal manera que éstos sean lo más seguro posible para su consumo humano. Para ello se utilizan bacteriocinas, que son producidas por microorganismos que se encuentran en los alimentos y por esta razón podrían ser consideradas como naturales y por lo tanto más admisibles que los conservadores alimentarios.

Sin embargo son muy pocas las bacteriocinas que se encuentran en el ámbito comercial y que tengan validez de aplicación en la industria alimentaria. A continuación se citan dos de las bacteriocinas de mayor aplicación en este ramo (26,29).

- a) Nisina. Es una bacteriocina producida por determinadas cepas de *Lactococcus lactis*. Las endosporas bacterianas son especialmente sensibles a la nisina y su aplicación principal ha sido para inhibir su excrecencia en productos tales como los quesos tratados y los alimentos enlatados.

Ciertas cepas de esta subespecie son capaces de producir y de excretar una familia de pequeños polipéptidos de 3.500 daltons, lo más frecuentemente en forma de dímero o de tretámero. Estos polipéptidos se denominan nisina, que contiene 34 aminoácidos y es considerablemente termoestable a pH ácido.

Su mecanismo de acción se restringe a las bacterias Gram-positivas, actúa sobre las células vegetativas pero impide también la germinación de las esporas de bacterias esporuladas como *Bacillus* y *Clostridium*. Inhibe también a las bacterias lácticas como por ejemplo a otras cepas de *Lactococcus lactis*, en particular de las sub-especie *cremoris*. Por el contrario es inactiva contra los Lactobácilos y contra *Streptococcus thermophilus*. Su blanco de acción, al menos en *Bacillus*, es la membrana bacteriana.

Este compuesto derivado de las bacterias lácticas es el único que está comercializado y autorizado en la industria agro-alimentaria para la conservación de los alimentos, en particular para la transformación de la leche en Europa (45).

- b) **Pediocina.** Es una bacteriocina producida por *Pediococcus acidilactici*, es utilizada como conservador en productos vegetales y cárnicos y se le ha observado una elevada actividad contra especies de *Listeria*.

La pediocina es sintetizada como un pre-péptido de 62 aminoácidos que al ser procesado resulta en un péptido maduro de 44 residuos, anfifílico, con carga positiva y regiones altamente hidrofóbicas y con 2 enlaces disulfuro. Para la síntesis de la pediocina se ha descrito la participación de un grupo de genes. El gen *pedA* es el gen estructural, el gen *pedB* se requiere para la inmunidad y los genes *pedC* y *pedD* participan en la secreción del péptido maduro.

Dada su alta actividad contra especies de *Listeria* esta bacteriocina tiene un alto potencial para ser utilizada como conservador en alimentos lácteos (29, 34,45).

VI.2.5. DESINFECCIÓN QUÍMICA

Para su realización se emplean sustancias químicas o gaseosas llamadas desinfectantes químicos, que destruyen todos o casi todos los microorganismos presentes en materiales inertes. De acuerdo con las características del objeto que se va a desinfectar, se han usado diferentes tipos de desinfectantes; éstos se clasifican de maneras muy diversas dependiendo de lo que se quiera saber de ellos, es decir, del criterio que se desee emplear para su estudio (45).

VI.2.5.1. Clasificación de los desinfectantes químicos

1. De acuerdo a su efecto sobre los microorganismos, los desinfectantes se clasifican en:
 - a) **Bactericidas o biocidas.** Aquellos agentes desinfectantes que tienen la propiedad de matar microorganismos, la acción es irreversible.
 - b) **Bacteriostáticos o biostáticos.** Desinfectante que tienen la propiedad de inhibir la multiplicación de los microorganismos, su acción es reversible en cuanto se retira el desinfectante (8,31).
2. De acuerdo a su nivel germicida, los desinfectantes químicos se clasifican en:
 - a) **Germicidas de alto nivel.** Son aquellos que matan gran número de endosporas bacterianas; algunos de estos agentes también son bactericidas, fungicidas o viricidas. Ejemplo: Glutaraldehído, formaldehído y preparados de yodo.
 - b) **Germicidas de nivel intermedio.** Son por finalidad práctica no esporocidas, pero eficaces para bacterias vegetativas (incluyendo bacilo tuberculoso), hongos y algunos virus. Ejemplo: Cal recién apagada, compuestos de cloro y fenoles.

- c) Germicidas de nivel bajo. No pueden destruir sin un período práctico de tiempo, sin embargo, son muy utilizados porque actúan contra formas vegetativas de bacterias y hongos. Ejemplo: agentes tensoactivos y agentes oxidantes (8,31).
3. Los desinfectantes químicos, de acuerdo a su composición química se clasifican de la siguiente manera.
- I. Agentes tensoactivos aniónicos y catiónicos.
 - II. Alcoholes y aldehídos, formaldehído.
 - III. Agentes oxidantes- peróxido de hidrógeno.
 - IV. Derivados del alquitrán de madera y de hulla
 - V. Metales pesados y sus derivados.
 - VI. Ácidos y álcalis.
 - VII. Colorantes.
 - VIII. Agentes varios (8,14,31)
4. Clasificación de los desinfectantes de acuerdo al lugar de acción sobre la célula bacteriana:
- Daño a la membrana celular.
 - Desnaturalización y modificación de los grupos funcionales de las proteínas.
5. Clasificación de los desinfectantes sobre la base de su modo de acción:
- **Por oxidación.**
El efecto se basa en la liberación de oxígeno, que oxida o quema la materia orgánica descomponiéndola y también naturalmente al protoplasma celular (ejemplo, el permanganato potásico y preparados de cloro).
 - **Por desecación o deshidratación.**
Poseen una gran afinidad por el agua, por lo que la retiran de los lugares en que se encuentran, incluso de los gérmenes y medios en que habitan, haciendo con ello imposible su desarrollo (ejemplo, formaldehído y alcoholes).
 - **Por coagulación.**
Forman compuestos irreversibles con el protoplasma bacteriano, al coagular las proteínas con inhibición de cualquier tipo de proceso vital (ejemplo fenol y el cresol).
 - **Por reacciones químicas.**
Desvitalizan los gérmenes por medio del entumecimiento formando con ellos, complejos carentes de efectos patógenos (ejemplo, los ácidos) (8, 14, 31,34).

VI.2.5.2. Propiedades deseables en los desinfectantes químicos

Los desinfectantes que se deben utilizar en las superficies que contactan con los alimentos deben cumplir, en condiciones ideales lo siguiente:

1. Destruir rápidamente los microorganismos, siendo igual de eficaces con las bacterias Gram positivas que con las Gram negativas. Deben destruir la mayoría de las esporas fúngicas, siendo también conveniente la destrucción de las endosporas bacterianas.
2. Ser suficientemente estables en presencia de residuos orgánicos y si fuera necesario, en presencia de aguas duras.
3. No ser corrosivos ni dar color a ninguna superficie de la fábrica.
4. Ser inodoros o no desprender olores desagradables.
5. No ser tóxicos, ni irritantes a los ojos o la piel.
6. Fácilmente solubles en agua y arrastrables por enjuagado.

7. Estables durante mucho tiempo en forma concentrada y durante un tiempo más breve en forma diluida.
8. Deben ser efectivos a temperaturas ordinarias, sin que pierdan su actividad cuando la del ambiente sea baja, en relación con la media usual de la zona.
9. Larga duración de acción y de conservación.
10. Que no sea ni explosivo ni inflamable.
11. Que no formen agentes patógenos resistentes.
12. Económicamente competitivos y al emplearlos presentar una buena relación costo – efectividad (8,14,17,21,26,29,31,34).

VI.2.5.3. Métodos y medios de desinfección química

Si bien son muchos los productos químicos bactericidas, muy pocos cumplen con las condiciones señaladas en los puntos anteriores. Los empleados en la industria alimentaria, que se estudiarán a continuación se limitan a los siguientes grupos:

1. Compuestos que liberan cloro.
2. Compuestos de cuaternario de amonio.
3. Iodóforos.
4. Compuestos anfóteros (15,21,26,34)

VI.2.5.3.1. Agentes que liberan cloro

De todos los desinfectantes de la industria alimentaria los hipocloritos son los que más se utilizan, aunque hay otros compuestos que liberan cloro que se emplean en menor extensión. Entre los últimos está el cloro gaseoso y el fosfato trisódico clorado, así como las cloraminas orgánicas, derivadas del ácido isocianúrico y la diclorodimetilhidantoína.

En general los compuestos que liberan cloro son desinfectantes potentes de espectro de actividad amplio. Son sensibles tanto las bacterias Gram positivas, como las Gram negativas; además estos compuestos presentan cierta actividad frente a las endosporas bacterianas (6, 10,34).

Muchos de los compuestos que liberan cloro son baratos; todos son fáciles de usar y no les afecta el agua dura. Sin embargo, para prevenir los efectos de la corrosión es imprescindible mantener un pH alto, lo que como consecuencia acarrea cierta pérdida de la actividad bactericida. Quizá el inconveniente de estos agentes es que se inactivan rápidamente en presencia de materia orgánica, su alto poder corrosivo y que requieren la realización de un enjuague o secado.

Se admite que son más estables los componentes pulverulentos que liberan cloro que los que se presentan en forma líquida. No obstante, los polvos absorben agua fácilmente desestabilizándose, por ello deben incorporárseles desecantes que mejoren su conservación (27).

1. Hipocloritos. El *ácido hipocloroso* (HOCl) es inestable pero muchas de sus sales son invariablemente más estables. En solución estas sales se disocian formando OCl que es el ion responsable de las propiedades bactericidas de los hipocloritos. La sal más ampliamente utilizada es el *hipoclorito sódico* (NaOCl) que se vende en el comercio como líquido concentrado que contiene aproximadamente 10-14% de cloro disponible. Se ha sugerido, lo que no deja de ser interesante, que si este líquido concentrado se diluye con agua destilada (1:1 o incluso 1:9) los niveles de cloro disponibles disminuyen más lentamente durante el almacenamiento (23,29,34).

También se usa el hipoclorito cálcico [Ca(OCl)2] que se vende en forma pulverulenta y contiene aproximadamente un 30% de cloro disponible.

Las soluciones acuosas mucho más diluidas de hipoclorito sódico se emplean mucho en la industria alimentaria como desinfectantes generales, lo mismo que en los sistemas (CIP); las soluciones deben ser recientes y manejarse con cuidado debido a sus propiedades irritantes sobre la piel. En los preparados comerciales se les adicionan a veces, surfactantes y estabilizantes; los primeros para favorecer las propiedades humectantes y la penetración y los últimos para mejorar su actividad durante un almacenamiento prolongado (34).

Las soluciones de hipoclorito deben mantenerse siempre en la oscuridad o en recipientes opacos; la estabilidad también se facilita si se conservan con ayuda del frío.

Las soluciones son más estables a pHs mayores de 9.5, mientras que la actividad germicida es máxima a pH de 4-5; al último pH los efectos corrosivos son máximos. Debido precisamente a estos problemas corrosivos se emplean soluciones de pH de 10-11, manteniendo la temperatura a la que se aplican lo más baja posible, puesto que a temperaturas más altas tiene lugar la corrosión y la pérdida de estabilidad. Las concentraciones corrientes en uso varían entre 50 y 200 ppm de cloro disponible, siendo normales los tiempos de contacto de 3 a 30 minutos.

Debe tenerse presente que para evitar la posible corrosión de las superficies sensibles, en cada situación específica se empleará la concentración mínima necesaria para alcanzar su efecto bactericida durante el menor tiempo posible (23).

2. *Cloro gaseoso*. El cloro en forma de gas se emplea para la desinfección de los aportes de agua, pero también tiene ciertas aplicaciones en la industria alimentaria. Para su empleo debe inyectarse en el agua a una velocidad constante mediante el empleo de un aparato "clorador". Es necesario superar el "punto de ruptura" del agua, es decir, el nivel al que se ha satisfecho la demanda de cloro del agua, un factor variable que depende principalmente de las cantidades de sólidos suspendidos y de la materia orgánica (20,21).

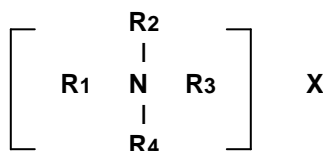
De hecho, cuando hay en el agua compuestos que liberan amoníaco se forman cloraminas y a dosis mayores se oxidan. Sólo después de esto se alcanza el "punto de ruptura" de forma que, posteriormente, cualquier cantidad adicional de cloro dará lugar a un residuo de cloro libre. Un nivel de cloro residual de 1 a 5 ppm es el adecuado para la mayoría de los sistemas continuos de cloración de la fábrica, como nebulizadores de cintas transportadoras y elevadoras; para la desinfección al terminar la jornada y para el agua de refrigeración de latas se necesitan concentraciones mayores (10-20 ppm) (34).

3. *Fosfato trisódico clorado*. El fosfato trisódico clorado del comercio (CTSP; $4[\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 11\text{H}_2\text{O}] \text{NaOCl}$) cuando se disuelve en agua da una solución tamponada de hipoclorito; este producto relativamente caro, se incorpora a menudo a los preparados en polvo. El contenido de cloro es bajo (4%) y se inactiva algo en presencia de materia orgánica. Los compuestos que liberan bromo (por Ej., bromuro sódico) se incorpora a los productos comerciales para aumentar su poder bactericida (34).
4. *Cloraminas*. Las cloraminas, por ejemplo *cloramina T*, *cloramina B* y *dicloramina T*, son muchos más estables que los hipocloritos en presencia de materia orgánica, pero menos irritantes y tóxicos, si bien su precio ha limitado indudablemente su empleo. Por otra parte, a pesar de su contenido de cloro disponible (25-30%) son bactericidas más débiles, salvo a pHs mayores de 10 a los que son más activos que los hipocloritos. Las cloraminas liberan cloro lentamente y se emplean frecuentemente cuando el utillaje y equipo deben sumergirse mucho tiempo en soluciones que liberen cloro, debido a que son poco corrosivas; sin embargo, necesitan enjuagarse bien después de su aplicación. A menudo se combinan con los detergentes alcalinos para dar detergentes-desinfectantes (23,34,45).

5. *Derivados del ácido isocianúrico.* Los ácidos dicloro isocianúrico y tricloro isocianúrico tienen niveles muy altos de cloro disponible, pero debido a su baja solubilidad en agua, para la desinfección se emplean generalmente sus sales sódicas; las últimas, que se encuentran en el comercio en forma pulverulenta, tienen contenidos de cloro disponible ligeramente menores (por ej., 60% el dicloroisocianurato de sodio). Estos compuestos son como las cloraminas, relativamente caros, estables cuando se almacenan en estado seco, no irritantes y liberan cloro lentamente; contrariamente a las cloraminas mantienen su poder bactericida en un amplio rango de pHs (6-10). También se utilizan en preparados basándose en detergentes alcalino desinfectantes (29,34).
6. *Diclorodimetilhidantoina.* Cuando este compuesto es puro es insoluble en agua, por lo que se emplea el de grado técnico en polvo con una pureza del 25% aproximadamente que proporciona sobre un 16% de cloro disponible. En muchos aspectos la diclorodimetilhidantoina es similar a otros compuestos orgánicos que liberan cloro, pero es la que presenta más poder bactericida en condiciones ácidas (23,26).

VI.2.5.3.2. Compuestos cuaternario de amonio

Los compuestos cuaternario de amonio, conocidos como “cuaternarios”, “quats” y “QACs” son esencialmente sales de amonio con algunos o con todos los átomos de hidrógeno del ion (NH₄)⁺ sustituidos por grupos alquilo o arilo; el anión generalmente es un cloruro o bromuro. La fórmula general es por lo tanto:



Donde R₁, R₂, R₃ y R₄ representan uno o más grupos alquilo o arilo que sustituyen al hidrógeno y X- representa el haluro; o Cl- o Br-. El catión es la parte activa de la molécula, mientras que el anión sólo es importante en lo que concierne a la solubilidad de QAC. Ejemplos de los desinfectantes QACs más corrientemente utilizados son los siguientes: bromuro de cetiltrimetilamonio y cloruro de laurildimetilbencilamonio. Las sustituciones posibles son teóricamente muchas, pero para conseguir la máxima actividad la cadena alquílica debe contener entre 8 y 18 átomos de carbono; en la práctica son muy pocos los QACs del comercio (20, 23,29)

Los QACs son bactericidas muy activos frente a las bacterias Gram positivas, siendo menos eficaces frente a las Gram negativas, salvo que se les haya añadido secuestrantes; las endosporas bacterianas son relativamente resistentes, si bien previenen su desarrollo.

Las superficies después de ser desinfectadas con QACs, presentan una película bacteriostática debida a la adsorción del desinfectante en las superficies; esta película evita el crecimiento subsiguiente de las bacterias residuales. Cuando se necesita, el arrastre con agua puede mejorarse añadiendo al desinfectante una pequeña cantidad de un surfactante no iónico.

Los QACs mantienen su actividad en un amplio rango de pH, si bien donde son más activos es en condiciones alcalinas débiles, cayendo rápidamente su poder cuando el pH es menor de 5.

Comparados con los hipocloritos, los QACs son más caros, pero tienen muy buenas propiedades: son muy poco afectados por la presencia de restos orgánicos, no son corrosivos, si bien atacan a ciertos tipos de goma y no son irritantes de la piel, salvo a grandes concentraciones; por ello pueden manipularse con bastante seguridad.

Los cuaternarios son estables incluso en soluciones diluidas y cuando están concentrados pueden almacenarse mucho tiempo sin que pierdan actividad (23).

Puesto que son surfactantes catiónicos poseen cierto poder detergente, pero por supuesto, no pueden emplearse junto con los surfactantes aniónicos, ni tampoco con algunos agentes activos de superficie no iónicos. El agua dura disminuye la actividad de los QACs con una potencia que depende de la longitud de la cadena alquílica del QAC; si se utilizan agentes secuestrantes adecuados se recupera la actividad. Debe tenerse cuidado al seleccionar el secuestrante, pues algunos son incompatibles con ciertos QACs y dan lugar a su precipitación. Los álcalis fuertes ejercen el mismo efecto y no pueden emplearse con muchos QACs; en general los detergentes que contienen tales materiales deben enjuagarse cuidadosamente antes de añadir el QAC (26,34).

Los QACs forman frecuentemente una espuma vigorosa en solución por lo que no sirven para los sistemas CIP ni para nebulizar. Habitualmente a temperaturas mayores de 40°C y con tiempos de contacto que varían entre 1 y 30 minutos.

Las biguanidas son otro tipo de desinfectantes catiónicos que se emplean a pequeña escala; tienen las ventajas de ser más activos frente a las bacterias Gram negativas, de no producir espuma y de no afectarles las aguas duras (23).

VI.2.5.3.3. Iodóforos

Los iodóforos son mezclas solubles de yodo con un surfactante (típicamente no iónico, si bien pueden emplearse también los aniónicos y los catiónicos) que actúan como transportador del yodo; se debe a éste el poder bactericida. Los iodóforos pueden ser considerados, por lo tanto, como detergentes-desinfectantes; aunque el poder detergente depende de la cantidad de surfactante de la mezcla.

Cuando se utilizan los iodóforos como desinfectantes, se adiciona justo la cantidad de surfactante necesaria para disolver y estabilizar el yodo, pero cuando se emplean como detergentes-desinfectantes debe añadirse más surfactante para mejorar la detergencia.

Aunque los iodóforos son incluso menos afectados que los QACs por los cambios de pH, en la práctica se les adiciona un componente ácido, corrientemente ácido fosfórico, para disminuir el pH de la solución. Esto se debe a que donde más activos son los iodóforos es en el rango de pHs de 3-5, intervalo en el que el ácido fosfórico actúa como tampón (29,34).

Los iodóforos destruyen rápidamente un amplio espectro de bacterias y se parecen en este aspecto a los hipocloritos, aunque conservan también una actividad razonable en presencia de detritos orgánicos en tanto que el pH no sea mayor de 4 y la cantidad de aquellos no sea excesiva; sin embargo, frente a las esporas, los iodóforos son menos activos que los hipocloritos.

Los iodóforos son caros y consecuentemente no se utilizan mucho; no son corrosivos, ni irritantes, ni tóxicos y tienen un ligero olor, pero hay que enjuagar bien después de su empleo.

Algunos materiales plásticos absorben el yodo y se colorean al exponerlos a estos compuestos; también la goma suele absorber el yodo, por lo que deben evitarse los contactos prolongados con los iodóforos para prevenir la posible tinción de los alimentos. Una ventaja de los iodóforos es que no les afectan las sales del agua dura; también son estables en forma concentrada, si bien después de largos periodos de almacenamiento a temperaturas altas es posible una cierta pérdida de actividad (41).

Los iodóforos se emplean principalmente en industrias lecheras, en donde además de sus poderes bactericidas, su ácido fosfórico ayuda a controlar la piedra de leche; los iodóforos también se emplean en las industrias cerveceras.

En los sistemas CIP pueden producir espuma, por lo que a las formulaciones para este fin se les debe incorporar un surfactante de poca espuma. Se puede trabajar con temperaturas de hasta 50°C y con concentraciones de yodo entre 10 y 100 ppm (26).

VI.2.5.3.4. Compuestos anfóteros

Mientras algunos surfactantes anfóteros son principalmente detergentes con escaso poder bactericida, hay otros, los derivados de la imidazolina, que son bactericidas relativamente potentes y además detergentes débiles, un ejemplo lo constituyen el ácido etil-*B*-oxipropiónico-imidazolina. Como ya se ha señalado los compuestos anfóteros se presentan como cationes o como aniones, dependiendo del pH de la solución y en su forma catiónica son bactericidas activos. Generalmente son más caros que los otros desinfectantes y no bactericidas especialmente potentes, aunque pueden mezclarse con los QACs para mejorar su potencia.

Son poco afectados por la materia orgánica o por la dureza del agua, no son corrosivos, no son tóxicos e incluso diluidos son inodoros y estables durante mucho tiempo. Sin embargo, suelen formar espuma y debido a su alto precio y limitada actividad los desinfectantes anfóteros no se utilizan mucho en la industria alimentaria (23, 26,29).

VI.2.5.3.5. Compuestos fenólicos

Muchos compuestos fenólicos son potentes bactericidas y se emplean como desinfectantes generales. Los compuestos fenólicos no se emplean como desinfectantes en las fábricas de alimentos debido a sus fuertes olores y a la posibilidad de que transmitan olores extraños a los alimentos (34).

VI.2.5.3.6. Detergentes-desinfectantes

Los detergentes-desinfectantes, conocidos popularmente como detergentes antimicrobianos son esencialmente combinaciones de ingredientes compatibles y complementarios; contienen además de un detergente, un desinfectante de forma que la limpieza y desinfección se llevan a cabo en una sola operación. Muchos de los productos de limpieza mencionados más atrás se han empleado en combinación de una u otra forma para producir detergentes-desinfectantes de diversa potencia. En la práctica las formulaciones detergentes-desinfectantes suelen contener otros componentes, como agentes secuestrantes y tampones, siendo frecuente el incluir dos surfactantes en una sola formulación siempre que sean compatibles (22, 25,37).

Cualquiera que sea su fórmula un buen detergente-desinfectante debe ser eficaz idealmente frente a una gran variedad de suciedades y un amplio espectro de microorganismos; su utilización debe ser posible en una gran variedad de situaciones, siempre que lo permitan sus condiciones económicas. De hecho los detergentes-desinfectantes son generalmente más caros y menos eficaces que sus componentes por separado, pero pueden emplearse últimamente cuando la suciedad es ligera y cuando se desea una limpieza a temperatura baja (Cuadro 3).

Además, no hay duda que se consiguen ahorros de tiempo y de trabajo cuando es suficiente una sola aplicación de detergente-desinfectante; eso se refleja en el uso cada vez mayor, de estos compuestos que están siendo mejorados constantemente.

Otra ventaja adicional adjudicada a los detergentes-desinfectantes es que las bacterias peligrosas se destruyen durante su aplicación, mientras que en la limpieza convencional las bacterias viables pueden eliminarse o arrastrarse con los restos de detergente (6, 10, 18,20).

Cualesquiera que sean los agentes de limpieza y desinfectantes empleados, es importante introducir formulaciones alternativas con ciertos intervalos, para asegurar que no se acumulen los restos alimenticios ni las bacterias resistentes.

CUADRO 3. Combinaciones de detergentes-desinfectantes más utilizadas corrientemente

<i>Detergente</i>		<i>Desinfectante</i>
Álcalis inorgánicos	+	Hipocloritos
	+	Compuestos orgánicos que liberan cloro
	+	QACs
Ácidos inorgánicos	+	Tenso activos no iónicos
	+	Iodóforos
Tenso activos aniónicos	+	Compuestos orgánicos que liberan cloro
Tensoactivos no iónicos	+	QACs
	+	Iodóforos

Fuente: HAYES (1993). Microbiología e Higiene de los Alimentos. Acribia, 1ª Edición, España.

VI.2.5.4. Condiciones que determinan la efectividad de la desinfección

El efecto de los desinfectantes sobre los gérmenes puede ser modificado por las condiciones en que se realiza la desinfección, entre las más importantes están:

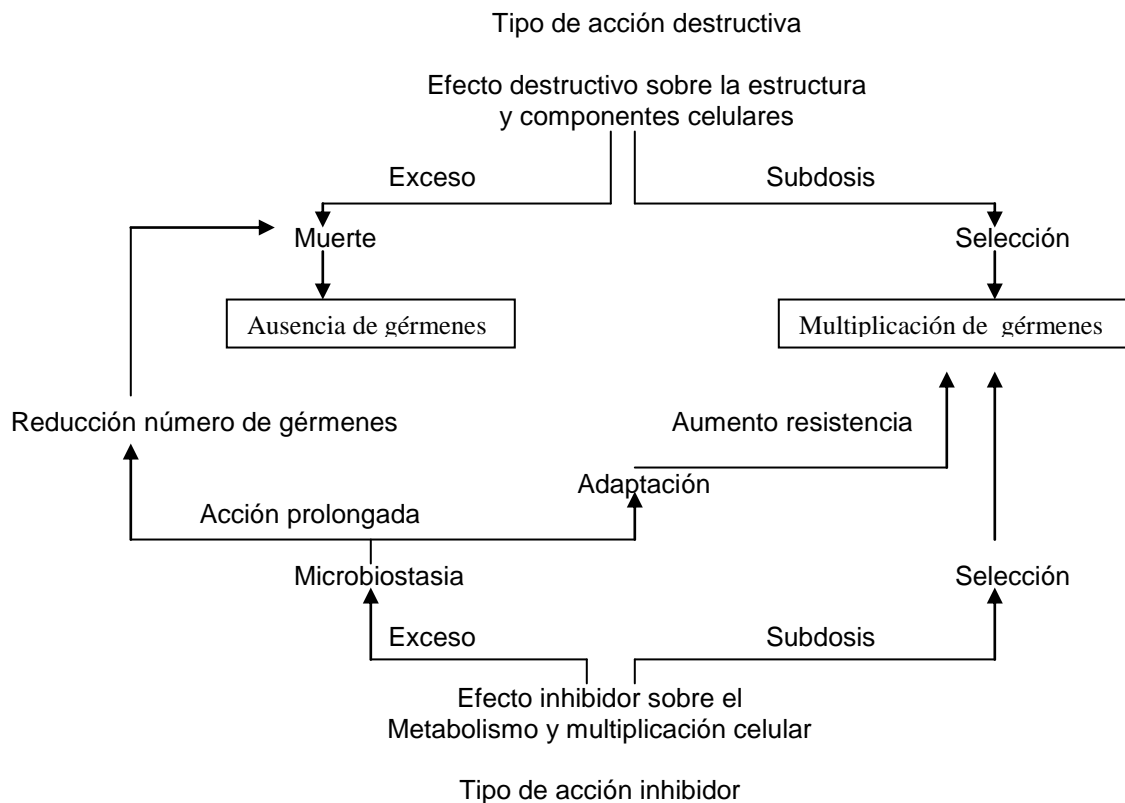
1. Las características del germen contra el cual se realiza la desinfección; ya que entre ellos existen distintas variedades de acuerdo con su resistencia ante los desinfectantes. (41,46)
2. Propiedades bactericidas de los desinfectantes (especificidad). Es el poder microbicida de los desinfectantes fundamentado en su mecanismo de acción y composición química. La relación desinfectante-microorganismo es en esencia una reacción química que destruye a los agentes o alguna parte vital de los mismos, causándoles la muerte. Así, si se utiliza una pequeña cantidad de desinfectante, ya sea por baja concentración en las soluciones o que su cantidad sea muy pequeña, puede llegar a causar un contacto insuficiente entre el desinfectante y los gérmenes sin producir la muerte de los microorganismos sino que solamente frenará su crecimiento (microbiostasis) pudiendo llegar a recuperarse cuando las condiciones sean favorables (Figura 1) (41,46).
3. Influencia del medio en que se realiza la desinfección. La difusión de las moléculas del desinfectante al interior de las células microbianas se puede llegar a producir en un medio líquido principalmente, por ejemplo, en el agua puede producirse un rápido contacto entre el germen y el desinfectante. Aunque en ocasiones como en las desinfecciones en forma de gases no sea tan evidente; también se puede dar en un medio viscoso o sólido en el cual se encuentre gran cantidad y tipo de materia orgánica la que puede influir tanto sobre el preparado como sobre los gérmenes.

La materia orgánica puede proteger microorganismos de la siguiente manera:

- a) Formando una cubierta protectora que impide mecánicamente el contacto de las soluciones con ellos.
- b) Reaccionando químicamente con una parte del desinfectante con lo que éste se reduce en las soluciones.

Es por esto necesario limpiar previamente y adecuadamente los locales y las superficies de los objetos o materiales que se van a desinfectar, para lograr un efectivo contacto entre los dos elementos (desinfectante-gérmenes) y su subsiguiente eliminación (31,35).

Figura 1. Modelo de reacción de acuerdo con el mecanismo de acción.

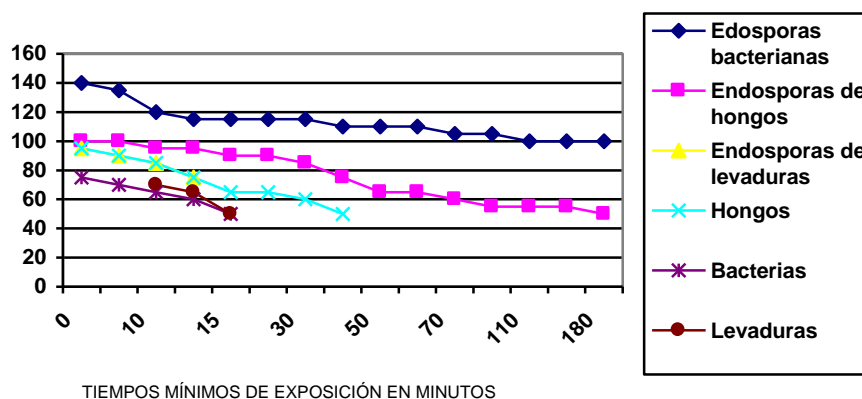


Fuente: PRÄNDAL, Oskar y FISHER, Albert (1994). Tecnología e Higiene de la Carne. ACRIBIA, 1ª Edición, España, pp. 682.

4. Temperatura de la solución desinfectante. La relación entre el desinfectante y el microorganismo es en esencia una reacción química y como tal se puede acelerar e incrementar en la mayoría de los casos con la elevación de la temperatura y así, facilitar la penetración de la sustancia química a los gérmenes. El rango óptimo de temperatura para los productos desinfectantes se encuentra entre los 20°C y los 40°C, algunos de ellos pueden llegar a inactivarse a temperaturas excesivas, mientras que las temperaturas por debajo de los 5°C hacen que muchos desinfectantes sean inefectivos (Gráfica 1) (20,41,46).

Gráfica 1. Efecto de la temperatura sobre diversos microorganismos.

T° PARA DESTRUIR MICROORGANISMOS



FUENTE: Fernández, Julio Benito (1981). Limpieza y desinfección en la Industria cárnica. CITECA. Buenos Aires, Argentina. P.24

- Concentración del desinfectante. Para eliminar determinados microorganismos, las concentraciones se determinan mediante cuidadoso estudio de las propiedades, tanto del desinfectante como de los gérmenes dentro del laboratorio y por experimentaciones prácticas a nivel de campo; de acuerdo a esta información se sabe cuáles son las cantidades necesarias del producto para conseguir el efecto deseado sobre los microorganismos.

Una vez hallada esta concentración no se debe alterar indiscriminadamente debido a que si se utiliza por debajo de lo recomendado, resultará ineficaz y si se emplea a concentraciones superiores, se estará derrochando innecesariamente el desinfectante con los riesgos adicionales de causar intoxicación y corrosión (20, 41,46).

- pH. Cada producto de limpieza y desinfección tiene un rango de pH dentro del cual su efectividad alcanza valores aceptables; generalmente se adiciona a la sustancia activa otra que actúa como amortiguadora (buffer); por ejemplo, el hipoclorito, cuyo pH es alcalino, tiene un rango de actividad que se encuentra entre pH 7 y 11; a partir de pH 11 comienza a perder efectividad.

Los clorógenos orgánicos, los yodóforos y los detergentes aniónicos son ácidos y el rango de pH apropiado está entre pH 3 y 5, perdiendo los yodóforos rápidamente su efectividad por encima de pH 5.

Por último, los cuaternarios de amonio alcanzan su efectividad aceptable en medios neutros a débilmente alcalinos, tendiendo a aumentarla en dirección a éstos (20,41).

- Dureza del agua. El agua debe ser de buena o excelente calidad microbiológica y química. Debe ser blanda, es decir, baja en concentraciones de calcio, magnesio, sodio, fierro y sílice; a la vez, debe estar exenta de gases como bióxido de carbono y anhídrido sulfuroso.

Es un factor muy importante cuando se realiza la limpieza; debido a que existen desinfectantes como los compuestos de cuaternario de amonio que son incompatibles con las sales de calcio y magnesio, no es aconsejable su uso en aguas con más de 200 mg por litro de calcio expresado como carbonato (Cuadro 4).

CUADRO 4. CLASIFICACIÓN DEL AGUA CON BASE EN LA CONCENTRACIÓN DE SALES

TIPO DE AGUA	CONCENTRACIÓN DE SALES (mg/ l)
SUAVE	0 – 60
LIGERAMENTE DURA	60 – 120
DURA	120 – 180
MUY DURA	Más de 180

Fuente: MORA MEDINA, Patricia (1990). Manual de Procedimientos para la desinfección corriente terminal y preventiva aplicable en el centro de producción pecuaria. Tesis de Licenciatura, F.E.S.C. U.N.A.M., México.

Muchos productos combinan agentes secuestrantes como los quelatos para poder trabajar con aguas de dureza superior a 500 mg/ L de contenido en calcio, de lo contrario se podrá obtener la formación de una película sobre las superficies que se estén limpiando.

Las aguas duras son también perjudiciales para los yodóforos; ya que alteran el pH del medio, elevándolo por encima de pH 2-3, siendo estos los valores en donde la efectividad es máxima.

Para el caso de los hipocloritos, no pierden su efecto bactericida pero pueden llegar a precipitar (20,31).

8. Productos incompatibles. Se debe poner cuidado al efectuar combinaciones de diversos productos, en especial detergentes alcalinos con yodóforos y cuaternarios de amonio, así como también resulta perjudicial adicionar materiales ácidos, como algunos detergentes aniónicos y algunos fosfatos (41).

VI.2.5.5. Aplicación de los desinfectantes

A) Desinfección con gas.

En lugares cerrados herméticamente.

Ventaja: el gas penetra en todas las partes del local y al mismo tiempo desinfecta el aire.

Desventaja: necesita ser hermético, una humedad ambiental alta y temperatura mayor de 15°C.

B) Desinfección con aerosoles.

Desinfectantes sólidos dispersivos o líquidos en gases. El medio dispersivo lo forma el aire (gas) y la parte dispersa con sólidos o partículas desde 0.5 hasta 10 micras.

C) Desinfección por aspersion y espuma.

Para superficies tanto ásperas como lisas.

Con chorro: 50 litros de solución, se necesitan 3 minutos.

Pulverizador: 50 litros de solución, se necesitan 12 minutos.

D) Desinfección por inmersión.

Para utensilios, zapatos, ropa, neumáticos de los medios de transporte.

A temperatura alta el desinfectante disuelve las partículas de grasa, de suciedad y garantiza la disolubilidad de la sustancia en el agua. Todo esto da por resultado, un mejor contacto e introducción de la sustancia química en la célula microbiana, lo que incrementa varias veces la efectividad. En general las soluciones desinfectantes tienen que ser preparadas recientemente y usadas en la mayoría de los casos con temperaturas entre 70 y 80°C en las soluciones estables. Las excepciones son las soluciones poco estables desde el punto de vista químico cuya temperatura de uso debe ser de 15 a 20°C (8, 20, 41,45).

VI.2.5.6. Evaluación de los desinfectantes

Hay varias pruebas que pueden emplearse en el laboratorio para evaluar el poder biocida de los desinfectantes frente a los microorganismos. Estas pruebas miden la velocidad de destrucción de las bacterias o de otros microorganismos, en condiciones pre-establecidas; algunas de las más importantes y que no son obligatorias, se resumen a continuación (21, 23, 26, 29,65).

1. **Prueba de Rideal-Walker.** Se utilizó por primera vez en 1903, el método conocido como "determinación del coeficiente fenólico" para determinar una cifra que expresara la eficacia de un desinfectante comparada con la del fenol, probadas en condiciones idénticas. Las muestras de prueba se diluyen y las diluciones se disponen en una serie decreciente de concentraciones (diluciones crecientes); a cada una de éstas se agrega determinada cantidad de un microorganismo de prueba cultivado en caldo; al final de periodos fijos, se transfiere a un medio nutritivo una pequeña cantidad de la mezcla desinfectante-microorganismo y se incuba a 37°C. La falta de crecimiento en el medio de cultivo indica que los microorganismos han muerto por la acción del desinfectante.

La mayor dilución (menor concentración) del desinfectante que mata en un periodo definido se divide por la mayor dilución de fenol que mata en el mismo lapso para encontrar la cifra que correlaciona al coeficiente fenólico.

A partir de 1903, el método de Rideal y Walker se ha modificado en varias ocasiones con el propósito de mejorar la exactitud y adaptarlo a otras condiciones de operación.

Se mencionarán los aspectos generales del procedimiento adoptado por la Asociación Oficial de Químicos Agrícolas de Estados Unidos (AOAC) en 1950, que se aplican a los desinfectantes que son miscibles con agua y que ejercen efectos bacteriostáticos que pueden ser neutralizados por uno de los tres medios de subcultivos que se indican.

Técnica. Se prepara una solución patrón al 1% del desinfectante que ha de ser probado (o cualquiera otra dilución conveniente, dependiendo de la concentración letal convenida) en una probeta graduada con tapón. A partir de la solución patrón, se preparan diluciones finales directamente en tubos para medicamento y se elimina el exceso de más de 5 ml (la gama de diluciones debe comprender límites letales del desinfectante de 5 a 15 minutos, y al mismo tiempo debe, para mayor exactitud, ser lo suficientemente estrecha). Se numeran los tubos de las diluciones 1:90 y 1:100. Y se colocan todos los tubos en baño María a 20°C durante 5 minutos.

Cinco minutos después de haber realizado la primera transferencia, iníciase la segunda transferencia a cada uno de los tubos correspondientes al periodo de 10 minutos y 5 minutos después de iniciar el traslado al conjunto de tubos correspondientes al periodo de 15 minutos. Agítense cuidadosamente los tubos, antes de tomar la asada para transferir al medio de subcultivo. Incúbense los subcultivos a 37°C durante 48 horas y léanse los resultados (Cuadro 5).

Cálculo. El coeficiente fenólico es el número obtenido por la división del valor numérico de la mayor dilución (denominador de la fracción que expresa la dilución) del desinfectante capaz de matar *Salmonella typhi* en 10 minutos, pero no en 5 minutos, por la mayor dilución de fenol que muestra el mismo resultado.

CUADRO 5. RESULTADO DE LA PRUEBA DE RIDEAL-WALKER

Desinfectante	Dilución	Tiempo de contacto (min.) del cultivo + desinfectante		
		5 min	10 min	15 min
Problema	1:200	-	-	-
	1:225	+	-	-
	1:250	+	-	-
	1:275	+	+	-
	1:300	+	+	+
Fenol	1:90	+	-	-
	1:100	+	+	+

+ = crecimiento; - = sin crecimiento

$$\text{Coeficiente fenol del desinfectante} = \frac{250}{90} = 2.7$$

La prueba de Rideal- Walker es fácil de hacer, pero presenta una serie de inconvenientes. Entre ellos se citan: (1) hay una cantidad insignificante de materia orgánica en la mezcla desinfectante-microorganismos de la prueba y esto no es reflejo de las condiciones encontradas normalmente en la práctica; y (2) los resultados son específicos para el microorganismo empleado en la prueba, esto es para *S. typhi*. Sin duda la prueba sería mucho más relevante para la industria alimentaria si se empleara un amplio rango de microorganismos, sobre todo si se incluyeran las principales bacterias encontradas en las líneas de procesado (23, 26, 29,65).

- Prueba de Chick- Martin.** Posiblemente el mayor inconveniente de la prueba de Rideal-Walker es la virtual ausencia de materia orgánica en la mezcla, inconveniente que se ha obviado en la prueba de Chick-Martin. Esta prueba se empleó por primera vez en 1908 y tras varias modificaciones se recogió en el British Standard 808 (1938). Como hoy se practica consiste en añadir como suciedad orgánica, una suspensión de levaduras esterilizada para dar una concentración final en la mezcla de 2.5%; otra diferencia con la prueba de Rideal-Walker es que sólo hay un periodo de contacto (30 minutos). El coeficiente de Chick-Martin se mantiene dividiendo la media de la suma de la concentración más alta de fenol que permite el crecimiento de microorganismo testigo (*S. typhi*) en ambos tubos y la concentración más baja de fenol que no presenta crecimiento en ambos tubos, por la correspondiente media de la suma de las dos concentraciones del desinfectante problema. (26,29,65)
- Prueba mejorada de Kelsey-Sykes.** Las pruebas del coeficiente de fenol de cualquier tipo tienen el inconveniente de basarse en un concepto artificial, dando resultados que son poco reproducibles y comparando el desinfectante problema con otro irreal (fenol).

Cualquier prueba racionalmente pensada, debería aportar una medida más real del efecto destructor microbiano que el simple “crecimiento” o “no-crecimiento” de *S. typhi* en el medio de recuperación, debería disponerse de un mayor rango de microorganismos de donde elegir y debería haber neutralizantes del desinfectante en el medio de recuperación para prevenir los efectos de “arrastre” (carry-over). Como respuesta a estas críticas Kelsey y Sykes (1969) introdujeron una nueva prueba para evaluar los desinfectantes, que después de ulteriores modificaciones se convirtió en la prueba mejorada de Kelsey-Sykes.

Esta prueba, puede emplearse en la evaluación de cualquier desinfectante y se describe brevemente a continuación:

En las pruebas de reconocimiento se utilizan convencionalmente cuatro microorganismos (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus vulgaris*) para determinar cuál es el más resistente al desinfectante; si se necesita pueden utilizarse otros microorganismos, incluidos levaduras y mohos (29).

Generalmente se selecciona el microorganismo más resistente para llevar a cabo la prueba que tiene lugar a 20-22°C (pueden emplearse otras temperaturas), utilizando tres concentraciones distintas del desinfectante (por ejemplo, la concentración que se espera que supere la prueba y las concentraciones 50% mayor y 50% menor que la primera).

Las diluciones del desinfectante se preparan en agua dura estándar (Organización Mundial de la Salud) lo mismo que la suspensión estándar del microorganismo (10^{-10} /ml) que puede probarse en presencia y en ausencia de materia orgánica (es decir, con o sin la adición a la suspensión anterior de un 2% de levadura estéril).

Para cada concentración del desinfectante a examinar se preparan caldos de recuperación (3 ml de cada concentración, que como inactivador del desinfectante contienen normalmente Tween 80) en tres series de cinco tubos.

Así en la prueba se añade 1 ml de la suspensión bacteriana a 3 ml de la concentración apropiada de desinfectante (tiempo cero); después de 8 minutos se adicionan a cada uno de los cinco tubos de caldo de recuperación de la primera serie 0.02 ml de la mezcla de desinfectante-microorganismo de la prueba. Dos minutos más tarde (esto es 10 minutos después del tiempo 0) se adiciona un segundo ml de suspensión bacteriana a la mezcla de desinfectante-microorganismo de la prueba y después de otros 8 minutos (es decir, 18 minutos desde el tiempo cero) se inocula la segunda serie de cinco tubos de caldo de recuperación de la misma forma que la primera serie (23).

Finalmente, después de otros 2 minutos se adiciona un tercer ml de suspensión a la mezcla desinfectante-microorganismo de la prueba, se deja estar otros 8 minutos (tiempo total 28 minutos) y entonces se inocula la serie final de tubos de caldo. Estos se incuban a 32°C durante 48 horas y se anota la presencia o ausencia de crecimiento (pueden emplearse otras condiciones de incubación a las que se adapten mejor otros posibles microorganismos elegidos para la prueba). En el cuadro 6 se muestra un resultado típico de esta prueba. La falta de crecimiento de microorganismos de la prueba en dos al menos de los cinco tubos, después de unos tiempos de contacto del desinfectante-microorganismo de la prueba de 8 y 18 minutos (columnas 1 y 2), indica que el desinfectante es apto para usarse a la concentración inicial (1.2%) utilizada en la prueba; obviamente, a medida que la prueba continua el desinfectante se va diluyendo progresivamente por la adición de la suspensión, lo que se traduce en un mejor crecimiento en la segunda y tercera serie de tubos de caldo de recuperación. Puesto que se ha visto que ocurren ligeras variaciones en las pruebas por duplicado, se recomienda que la técnica se repita en tres días consecutivos, lo que convierte a la prueba en relativamente compleja y necesitada de demasiado tiempo (65).

CUADRO 6. RESULTADO DE LA PRUEBA DE KELSEY-SYKES

Desinfectante concentración (%)	Número de la serie de tubos			Resultado
	1	2	3	
0.6	- - + + +	+ + + + +	+ + + + +	Falla
1.2	- - - - +	- - + + +	+ + + + +	Pasa
1.8	- - - - -	- - - - -	- - - - +	Pasa

+ (crecimiento) - (sin crecimiento)

En una revisión crítica de la prueba de Kelsey-Sykes se indicaba que no servía para muchos desinfectantes, pero a pesar de ésta y otras críticas ha sido adoptada por muchos organismos oficiales de todo el mundo para evaluar los desinfectantes, independientemente de su tipo y empleo (21,23,26,29,65).

- 4. Procedimiento "Rodac".** Hall y Harnett (1964) introdujeron el procedimiento "Rodac" para el muestreo microbiológico de superficies, que ofrece un medio rápido y relativamente exacto para evaluar la desinfección de cualquier tipo de superficies. Se emplean cajas de plástico transparente, desechable con un diseño especial; el fondo cuadrículado de la caja se llena con el medio semisólido de cultivo adecuado al propósito que se desea obtener, bacterias, hongos, levaduras, etc. La superficie del medio, de 10 cm², es ligeramente convexa y para el muestreo se aplica suavemente a la superficie, se tapa y se incuba en las condiciones adecuadas, realizándose posteriormente la observación y cuantificación de las colonias. Si el crecimiento es confluyente y tiene más de 300 colonias, el área está muy contaminada y el desinfectante no es adecuado o la desinfección no es correcta (27,38).
- 5. Método de difusión en disco.** Permite evaluar *in vitro* la eficacia de un desinfectante usado en la industria alimenticia contra cepas conocidas de microorganismos indicadores de la calidad sanitaria en la mayoría de los alimentos procesados, entre las más comunes se encuentran los microorganismos cuyo hábitat normal es la piel de los seres vivos (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, etc.) y los microorganismos fecales (*Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, etc.). Se emplea una muestra obtenida directamente del envase donde se recibe el producto desinfectante (proceso "A") a partir de la cual se obtendrá la dilución recomendada por el fabricante (proceso "B").

Para comprobar la eficacia del procedimiento se colocará un testigo que será incubado junto con las cajas de Petri con los diferentes tratamientos, este testigo consistirá en una caja de Petri que contendrá únicamente medio de cultivo. La evaluación del procedimiento se realiza por medio de un estudio comparativo de medias independientes obtenidas de las mediciones de los halos de inhibición del desinfectante (52,65).

VI.3. PRINCIPIOS BÁSICOS DE UN PROGRAMA DE LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN

VI.3.1. Etapas del proceso de saneamiento

La limpieza empieza con la movilización de todas las maquinarias que intervengan en la producción. No debe quedar ninguna máquina sin mover con el fin de descubrir aquellas zonas donde puede haber un acumulo de suciedad.

Se deben retirar asimismo, todos los productos cárnicos presentes en la sala y las materias primas que pudiesen ensuciarse durante el proceso o en su defecto cubrirlas para evitar que puedan caer encima compuestos químicos que la contaminen (26, 29,32).

1. Eliminación del material grosero

Acto seguido se procede a la eliminación de la suciedad visible que constituyen los trozos de masas cárnicas, empastadas, restos de envases o envoltorios, sangre y otros desperdicios. Esto constituye el inicio del proceso de limpieza.

Se retira por medio de rastrillos, manguera, escobas y cepillos dicha suciedad, frotando con agua fría que evite la coagulación de las proteínas de la carne. Dichos desperdicios se recogen y se introducen en cubos de basura con tapa hermética que hay que vaciar según la frecuencia señalada.

Se evitará barrer con el suelo seco ya que eso provocará una diseminación de los gérmenes al ambiente y su reparto por todas las superficies que creíamos higienizadas (23, 32,64).

2. Enjuagado o preenjuague

Se enjuga todo con manguera, ya que es conveniente que aquellos restos que estén más agarrados y puedan costar más su eliminación, se disuelven con el agua, evitando un gasto de esfuerzo y tiempo innecesarios.

Es conveniente seguir un orden. Por ejemplo: Se iniciará en un extremo de la sala y se avanzará hacia la zona opuesta y desde la zona superior de las máquinas y paredes hacia abajo y desde la periferia hacia los desagües (32,40).

3. Adición del detergente

Pasado un tiempo de humectación es cuando se añade el detergente. Los detergentes actuales son una mezcla de productos que tienen cada uno una acción independiente por separado, pero que se juntan porque entre todos satisfacen las necesidades específicas de la limpieza.

En los de la industria cárnica esta formada por:

- Una fase detergente que se encarga de unirse a la suciedad pero por la parte afín a las grasas.
- Una fase que se encarga de desincrustar las partículas más pegadas mediante un ataque de tipo químico. Puede ser ácida o alcalina, según el tipo de suciedad a combatir; varía con el tipo de limpieza (no es lo mismo limpiar una superficie con grasa o una superficie con depósitos de sales cálcicas).
- Una fase secuestrante que se encarga de evitar que las sales que están disueltas en el agua se vuelvan insolubles (precipitan) y de este modo pueden ser arrastradas por el agua del aclarado (6,40,64).

- Aplicación.

Para que el compuesto pueda actuar hay que darle un poco de tiempo. Habitualmente aquí es donde se pueden cometer errores ya que la elección del detergente (no corrosivo para las superficies metálicas (eficaz contra el tipo de suciedad) o el respetar el tiempo de actuación son puntos clave (32).

Su aplicación se realiza de tres formas:

- Manual, que puede ser por aspersión o por baldeo. Es muy frecuente y útil en maquinaria compleja en la que hay que desmontar piezas. Consume mucho detergente y tiempo. Hay que concienciar a los operarios por zonas o secciones para que se haga correctamente.

- Por proyección con máquinas de alta presión. Es adecuado para zonas de difícil acceso y/o muy sucias. La alta presión (más de 100 kg/cm²) combinada con altas temperaturas (hasta 130°C), puede ocasionar daños en zonas frágiles (cuadros de mandos), resinas de suelos y paredes. La suciedad es pulverizada al ambiente, volviendo a las superficies tras dos horas. Los detergentes no tienen mucho tiempo de actuación. Debe aplicarse por personal adiestrado o provocarán problemas mecánicos graves.

- Por proyección de espuma con sistemas de baja presión. Los más usados hoy en día, sacándole todo el partido posible al detergente. Es conveniente hacer un preenjuague y un enjuague final con agua caliente (30°-50°C), lo que facilita la disolución de las grasas. Es muy eficaz en superficies verticales.

Si se quiere, y para darle más efectividad al producto se puede ayudar con una acción de tipo mecánico, es decir, frotando las superficies tratadas. Normalmente y, si la suciedad es del día suele bastar con la acción del detergente, pero el frotado es adecuado cuando se quiere hacer una limpieza con detenimiento (1 vez al mes o a la semana) (20, 23, 32,64).

4. Aclarado

El siguiente paso es el aclarado con agua caliente potable en abundancia. La temperatura no sobrepasará los 50°C para evitar la coagulación de las proteínas pero es necesario que sea caliente para que disuelva las grasas. También es fundamental que se haga con agua abundante ya que se debe eliminar todo el detergente por que podría impregnar los elaborados y volverlos tóxicos para el consumo. En el caso de los trenes de lavado el agua de aclarado lleva una solución del desinfectante que elimina la secuencia de los dos pasos siguientes (24, 26,42).

5. Adición del desinfectante

Tras el aclarado del detergente se procede a rociarlo todo con la solución desinfectante. Este compuesto tiene la función de matar los gérmenes, una vez que el detergente les ha privado de todo escondrijo posible. También necesita un periodo de acción, tan importante como en el caso del detergente y que debe respetarse evitando acortarlo ya que de otra manera no tendría una acción eficaz y, hablando en términos económicos, se estaría tirando el dinero (40).

Debe entenderse que no es necesaria la eliminación total de los gérmenes sino la aniquilación de los productores de enfermedades que afecten al hombre en tal medida que no supongan amenaza alguna para la salud. (29,32).

Dentro de los desinfectantes existe una amplia gama en el mercado. Su elección dependerá de los gérmenes a eliminar, de las características de los materiales a desinfectar, de la concentración, tiempo, temperatura y pH de la solución en la que se halla disuelto.

Los más utilizados son los compuestos basados en cloro (Hipocloritos, cloraminas...) o los compuestos basados en cuaternarios de amonio que parecen tener más éxito debido a su amplio espectro de acción. También existen otros tipos de desinfectantes como los compuestos basados en yodo o los fenólicos, pero se utilizan más en la desinfección de otros elementos (cuadras, mangas, pasillos...). En todos hay que respetar el tiempo de acción, fundamental si se requiere una asepsia en las mejores condiciones y seguir al pie de la letra las instrucciones del fabricante.

Un aumento de la concentración de los desinfectantes no mejorará su acción y supondrá una pérdida de dinero y una disminución de la concentración no matará todos los gérmenes y permitirá que aparezcan resistencias. Para evitarlo, es conveniente hacer una rotación de los productos desinfectantes (6, 21, 24,26).

6. Aclarado final

El último paso consiste en definir la sustancia química utilizada y determinar si se realiza o no un aclarado, en los casos en que se realice deberá utilizarse abundante agua caliente y un secado de las superficies para evitar la presencia de condiciones que favorezcan la recontaminación (42,64).

VI.3.2. Limpieza y desinfección de útiles, utensilios, suelos y superficies

VI.3.2.1. Sustancias empleadas

- Detergente alcalino (producto A).
- Desengrasante (producto F).
- Detergente alcalino (producto B).
- Detergente alcalino (producto C).

La limpieza de cajas, bandejas, etc.:

- Detergente alcalino (producto D).

La desinfección

- Desinfectante basándose en aldehídos y amonios cuaternarios (producto E). (6,21,26,32,40,64)

VI.3.2.2. Métodos de limpieza y sanitización

▪ Limpieza y Sanitización de la Mesa de Despice

De acuerdo al manual de Procedimientos la limpieza y sanitización se debe realizar diario al final de la jornada de la manera siguiente:

1. Se retiran los cortes de carne de las mesas laterales con cubierta de nylamid, se depositan en cajas de plástico o en carros metálicos y se introducen en la cámara frigorífica.
2. Retirar del área el carro metálico receptor de carne que esta al final de la banda e introducirlo en la cámara frigorífica.
3. Retirar del área las cajas de plástico y los carros metálicos que se encuentran en los costados de las mesas o por debajo de ellas.
4. Se lava y desinfecta la cuchillería y los guantes de malla.
5. Se remueve con cepillo, espátula y recogedor los residuos de carne y grasa de las superficies de las mesas del riel (barra de fijación de las mesas que corre a ambos lados de la mesa central), de la banda móvil y de la placa de nylamid al final de la banda.
6. Preenjuagar la mesa por completo con agua caliente (50°C) mesa central y laterales (banda y estructura metálica).

7. Aplicación del detergente desengrasante en forma de espuma diluido a las mesas laterales dejando actuar durante 5 minutos. Mientras, cepillar las cubiertas de nylamid por ambos lados, patas, esquinas y panel inferior de las mesas laterales.
8. Aplicar el detergente desengrasante en forma de espuma y diluido a la mesa central, dejándolo actuar por 5 minutos. Mientras se cepilla ambos costados de las mesas laterales, patas, esquinas, rieles de fijación y toda la superficie de la banda (tener cuidado con el interruptor de corriente).
9. Aplicación del detergente desengrasante en forma de espuma y diluido en la placa de nylamid que se localiza en la banda. Dejar actuar el detergente por 5 minutos y posteriormente cepillar las superficies (para lavar la superficie externa la placa no se mueve de su lugar, para lavar la superficie interna se debe retirar la placa levantándola y tirando hacia fuera) y enjuagar perfectamente.
10. Aplicación del detergente desengrasante en forma de espuma y diluido en el mueble que se encuentra por debajo de la placa de nylamid, dejándolo actuar por 5 minutos cepillar si es necesario y enjuagar. Se debe revisar que no quede materia orgánica en el mueble que se encuentra por debajo de la placa de nylamid ubicada al final de la banda para evitar el desarrollo de larvas de mosca.
11. Enjuagar la mesa con agua caliente (50°C) para eliminar la materia en solución y restos de detergente. Recolocar la placa de nylamid desplazándola un poco arriba de los vástagos que la sostienen y empujar hacia adentro y abajo.
12. Aplicación del detergente ácido en toda la mesa de trabajo (utilizar la concentración y el tiempo indicado por el fabricante, cepillar si es necesario). Una o dos veces al mes después de enjuagar el detergente desengrasante.
13. Enjuagar la mesa con agua bajo presión para eliminar los minerales en solución y los restos de detergente.
14. Aplicación de la solución sanitizante a la concentración indicada por el fabricante si es necesario escurrir o secar.
15. Enjuagar la mesa con agua bajo presión.

NOTA: Si la mesa de trabajo se llega a ensuciar de forma importante o si se manejan sobre ella materiales diferentes a la materia prima, se deberá lavar y desinfectar cuantas veces sea necesario durante la jornada. En caso de que la mesa tenga anaquel inferior, éste deberá limpiarse y sanitizarse con más frecuencia siguiendo el mismo procedimiento.

Utilizar el equipo de protección para el personal de acuerdo a lo indicado por el fabricante de detergente o del sanitizante.

- Suelos y superficies (40,64)
 - **Tiempo 1:** Prelavado con agua a presión. Se retiran los restos más groseros de suciedad de la superficie.
 - **Tiempo 2:** Limpieza. Se aplican en forma de espuma sobre los suelos y superficies. Las sustancias utilizadas son producto A o B o C y F. Se deja actuar un mínimo de 20 minutos.
 - **Tiempo 3:** Aclarado intermedio. Se realiza un primer aclarado de las superficies con agua alrededor de los 40°C.
 - **Tiempo 4:** Desinfección. Se aplica la sustancia E en forma de pulverización. Se deja actuar un mínimo de 30 minutos.
 - **Tiempo 5:** Enjuague final. Aclarado exhaustivo de las superficies con agua alrededor de los 40°C.

- Útiles y utensilios
 - **Tiempo 1:** Prelavado con agua.
 - **Tiempo 2:** Limpieza con detergentes alcalinos en forma de espuma. Las sustancias utilizadas son las B, C y F. Tiempo de acción mínimo 20 minutos.
 - **Tiempo 3:** Aclarado intermedio con agua.
 - **Tiempo 4:** Desinfección. Se aplica la sustancia E en forma de pulverización, se deja actuar un mínimo de 30 minutos.
 - **Tiempo 5:** Aclarado final.

En este apartado hay una excepción a este programa. Las cajas y bandejas se lavan en un túnel de lavado que se encuentra en la sala de limpieza de útiles y utensilios. Para la limpieza se utiliza agua y el detergente alcalino D.

Se alternan periódicamente las sustancias usadas en la limpieza y desinfección para impedir la formación de cepas resistentes de microorganismos (6, 21, 26, 32, 30,64).

V.3.2.3. Periodicidad de la limpieza:

- Suelos, superficies, útiles y utensilios de la sala de despiece: Limpieza diaria.
- Suelos y superficies de cámaras frigoríficas, recepción y pasillo: Limpieza cada tres días.
- Útiles y utensilios: Limpieza diaria.
- Bandejas, cajas, etc.: Al finalizar su uso.

En todo caso será responsabilidad de la empresa:

1. Preparar instrucciones escritas para limpieza y desinfección.
 - Calendario.
 - Necesidades específicas de cada paso.
2. Entrenar al personal de limpieza y comprobar que realiza bien su trabajo.
3. Calcular las cantidades correctas de sustancias a emplear.
4. Valorar la eficacia de los sistemas de limpieza y desinfección (6,21,26,32,40,64).

VI.3.3. Empleo de la mano de obra

Tradicionalmente la limpieza se ha considerado como una ocupación degradante, realizada por el personal laboral peor calificado y a menudo sin instrumentos de limpieza adecuados. Afortunadamente, al menos en la industria alimentaria este punto de vista está cambiando, si bien todavía este trabajo acarrea un cierto desprecio injustificable; de hecho ninguna faceta de la producción de alimentos es más importante que la limpieza y la desinfección de la maquinaria y la limpieza debiera considerarse más como una tecnología que como un trabajo menor necesario.

La mano de obra seleccionada para las labores de limpieza puede tener una doble procedencia: o bien se trata de una cuadrilla especializada, contratada y preparada específicamente para esta labor o empleados de la sección de producción, en cuyo caso su trabajo a menudo lo realizan después de terminado el procesado. En la industria alimentaria ambos sistemas tienen defensores y sus pros y contras se analizarán de forma breve (21, 23,40).

Las ventajas de las cuadrillas especializadas son que llegan al trabajo frescos y alertas con lo que cabe esperar una limpieza más a fondo. Además, pueden haber sido entrenados para desmontar el equipo cuando sea necesario, en vez de necesitar un mecánico; cuando los operarios de la planta son los responsables de su limpieza a menudo es difícil encontrar un montador cuando el equipo lo requiere. Las cuadrillas contratadas deben tener un conocimiento profundo de la limpieza del equipo y de su mantenimiento y cierta comprensión de los fundamentos de microbiología e higiene de los alimentos.

Estas cuadrillas pueden emplearse de forma continua o bien durante las breves paradas de la actividad fabril al final de ésta, o trabajar en los fines de semana cuando pueden también realizar tareas de limpieza general. Quizá el principal inconveniente de estas cuadrillas estriba en que el tiempo que necesitan para completar el trabajo de limpieza se prolonga debido a que por razones económicas suele limitarse el número de operarios que las componen. Como consecuencia los residuos alimenticios pueden dejarse estar muchas horas con lo que son más difíciles de eliminar. Otro problema es que, a veces, resulta difícil disponer de personal en momentos de escasez relativa de mano de obra debido a que las horas a que se trabaja son intempestivas; esta dificultad puede superarse en parte prestigiando la cuadrilla de limpieza y estimulándola con alicientes económicos por mantener buenos niveles de limpieza. En las grandes fábricas por lo menos es corriente que estas cuadrillas se empleen en la limpieza de suelos, paredes, techos y alrededores de los edificios. Estas zonas que deben considerarse indispensables (64).

Una de las ventajas de que los trabajadores de la fábrica sean los primeros responsables de la limpieza de su propio equipo de procesado es que lo conocen íntimamente y pueden iniciar la operación eficazmente tan pronto como cesa la producción. Ellos se enteran también antes de cualquier fallo incipiente del equipo y quizá lo más importante de todo, se sienten orgullosos del aspecto y limpieza del equipo y de su contribución a la calidad del producto. No hay duda de que este punto de vista lo mantiene la mayoría de la industria alimentaria, pero también es cierto que depende en gran parte de la calidad de la mano de obra empleada; por otra parte, la indiferencia ante el trabajo puede ser consecuencia del cansancio al terminar un largo procesado o debido a la falta de interés con lo que podría preguntarse si es normal esperar que los propios trabajadores realicen una labor tan importante al terminar su tarea laboral diaria.

Si se emplean trabajadores también es importante que se familiaricen con los fundamentos del equipo de limpieza y que se haga ver la importancia de realizarla bien; conviene que sepan que el equipo de procesado es caro y que no deben maltratarlo. Es importante no dejar la limpieza en manos de trabajadores inexpertos (29, 32, 34,40).

VI.3.4. Papel de la gerencia

La gerencia debe ejercer un papel importante en la higiene de los alimentos pues es ella en último término la responsable de las decisiones presupuestarias relativas a la compra del equipo de procesado de alimentos y de los instrumentos de limpieza; también es responsable de señalar la frecuencia y el tiempo destinado a la limpieza y de promocionar la importancia que tiene dentro de la empresa. La principal responsabilidad del proceso de higiene deberá asumirla un alto ejecutivo de la gerencia, así como el responsable de calidad o un cargo equivalente; esta responsabilidad no debe traspasarse a mandos intermedios. (21,23)

La organización de la higiene como departamento dependerá del tamaño de la empresa, pero siempre que sea suficientemente grande, como mejor se sirven los intereses higiénicos es creando un departamento independiente con este fin. En el último extremo la higiene debe administrarse desde una sub-sección independiente dentro del departamento de control de calidad. El higienista ha de estar bien preparado en los principios fundamentales de microbiología, tecnología e higiene de los alimentos y al menos en las grandes empresas tendrá dedicación total a estas actividades; con demasiada frecuencia los higienistas tienen responsabilidades variadas que separan su atención de su actividad principal. Una actividad a la que pueden dedicarse con éxito es la preparación de todos los trabajadores en los principios básicos de la higiene. (34, 40,64)

La limpieza del equipo se monitoriza siempre con pruebas bacteriológicas por lo que debe haber una gran compenetración entre la sección de higiene y el laboratorio de control de calidad o de microbiología. Los resultados de estas pruebas se darán a conocer a todos los trabajadores y en donde éstos sean los responsables de la limpieza de su propio equipo pueden establecerse competiciones entre distintos turnos, basados en los resultados alcanzados. (29,46)

La higiene de los alimentos, incluso la limpieza deben convertirse en trabajos interesantes para los operarios y los mejores resultados se obtienen si todo el personal está bien informado. Ni que decir de la gerencia que debe familiarizarse con los resultados de las pruebas bacteriológicas de las líneas de procesado y debe organizar regularmente reuniones con todos los implicados, tanto en la higiene como en la producción, de forma que los problemas se expongan y estudien totalmente. (21, 29,32)

VI.3.5. Estado sanitario e higiénico del personal manipulador

Se exigirá la mejor limpieza posible por parte del personal, así como de los locales y del material. El personal que manipule carnes frescas, envasadas o no, o que trabaje en locales o zonas en los que se manipulen, embalen o transporten dichas carnes; deberá llevar en particular un calzado limpio y fácil de limpiar, una vestimenta de trabajo de color claro y en su caso, alguna otra prenda de protección (cofia y cubrebocas). El personal asignado a la manipulación de carnes frescas está obligado a: llevar dicha vestimenta de trabajo limpia al comienzo de cada jornada laboral y si fuese necesario deberá cambiar dicha vestimenta durante la jornada, lavarse y desinfectarse las manos varias veces en el transcurso de una misma jornada de trabajo, así como en cada reiniciación del trabajo. Estará prohibido fumar en los locales de trabajo.

El faenado y la manipulación de las carnes deberán prohibirse a las personas que puedan contaminarlas (6, 21, 23,40).

Este apartado se basa en tres principios fundamentales:

1. Mantener la salud de los manipuladores.

Es responsabilidad de la empresa que las condiciones de trabajo no sean causa de enfermedad para trabajadores. Se les someterá a reconocimientos médicos periódicos. En caso de padecer alguna enfermedad que suponga un riesgo en la manipulación de alimentos (heridas infectadas, procesos de vías respiratorias, etc.) deberá comunicárselo a la dirección que deberá recolocar al trabajador en una zona sin riesgo de contaminar el alimento (23).

2. Manipulación higiénica de los alimentos.

Es fundamental que los trabajadores conozcan los fundamentos para una manipulación higiénica. Es responsabilidad de los trabajadores respetar estos principios básicos:

- a) dar conocimiento a la dirección de la empresa y apartarse de la cadena de producción en el caso de padecer algún tipo de proceso patológico susceptible de contaminar los alimentos.
- b) protegerse las heridas.
- c) mantener hábitos higiénicos:
 - no comer, fumar ni masticar en las zonas de manipulación. La empresa dispondrá lugares específicos para estas actividades,
 - no toser ni estornudar sobre los alimentos,
 - correcta y periódica limpieza de manos,
 - limpieza de manos tras usar los aseos, fumar, comer o cambiar de actividad,
 - cambio periódico de indumentaria de trabajo,
 - indumentaria apropiada para la actividad realizada (34).

Es responsabilidad de la empresa:

- disponer de instalaciones higiénicas correctamente equipadas con agua caliente y fría, jabón, toallas de un solo uso, etc.,
- desarrollar programas de formación continuada del personal en temas de higiene,
- controlar y hacer respetar las buenas prácticas de fabricación,
- recordar mediante posters, dibujos, etc., las prácticas higiénicas (23,25,26).

3. Higiene personal.

En este apartado se trata de que los trabajadores mantengan unas correctas condiciones higiénicas mediante:

- a) aseo personal correcto: lavado de manos periódico,
- b) indumentaria correcta:
 - limpia,
 - cambio periódico,
 - color claro,

c) utilización de:

- calzado apropiado (tipo botas),
- delantal,
- cofia,
- cubrebocas,
- ropa térmica. (40,64)

La empresa dispondrá de una serie de programas donde se recojan estos tres principios, especificando por escrito cada uno de ellos y la sistemática a seguir. Así mismo, dispondrá de carteles recordatorios de las prácticas higiénicas distribuidos estratégicamente por la empresa.

El cambio de ropa es diario salvo en el caso de las botas y gorro que puede ser semanal o mensual. No obstante, las botas se limpian diariamente en la zona de manipulación, siempre que se salga o se entre en dicha sala para comenzar, continuar o finalizar la jornada.

1. *Programa de limpieza sistemática de manos:*

- 1º paso: Humedecer las manos con agua caliente (42°C-45°C).
- 2º paso: Depositar aproximadamente un gramo de jabón en la palma de la mano.
- 3º paso: Frotar las manos un mínimo de 30 segundos hasta formar una buena espuma.
- 4º paso: Cepillar la punta de los dedos usando la espuma del jabón y un cepillo.
- 5º paso: Aclarar varias veces hasta eliminar el jabón tanto de las manos como del cepillo.
- 6º paso: Volver a poner jabón en las manos y frotar sin cepillo.
- 7º paso: Aclarar.
- 8º paso: Secarse con toallas de papel. (21,29,32)

Se realizan los ocho pasos al inicio de la jornada y tras incorporarse de un descanso, por ejemplo para comer y a la vuelta de utilizar los servicios higiénicos. Durante la jornada de trabajo se simplifica haciendo los pasos 1, 2, 3, 4, 5 y 8.

Las zonas a limpiar son las manos y antebrazos, con una periodicidad mínima de dos horas y siempre que se interrumpa la actividad o se vuelva a ella. Esta limpieza es obligatoria en el caso de utilizar los servicios higiénicos (realizar carteles recordatorios en ellos) y siempre que se estornude o se limpien la nariz. Este programa de limpieza debe contar con la supervisión de una persona encargada de vigilar estas prácticas y la periodicidad con que se lleva a cabo dicha vigilancia.

2. *Programa de hábitos higiénicos:*

- Lavado periódico de manos,
- Higiene personal general correcta,
- Prohibido comer, beber, fumar y masticar en la zona de manipulación,
- Prohibido expectorar, toser y estornudar sobre los alimentos,
- En la empresa no se debe contemplar llevar relojes, joyas, anillos, etc., en la zona de trabajo. (40,64)

VI.3.6. Diseño y empleo higiénico del equipo

El equipo utilizado en el procesado del producto alimenticio debe reunir una serie de principios básicos de diseño para que sea posible realizar su limpieza, que proteja a los alimentos contra la contaminación y que permita el control y la comprobación de su correcto funcionamiento.

Los siete principios básicos de diseño higiénico, señalados por el *Working Party* del Comité Técnico Conjunto de la Federación de Fabricantes de Alimentos (*Food Manufacturers Federation*; FMF) y de la Asociación de Maquinaria para Alimentos (*Food Machinery Association*; FMA), que se incluyen en su publicación, *Diseño Higiénico de Fábricas de Alimentos*, constituyen un buen punto de partida para cualquier estudio sobre higiene (23, 26, 56,58).

Estos principios son:

1. Todas las superficies en contacto con los alimentos serán inertes en las condiciones de empleo y no poseerán sustancias que emigren o sean absorbidas por aquellos.
2. Todas las superficies serán lisas y sin poros, de forma que ni las partículas minúsculas de alimentos, ni las bacterias, ni los huevos de insectos puedan depositarse en las grietas microscópicas de las primeras, de donde son difíciles de desprender, convirtiéndose por lo tanto en fuente potencial de contaminación.
3. Todas las superficies serán visibles para su inspección o en otro caso, deberá demostrarse que los procedimientos rutinarios de limpieza eliminan toda posibilidad de contaminación de bacterias e insectos.
4. Todas las superficies en contacto con los alimentos serán accesibles para la limpieza manual o si no son fácilmente accesibles serán fáciles de desmantelar para realizar limpieza manual o si se emplea la limpieza *in situ*, debe demostrarse que los resultados alcanzados sin desmantelarla equivalen a los conseguidos con desmantelamiento y limpieza manual.
5. Todas las superficies interiores en contacto con los alimentos deben estar dispuestas de tal forma que el equipo se autovacíe y autoescurra.
6. El equipo debe estar diseñado de tal forma que proteja sus contenidos de la contaminación exterior.
7. El exterior o las superficies que no contactan con los alimentos deben disponerse de forma que, ni en ellas mismas, ni en sus superficies de contacto con otra maquinaria, suelos, paredes y soportes puedan albergarse tierra, bacterias ni otras "especies".

Implícita en estos principios está la necesidad de que el equipo carezca de ranuras, finales muertos, ángulos y zonas similares en donde pueda detenerse material alimenticio que permita el crecimiento microbiano.

Los dispositivos y útiles de trabajo, tales como mesas de despiece, bandejas de despiece fijas, recipientes, sierras y bandas transportadoras, serán de materiales resistentes a la corrosión, que no puedan alterar las carnes y fáciles de limpiar y desinfectar. Las superficies que entren o puedan entrar en contacto con las carnes, incluidas las soldaduras y las juntas, deberán ser lisas.

Estará prohibido el uso de la madera, salvo en los locales donde se encuentren únicamente las carnes frescas embaladas de forma higiénica. En conclusión, el equipo destinado a la manipulación de alimentos deberá no ser contaminante y de fácil limpieza y desinfección (18, 21, 23, 26,29).

VI.3.6.1. Materiales de construcción

Es necesario asegurarse de que todas las superficies en contacto con los alimentos sean inertes, tanto frente a los alimentos como frente a agentes de limpieza y desinfección, bajo normas corrientes de uso. Los componentes de las superficies no serán tóxicos, ni migrarán, ni serán absorbidos por los alimentos. Las superficies en contacto con los alimentos serán lisas, duras, continuas y carentes de oquedades, fisuras y grietas.

Debe tenerse presente que cuanto más lisa es la superficie más fácil resulta su limpieza, si bien se trata de una relación compleja que depende del tipo de limpieza empleado y del método de obtención de la superficie (32).

Uno de los principales fines es facilitar la eliminación de residuos de alimentos durante la limpieza para que sea imposible el crecimiento microbiano. Los materiales de construcción empleados para las superficies en contacto con los alimentos permitirán que se mantengan el terminado final y que no se desarrollen poros, además, serán resistentes a la deformación, abolladura, astillado, descortezado y delaminado.

Las superficies que normalmente no contactan con los alimentos serán también lisas, fácilmente lavables y de material anticorrosivo o convertido en anticorrosivo. El pintado de la maquinaria debe limitarse a las superficies que no contactan con los alimentos y no se situarán sin protección por encima de los alimentos.

Acero Inoxidable. Los aceros auténticos o inoxidable son los preferidos y los más corrientemente utilizados de todos los materiales de las superficies que han de contactar con los alimentos. Se trata de aceros con altos porcentajes de ciertos elementos como cromo y níquel, pero de bajo contenido de carbono. Son muchos los aceros inoxidables disponibles, pero los más utilizados son los del llamado grupo 18-8 (aproximadamente con 18% de cromo y 8% de níquel). De este grupo las aleaciones de grado 300 (por ejemplo, 304 y 316) satisfacen la mayoría de las necesidades. El grado 304 es resistente a la corrosión originada por la mayoría de los alimentos y agentes de limpieza, no da coloraciones, es fácil de limpiar y relativamente barato.

Cuando son de esperar problemas de corrosión más intensos, como en el caso de salmueras y alimentos muy ácidos (vinagre), debe emplearse el de grado 316 es un acero en el que hay más níquel (sobre un 10%) y que contiene molibdeno (2-3%), hierro (5%) y tungsteno (4%) es resistente a la corrosión pero su alto precio limita mucho su empleo (32, 56,58).

Plásticos. Los plásticos se están empleando mucho últimamente en la industria alimentaria y no hay duda que en el futuro tendrán importancia. Tienen muchas ventajas, pues son baratos, ligeros, transparentes cuando es necesario, atóxicos, no causan coloraciones, son relativamente resistentes a la corrosión y pueden ser resistentes a los ácidos, a los álcalis y a los detergentes; además, se pueden seleccionar plásticos para su empleo en un amplio rango de temperaturas. Sin embargo, los plásticos se abrasionan antes que los metales con lo que su limpieza se ve dificultada.

Las propiedades de los plásticos es obvio que varían mucho, dependiendo de la materia prima utilizada, de los aditivos que se incorporan y del método de fabricación. Básicamente los plásticos utilizados por la industria de los alimentos se agrupan en dos categorías: termoplásticos y termoestables. Los primeros se ablandan al calentarlos y se endurecen al enfriarlos, proceso que puede repetirse cualquier número de veces sin cambio químico apreciable. Muchos de estos termoplásticos se basan en etileno, por ejemplo, polietilenos, polipropileno, cloruro de polivinilo, polímeros de fluorocarbono y acrílicos, pero algunos se basan en otras sustancias químicas como por ejemplo, el nylon (34, 56,58, 62).

En general son muy resistentes a los ácidos, álcalis y agentes de limpieza; toleran grandes variaciones de temperatura, aunque debe incorporárseles termoestabilizantes y pueden resistir la absorción acuosa; el cloruro de polivinilo y ciertos náilonos son una excepción a la absorción acuosa y el primero es además, sensible al ataque microbiano. Muchos de estos termoplásticos se han empleado para la construcción de tanques, tuberías y accesorios y cintas transportadoras; la madera de las planchas de picado ha sido sustituida en parte por termoplásticos duros, pero durables, sobre todo polietileno de alta densidad. (62).

Los termoestables o termoasentables difieren de los anteriores en que se endurecen la primera vez que se calientan pero si se recalientan pueden experimentar degradación química. Los termoasentables que se utilizan como material de construcción del equipo alimentario comprenden poliésteres, resinas epoxi y poliuretanos; generalmente se emplean en un intervalo de temperaturas más amplio que en el caso de los termoplásticos, pero son más sensibles al ataque por ácidos y álcalis.

A pesar del creciente empleo de los plásticos, todavía hay problemas por resolver. Algunos contienen plastificantes (es decir, compuestos orgánicos añadidos a los plásticos para aumentar su flexibilidad) que pueden emigrar a los alimentos, especialmente las grasas. Los plásticos son menos rígidos que el acero por lo que sus propiedades físicas se alteran con los cambios de temperatura (34).

Goma, vidrio y madera. La goma natural o sintética de calidad alimentaria, todavía se emplea bastante en la industria de los alimentos. La goma es un material aceptable para cintas transportadoras, siempre que esté en buenas condiciones: cuando esté gastada o dañada deberá sustituirse inmediatamente ya que en tal estado es difícil de limpiar. La goma también se emplea para cierres, juntas y tuberías para lo que también es de máxima importancia seleccionar la calidad más adecuada, lo mismo que el inspeccionarla con frecuencia para asegurarse de que está en buenas condiciones. La goma expandida con un relleno adecuado, también se ha popularizado en mesas de corte.

Las aplicaciones del vidrio son muy limitadas ya que en ninguna circunstancia se permitirá en las áreas de producción de alimentos, salvo que forme parte de los equipos especialmente diseñados; el vidrio empleado con este fin será irrompible y termorresistente.

La madera, como otros materiales absorbentes no debe emplearse en el procesado de alimentos. Se ha utilizado mucho en las mesas de corte, pero los jugos de los alimentos penetran en ella y son casi imposibles de eliminar con la limpieza.

Cuando las bacterias, que también son difíciles de eliminar, degradan los restos alimenticios, se desarrollan amargor y olores anormales.

El empleo de la madera debe restringirse al máximo, aunque se permite su utilización en cubas de fermentación. Muchos carniceros todavía insisten en el empleo de tajos y mesas de madera; para ello se utilizan las maderas duras, como la de arce, si bien desde el punto de vista higiénico son preferibles otras alternativas (18, 22, 27, 29, 34, 38, 45,56).

VI.3.6.2. Diseño

Una de las necesidades básicas del equipo de procesado de alimentos, diseñado higiénicamente, es que carezca de alimentos en “depósitos” u otras zonas muertas en los que después pueda ocurrir crecimiento bacteriano. El alimento puede permanecer en estos depósitos muchas horas, o incluso días, si son tan pequeños que los agentes de limpieza no pueden llegar a la suciedad. Durante este tiempo el alimento se alterará en mayor o menor proporción. En consecuencia cuando tal material alimenticio llega intermitentemente a un alimento no contaminado le ocasiona problemas de alteración (62).

Por lo tanto, es esencial asegurarse de que todo el material alimenticio permanece en el equipo de procesado el mismo tiempo.

Al diseñar el equipo es imprescindible que todas sus superficies que vayan a contactar con los alimentos sean lo más lisas y continuas posible. Deben evitarse ángulos, grietas y cortes mediante curvaturas adecuadas para que no se acumule el material alimentario y se facilite la limpieza; todas las curvaturas internas de ángulos y uniones tendrán un radio mínimo de 1 cm, si bien 2 cm es el radio óptimo. Los tanques y equipo similar se constituirán de manera que se complete fácilmente su autodrenaje o autoescurrido.

Todas las uniones permanentes entre las superficies en contacto con los alimentos se soldarán completamente, se afinarán y pulimentarán para que se continúen insensiblemente con la superficie que las rodea; todas las soldaduras en general serán continuas y lisas, condición que se comprobará y mantendrá para prevenir cualquier acúmulo de partículas alimenticias en grietas y cortes que en otro caso podrían desarrollarse (56).

Deben evitarse los finales muertos, como tubos de situación de termómetros y piezas en T que no se emplean. Los materiales de construcción empleados serán suficientemente robustos para evitar que se tuerzan y doblen bajo condiciones de procesado, pues ello originaría huecos en donde podrían acumularse los alimentos y los líquidos de limpieza. La suciedad tiende a acumularse en las tuercas y tornillos salientes, palomillas, remaches y tirafondos, por lo que deben evitarse en las partes que contactan con los alimentos. Cuando la construcción exija algún tipo de tornillo, las cabezas que preferentemente serán hemisféricas, se situarán siempre en el lado que contacta con el alimento. Cuando se emplean tornillos siempre existe la posibilidad de que se formen grietas en la unión entre la cabeza de aquel y la superficie metálica a la que se aplica y esto puede evitarse empleando arandelas de plástico durable (18, 22, 27, 23, 45,56).

VI.3.6.3. Accesibilidad de las superficies que contactan con los alimentos

Todas las superficies del equipo deben ser accesibles, fáciles de desmontar para facilitar la limpieza y desinfección de las superficies de contacto. Cualquier modificación del equipo no debe interferir o dificultar su limpieza y desinfección. Incluso en un equipo bien diseñado, las bacterias pueden desarrollarse durante un turno de trabajo y si este desarrollo se acompaña de variaciones en el tiempo de permanencia del alimento, el deterioro de su calidad bacteriológica es inevitable. Obviamente durante el procesado es importante minimizar el aumento de la carga microbiana y por lo tanto todos los períodos de descanso deberán aprovecharse para realizar la limpieza. Hasta descansos de 10-15 minutos deben aprovecharse para limpiar aquellas superficies y partes del equipo consideradas como higiénicamente peligrosas (32).

La limpieza de todas las superficies en contacto con los alimentos debe realizarse en los períodos de descanso más largos.

Desgraciadamente el desmantelar muchas máquinas para su limpieza requiere horas, frecuentemente se necesitan instrumentos complejos y en consecuencia se retrasa la limpieza. El desmantelamiento, la limpieza y el montaje debieran ser lo más simples posible de forma que las superficies y partes del equipo expuestas al acúmulo peligroso de bacterias pudieran limpiarse en 15 minutos.

Para facilitar la limpieza se utilizarán sistemas fáciles de soltar, por ejemplo, palomillas y tornillos de paso de rosca ancha; como alternativa pueden utilizarse abrazaderas o muelles de unión, una de cuyas ventajas es que no representan los peligros bacteriológicos asociados a los pasos de rosca de los tornillos antes citados. Cualquiera que sea el tipo de apertura que se utilice, es importante asegurarse de que para desmantelar y montar el equipo sólo se necesitarán si es que se requiere alguno de instrumentos más sencillos (32,62).

Debe señalarse aquí que el mal diseño del equipo es responsable, en parte, de gran número de críticas relativas a metales en los alimentos. Si hay una gran plétora de tuercas, tornillos y tirafondos que deben desenroscarse para desmantelar ciertas partes de la maquinaria, se entenderá fácilmente la causa de las mismas; deben tomarse medidas para rectificar las faltas en interés de la higiene y del sentido común.

También debe resaltarse que el equipo diseñado para permitir un rápido y fácil desmantelamiento se limpiará con más entusiasmo y eficacia que otro cuyo desmantelamiento sea tedioso y difícil.

Las partes grandes del equipo también se diseñarán de forma que faciliten su limpieza, inspección y conservación. Todas las partes que deban limpiarse permitirán hacerlo en no más de una hora. Por seguridad los componentes más pesados se mueven fácilmente con ayuda de polipastos, pues los operarios no deben pelear con piezas de difícil manejo (18, 21, 29,45).

VI.3.6.4. Protección de los alimentos

Los recipientes utilizados para la carne deben colocarse de forma que se impida que la carne o los mismos recipientes entren en contacto directo con el suelo o las paredes. Las instalaciones deben estar dotadas de equipos para el mantenimiento higiénico y la protección de las carnes durante las operaciones de carga y descarga, así como de zonas de recepción y clasificación convenientemente diseñadas y equipadas.

El equipo debe diseñarse y utilizarse de forma que los alimentos queden protegidos de la contaminación. Es muy importante proteger los alimentos de la contaminación ambiental, evitando el goteo de agua condensada, corrientes de aire contaminado, salpicaduras de agua estancada en el suelo, etc.

Los despieces van en contenedores de acero inoxidable o en cajas de plástico o suspendidas en carros de acero inoxidable. Cuando se almacenan las cajas de plástico en los almacenes, éstas se colocan sobre palés de plásticos que las aíslan del suelo (18, 21, 27, 29, 32, 34, 38,45).

V.3.6.5. Dispositivos de comprobación o vigilancia

Las necesidades frigoríficas se han solucionado con instalaciones autónomas refrigeradas por agua. Las necesidades de frío de las salas de trabajo son de 12°C y de 0°C en las cámaras de conservación. Todos los locales (cámaras) refrigerados, llevan termómetro de lectura remota para la comprobación visual, termógrafo para el registro gráfico de las oscilaciones de la temperatura e higrómetro, excepto en las salas de trabajo refrigeradas que llevan termómetro y termógrafo.

Las temperaturas de las cámaras frigoríficas son recogidas por un registrador automático unido a un dispositivo de alarma que mediante luces o sirenas indican cualquier fallo en el funcionamiento de la instalación, todo ello conectado con un sistema informático que recoge todas las incidencias.

Los registros de temperatura se conservan un mínimo de 6 meses o durante toda la vida útil del producto, si ésta es mayor (32, 34, 38,45).

VI.3.6.6. Instalación del equipo

En este apartado se repite una vez más la necesidad de que las instalaciones eléctricas, tuberías, etc., se encuentren suspendidas por encima del techo u ocultas. Dichas instalaciones deben estar correctamente impermeabilizadas. En las zonas donde se utiliza agua o vapor y se procesen alimentos, deben existir respiraderos que eviten las condensaciones de agua.

El equipo debe situarse a una distancia de, aproximadamente 100 cm del techo, de las paredes y del equipo adyacente; además, se situará a una distancia del suelo de, al menos 20 cm, para facilitar su limpieza, inspección y mantenimiento.

También se facilita el acceso reduciendo a un mínimo el montaje sobre el suelo y sobre las paredes, así como las estructuras de soporte.

Estas serán tubos de acero y no de perfil o ángulo de hierro, ya que en el primer caso la limpieza es más fácil, no presentar superficies horizontales donde pueda detenerse el polvo y la suciedad, la corrosión es menor y debido a su mayor fuerza y menor peso, se necesita menos estructura.

Los soportes del equipo más pesado montado en el suelo, deben estar cogidos con obra o soldados para evitar la presencia de suciedad y de "plagas" y la unión del soporte al suelo será en media caña. Cuando se empleen patas o pivotes para sostener el equipo, estarán hechas de tubo de acero que debe estar cerrado por ambos extremos y estarán cogidas al suelo con obra en media caña para evitar escondrijos o bien dispondrán de elementos de fijación de bola. Se utilizará el mínimo número de tales patas, siendo preferible el montaje sobre un pedestal único. Las grandes plantas de procesado de alimentos, como los túneles de deshidratación y enfriamiento por aire, tendrán puertas que permitan un fácil acceso de personal de limpieza y mantenimiento; su diámetro será de 60 cm como mínimo (27, 29, 32, 34, 56,62).

VI.3.6.7. Funcionamiento y mantenimiento

Es fundamental un control sobre el correcto funcionamiento de los equipos con el fin de evitar sobrecargas. Se realizarán inspecciones regulares de mantenimiento, definiendo los puntos claves a controlar, marcando un calendario de emplazamiento a intervalos regulares de tiempo antes de su deterioro. Debe existir una persona responsable de este plan de autocontrol de los sistemas de mantenimiento y plan preconcebido y perfectamente especificado. Para ello, se realiza una supervisión periódica (semanal) de las instalaciones, con una persona que se responsabiliza de este tema, el Director de Producción (23, 32,45).

VI.3.7. Principios de control microbiológico

El análisis microbiológico de superficies no tiene carácter preventivo sino que simplemente es una inspección que permite valorar la carga microbiana. La prevención se logra como se indicó anteriormente.

Puesto que el control microbiológico es un proceso analítico es necesario seguir una serie de criterios sobre la toma de muestras y el análisis microbiológico de los productos finales. En este sentido, es necesario considerar que en una sala de despiece debidamente administrada, mantenida a 10°C o menos, la contaminación aérea y el crecimiento microbiano no deben contribuir significativamente a la carga microbiana de la carne.

La principal fuente de contaminación es de esperarse que sea de las superficies de las canales que van llegando y del grado de difusión de esta contaminación por las superficies recién cortadas, debido a su contacto con el equipo (3, 5, 17,21) .

La contaminación que se va acumulando en el equipo como consecuencia de su mala higiene es lógico que contenga una gran proporción de bacterias psicrótrofas.

Los productos cárnicos muy manipulados es natural que se contaminen con bacterias de origen humano. La composición de esta flora es un reflejo de las distintas fuentes contaminantes y de la eficacia de las medidas higiénicas que persiguen evitar la difusión microbiana (1, 2, 16, 19,37).

Los métodos de recuento total de microorganismos viables han sido empleados con mayor frecuencia para evaluar la inocuidad y salubridad de los alimentos que para determinar su calidad. En teoría, todo indicador de la inocuidad de los alimentos debe cumplir determinados criterios importantes. Como:

- Ser detectable con facilidad y rapidez.
- Ser fácilmente diferenciable de otros representantes de la flora de alimentos.
- Tener antecedentes de constante asociación con el patógeno cuya presencia debe indicar.
- Ser un microorganismo cuyas cifras, en teoría se deben corresponder con las del patógeno de interés.
- Tener necesidades de crecimiento y una velocidad de crecimiento que se igualen con las del patógeno.
- Tener una tasa de muerte que al menos sea paralela a la del patógeno y que teóricamente, persista durante algún tiempo más que el patógeno de interés. (28,31,39)

Un microorganismo **índice** es aquél cuya presencia alerta de la posible presencia de un microorganismo patógeno relacionado ecológicamente con él. (Ej.: *E. coli* índice de *S. typhi*). Mientras que microorganismo **indicador** es aquel cuyo número indica un tratamiento inadecuado o una contaminación posterior del alimento analizado (51).

La finalidad por la que se usan las bacterias indicadoras como reveladoras de prácticas de higiene inadecuadas, es precisamente poner de manifiesto determinadas condiciones de tratamiento o manipulación de los alimentos que suponen un peligro potencial.

Los recuentos altos de gérmenes viables indican frecuentemente materias primas contaminadas, limpieza y desinfección no correctas o condiciones inadecuadas de tiempo-temperatura durante la producción o la conservación de los alimentos o una combinación de estas circunstancias.

Los criterios para realizar el control microbiológico de las superficies que contactan con los alimentos, pueden ser diferentes tipos de comprobación y entre los más importantes se destacan:

1. Valoración sensorial (color, aspecto, olor, sabor en algunos casos, etc.).
2. Determinaciones físicas (T^o, tiempo, etc.).
3. Análisis químicos (pH, Cl libre, etc.).
4. Análisis microbiológicos (patógenos, alterantes, etc.).

Es fundamental, que dichas comprobaciones aporten información de forma rápida, pues de lo contrario el sistema pierde eficacia. En la comprobación, se verifica si las medidas preventivas se cumplen y si son efectivos para asegurar el buen funcionamiento del proceso. Siempre que se realice la vigilancia se debe proceder a desarrollarla de una forma organizada y planificada, registrando los resultados encontrados. Para ello, normalmente se usan las hojas de control (21, 32, 42,63).

Como se ha indicado la comprobación puede realizarse de diferentes formas:

VI.3.7.1. Valoración sensorial

Su correcto desarrollo precisa entrenamiento. La persona encargada debe ser capaz de realizar una valoración organoléptica del producto controlado, bien sea por el olor, sabor, tacto, etc.

Debe conocer la gama de valores óptimos y sus desviaciones. Dentro de ella destaca la **observación visual**.

Debe conocer perfectamente lo que tiene que observar, cuál es la situación normal y ser capaz de valorar las posibles desviaciones. En el caso de detectar cualquier desviación, debe estar preparado para conocer que tiene que hacer y a quién dirigirse. (15,30)

Este sistema tiene ventajas e inconvenientes:

- Ventajas: barato, resultados rápidos, rápido de realizar y no precisa aparatos.
- Desventajas: la subjetividad. Debe ser realizado por el personal bien entrenado. Tiene limitaciones en cuanto a la información que aporta (32,64).

VI.3.7.2. Determinaciones físico-químicas

En este caso el entrenamiento, aun siendo necesario es más fácil de conseguir y requiere menos experiencia. Las determinaciones que se pueden realizar varían desde la determinación del cloro libre en el agua hasta la medición de temperaturas, pH, humedad, etc.

Se debe conocer correctamente las tolerancias y los pasos a seguir en el caso de detectarse desviaciones de los límites admitidos.

Todos los procedimientos de toma de datos de aparatos, calibrado, etc., deben estar correctamente explicados por escritos, con el fin de homogeneizar las medidas tomadas.

- Ventajas: objetivos, fácilmente unificable, método lógico, personal con menos experiencia, etc.
- Desventajas: precisa aparatos (termómetro, potenciómetro, etc.), más costoso (32).

VI.3.7.3. Examen microbiológico

El valor de este tipo de exámenes para comprobar los PCCs (control de puntos críticos) es muy limitado. Su utilización es recomendable en casos concretos, como por ejemplo la comprobación de parámetros microbiológicos, cuando se trabaja con materias primas consideradas de contaminación elevada con microorganismos patógenos y que por el procesado al que son sometidos podrían suponer un peligro para el consumidor.

Las técnicas utilizadas deben ser lo más simples posible y ser rápidas en la emisión de resultados.

- Ventajas: En algunos casos dan información que no se podría obtener por otro sistema.
- Desventajas: no son rápidos, precisan personal especializado o contratar servicios externos (laboratorios), caros, precisan aparatos.

En la actualidad existen diferentes líneas de investigación, intentando desarrollar técnicas microbiológicas en "tiempo real", técnicas analíticas capaces de emitir resultados "in situ" del tipo de las sondas de ADN, determinación del ATP, etc. Si éstas se desarrollan, su costo no es elevado y consiguen dar resultados rápidos, podrán ser muy útiles para las industrias alimentarias.

Es muy importante que todas estas observaciones se recojan creando un archivo de registros.

En dicho archivo, se debe especificar la frecuencia de comprobación así como la planificación de las muestras. Dicha frecuencia, viene definida por la posibilidad de presentación de los peligros y por la gravedad de estos.

Se debe mantener actualizado el registro que recoge todas las observaciones realizadas, visuales, físico-químicas, etc. Dichos registros deberán ser revisados periódicamente por las autoridades sanitarias (21, 32, 40,63).

VI.3.7.3.1. Métodos biológicos

Se han desarrollado técnicas que hacen posible la automatización del proceso. Las técnicas biológicas básicas en el recuento de microorganismos aparentemente viables son:

1. *Contaje de placa*: Consiste en el plaqueo de una muestra de un área específica de la superficie que se analiza. El resultado es función de una serie de factores como son el método de muestreo, el tipo de microorganismo, el tipo de alimento y las características del medio de cultivo. Los cultivos pueden hacerse tanto en masa como en superficie, aunque hay que considerar que los cultivos en masa son letales para la flora psicotrofa. Cada bacteria viable formará una colonia, el plaqueo puede hacerse en una placa normal o por medio de un plaqueador en espiral que va depositando concentraciones progresivamente más diluidas de la muestra.
2. *Filtros de membrana*: Utilizados cuando el número de bacterias es bajo. Son filtros con un poro de 0,45 mm que retienen las bacterias. Se filtra un volumen dado y se coloca el filtro sobre una placa del medio de cultivo apropiado. La muestra puede haber sido procesada para epifluorescencia previamente, lo que facilita el recuento (la epifluorescencia se puede provocar con naranja de acridina que tiñe específicamente los ácidos nucleicos).
3. *Microcolonias en DEFT*: DEFT son las iniciales en inglés de Direct Epifluorescence Filter Technique (técnica de epifluorescencia directa en filtro). En esta técnica las bacterias se filtran para retenerlas en una membrana (filtro de policarbonato) apropiada que posteriormente se trata con un agente fluorescente (como la naranja de acridina) para teñir las células bacterianas (se somete el filtrado a un tratamiento previo con detergentes para destruir las células somáticas).

La detección de los microorganismos se puede hacer mediante microscopía de fluorescencia o por cualquier otro método de medida de la epifluorescencia. En ciertos casos, las membranas se incuban para producir colonias que son más fácilmente detectables.
4. *Contaje de microcolonias al microscopio*: Se añade un pequeño volumen de agar-cultivo a un porta y se incuba para seguir la formación de microcolonias al microscopio.
5. *Gotitas de agar*: Se hacen diluciones de la muestra (solución madre) y se depositan gotitas de 10 µl en una placa Petri (gotitas de cultivo + agar). Se examina el crecimiento de las colonias en las gotitas tras la incubación.
6. *Films secos (Petrifilm)*: Son películas deshidratadas de medios de cultivos generales o selectivos en las que se deposita 1 ml de la muestra que rehidrata el medio, tras la incubación se hace el recuento.
7. *Método del número más probable*: Basado en series de diluciones y cálculo estadístico del número de bacterias presentes en las diluciones más altas. Se puede hacer con 3 ó 5 tubos. El método es popular aunque poco exacto.

8. Métodos basados en la reducción de colorantes: Usando azul de metileno o resazurina. Colorantes reducidos por las bacterias; al reducirse cambian de color y esto es medible. Usado en medios líquidos (lácteos).
9. Tubos rodantes: Son tubos herméticamente cerrados en los que haciéndolos girar se forma una fina capa de agua. Útiles para recuento de anaerobios.
10. Contaje microscópico directo: Usando cámaras de cuenta, se coloca un volumen determinado y se recuentan las bacterias.

Además de las técnicas de recuento basadas en la formación de colonias observable (técnicas biológicas) hay una serie de procedimientos de recuento basado en técnicas químicas, físicas e inmunológicas (28, 30, 31, 39, 63,64).

VI.3.7.3.2. Métodos físicos

- B) Impedancia: Es la resistencia aparente presentada a la corriente alterna. En un cultivo los microorganismos alteran los sustratos cambiando su conductividad eléctrica y esto varía la impedancia. El método se basa en detectar estos cambios y la cantidad de microorganismos se expresa en función del tiempo que tarda el cultivo en alcanzar unos valores de impedancia correspondientes a 10^6 - 10^7 células por ml^{-1} . (IDT: Impedance Detection Time). Es necesario que el medio de cultivo permita un crecimiento homogéneo sin «escalones».
- C) Microcalorimetría: Estudio de los pequeños cambios de calor producidos como consecuencia del anabolismo de nutrientes.

Los diferentes tipos de microorganismos metabolizan los sustratos de forma diferente, por ello, se ha usado la microcalorimetría para poder identificar las especies presentes en un alimento: usando un medio de cultivo con una composición definida de azúcares pueden llegar a identificarse diferentes tipos de bacterias lácticas mediante los termogramas de su metabolización de los azúcares presentes en el medio.

- D) Citometría de flujo: Método basado en hacer pasar una a una las células de una suspensión por un sistema de detección; este sistema puede contener un detector capaz de medir diferentes parámetros (diferentes tipos de fluorescencia, absorbancia, dispersión de luz, etc.) lo que permite identificar las bacterias durante su paso por el detector. (28,64)

VI.3.7.3.3. Métodos químicos

- A) Nucleasa Termoestable: *S. aureus* produce una nucleasa termoestable con mayor rapidez y en mayor cantidad que la enterotoxina responsable de la intoxicación. La endonucleasa puede detectarse experimentalmente como un índice de la presencia de *S. aureus* incluso en concentraciones demasiado bajas para que hayan producido unas cantidades detectables de enterotoxina.
- B) Lisado de Limulus: Usado para detección de endotoxinas (derivadas del lipopolisacárido LPS de las bacterias Gram negativas). Se basa en la aglutinación de extractos de amebocito de sangre de *Limulus* (cangrejo de mar) producido en cantidades del orden de picogramos de LPS. Puede detectar 300 células de *E. coli*. El método detecta células viables y no-viables; es muy rápido.
- C) Sondas de ácidos nucleicos: Sirven para identificar microorganismo desconocidos por medio de *Southern Blot*.
- D) Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Método para detectar un número extremadamente bajo de microorganismos con una cierta rapidez basado en la producción de copias de genes específicos de un microorganismo en cuestión.

- E) Medida de ATP-: Se ha desarrollado una técnica bioluminiscente que se basa en una reacción en la que está implicado el ATP y la enzima luciferasa de las luciérnagas. La reacción, muy simplificada, se puede expresar así:



La cantidad total de luz producida es directamente proporcional a la cantidad existente de ATP y puesto que todas las bacterias contienen aproximadamente la misma cantidad de ATP por célula (unos 10^{-15} g) se puede medir el número de bacterias de una muestra. Por desgracia muchos alimentos (carne) contienen grandes cantidades de ATP de origen no microbiano, por lo que es necesario eliminar este ATP o separar bacterias del resto del alimento antes de que pueda estimarse el ATP bacteriano. Se han descrito técnicas de separación sencillas que permiten obtener resultados en 20-25 minutos, resultados que se correlacionan bien con los recuentos bacterianos obtenidos con los métodos de recuento convencionales.

- F) Radiometría: Medida de la transformación de un sustrato con ^{14}C en $^{14}\text{CO}_2$: el tiempo necesario para detectar el $^{14}\text{CO}_2$ es inversamente proporcional a la cantidad de microorganismos presente.
- G) Sustratos Fluoro y Cromogénicos: Se añaden como aditivos a los medios de cultivos para facilitar y acelerar la detección de los microorganismos. (28,64)

VI.3.7.3.4. Métodos inmunológicos.

Normalmente se usan antisueros que detectan antígenos flagelares (responsables de las formas móviles de *Salmonella* y otras bacterias)

- B) Anticuerpo fluorescente: Se utiliza anticuerpo marcado con una molécula fluorescente o un segundo anticuerpo que reconozca el primero. Se pueden usar antisueros complejos en el primer anticuerpo y de esta forma detectar cualquier tipo de *Salmonella* sin necesidad de aislarlas. El método también se ha usado para clostridios aunque su mayor aplicación ha sido en *Salmonella* donde es muy conveniente por la sensibilidad y rapidez.
- C) Serología de enriquecimiento: En este procedimiento especialmente desarrollado para la detección de *Salmonella*, el antisuero no se añade al alimento sino que se efectúa un paso previo de enriquecimiento del cultivo y de selección para evitar falsos positivos.
- D) Test 1 - 2 de *Salmonella*: Sistema con dos cámaras de agar blando. Una de las cámaras (la de siembra) contiene un medio selectivo para *Salmonella*, las bacterias móviles de este género atraviesan la cámara selectiva y pasan a la no selectiva pero portadora de un anticuerpo específico por lo que se forma una banda de aglutinación cuando entre *Salmonella*.
- E) Radioinmunoensayo: Se basa en el marcaje con un radioisótopo de un antígeno determinado (toxina producida por una bacteria patógena) y su posterior detección por anticuerpos específicos fijados sobre un soporte sólido.
- F) ELISA: El método es similar al radioinmunoensayo: el antígeno se fija en un soporte sólido, se trata con el antisuero correspondiente y la interacción se detecta mediante una enzima marcada (peroxidasa) unida al anticuerpo en cuestión o a un segundo anticuerpo de revelado. El método se ha usado para detección de *Salmonellas*, toxinas de *S. aureus*, micotoxinas, toxinas de *C. botulinum* y enterotoxinas de *E. coli*.
- G) Difusión en gel: Método de Ouchterlony para detección de antígenos (28, 30, 31,64).

VI.3.7.3.5. Examen de superficies.

La necesidad de mantener en un estado higiénico adecuado a las superficies con las cuales contactan los alimentos tiene una importancia evidente. Uno de los mayores problemas del análisis microbiológico de superficies es determinar el número de muestras que deben analizarse por jornada de trabajo para asegurar que el grado de limpieza y sanitización cumplen con la norma exigida. Obviamente cuanto mayor sea el número de muestras tomadas, mayor será la confianza en los resultados, pero puesto que el método empleado con fines analíticos representa un gasto no recuperable, debe alcanzarse un compromiso entre la exactitud de los resultados y la economía del análisis. A continuación se describen los métodos habitualmente más utilizados en la valoración higiénica de las superficies durante las manipulaciones de alimentos:

El recuento puede practicarse por tres técnicas principales: la impronta sobre la superficie, el uso del hisopo y la del muestreo con una esponja de poliuretano.

La impronta se efectúa con un bloque de gelosa nutritiva estéril que se aplica sobre la superficie en estudio sin extenderlo; los microorganismos presentes se adhieren al bloque que se lleva a incubar. La cuenta de colonias desarrolladas se relaciona con el área de gelosa aplicada para referirla a una unidad de superficie.

La técnica del hisopo consiste en extender sobre un área determinada (generalmente 25 cm²) un hisopo humedecido que recoge la flora microbiana y suspenderla en un diluyente a partir del cual se efectúan los recuentos (15,17).

En la técnica de la esponja, se utilizan esponjas de espuma de poliuretano de 13 cm x 7.5 cm x 4 cm y bolsas nuevas de plástico transparente (50 micrómetros de espesor) de 30 cm x 40 cm (o de dimensiones similares). Consiste en pasar la esponja sobre toda la superficie del equipo o utensilio que se va a muestrear pudiendo estimar de esta manera el contenido microbiano de toda la superficie y no únicamente dimensiones limitadas como sucede en las dos técnicas anteriores (64).

Se ha comprobado experimentalmente que las esponjas usadas no tienen sustancias antimicrobianas y que las bolsas de plástico pueden ser consideradas no contaminadas para los fines perseguidos. El procedimiento para el muestreo con esponjas de espuma de poliuretano es el siguiente:

Se invierte la bolsa a modo de guante sobre la mano del operador, haciendo que la parte interna pase a ser externa y con la mano así protegida, se toma una esponja retirándola de la bolsa de papel. Se humedece la esponja con una parte de un total de 100 ml de regulador de fosfato estéril y se frota completamente toda la superficie que se va a muestrear. Terminando el muestreo, se vuelve la bolsa a su posición original quedando la esponja en su interior y se adiciona la parte restante de los 100 ml de regulador de fosfato estéril a la bolsa de plástico que contiene la esponja y se homogeniza exprimiendo repetidamente la esponja. Esta suspensión homogénea será considerada como muestra directa y a partir de ella se harán las diluciones necesarias (28).

En general, se recuperan microorganismos indicadores utilizados con mayor frecuencia para determinar la higiene de las superficies que contactan con la materia prima. Se ofrece un resumen de los métodos que se emplean para detectar y hacer el recuento de *E. coli* y de los coliformes (Cuadro 7). La gran mayoría de métodos existentes es, en parte, reflejo del vivo interés actual por métodos que sean más rápidos y más exactos y del valor de los coliformes como indicadores de la eficacia antibacteriana de los procesos de limpieza y desinfección en la industria cárnica (45).

La detección y enumeración de *E. coli* se lleva a cabo en tres fases: La primera, recuento presuntivo de coliformes, el cual implica la enumeración de coliformes, tanto fecales como no fecales, en medios selectivos que pueden describirse brevemente como medios nutritivos que contienen agentes selectivos, como antibióticos, colorantes o productos químicos que suprimen el crecimiento a microorganismos de poco interés (17).

En el caso de los coliformes, corrientemente se incorporan a los medios de cultivo sales biliares que actúan como agentes selectivos: son el agar de MacConkey y el agar bilis rojo violeta. El primero contiene una fuente de nutrientes (peptona), lactosa que es hidrolizada por los coliformes con producción de ácido (y gas) y un indicador de pH (rojo neutro), mientras que el último posee cristal violeta como agente selectivo adicional y se basa en los mismos principios.

Las técnicas de recuento incluyen la siembra en placas de diluciones de las muestras homogenizadas, utilizando los medios de cultivo antes citados u otros similares y los métodos de vertido o de extensión; la incubación se realiza a 37° C durante 24 horas y los coliformes dan lugar a colonias de color rojo. Como alternativa puede añadirse las diluciones a caldo MacConkey, o a otro parecido, que contenga campanas de Durham (tubitos de fermentación invertidos) para recoger el gas producido cuando los coliformes hidrolizan la lactosa (63).

Cuando se emplea caldo para el recuento de coliformes, etc., corrientemente se utiliza la técnica del número más probable (NPM), en la que cinco tubos de caldo se inoculan con cada dilución.

La prueba presuntiva del NPM se basa en el número de tubos que presentan producción de ácido y gas de 24-48 horas de incubación y el recuento se calcula empleando tablas estadísticas.

La segunda fase de confirmación de la presencia de microorganismos coliformes (si bien en la práctica se prescinde de esta fase al confirmarse la mayoría de los microorganismos coliformes), se lleva a cabo haciendo subcultivos de todos los tubos de caldo, en los que se aprecia ácido y gas, o de las colonias sospechosas en agar, en tubos de caldo verde brillante bilis (BGBB) que se incuban a 37° C durante 48 horas. La inclusión del verde brillante convierte a este medio en más selectivo que los dos medios empleados en la fase anterior; la producción de gas en este medio confirma la presencia de coliformes (3).

La fase final de la confirmación de la presencia de *E. coli*, puede hacerse directamente desde la primera fase, empleando BGBB como antes, pero incubando a 44° C durante 24 horas. Al mismo tiempo se siembra un tubo de agua peptonada, se incuba igualmente a 44°C 24 horas y a continuación se comprueba si contiene indol. *E. coli* es virtualmente el único que produce gas a partir de la lactosa e indol a partir de la peptona a temperatura tan alta, por lo que la reacción positiva confirma la presencia de *E. coli*. En lugar del BGBB puede emplearse un medio sólido (agar eosina azul de metileno). Los coliformes presuntos o confirmados en las fases 1 y 2 se siembran de placas prellenadas de este medio y a continuación se incuban a 37° C 24 horas; *E. coli* se distingue por el brillo metálico de sus colonias azul-negrucadas (35).

Existen diversas técnicas para el aislamiento y enumeración de enterococos que generalmente se basan en el empleo de la azida de sodio como agente selectivo y a menudo a temperaturas de incubación altas (45°C). Ejemplo de medio corrientemente utilizado es el KF *Streptococcus agar* que además de los nutrientes corrientes, contiene cloruro de tretazol, ingrediente que da a las colonias color rojo; la incubación se realiza a 37° C durante 48 horas. Como alternativa puede utilizarse caldo de glucosa azida, incubando a 45° C y llevando a cabo el recuento con la técnica del NPM y tablas de probabilidad. Los tubos en los que se aprecia producción de ácido se consideran positivos (los enterococos no originan gas a partir de glucosa). Generalmente no se necesita la identificación de la especie ni de la estirpe (45,63).

La familia de las enterobacteriáceas comprende muchos géneros de los que unos se caracterizan porque fermentan la lactosa (*Escherichia coli* y *Enterobacter*) y otros por no hacerlo (*Proteus* no enteropatógeno, *Serratia*, *Salmonella* y *Shigella*) hay una estrecha relación entre los recuentos totales de enterobacteriáceas y el grado de contaminación fecal, sobre todo por salmonelas; debido a las muchas discrepancias encontradas cuando se utilizaron pruebas más convencionales para coliformes, sugieren emplear el recuento total de enterobacterias. Las discrepancias que se observan con las pruebas para coliformes son: (1) si el producto sólo contuviera *Salmonella* sp., los resultados obtenidos serían falsos; (2) en ocasiones predominan las estirpes de *E. coli* no fermentadoras; (3) a veces las cepas no producen gas aunque metabolizan la lactosa; (4) en todo caso la definición de coliformes es demasiado inconsistente y por lo tanto está justificada la siguiente alternativa.

El medio selectivo BGBB empleado en esta prueba es una modificación del empleado para confirmar coliformes, en el sentido de sustituir la glucosa por la lactosa ya que por definición todos los miembros de las enterobacteriáceas, metabolizan a la glucosa con producción de gas.

La incubación tiene lugar a 37° C durante 24 horas, lo que va seguido normalmente de siembras de crecimiento (esto es, turbios) en placas de agar de MacConkey modificado o en agar rojo violeta bilis; la modificación consiste en la sustitución del azúcar. Todas las colonias que muestran un color característico rojo o púrpura se consideran enterobacteriáceas (29, 30,31)).

Por todo lo anterior, es necesario insistir en que la presencia, incluso de un número sustancial de microorganismos indicadores no significa con certeza que haya ocurrido la contaminación fecal de los alimentos procesados; también puede indicar un procesado inadecuado, una contaminación posterior o unas condiciones de procesado antihigiénicas.

Para la identificación de problemas biológicos, al nivel de cualquier empresa es importante diseñar un estudio microbiológico en todas las etapas del proceso, desde las materias primas hasta el producto terminado; con el fin de identificar los riesgos más probables, los PCs y los procedimientos de comprobación o vigilancia.

En cada estudio se debe incluir pruebas para descubrir agentes patógenos, indicadores o alterantes de las materias primas, que podrían presentar un problema para el consumidor. Los resultados indican dónde es necesario una modificación, en una o más de las condiciones del proceso, desde incluir una etapa de refrigeración, aumentar la frecuencia de la limpieza o cambiar el propio sistema, variar los tiempos y las temperaturas, etc. El fin de estos análisis consiste en determinar el destino de los microorganismos durante el procesado o almacenamiento y predecir, con mayor exactitud los riesgos del proceso y del producto.

A partir de un estudio de este tipo, pueden obtenerse datos microbiológicos sobre la obtención del producto indicando los tipos de microorganismos que contienen las materias primas, los puntos en que se produce la destrucción o la multiplicación de los microorganismos durante el proceso y los puntos en que debe comprobarse la multiplicación microbiana (5, 9, 17, 29, 45,63).

Cuadro 7. Métodos que se emplean para detectar y realizar el recuento de coliformes

MÉTODOS	TIEMPO PARA RESULTADOS	SENSIBILIDAD	USO PRINCIPAL	OBSERVACIONES
<i>Recuentos Directos</i>				
Siembra en placa de VRBA Resultados presuntivos	18-24 H	-10 g	Coliformes Totales	
Confirmación de resultados	24-48 H	-10 g	Coliformes Totales	
Anderson y Baird-Parker Británico del tubo rodante	24 H 24 H	-10/g 1/g	EC de tipo I EC	Incubado a 44.5°C
Placas de medio seco Medio VRB	24 H	-10/g	Coliformes Totales	
Medio VRB Recuento de EC	24 H 24 H	-10/g -10/g	Fecales EC	Incubado a 44.5°C Utilizar sustrato MUG
<i>Medio de cultivo en caldo</i>				
NMP clásico, presuntivo	24-48 H	<1/100ml	Coliformes Totales	Caldo LST
NMP clásico, confirmativo	24-48 H	-	Coliformes Totales	De LST a caldo BGLB
NMP clásico, para fecales	24 H	<1/100ml	Coliformes Totales	
<i>Métodos de filtros de membrana</i>				
Método convencional	24 H	<1/g	Coliformes Totales	Agar Endo LES
Método M-FC	24 H	<1/g	Fecales	Caldo M-FC, 44.5°C
Método M-FC 7H	24 H	<1/g	Fecales	Caldo M-FC 7H, 44.5°C
Muestreador para recuento de colis Método HGMF HGMF-ELA	24 H 24 H 24 H	>10/g 1/g <10 ³ /g	Fecales Coliformes EC 0157:H7	Emplea agar HC
<i>Métodos con sustratos fluorógenos</i>				
LST + MUG Siembra en placa de X-GLUC Siembra en placa de MUGal	20 H 24 H 6 H	1 célula -10/g 1/100/g	EC EC EC	Incubado a 35°C
<i>Método con sustrato definido</i>				
Presencia-ausencia (P-A)	24 H	1/100 ml	EC	
<i>Impedancia</i>	6.5 H	-10 ³ /g	Coliformes	Medios Especiales
<i>Prueba de captura de enzimas(ECA)</i>	24 H	<1/g	EC	ECA a partir de tubos de LST
<i>Pruebas radiométricas</i>	24 H	1-10/g	Coliformes	Marcador Radiactivo
<i>Sondas de DNA</i>	24 H	<2/g	EC 0157:H7	Pruebas de Hibridación
<i>Amplificación del DNA (PCR)</i>	8-12 H	20 células	EC	Detecta secuencias de DNA
<i>Prueba del etanol</i>	9 H	1 célula	Coliformes	Cromatografía de gases

BGLB= bilis verde brillante lactosa; EC= *E. coli*; ELA= anticuerpos marcados con enzima; HC= colitis hemorrágica; HGMF= filtro de membrana con retículo hidrófobo; LST= lauril sulfato triptosa; M-FC= recuento de fecales Millipore; NMP= número más probable; MUG= 4-metilumbeliferil-β-D-glucoronido; MUGal=4-metilumbeliferil-β-D-galactósido; VRB= bilis rojo violeta; X-GLUC= 4-bromo-4-cloro-3-indolil-β-D-glucoronido.

Fuente: FRAZIER, W. (1985). Microbiología de los Alimentos. Editorial Acribia, 3ª Edición, España. P. 493.

VI.4. PAPEL DE LOS PROFESIONISTAS EN SANIDAD DENTRO DE LA INSPECCIÓN SANITARIA

Es evidente que los inspectores de la sanidad requieren un cambio fundamental en la técnica de supervisión de la industria alimentaria y que supone un esfuerzo adicional por parte del servicio de inspección de alimentos centrarse en los procesos a los que éstos son sometidos, prestando especial atención a la exposición de las posibles fuentes y formas de contaminación, a los efectos del proceso en el grado de contaminación, a la probabilidad de que ciertos agentes sobrevivan al tratamiento aplicado y a las posibilidades de que durante el tratamiento o la conservación proliferen diferentes microorganismos. Por todo ello, la inocuidad de los alimentos depende del adecuado control de todas las operaciones relacionadas con su obtención o preparación, desde que se reciben las materias primas hasta que se distribuyen, venden o consumen los productos tratados o preparados.

El sistema HACCP permite realizar el trabajo de inspección de una manera más sistematizada, pero sus múltiples ventajas compensan sobradamente el esfuerzo realizado y puede contribuir a evitar la monotonía de la inspección tradicional, así como la sensación de perder el tiempo anteriormente aludido, mejorando la formación y desarrollo personal del propio inspector.

Desde un punto de vista práctico, las autoridades sanitarias, con el fin de cumplir con la legislación y supervisar el autocontrol deberán realizar las actividades y controles expuestos a continuación:

- a) Ayudar a las empresas en la compensación del sistema HACCP e indicarles la conveniencia de este sistema para el desarrollo de su actividad y la supervisión e inspección de la misma. Se instará a resolver las dudas que puedan surgir en la fase de estudio y asesorando técnicamente en los temas relevantes desde el punto de vista sanitario.
- b) Controlar la eficacia del sistema HACCP, una vez instalado. Someterá a examen todos los resultados obtenidos y archivados por la empresa. No debemos olvidar, que en una sala de despiece, el inspector veterinario debe controlar como mínimo:
 1. Comprobación de la elaboración y la composición del producto.
 2. Control de potabilidad del agua:
 - ❖ Realizando análisis del contenido de cloro libre en diferentes grifos.
 - ❖ Análisis físico-químico y microbiológicos periódicos.
 3. Control de la eficacia de los sistemas de limpieza, desinfección, desratización y desinsectación.
 - ❖ Controles de desratización: Revisiones de informes recogiendo tipo de raticida empleado, plano de colocación de cebos e incidencias.
 - ❖ Control de la higiene de los locales, utillajes y productos. Archivo de los resultados de análisis microbiológicos efectuados.
 4. Controles de entrada y salida de carnes:
 - ❖ Archivo de albaranes de procedencia y/o documentos de acompañamiento comercial.
 - ❖ Archivo de certificados veterinarios.
 - ❖ Control de decomisos.

5. Control microbiológico de los productos, si se considera necesario.
6. Control de las condiciones de almacenamiento y transporte, supervisión de los registros gráficos de temperatura, humedad, etc.
 - ❖ Control de las temperaturas de las cámaras frigoríficas.
7. Control de todos los registros realizados por la empresa con el fin de cumplir el sistema de autocontrol.
 - ❖ Revisión periódica de cada registro y/o de las hojas de control.
8. Controles sobre los manipuladores (control sanitario del personal):
 - ❖ Posesión del carnet de manipulador de alimentos.
 - ❖ Control de las prácticas correctas de manipulación.
 - ❖ Archivo de los certificados médicos anuales de los manipuladores.
9. Control de la aplicación correcta de las marcas sanitarias:
 - ❖ Custodiar y controlar.
 - ❖ Sellos de marcado
 - ❖ Etiquetas
 - ❖ Certificados oficiales.
10. Deberá identificar los productos que no se consideren adecuados para el consumo de la población y destino de éstos.

Verificar las condiciones higiénico-sanitarias de los locales, instalaciones, útiles y utensilios y del personal manipulador.

Cuando lo considere necesario podrá tomar muestras para la realización de análisis microbiológicos de los productos, las superficies y los manipuladores. También podrá realizar otras acciones encaminadas a verificar que las condiciones higiénico-sanitarias del establecimiento, los productos y/o el personal, sean correctas.

Con toda esta información, si es necesario el inspector veterinario responsable de la empresa hará constar todas las deficiencias o fallos detectados y las recomendaciones para subsanarlas.

Cuando se observen deficiencias importantes, se incumplan los controles estipulados, se detecten condiciones sanitarias insuficientes o se impida la inspección, se podrá considerar dicha o dichas situaciones como de riesgo para la Salud Pública, actuando en consecuencia dependiendo de la gravedad de la situación suscitada (32, 40, 42,64).

VII. RESULTADOS

VII.1. ANÁLISIS DEL PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN QUE SE REALIZA EN LA MESA DE DESPIECE

Se procedió al análisis del procedimiento de limpieza y sanitización que se realiza en la mesa de despiece para determinar si se aplica o no conforme lo especifica el Manual de Procedimientos de dicha empresa.

Para la verificación del procedimiento, se utilizaron hojas de registro (Anexo) para cada uno de los días de toma de muestras, donde se señaló si la aplicación se realizó como lo establece el Manual de Procedimientos y como lo recomienda el fabricante de los agentes de limpieza y desinfección utilizados para la realización de dicho procedimiento.

• EJECUCIÓN DEL PROCEDIMIENTO (HOJAS DE REGISTRO)

Los resultados de esta evaluación se presentan condensados en las siguientes tablas la cual se realizó durante un periodo de 4 semanas, dos veces a la semana obteniendo un total de 8 determinaciones.

DIA 1	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA	TIEMPO DE ACCION DEL DETERGENTE	ENJUAGUE	PROCEDIMIENTO DE SANITIZACIÓN	TIEMPO DE ACCIÓN DEL SANITIZANTE	ENJUAGUE
MESAS LATERALES	INCORRECTO *	3' **	SI	CORRECTO	9' ***	SI
MESA CENTRAL	INCORRECTO *	4' **	SI	CORRECTO	9' ***	SI
BANDA MÓVIL	INCORRECTO *	3' **	SI	CORRECTO	9' ***	SI

TEMPERATURA SALA: 12° C

DIA 2	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA	TIEMPO DE ACCION DEL DETERGENTE	ENJUAGUE	PROCEDIMIENTO DE SANITIZACIÓN	TIEMPO DE ACCIÓN DEL SANITIZANTE	ENJUAGUE
MESAS LATERALES	INCORRECTO *	5'	SI	CORRECTO	15'	SI
MESA CENTRAL	INCORRECTO *	5'	SI	CORRECTO	15'	SI
BANDA MÓVIL	INCORRECTO *	5'	SI	CORRECTO	15'	SI

TEMPERATURA SALA: 12° C

DIA 3	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA	TIEMPO DE ACCION DEL DETERGENTE	ENJUAGUE	PROCEDIMIENTO DE SANITIZACIÓN	TIEMPO DE ACCIÓN DEL SANITIZANTE	ENJUAGUE
MESAS LATERALES	INCORRECTO *	4' **	SI	CORRECTO	12' ***	SI
MESA CENTRAL	INCORRECTO *	3' **	SI	CORRECTO	11' ***	SI
BANDA MÓVIL	INCORRECTO *	2' **	SI	CORRECTO	11' ***	SI

TEMPERATURA SALA: 10° C

DIA 4	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA	TIEMPO DE ACCIÓN DEL DETERGENTE	ENJUAGUE	PROCEDIMIENTO DE SANITIZACIÓN	TIEMPO DE ACCIÓN DEL SANITIZANTE	ENJUAGUE
MESAS LATERALES	INCORRECTO *	3' **	SI	CORRECTO	10' ***	SI
MESA CENTRAL	INCORRECTO *	3' **	SI	CORRECTO	10' ***	SI
BANDA MÓVIL	INCORRECTO *	3' **	SI	CORRECTO	10' ***	SI

TEMPERATURA SALA: 9° C

DIA 5	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA	TIEMPO DE ACCIÓN DEL DETERGENTE	ENJUAGUE	PROCEDIMIENTO DE SANITIZACIÓN	TIEMPO DE ACCIÓN DEL SANITIZANTE	ENJUAGUE
MESAS LATERALES	INCORRECTO *	4' **	SI	CORRECTO	11' ***	SI
MESA CENTRAL	INCORRECTO *	3' **	SI	CORRECTO	11' ***	SI
BANDA MÓVIL	INCORRECTO *	4' **	SI	CORRECTO	11' ***	SI

TEMPERATURA SALA: 12° C

DIA 6	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA	TIEMPO DE ACCIÓN DEL DETERGENTE	ENJUAGUE	PROCEDIMIENTO DE SANITIZACIÓN	TIEMPO DE ACCIÓN DEL SANITIZANTE	ENJUAGUE
MESAS LATERALES	INCORRECTO *	3' **	SI	CORRECTO	13' ***	SI
MESA CENTRAL	INCORRECTO *	4' **	SI	CORRECTO	13' ***	SI
BANDA MÓVIL	INCORRECTO *	3' **	SI	CORRECTO	13' ***	SI

TEMPERATURA SALA: 10° C

DIA 7	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA	TIEMPO DE ACCIÓN DEL DETERGENTE	ENJUAGUE	PROCEDIMIENTO DE SANITIZACIÓN	TIEMPO DE ACCIÓN DEL SANITIZANTE	ENJUAGUE
MESAS LATERALES	INCORRECTO *	4' **	SI	CORRECTO	15'	SI
MESA CENTRAL	INCORRECTO *	5'	SI	CORRECTO	15'	SI
BANDA MÓVIL	INCORRECTO *	5'	SI	CORRECTO	15'	SI

TEMPERATURA SALA: 11° C

DIA 8	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA	TIEMPO DE ACCIÓN DEL DETERGENTE	ENJUAGUE	PROCEDIMIENTO DE SANITIZACIÓN	TIEMPO DE ACCIÓN DEL SANITIZANTE	ENJUAGUE
MESAS LATERALES	INCORRECTO *	3' **	SI	CORRECTO	10'***	SI
MESA CENTRAL	INCORRECTO *	2' **	SI	CORRECTO	7'***	SI
BANDA MÓVIL	INCORRECTO *	2' **	SI	CORRECTO	7'***	SI

TEMPERATURA SALA: 12° C

*El procedimiento de limpieza es incorrecto en relación con la temperatura del agua (40°-50°C) descrita en los puntos 6 y 11 del programa de limpieza y sanitización.

** El tiempo de acción del detergente y el tiempo de cepillado de las superficies es insuficiente de acuerdo a lo especificado (5 minutos) en los puntos del 7 al 10 del programa de limpieza y sanitización.

*** El tiempo de acción del sanitizante es insuficiente de acuerdo a lo que especifica el fabricante del agente utilizado (15 minutos).

El análisis de estos factores pone de manifiesto que los tiempos de acción del detergente no se respetaron en el 80% de los casos y los tiempos de acción del sanitizante tampoco se respetaron en el 70% de los casos. De modo que, evaluando los tiempos inadecuados con temperaturas del agua muy por debajo de las que se mencionan en el Programa de Limpieza y Sanitización de la mesa de despiece, podrían ser ambos factores determinantes para la expresión final de las cuentas bacterianas obtenidas.

VII.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL PROGRAMA DE LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN QUE SE REALIZA EN LA MESA DE DESPIECE.

a) Lectura de resultados

Con base en la NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa se determinó el número de coliformes totales presentes en las muestras obtenidas (es decir, **Unidades Formadoras de Colonias**) de las superficies de mayor contacto con la materia prima (mesa de despiece y mesas de trabajo), antes y después del proceso de limpieza y sanitización realizado en estas superficies.

El cálculo de la concentración microbiana de la muestra original se realizó averiguando la media aritmética de los recuentos de UFC de la dilución elegida tomando los criterios de la NOM-092-SSA1-1994. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.

DILUYENTE	MUESTRA	TIPO DE RECuento	DILUCIONES EXAMINADAS (EN DUPLICADO)	MEDIO DE CULTIVO	INCUBACIÓN
FOSFATOS	SUPERFICIE SUCIA (al finalizar la jornada de trabajo)	COLIFORMES TOTALES EN PLACA	10 ⁰ , 10 ⁻¹ , 10 ⁻² , 10 ⁻³	AGAR ROJO VIOLETA BILIS (RBVA)	24 ± 2 HORAS A 35-37 ° C
SEMANA 1		MUESTRAS		RECuento MEDIO UFC/ cm²	
MARTES (tarde)					
		1 BM		7,800 o 78 X 10 ²	
		2 BM		8,600 o 86 X 10 ²	
		3 MT		9,400 o 94 X 10 ²	
		4 BM		9,000 o 90 X 10 ²	
		5 BM		15,000 o 150 X 10 ²	
		6 MT		16,000 o 160 X 10 ²	
JUEVES (tarde)					
		1 BM		7,600 o 76 X 10 ²	
		2 BM		7,400 o 74 X 10 ²	
		3 MT		9,300 o 93 X 10 ²	
		4 BM		11,000 o 110 X 10 ²	
		5 BM		29,000 o 290 X 10 ²	
		6 MT		27,000 o 270 X 10 ²	

BM (BANDA MÓVIL) MT (MESA DE TRABAJO)

DILUYENTE	MUESTRA	TIPO DE RECuento	DILUCIONES EXAMINADAS (EN DUPLICADO)	MEDIO DE CULTIVO	INCUBACIÓN
FOSFATOS	SUPERFICIE SUCIA (al finalizar la jornada de trabajo)	COLIFORMES TOTALES EN PLACA	$10^0, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$	AGAR ROJO VIOLETA BILIS (RBVA)	24 ± 2 HORAS A 35-37 ° C
SEMANA 2		MUESTRAS		RECuento MEDIO UFC/ cm²	
MARTES (tarde)					
		1 BM		6,900 o 69 X 10 ²	
		2 BM		9,300 o 93 X 10 ²	
		3 MT		8,700 o 87 X 10 ²	
		4 BM		8,000 o 80 X 10 ²	
		5 BM		9,500 o 95 X 10 ²	
		6 MT		9,600 o 96 X 10 ²	
JUEVES (tarde)					
		1 BM		7,300 o 73 X 10 ²	
		2 BM		7,400 o 74 X 10 ²	
		3 MT		8,300 o 83 X 10 ²	
		4 BM		18,000 o 180 X 10 ²	
		5 BM		19,000 o 190 X 10 ²	
		6 MT		17,000 o 170 X 10 ²	

DILUYENTE	MUESTRA	TIPO DE RECuento	DILUCIONES EXAMINADAS (EN DUPLICADO)	MEDIO DE CULTIVO	INCUBACIÓN
FOSFATOS	SUPERFICIE SUCIA (al finalizar la jornada de trabajo)	COLIFORMES TOTALES EN PLACA	$10^0, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$	AGAR ROJO VIOLETA BILIS (RBVA)	24 ± 2 HORAS A 35-37 ° C
SEMANA 3		MUESTRAS		RECuento MEDIO UFC/ cm²	
MARTES (tarde)					
		1 BM		8,900 o 89 X 10 ²	
		2 BM		9,800 o 98 X 10 ²	
		3 MT		9,700 o 97 X 10 ²	
		4 BM		10,000 o 100 X 10 ²	
		5 BM		15,000 o 150 X 10 ²	
		6 MT		26,000 o 260 X 10 ²	
JUEVES (tarde)					
		1 BM		8,300 o 83 X 10 ²	
		2 BM		7,400 o 74 X 10 ²	
		3 MT		9,300 o 93 X 10 ²	
		4 BM		17,000 o 170 X 10 ²	
		5 BM		29,000 o 290 X 10 ²	
		6 MT		27,000 o 270 X 10 ²	

BM (BANDA MÓVIL) MT (MESA DE TRABAJO)

FUENTE: GARCÍA, CORTÉS EFRAÍN. TESIS DE LICENCIATURA. 2006

DILUYENTE	MUESTRA	TIPO DE RECUESTO	DILUCIONES EXAMINADAS (EN DUPLICADO)	MEDIO DE CULTIVO	INCUBACIÓN
FOSFATOS	SUPERFICIE SUCIA (al finalizar la jornada de trabajo)	COLIFORMES TOTALES EN PLACA	10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}	AGAR ROJO VIOLETA BILIS (RBVA)	24 ± 2 HORAS A 35-37 ° C
SEMANA 4		MUESTRAS		RECUESTO MEDIO UFC/ cm²	
MARTES (tarde)					
		1 BM		6,900 o 69 X 10 ²	
		2 BM		9,500 o 95 X 10 ²	
		3 MT		9,800 o 98 X 10 ²	
		4 BM		18,000 o 180 X 10 ²	
		5 BM		13,000 o 130 X 10 ²	
		6 MT		22,000 o 210 X 10 ²	
JUEVES (tarde)					
		1 BM		9,300 o 93 X 10 ²	
		2 BM		9,400 o 94 X 10 ²	
		3 MT		9,800 o 98 X 10 ²	
		4 BM		27,000 o 270 X 10 ²	
		5 BM		23,000 o 230 X 10 ²	
		6 MT		21,000 o 210 X 10 ²	

BM (BANDA MÓVIL) MT (MESA DE TRABAJO)

DILUYENTE	MUESTRA	TIPO DE RECUESTO	DILUCIONES EXAMINADAS (EN DUPLICADO)	MEDIO DE CULTIVO	INCUBACIÓN
FOSFATOS	SUPERFICIE LIMPIA (después de la limpieza y sanitización)	COLIFORMES TOTALES EN PLACA	10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}	AGAR ROJO VIOLETA BILIS (RBVA)	24 ± 2 HORAS A 35-37 ° C
SEMANA 1		MUESTRAS		RECUESTO MEDIO UFC/ cm²	
MARTES (MAÑANA)					
		1 BM		4,000 o 40 X 10 ²	
		2 BM		3,500 o 35 X 10 ²	
		3 BM		4,300 o 43 X 10 ²	
		4 BM		3,200 o 32 X 10 ²	
		5 MT		3,000 o 30 X 10 ²	
		6 MT		4,300 o 43 X 10 ²	
MARTES (TARDE)					
		7 BM		3,200 o 32 X 10 ²	
		8 BM		3,600 o 36 X 10 ²	
		9 BM		3,000 o 30 X 10 ²	
		10 BM		4,200 o 42 X 10 ²	
		11 MT		4,000 o 40 X 10 ²	
		12 MT		3,500 o 35 X 10 ²	
JUEVES (MAÑANA)					
		1 BM		3,200 o 32 X 10 ²	
		2 BM		4,100 o 41 X 10 ²	
		3 BM		3,300 o 33 X 10 ²	
		4 BM		2,500 o 25 X 10 ²	
		5 MT		4,000 o 40 X 10 ²	
		6 MT		4,800 o 48 X 10 ²	
JUEVES (TARDE)					
		7 BM		2,600 o 26 X 10 ²	
		8 BM		2,700 o 27 X 10 ²	
		9 BM		3,300 o 33 X 10 ²	
		10 BM		3,800 o 38 X 10 ²	
		11 MT		3,500 o 35 X 10 ²	
		12 MT		4,300 o 43 X 10 ²	
SEMANA 2		MUESTRAS		RECUESTO MEDIO UFC/ cm²	

MARTES (MAÑANA)		
	1 BM	2,900 o 29 X 10 ²
	2 BM	3,300 o 33 X 10 ²
	3 BM	2,900 o 29 X 10 ²
	4 BM	2,200 o 22 X 10 ²
	5 MT	2,700 o 27 X 10 ²
	6 MT	2,700 o 27 X 10 ²
MARTES (TARDE)		
	7 BM	3,800 o 38 X 10 ²
	8 BM	3,500 o 35 X 10 ²
	9 BM	3,600 o 36 X 10 ²
	10 BM	2,700 o 27 X 10 ²
	11 MT	2,500 o 25 X 10 ²
	12 MT	5,300 o 53 X 10 ²

BM (BANDA MÓVIL) MT (MESA DE TRABAJO)

DILUYENTE	MUESTRA	TIPO DE RECuento	DILUCIONES EXAMINADAS (EN DUPLICADO)	MEDIO DE CULTIVO	INCUBACIÓN
FOSFATOS	SUPERFICIE LIMPIA (después de la limpieza y sanitización)	COLIFORMES TOTALES EN PLACA	10 ⁰ , 10 ⁻¹ , 10 ⁻² , 10 ⁻³	AGAR ROJO VIOLETA BILIS (RBVA)	24 ± 2 HORAS A 35-37 ° C
SEMANA 2		MUESTRAS		RECuento MEDIO UFC/ cm²	

JUEVES (MAÑANA)		
	1 BM	5,200 o 52 X 10 ²
	2 BM	2,600 o 26 X 10 ²
	3 BM	3,300 o 33 X 10 ²
	4 BM	2,500 o 25 X 10 ²
	5 MT	2,600 o 26 X 10 ²
	6 MT	3,500 o 35 X 10 ²
JUEVES (TARDE)		
	7 BM	2,700 o 27 X 10 ²
	8 BM	3,900 o 39 X 10 ²
	9 BM	4,000 o 40 X 10 ²
	10 BM	3,700 o 37 X 10 ²
	11 MT	4,300 o 43 X 10 ²
	12 MT	3,700 o 37 X 10 ²
SEMANA 3		MUESTRAS
MARTES (MAÑANA)		
	1 BM	2,300 o 23 X 10 ²
	2 BM	2,600 o 26 X 10 ²
	3 BM	3,700 o 37 X 10 ²
	4 BM	4,700 o 47 X 10 ²
	5 MT	4,800 o 48 X 10 ²
	6 MT	3,800 o 38 X 10 ²
MARTES (TARDE)		
	7 BM	4,500 o 45 X 10 ²
	8 BM	2,700 o 27 X 10 ²
	9 BM	3,300 o 33 X 10 ²
	10 BM	3,100 o 31 X 10 ²
	11 MT	3,200 o 32 X 10 ²
	12 MT	3,700 o 37 X 10 ²
JUEVES (MAÑANA)		
	1 BM	2,700 o 27 X 10 ²
	2 BM	2,800 o 28 X 10 ²
	3 BM	3,200 o 32 X 10 ²
	4 BM	4,300 o 43 X 10 ²
	5 MT	2,900 o 29 X 10 ²
	6 MT	4,200 o 42 X 10 ²
JUEVES (TARDE)		

	7 BM	2,700 o 27 X 10 ²
	8 BM	2,800 o 28 X 10 ²
	9 BM	3,000 o 30 X 10 ²
	10 BM	2,500 o 25 X 10 ²
	11 MT	3,100 o 31 X 10 ²
	12 MT	5,200 o 52 X 10 ²

BM (BANDA MÓVIL) MT (MESA DE TRABAJO)

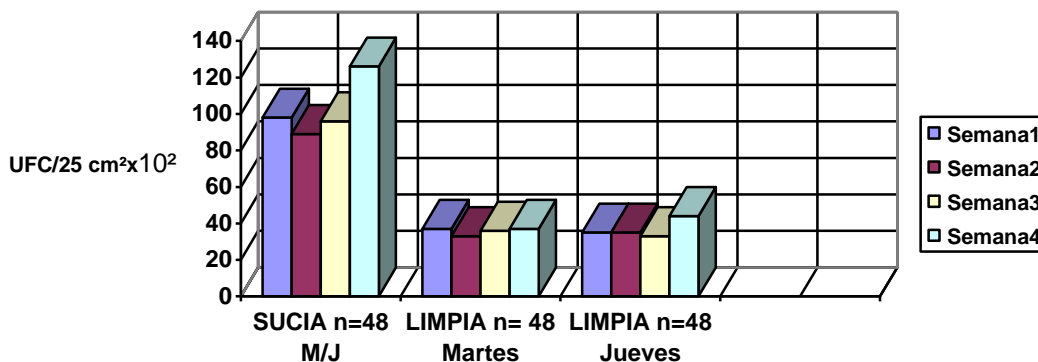
DILUYENTE	MUESTRA	TIPO DE RECUENTO	DILUCIONES EXAMINADAS (EN DUPLICADO)	MEDIO DE CULTIVO	INCUBACIÓN
FOSFATOS	SUPERFICIE LIMPIA (después de la limpieza y sanitización)	COLIFORMES TOTALES EN PLACA	10 ⁰ , 10 ⁻¹ , 10 ⁻² , 10 ⁻³	AGAR ROJO VIOLETA BILIS (RBVA)	24 ± 2 HORAS A 35-37° C
SEMANA 4		MUESTRAS		RECUENTO MEDIO UFC/ cm²	
MARTES (MAÑANA)					
		1 BM		2,700 o 27 X 10 ²	
		2 BM		3,000 o 30 X 10 ²	
		3 BM		3,400 o 34 X 10 ²	
		4 BM		4,300 o 43 X 10 ²	
		5 MT		4,100 o 41 X 10 ²	
		6 MT		3,400 o 34 X 10 ²	
MARTES (TARDE)					
		7 BM		3,000 o 30 X 10 ²	
		8 BM		2,800 o 28 X 10 ²	
		9 BM		3,300 o 33 X 10 ²	
		10 BM		5,400 o 54 X 10 ²	
		11 MT		4,300 o 43 X 10 ²	
		12 MT		4,400 o 44 X 10 ²	
JUEVES (MAÑANA)					
		1 BM		3,800 o 38 X 10 ²	
		2 BM		4,100 o 41 X 10 ²	
		3 BM		3,100 o 31 X 10 ²	
		4 BM		4,700 o 47 X 10 ²	
		5 MT		5,800 o 58 X 10 ²	
		6 MT		5,400 o 54 X 10 ²	
JUEVES (TARDE)					
		7 BM		4,200 o 42 X 10 ²	
		8 BM		4,300 o 43 X 10 ²	
		9 BM		3,900 o 39 X 10 ²	
		10 BM		5,500 o 55 X 10 ²	
		11 MT		4,100 o 41 X 10 ²	
		12 MT		3,600 o 36 X 10 ²	

BM (BANDA MÓVIL) MT (MESA DE TRABAJO)

FUENTE: GARCÍA, CORTÉS EFRAÍN. TESIS DE LICENCIATURA. 2006

b) Interpretación de los resultados.

Gráfica 2. Cuenta de coliformes totales en la mesa antes y después de la limpieza y sanitización.



En la Gráfica 2 se presentan los recuentos medios expresados en UFC/25 cm² x 10² resultantes del estudio microbiológico de las muestras obtenidas antes y después de la limpieza y sanitización de las superficies analizadas. Para posteriormente, realizar el análisis estadístico de dichos resultados y determinar que la diferencia observable en las medias aritméticas entre el antes y el después sea realmente significativa.

Resultados microbiológicos de muestras tomadas de las mesas (medias aritméticas)

TIPO DE MESA	Nº DE MUESTRAS	COLIFORMES UFC/cm2
Mesa sucia	48	85 X 10 ²
Mesa limpia	96	36 X 10 ²

La aplicación del procedimiento de limpieza y sanitización reduce de forma discreta las medias aritméticas de los recuentos obtenidos a partir de las muestras correspondientes, disminuyendo aproximadamente 3 veces en comparación con los recuentos obtenidos antes de la limpieza.

VII.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para realizar el análisis estadístico del total de las muestras obtenidas (144), los resultados se agruparon por categorías de estudio, siendo los factores de análisis el turno de limpieza (mañana y tarde), el tipo de mesa (banda móvil y mesa de trabajo) y, por último se comparó el antes y el después del proceso de limpieza y sanitización. Mediante el uso del programa estadístico SPSS, para análisis de varianza y comparación de medias se obtuvieron las estadísticas básicas y el coeficiente de correlación de Pearson.

El objetivo del primer análisis estadístico es determinar si existe una diferencia significativa, en el número de unidades formadoras de colonias (variable dependiente), por cada turno de limpieza y por cada día de muestreo, mediante un diseño factorial 2 x 8.

En este tipo de diseño es necesario realizar el arreglo de las unidades experimentales para su estudio en forma completamente al azar.

Por lo tanto, el arreglo de las unidades experimentales fue el siguiente:

$$X_{ijk}$$

X= UFC (variable dependiente).
 i= renglón $1 \leq i \leq 2$ nivel de turno
 j= columna $1 \leq j \leq 8$ nivel de día
 k= capa $1 \leq k \leq 6$ repetición

El diseño empleado es un diseño factorial 2 x 8, para el análisis estadístico de los valores de UFC (unidades formadoras de colonias).

Sistema 2 x 8

2= nivel de turno (matutino y vespertino)
 8= nivel de día (se refiere a los 8 días de muestreo)

Por lo tanto, las 96 muestras obtenidas, se agruparon para su análisis de la siguiente manera: 48 muestras para cada turno de limpieza (mañana y tarde respectivamente) y 8 días de muestreo obteniendo 6 muestras por cada turno y por cada día, para un total de 12 muestras por día (Tablas 2 y 3).

Para realizar el análisis factorial (Tabla 1), primeramente se agruparon los factores siendo los siguientes: el turno de limpieza que se representa con el número 1 para las muestras que fueron tomadas en la mañana y el número 2 para las muestras obtenidas por la tarde, así como los días de duración de la fase experimental. La columna N representa el número de muestras obtenidas en cada turno y en cada día de realización del muestreo.

Tabla 1. Análisis de Varianza de los Turnos (valores de UFC)

Factores Agrupados		N
TURNO	1	48
	2	48
DÍA	1	12
	2	12
	3	12
	4	12
	5	12
	6	12
	7	12
	8	12

Los recuentos de coliformes totales son agrupados para su análisis estadístico, al separar los valores por día elaborando dos tablas una para los martes y otra para los jueves. Los valores representados del 1 al 6 corresponde al turno 1 de limpieza y los valores del 7 al 12 corresponden al turno 2 de limpieza para cada uno de los días de muestreo.

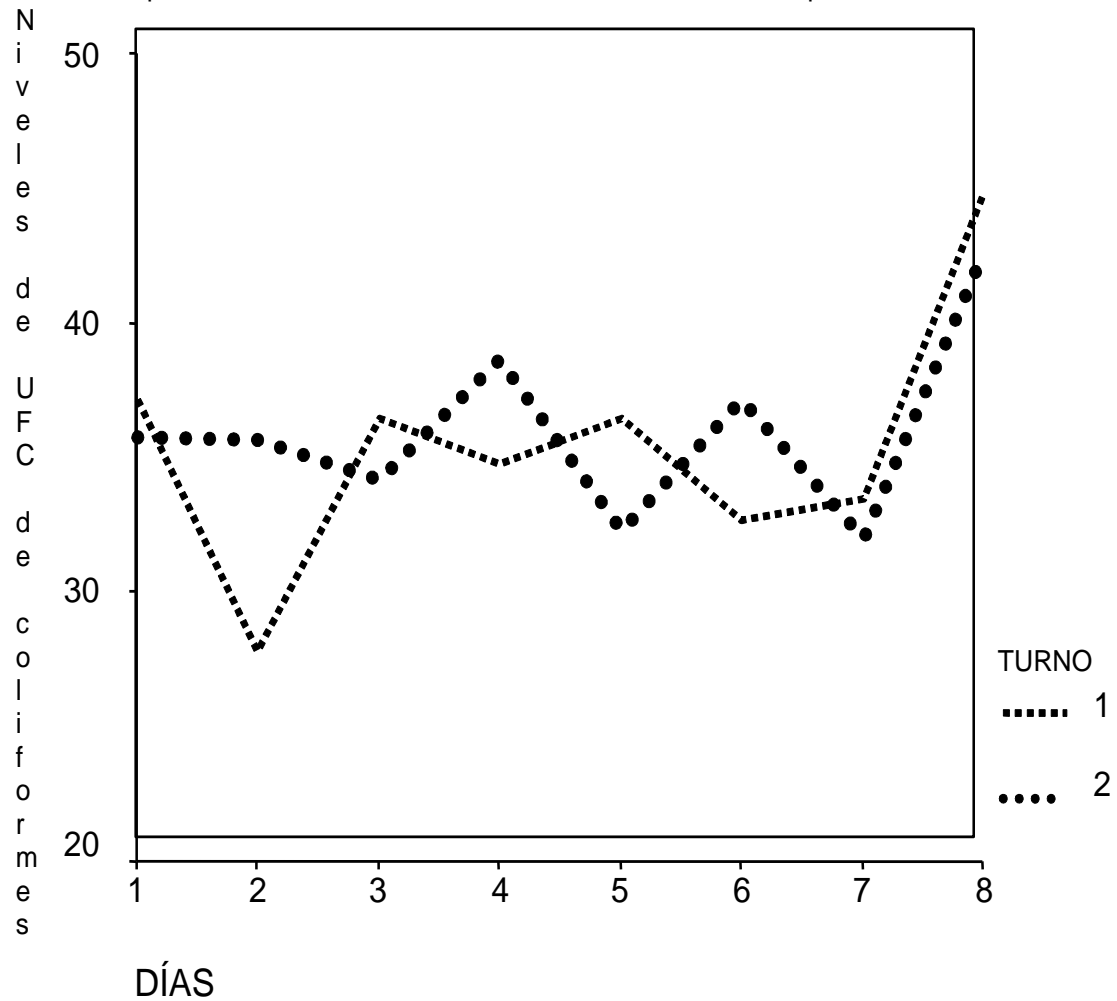
TABLA 2. VALORES DE LA CUENTA DE COLIFORMES TOTALES EN PLACA (DÍA DE MUESTREO MARTES)							
UFC/cm ² X 10 ²							
	SEMANA 1		SEMANA 2		SEMANA 3		SEMANA 4
MUESTRA	UFC/cm ²	MUESTRA	UFC/cm ²	MUESTRA	UFC/cm ²	MUESTRA	UFC/cm ²
1	40	1	29	1	23	1	27
2	35	2	33	2	26	2	30
3	43	3	29	3	37	3	34
4	32	4	22	4	47	4	43
5	30	5	27	5	48	5	41
6	43	6	27	6	38	6	34
7	32	7	38	7	45	7	30
8	36	8	35	8	27	8	28
9	30	9	36	9	33	9	33
10	42	10	27	10	31	10	54
11	40	11	25	11	32	11	43
12	35	12	53	12	37	12	44

FUENTE: GARCÍA, CORTÉS EFRÁIN. TESIS DE LICENCIATURA. 2006

TABLA 3. VALORES DE LA CUENTA DE COLIFORMES TOTALES EN PLACA (DÍA DE MUESTREO JUEVES)							
UFC/cm ² X 10 ²							
	SEMANA 1		SEMANA 2		SEMANA 3		SEMANA 4
MUESTRA	UFC/cm ²	MUESTRA	UFC/cm ²	MUESTRA	UFC/cm ²	MUESTRA	UFC/cm ²
1	32	1	52	1	27	1	38
2	41	2	26	2	28	2	41
3	33	3	33	3	32	3	31
4	25	4	25	4	43	4	47
5	40	5	26	5	29	5	58
6	48	6	35	6	42	6	54
7	26	7	27	7	27	7	42
8	27	8	39	8	28	8	43
9	33	9	40	9	30	9	39
10	38	10	37	10	25	10	55
11	35	11	43	11	31	11	41
12	43	12	37	12	52	12	36

FUENTE: GARCÍA, CORTÉS EFRÁIN. TESIS DE LICENCIATURA. 2006

Gráfica 3. Comportamiento de los valores de UFC en cada turno de limpieza.



En la Gráfica 3 se muestra el comportamiento de los valores de las cuentas de UFC de coliformes en cada turno de limpieza durante los ocho días de muestreo, observando que en la mayoría de los días, la variación de estos valores representados en la gráfica, no reflejan una elevada dispersión de las UFC de manera significativa, es decir en ambos turnos la limpieza y su efecto antibacteriano se comportó igual. Sin embargo se aprecia un descenso de los valores de UFC en los días 2 y 7 en comparación con los demás y de manera importante con el día 8 donde se puede observar el valor más alto de UFC.

Posteriormente se muestran los resultados de la comparación de los valores de UFC, para determinar si existe una diferencia significativa de este valor entre cada turno de limpieza y los días de muestreo:

TABLA 4. DETERMINACIÓN DE LA SIGNIFICANCIA DE UFC DE COLIFORMES TOTALES SEGÚN EL TURNO DE LIMPIEZA

Variable Dependiente: UFC

Fuente de variación	Suma De cuadrados	df	Media de Cuadrados	F	Sig.
Corrección	1501.95	15	100.13	1.567	.102
TURNOS	8.167	1	8.167	.128	.722
DÍA	1118.45	7	159.78	2.500	.022
TURNOS * DÍAS	375.33	7	53.61	.839	.558
Error	5113.00	80	63.91		
Corrección Total	6614.95	95			

a. R Squared = .227 (Ajuste R Squared = .082)

El punto fundamental a mencionar en la Tabla 4 radica en el valor de la significancia (Sig.) que para los turnos resultó no significativa ($P > 0.05$) lo que indica que no hay diferencia en las cuentas obtenidas en ambos turnos ya que los valores de UFC se mantuvieron relativamente constantes entre cada turno de limpieza. Por otra parte, la diferencia entre los valores de UFC por día de muestreo resultó significativa ($P < 0.05$). Finalmente la interacción entre turnos y días en relación con los valores de UFC resultó no significativa ($P > 0.05$).

En la Gráfica 4 se puede apreciar que los valores referidos en los resultados (Tabla 2) no muestran una diferencia significativa entre los turnos de limpieza, pero sí que existe diferencia entre los días de muestreo; se observa en la gráfica la dispersión de los valores de UFC en cada día de muestreo y por turno de limpieza, resulta importante citar que solamente los días 2 (turno 1), el 7 (turno 2) muestran una variación significativa de los valores de UFC hacia abajo, en tanto que el día 8 en ambos turnos también hubo una diferencia significativa pero hacia arriba.

Debido a que los resultados estadísticos al comparar cada turno de limpieza muestra que no hubo significancia real de la variable analizada, se procedió a la realización de comparaciones múltiples entre cada día de limpieza para determinar si existe una variabilidad importante entre los valores analizados con la diferencia mínima significativa de Tukey.

Estimación de Límites de Confiabilidad

UFC: Variable dependiente

Media UFC	Error Estándar	95% Límite de Confiabilidad	
		Límite bajo	Límite alto
35.77	.816	34.14	37.39

Para determinar la validez del recuento se calcularon los límites de confiabilidad al 95% (es decir, aquella gama dentro de la cual el recuento es real en un 95% de los casos) que suele estar 1 ó 2 órdenes de magnitud por debajo de los valores máximos aceptables para la Media, es decir, que de las 96 muestras analizadas sólo 91 están dentro de los rangos estimados para la media de los valores de UFC en este diseño.

Gráfica 4. Resultados del análisis de la significancia entre los turnos de limpieza y los días de muestreo.

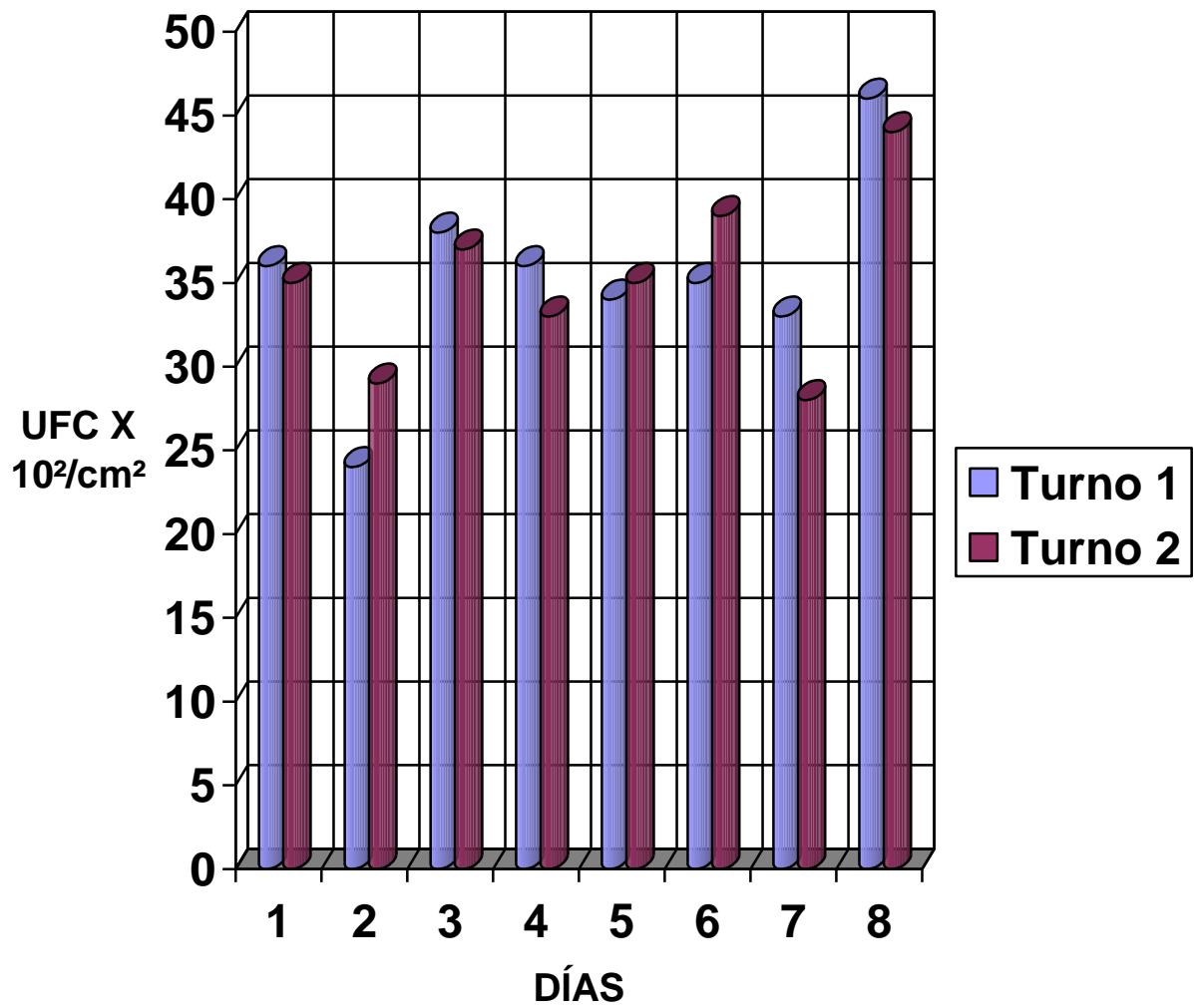


Tabla 5. Comparaciones múltiples

Valores de UFC
Tukey HSD

(I) SEMANAS	(J) DÍAS	Media Diferencial (I-J)	Error Estándar	Sig.	95% Intervalo de Confianza	
					Límite bajo	Límite alto
1	2	4.75	3.26	.828	-5.41	14.91
	3	1.17	3.26	1.000	-8.99	11.33
	4	-.25	3.26	1.000	-10.41	9.91
	5	2.08	3.26	.998	-8.08	12.24
	6	1.58	3.26	1.000	-8.58	11.74
	7	3.75	3.26	.944	-6.41	13.91
	8	-7.25	3.26	.350	-17.41	2.91
	2	1	-4.75	3.26	.828	-14.91
3		-3.58	3.26	.955	-13.74	6.58
4		-5.00	3.26	.788	-15.16	5.16
5		-2.67	3.26	.992	-12.83	7.49
6		-3.17	3.26	.977	-13.33	6.99
7		-1.00	3.26	1.000	-11.16	9.16
8		12.00 *	3.26	.010	-22.16	-1.84
3		1	-1.17	3.26	1.000	-11.33
	2	3.58	3.26	.955	-6.58	13.74
	4	-1.42	3.26	1.000	-11.58	8.74
	5	.92	3.26	1.000	-9.24	11.08
	6	.42	3.26	1.000	-9.74	10.58
	7	2.58	3.26	.993	-7.58	12.74
	8	-8.42	3.26	.179	-18.58	1.74
	4	1	.25	3.26	1.000	-9.91
2		5.00	3.26	.788	-5.16	15.16
3		1.42	3.26	1.000	-8.74	11.58
5		2.33	3.26	.996	-7.83	12.49
6		1.83	3.26	.999	-8.33	11.99
7		4.00	3.26	.922	-6.16	14.16
8		-7.00	3.26	.396	-17.16	3.16
5		1	-2.08	3.26	.998	-12.24
	2	2.67	3.26	.992	-7.49	12.83
	3	-.92	3.26	1.000	-11.08	9.24
	4	-2.33	3.26	.996	-12.49	7.83
	6	-.50	3.26	1.000	-10.66	9.66
	7	1.67	3.26	1.000	-8.49	11.83
	8	-9.33	3.26	.095	-19.49	.83
	6	1	-1.58	3.26	1.000	-11.74
2		3.17	3.26	.977	-6.99	13.33
3		-.42	3.26	1.000	-10.58	9.74
4		-1.83	3.26	.999	-11.99	8.33
5		.50	3.26	1.000	-9.66	10.66
7		2.17	3.26	.998	-7.99	12.33
8		-8.83	3.26	.136	-18.99	1.33
7		1	-3.75	3.26	.944	-13.91
	2	1.00	3.26	1.000	-9.16	11.16
	3	-2.58	3.26	.993	-12.74	7.58
	4	-4.00	3.26	.922	-14.16	6.16
	5	-1.67	3.26	1.000	-11.83	8.49
	6	-2.17	3.26	.998	-12.33	7.99
	8	-11.00 *	3.26	.024	-21.16	-.84
	8	1	7.25	3.26	.350	-2.91
2		12.00 *	3.26	.010	1.84	22.16
3		8.42	3.26	.179	-1.74	18.58
4		7.00	3.26	.396	-3.16	17.16
5		9.33	3.26	.095	-.83	19.49
6		8.83	3.26	.136	-1.33	18.99
7		11.00 *	3.26	.024	.84	21.16

Basado en el cálculo de medias

*. La media diferencial es significativa $P < 0.05$.

En cuanto a los resultados de las comparaciones múltiples (Tabla 5) entre cada uno de los días experimentales, solamente en el día 2 contra el 8, el 7 contra 8 y respectivamente el día 8 contra el 2 y 7 mostraron una diferencia significativa ($P < 0.05$). Esto quiere decir que los valores de las cuentas microbiológicas son diferentes en estos días donde se obtuvo una variación importante en los recuentos bacterianos (Gráfica 4).

No obstante, se deduce, al comparar los valores de UFC en relación con los turnos de limpieza en los días experimentales, así como a partir de la comparación múltiple entre los días de muestreo, que los valores se mantuvieron relativamente constantes sin una diferencia significativa.

Un segundo objetivo planteado para su análisis estadístico, fue en relación con los tipos de mesa (mesa de trabajo y banda móvil) que son los sitios donde se llevó a cabo la toma de muestras para el análisis microbiológico. La razón de este diseño estadístico se debió a que ambos tipos de mesas presentan características similares en cuanto al material de fabricación y al tipo de superficie que presentan, por lo que la limpieza podría considerarse como similar en ambos casos.

El diseño empleado para este análisis fue una comparación de medias de los resultados obtenidos de los valores de UFC en cada tipo de mesa.

Las hipótesis planteadas para demostrar en este diseño fueron:

$$H_0: \mu_{BM} = \mu_{MT}$$

La media de Banda Móvil (BM) es igual a la media de Mesa de Trabajo (M T)

$$H_1: \mu_{BM} \neq \mu_{MT}$$

La media de Banda Móvil (BM) es diferente a la media de Mesa de Trabajo (M T)

El arreglo de las unidades experimentales fue el siguiente:

$$N_{BM} = \infty$$

UFC x 10^2 n= 64

40	29	23	27
35	33	26	30
43	29	37	34
32	22	47	43
32	38	45	30
36	35	27	28
30	36	33	33
42	27	31	54
32	52	27	38
41	26	28	41
33	33	32	31
25	25	43	47
26	27	27	42
27	39	28	43
33	40	30	39
38	37	25	55

$$N_{MT} = \infty$$

UFC x 10^2 n= 32

30	27	48	41
43	27	38	34
40	25	32	43
35	53	37	44
40	26	29	58
48	35	42	54
35	43	31	41
43	37	52	36

Los resultados obtenidos de los dos tipos de superficie muestreadas, banda móvil (superficie 1) con un total de 64 muestras y mesa de trabajo (superficie 2) con 32 muestras, se analizaron mediante la comparación de medias, lo que se muestra en la Tabla 6, siendo la media obtenida para la superficie 1 de 34.33 UFC x 10² y para la superficie 2 de 38.97 UFC x 10². Asumiendo que las varianzas fueron iguales para cada superficie.

Tabla 6. Estadísticas de Grupo

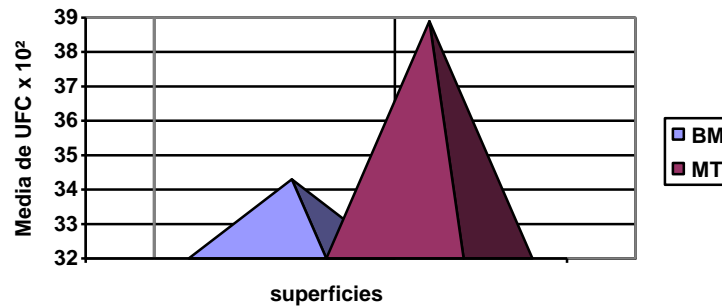
Superficie	N	Media	Desviación Estandar	Error Estándar
UFC 2	32	38,97	8,54	1,51
1	64	34,33	7,63	,95

Tabla 7. Prueba de Comparación de Medias

	Prueba de Comparación de varianzas		Comparación de Medias						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2)	Media Diferencial	Error Estad. Diferencial	95% de Intervalo Confianza	
								Bajo	Alto
UFC Asumiendo que las varianzas son iguales	,396	,531	2,699	94	,008	4,64	1,72	1,23	8,05

El resultado más importantante a mencionar de la Tabla 7 radica en el valor de la Significancia al comparar las medias (Sig.2), que para esta prueba resulta significativa ($P < 0.05$), es decir, que las medias obtenidas de los valores de recuentos bacterianos (UFC) tanto en mesa de trabajo como en banda móvil son significativamente diferentes. Por lo que se puede suponer que existe algún factor asociado a las características de cada superficie, o a su manejo, que están marcando esta diferencia.

Gráfica 5. Resultado de la comparación de medias de los valores de UFC de coniformes totales en cada superficie analizada.



En la Gráfica 5 se observa la dispersión de los valores encontrados en el estudio comparativo de medias de las UFC tanto en banda móvil (BM) como en mesa de trabajo (MT), demostrándose que las medias son significativamente diferentes ya que existe una importante variación entre ellas. Por lo tanto, de las hipótesis planteadas para este diseño, y con base en los resultados obtenidos se acepta H1 y se rechaza H0, es decir, que la media de UFC de coniformes totales de banda móvil es diferente a la media de mesa de trabajo.

Se realizó un tercer análisis estadístico para evaluar la variación de los valores de UFC obtenidos entre el antes y después del proceso de limpieza y sanitización de la mesa de despiece a partir de muestras colectadas al final de la jornada de trabajo en cada día de muestreo, para demostrar si existió una diferencia significativa entre ellos.

El diseño empleado para este análisis estadístico fue un diseño factorial 2 x 8 (Tabla 8).

2 = momento de limpieza (antes y después)

8 = días de muestreo

r = 6 repeticiones (6 valores de UFC por cada día de muestreo)

Se realizaron 16 tratamientos de las unidades a estudiar. Para calcular el número final de unidades experimentales se multiplicó este valor por el número de repeticiones (6), siendo $n = 96$.

Es importante señalar que todas las muestras fueron obtenidas al final de la jornada de trabajo.

Las hipótesis planteadas para tal caso fueron:

$$H_0: \mu_A = \mu_D$$

La variación de los valores de UFC antes (A) del proceso de limpieza es igual a la variación de los valores de UFC después (D) del proceso de limpieza.

$$H_1: \mu_A \neq \mu_D$$

La variación de los valores de UFC antes (A) del proceso de limpieza es diferente a la variación de los valores de UFC después (D) del proceso de limpieza.

El arreglo de las unidades experimentales fue el siguiente:

Tabla 8. Valores de UFC de coliformes totales $\times 10^2 / \text{cm}^2$

DÍAS	1	2	3	4	5	6	7	8
	LIMPIEZA							
ANTES	78	76	69	73	89	83	69	93
	86	74	93	74	98	74	95	94
	94	93	87	83	97	93	98	98
	90	110	80	180	100	170	180	270
	150	290	95	190	150	290	130	230
	160	270	96	170	260	270	210	210
DESPUÉS	32	26	38	27	45	27	30	42
	36	27	35	39	27	28	28	43
	30	33	36	40	33	30	33	39
	42	38	27	37	31	25	54	55
	40	35	25	43	32	31	43	41
	35	43	53	37	37	52	44	36

TABLA 9. Análisis de varianza de UFC (antes y después)

Factores Agrupados

		N
LIMPIEZA	1	48
	2	48
TIEMPO	1	12
	2	12
	3	12
	4	12
	5	12
	6	12
	7	12
	8	12

Los factores de análisis son limpieza 1 (antes) y limpieza 2 (después) ambas con 48 muestras obtenidas en 8 días de muestreo (tiempo); por cada día se tomaron 6 muestras antes de la limpieza y 6 muestras después de la misma, para un total de 12 muestras por día al finalizar la jornada de trabajo.

Tabla 10. Determinación de la significancia de los valores de UFC

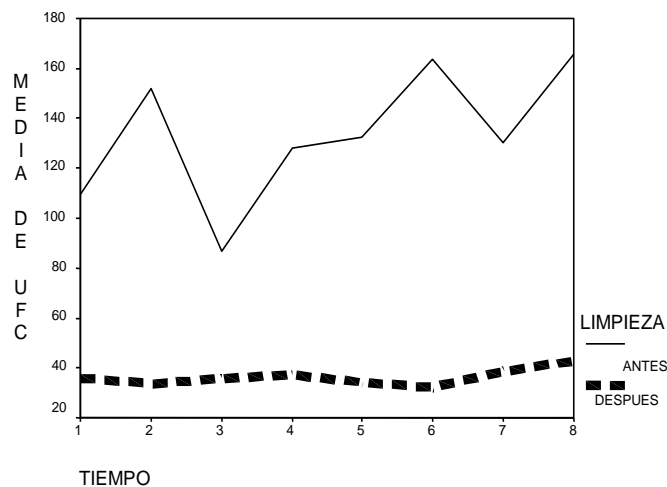
Variable Dependiente: UFC

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	df	Media cuadrada	F	Sig.
Modelo Corregido	258327,009	15	17221,800	7,203	,000
LIMPIEZA	227370,667	1	227370,667	95,091	,000
MOMENTO	15866,500	7	2266,643	,948	,475
LIMPIEZA * MOMENTO	15089,833	7	2155,690	,902	,510
Error	191286,333	80	2391,079		
Total Corregido	449613,333	95			

a. R Squared = ,575 (Adjusted R Squared = ,495)

Producto del análisis realizado en la Tabla 10 se encontró que existe diferencia significativa de un ($P < 0.05$) entre las varianzas de los valores de UFC para la limpieza, lo que se puede apreciar en la Gráfica 6. Por lo tanto, se deduce que de las hipótesis planteadas para este diseño, se acepta H_1 y se rechaza H_0 , es decir, que la variación de los valores de UFC antes de la limpieza son diferentes a la variación de los valores de UFC después de su realización.

Gráfica 6. Dispersión de la variable dependiente (UFC) en ambos tipos de limpieza.

**Media de Grupo**

UFC: variable dependiente

Media de UFC	Error Estándar	95% Intervalo de Confianza	
		Valor mínimo	Valor máximo
84,91	4,991	74,98	94,84

Para determinar la validez de este diseño se calculan los límites de confiabilidad al 95%, es decir que de las 96 muestras analizadas 91 están dentro del rango establecido para los valores de UFC en este diseño.

VIII. DISCUSIÓN

Este estudio pretendió atender muchas de las inquietudes formuladas en la empresa objeto de análisis y dar respuestas a cada una de ellas. Sin duda alguna uno de estos cuestionamientos concierne al Programa de limpieza y sanitización de la mesa de despiece, por lo que se analizaron las variaciones encontradas buscando identificar los factores que pueden estar afectándolos para corregirlos o en su caso reforzarlos. Lo primero que se hizo fue determinar si se aplican o no conforme a lo que establece el Manual de Procedimientos de la Empresa y de acuerdo con las recomendaciones del fabricante de los productos de limpieza utilizados.

El programa de limpieza está elaborado de tal forma que cubre todas las partes del equipo y todas las zonas de la sala de despiece. Contempla información básica y fundamental relacionada con el método de limpieza, que comprende características de los agentes de limpieza y desinfectantes a utilizar, junto con las cantidades y soluciones necesarias y exactamente el procedimiento, tiempo y temperatura que debe seguirse al aplicar las soluciones; la secuencia de la limpieza y desinfección; detalles de los posibles puntos críticos que requieren un cuidado extra debido a defectos de diseño del equipo; el tiempo a invertir en las distintas operaciones y las personas responsables de cada operación de limpieza, así como la persona cuya responsabilidad es comprobar que todo se ha realizado bien. Por todo ello, resulta de vital importancia el conocimiento de cada programa al cual se busque analizar su eficacia y aplicación y para determinar si es o no un factor de influencia que determine una deficiente limpieza.

A través de la utilización de Hojas de Control, se evaluó cada punto que se contempla en este programa, los resultados de la evaluación realizada durante los 8 días de muestreo, ponen de manifiesto en relación con las prácticas de manipulación (retirar los cortes de carne de las mesas laterales, retirar el carro metálico de carne que está al final de la banda y cajas de plástico que se encuentran en los costados de la mesas o por debajo de ellas; lavar y desinfectar la cuchillería y los guantes de malla y, remover con cepillo, espátula y recogedor los residuos de carne y grasa de las superficies de las mesas, de la banda móvil y de la placa de nylamid al final de la banda), el método de limpieza y desinfección (iniciar desde un extremo de la sala, avanzar hacia la zona opuesta y desde la zona superior de las máquinas y paredes hacia abajo y desde la periferia hacia los desagües) que se realizan tal y como se determinan en el manual de procedimientos.

Sólo en 2 de los 8 días de muestreo analizados se cumplieron los tiempos que se especifican en el programa, es decir, que en el 80% de los casos no se respetaron los tiempos de 5' que se estipulan para el agente de limpieza y de 15' para el desinfectante; esto puede deberse a que el programa de limpieza y sanitización se realiza al final de la jornada por los operarios que trabajan en la sala de despiece, quienes ya pueden estar cansados y tener prisa por finalizar su trabajo o bien, que el sentirse observados y evaluados, haya influido en la realización de sus actividades. Cabe mencionar, que en ninguno de los días de muestreo se pudo detectar la supervisión por parte de la(s) persona(s) cuya responsabilidad es comprobar que todo se ha realizado conforme a lo establecido.

Por otro lado, la temperatura del agua utilizada no cumple con lo que se especifica en este programa (50°C), ya que se utilizó agua a una temperatura ambiente durante los días de muestreo, lo que podría influir en la velocidad y en el tipo de microorganismos que pueden multiplicarse. Siempre que sea posible, las sustancias limpiadoras deben aplicarse a temperaturas del agua entre 40-50°C; la temperatura elevada hace que disminuya la adhesión de la suciedad, a la vez que aumenta la velocidad de reacción de las sustancias contenidas en la solución limpiadora. Esta última también puede penetrar con más rapidez en la suciedad, aumenta la solubilidad y funde las sustancias grasas, mientras que su viscosidad disminuye, todo esto da por resultado, un mejor contacto e introducción de la sustancia química en la célula microbiana, lo que incrementa varias veces la efectividad.

Con base en el programa de limpieza y sanitización realizado en dos turnos de limpieza (diario al inicio y al final de la jornada de trabajo) sobre la banda móvil y mesas de trabajo, cabría esperar, por lo tanto que los recuentos bacterianos obtenidos fueron iguales tanto en ambos turnos de limpieza como en los tipos de superficie analizadas. La matriz del análisis estadístico muestra que, no hubo una diferencia significativa ($P > 0.05$) entre los valores de UFC para el factor turno de limpieza ya que relativamente muestran poca variación durante los 8 días de muestreo, por lo que se consideran como similares los procesos de limpieza en ambos turnos. Sin embargo, mediante la utilización de la diferencia mínima de Tukey se comprobó que hubo una variación importante de los valores de UFC (bajos) en los días de muestreo 2 y 7 que fueron los días en los que se cumplieron con los tiempos de acción de las sustancias empleadas, siendo esta variación mínima pero significativa ($P < 0.05$) en comparación con el día 8 en donde se obtuvieron los recuentos bacterianos más altos con tiempos de acción mínimos (2') de cada sustancia utilizada.

Al analizar la información teórica disponible, en la limpieza y desinfección, juega un papel importante el tiempo de acción de los productos de limpieza y desinfección, ya que debe concederse el tiempo suficiente (5'-30') para que las sustancias activas penetren a través de toda la suciedad, empapen las materias resacas y emulsionen las sustancias vehiculadoras de grasa (6,10,15,17,18,21,23,26,29,32,64,65). La relación desinfectante-microorganismos es en esencia una reacción química que destruye a los agentes o alguna parte vital de los mismos, causándoles la muerte, con un tiempo de contacto insuficiente entre el desinfectante y los gérmenes no se llega a producir la muerte de los microorganismos sino que solamente frenará su crecimiento (microbiostasis) pudiendo llegar a recuperarse cuando las condiciones sean favorables y hablando en términos económicos, se estaría tirando el dinero (6, 26, 32, 37, 38,42).

En ensayos que se relacionan con la metodología planteada en el presente estudio (36,53), se menciona, que el sistema de limpieza analizado resultó apropiado debido a la reducción bacteriana después de la limpieza y atribuyeron la elevación de los recuentos bacterianos obtenidos al compararlos con los valores de referencia emitidas para tal caso, que dicha elevación se debió a factores físicos (temperatura del agua por debajo del rango de 40-50°C, tiempos de acción del detergente y desinfectante menores de 5'-30' respectivamente) tal y como se ha determinado en este estudio.

Así, relacionando tiempos inadecuados con temperaturas del agua al límite, se pueden explicar los resultados obtenidos.

Anteriormente se mencionó, que los sitios en donde se llevó a cabo la toma de muestras para su análisis microbiológico fueron la banda móvil y las mesas de trabajo, esto se debe principalmente al tipo de superficie que presentan (lisa) y al material con que están fabricadas (nylamid) atendiendo las recomendaciones de la normatividad para ello (56,58), por lo tanto se partió de considerar que el efecto de la limpieza sería similar en ambos casos, y como ya se señaló se encontró una diferencia significativa entre las medias aritméticas de los resultados en ambos tipos de superficie siendo para: banda móvil 34 UFC x $10^2/\text{cm}^2$ y mesa de trabajo 39 UFC x $10^2/\text{cm}^2$. Tal vez, esta diferencia se deba a que en mesa de trabajo la superficie sufre un mayor desgaste presentando zonas con fisuras y depresiones, además de que el tiempo de contacto con la carne es mayor, provocando mayor acumulación de materia orgánica en las zonas afectadas, y por lo tanto, puede disminuir la efectividad de los agentes desinfectantes o impedir que el mismo se ponga en contacto con los gérmenes ocasionando que la cantidad utilizada no cumpla en forma fehaciente con el objetivo deseado, lo que puede influir en el crecimiento y supervivencia de microorganismos (32, 42, 45, 56, 62,64).

Lo anterior se fundamenta en la NOM-093-SSA1-1994, donde se especifica que todas las superficies serán lisas y sin poros, de forma que ni las partículas minúsculas de alimento, ni las bacterias, ni los huevos de insectos, puedan depositarse en grietas, fisuras y/o depresiones originadas por el desgaste de las superficies, de donde son difíciles de desprender, convirtiéndose, por lo tanto, en fuentes potenciales de contaminación.

El factor central de este estudio radicó, en la comparación de las cuentas en UFC antes y después de la limpieza y desinfección realizado al final de la jornada, ya que con ello, se determinó la eficacia antibacteriana del programa de limpieza y sanitización de las superficies mencionadas, a pesar de no alcanzar los estándares de referencia.

En apoyo a lo anterior Sánchez y Castrejón (53) analizaron un total de 20 muestras (obtuvieron 10 muestras antes y 10 muestras después de la limpieza) de la mesa de despiece en una planta empacadora de carnes frías en España, obteniendo recuentos medios del análisis microbiológico en: superficie sucia una media de 30×10^2 UFC/cm² y para la superficie limpia de **6×10^2 UFC/cm²**. En otro ensayo Kenard y McCleskey (36) analizaron un total de 40 muestras (obtuvieron 20 muestras antes y 20 muestras después de la limpieza) de la mesa de despiece de un expendio de cortes comerciales de carne de cerdo en Estados Unidos, el recuento medio para ambos análisis fue el siguiente: superficie sucia 53×10^2 UFC/cm² y para superficie limpia de **4×10^2 UFC/cm²**. En el presente estudio se analizaron 96 muestras (obteniendo 48 muestras antes y 48 muestras después de la limpieza realizada al final de la jornada), obteniendo recuentos medios del análisis microbiológico en: superficie sucia 85×10^2 UFC/cm² y para superficie limpia **36×10^2 UFC/cm²**. Comparando los resultados, se observa que el valor en este estudio para la superficie limpia está por encima de los valores reportados en ambos ensayos, es decir, se encuentra 6 y 9 veces más alto en relación con el primero y el segundo respectivamente.

Además, resulta importante citar que en forma paralela a este estudio, Sánchez (52), realizó la evaluación in vitro de la eficacia del desinfectante (el mismo que se analizó en el presente trabajo), por el método de difusión en disco. En el trabajo de Sánchez, se encontró que el desinfectante a base de Quac's utilizado en la concentración recomendada por el fabricante (450 ppm), no tuvo acción inhibitoria en contra de los cultivos puros de *E. coli*.

Este resultado parecería ser consistente con los resultados obtenidos en la presente investigación, dado que los recuentos de coliformes obtenidos del análisis microbiológico de las superficies muestreadas fueron elevados (36×10^2 UFC/cm²).

Sin embargo, como lo señala Sánchez y otros (Frazier, Gracey, Isenberg, Lobby y el ICMSF) las contaminaciones de los alimentos y/o superficies en realidad se presentan por poblaciones bacterianas mixtas y la posibilidad de que de forma natural se presente una contaminación pura de un grupo específico de bacterias es muy limitada.

Para confirmar lo anterior, Sánchez encontró al utilizar una combinación de cepas de *S.aureus* y *E.coli*, que el desinfectante mostró una eficacia importante contra esta combinación de cepas. Por otro lado, en el presente estudio, se determinó mediante el análisis estadístico de los resultados obtenidos que hubo una diferencia significativa de los valores de UFC casi 3 veces menores después de la limpieza en comparación con los valores obtenidos antes de su realización, si fuera el caso de que las superficies contengan solamente coliformes o bacterias del grupo Gram negativo esta diferencia sería igual entre el antes y el después de la limpieza, es decir la reducción de los valores de UFC no se presentaría debido a que el desinfectante no produjo inhibición frente a una cepa pura de *E.coli*.

Como se acaba de señalar anteriormente, que de forma práctica es difícil que se presente una contaminación pura por algún microorganismo, entonces la pregunta sería ¿Porqué se obtuvieron valores de UFC elevados para el caso de coliformes en el presente estudio, si el desinfectante mostró una eficacia en contra de la combinación de dos cepas bacterianas?

Esto pudiera explicarse por dos razones principales: las bacterias pertenecientes al grupo Gram negativo, que es el caso en la presente investigación, tienen en su forma estructural, una capa externa formada por lipopolisacáridos, que les confiere una importante resistencia a los factores físicos del medio ambiente y a los agentes químicos agresores, además, de que permite crear estructuras filamentosas de adherencia, que sirven para que los gérmenes se anclen más tanto a las superficies rugosas como a unos con otros.

Una vez establecidas estas estructuras polímeras filamentosas (biopelículas), los gérmenes ya no pueden eliminarse bien, ni siquiera con lavados intensos (30, 33, 39, 50,65). Otro factor importante sería que el desinfectante analizado, mostró una eficacia importante en contra de cepas bacterianas de manera experimental, pero su aplicación a nivel industrial podría ponerse en duda dados los resultados encontrados en este estudio.

Por otro lado, si bien existe una similitud entre los ensayos descritos por Sánchez y Castrejón, y Kennard y MacCleskey con el presente estudio tanto en el tipo de superficie analizada, como que cada determinación se realizaron en apego a lo establecido en la normatividad de cada país.

Así, en este estudio se fija como parámetro microbiológico lo que establece la NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. Diario Oficial de la Federación, donde los criterios microbiológicos indicadores de la adecuada higiene de superficies inertes, son para el caso de coliformes totales **< 200 UFC/ cm²**.

En la Unión Europea y por tanto los países que la integran establecen los siguientes criterios microbiológicos como indicadores de higiene de superficies inertes: **Coliformes totales 10² UFC/ cm²**. (11, 12, 13, 14, 47, 48,49)

Los Estados Unidos, por su parte, recomiendan los siguientes criterios microbiológicos, establecidos por el Departamento de Agricultura y por la Public Health Ordinance and Code de los Estados Unidos fijan el límite en **100 UFC/ cm²** y como límite máximo **200 UFC/cm²** para el caso de coliformes totales (9,43).

Por lo tanto, ningún ensayo cumple con la normativa establecida para cada país en donde se realizaron, aunque en España es de aplicación voluntaria, en los Estados Unidos es obligatoria y en México tiene poco de estar vigente y es de aplicación voluntaria. Por lo anterior, incluso podría poner en duda la validez de los estándares establecidos en estos países y por ende los de la NOM-093-SSA1-1994. Esto se debe principalmente a que se trata de procesos biológicos (contaminación biológica, etc.) y, como tales, están sujetos a una elevada variabilidad que dificulta su control. Otro factor es la falta de homogeneidad en las guías prácticas de higiene (temperaturas del agua, tiempos de acción y concentración de los agentes de limpieza y desinfección utilizados), ya que es tal la diversidad de los procesos de elaboración dentro de un mismo tipo de producto, que dificulta establecer valores de referencia, límites críticos, etc.

Por último, aunque resulta ventajoso determinar que el programa de limpieza y sanitización es el principal factor de influencia en los resultados, y que por lo tanto debe ser cambiado, habrá que recordar que en ninguno de los días de muestreo se cumplió con lo establecido en el Manual de Procedimientos de la empresa y con las recomendaciones del fabricantes de los agentes de limpieza, en referencia a la temperatura del agua utilizada (temperatura ambiental) que lejos de facilitar una adecuada acción de las sustancias activas, podría ser un factor que determine su ineficacia aunado quizás al factor tiempo. Habrá que reconsiderar la eficacia antibacteriana del programa de limpieza y sanitización de la mesa de despiece, y por ende, la elección del desinfectante y evaluarlo en condiciones adecuadas de tiempos y temperaturas para su buen funcionamiento, antes de emitir un juicio sobre su eficacia y aplicación a nivel industrial.

IX. CONCLUSIÓN

- El procedimiento de limpieza y sanitización que se realiza en la mesa de despiece, no se aplica conforme a lo que se especifica en el Manual de Procedimientos de la empresa.
- Las prácticas de manipulación, la temperatura ambiental de la sala de despiece (media 13°C), la concentración, método y frecuencia de los agentes utilizados son correctos conforme a lo que establece el Manual de Procedimientos y como lo recomienda el fabricante.
- Los tiempos de acción en el 80% de los casos y la temperatura de los agentes de limpieza (temperatura ambiental) en cada día de muestreo no se aplican conforme lo especifica el Manual de Procedimientos de la empresa y como lo recomienda el fabricante de los productos utilizados. Cuando se cumplió con el tiempo de acción (20% de los casos) el descenso de los recuentos bacterianos produjo una diferencia significativa, lo que hace notar la importancia de cumplir con lo establecido en el Manual de Procedimiento para estos factores.
- El desgaste, el mayor tiempo de contacto con la carne y la acumulación de materia orgánica en las zonas dañadas de las mesas de trabajo, pueden ser factores de influencia en la elevación de los recuentos bacterianos en forma significativa al compararlos con los valores referidos en la banda móvil, por lo tanto, se considera diferente el proceso de limpieza y desinfección en ambos tipos de superficies.
- Pese a que el procedimiento de limpieza no se hace dentro de lo que indica el Manual de Procedimientos, se confirmó su aplicación dentro de la práctica diaria en esta industria, al reducir de manera discreta (36×10^2 UFC/cm²) los recuentos bacterianos obtenidos después de la limpieza en comparación con los valores obtenidos después de la realización de esta última (85×10^2 UFC/cm²).
- El procedimiento de limpieza y sanitización que se aplica de manera rutinaria no garantiza que la población bacteriana de coliformes se mantengan por debajo de los niveles permitidos conforme lo establece el PROY-NOM-093-SSA1-1994. Bienes y servicios. Prácticas de Higiene y Sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. Diario Oficial de la Federación. Ni con los niveles permitidos en los estándares establecidos internacionalmente.

X. RECOMENDACIONES

El Programa de limpieza y sanitización debe ser evaluado, basándose en los siguientes puntos:

- Como ya se demostró, en los días en que se respetaron los tiempos marcados en el Programa de limpieza y sanitización de la mesa de despiece las cuentas de coliformes totales fueron menores, en comparación con las cuentas bacterianas de los días en que los tiempos no se cumplieron. Por ello el personal encargado de la limpieza debe conocer y realizar correctamente su labor. Se pueden considerar dos posibilidades:
 - 1ª. Utilizar operarios de la misma empresa y que además, deberán asumir tanto los mandos medios y altos como los operativos que las actividades de limpieza son prioritarias (no como actividades sin valor y secundarias). Los operarios deben estar motivados y su trabajo debe ser reconocido para que lo realicen correctamente.
 - 2ª. Utilizar personal ajeno a la empresa que realice únicamente las actividades de limpieza y desinfección.
- Utilizar el agua a temperaturas superiores, alrededor de 40° a 50°C (para que solubilizan las grasas ya que las superiores a 50°C pueden coagular proteínas).
- Supervisar el proceso de limpieza y sanitización, debe llevarse a cabo durante el inicio del proceso y al final del mismo. Disponer de una lista de comprobación de diferentes partes del equipo que, una vez limpiadas e inspeccionadas, se califican por su grado de limpieza y se comprobarán los niveles alcanzados en las inspecciones precedentes. Además, se conservarán las anotaciones de limpieza, concentración, tiempo y temperaturas de los agentes utilizados.
- Comprobar siempre la eficacia antibacteriana de los detergentes y desinfectantes antes de aplicarlos a gran escala en la fábrica. Nunca debe suponerse que los métodos de limpieza y desinfección son eficaces por que lo hayan sido siempre en el pasado, de cuando en cuando se realizarán pruebas para confirmar su eficacia continuada. Respetar las recomendaciones del fabricante de los productos utilizados y a lo establecido en el Manual de Procedimientos de la empresa, en cuanto a tiempo de acción, temperatura y concentración de las sustancias activas.
- Verificar las condiciones higiénico-sanitarias de las mesas de trabajo, instalaciones, útiles y utensilios y del personal manipulador. Cuando lo considere necesario podrá tomar muestras para la realización de análisis microbiológicos de los productos, las superficies, de los útiles y utensilios y de los manipuladores. Con toda esta información, si es necesario el inspector veterinario responsable de la empresa hará constar todas las deficiencias o fallos detectados y las recomendaciones para subsanarlas.
- Para poder realizar un control correcto de los puntos críticos (PCCs), son necesarias técnicas analíticas en tiempo real, es decir, que proporcionen resultados inmediatos, con el fin de poder corregir las situaciones irregulares lo antes posible. Esta limitación, es especialmente relevante en los PCCs relacionados con peligros microbiológicos, en los que sería necesario disponer de técnicas analíticas microbiológicas rápidas y confiables.
- Por último, no olvidar que estos autocontroles los debe realizar la propia empresa, con el costo económico que esto puede significar, sin embargo a la larga dicho costo se compensa al cumplir con las reglamentaciones que regulan su funcionamiento, reducir pérdidas por producto defectuoso y permitir ofrecer una garantía al consumidor mejorando la calidad del producto final.

XI. BIBLIOGRAFÍA

1. AGUILAR, J. GARANTIZAR LA CALIDAD Y SANIDAD DE LAS CANALES Y CORTES. CARNE Y LECHE (1996). ENERO-FEBRERO 14-6.
2. BARTELS, H. (1989). INSPECCIÓN VETERINARIA DE LA CARNE. EDITORIAL ACRIBIA, 1º REIMPRESIÓN, ESPAÑA.
3. BENENSON, Abram S. (1983). CONTROL DE LAS ENFERMEDADES TRANSMISIBLES EN EL HOMBRE. OPS, 13ª EDICIÓN, MÉXICO, p.450.
4. BRAIER, L. (1980). DICCIONARIO ENCICLOPÉDICO DE MEDICINA. EDITORIAL JIMS, 4ª EDICIÓN, ESPAÑA.
5. BURDON, Kenneth L y WILLIAMS, Robert P. (1982). MICROBIOLOGÍA. PUBLICACIONES CULTURAL, S.A., 1ª EDICIÓN, 6ª REIMPRESIÓN, MÉXICO, pp.324.
6. CARPENTER, John A. (1989). MEAT PLANT SANITATION. EDITORIAL AMI, 1ª EDICIÓN, EUA.
7. CÓDIGO SANITARIO CHILENO. DECRETO 475 DE 1999, ARTÍCULO 2§ Y 9§ LETRA C/ LIBRO IV. CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE HIGIENE EN SUPERFICIES INERTES.
8. DANIEL, W. (1982). BIOESTADÍSTICA: BASE PARA EL ANÁLISIS DE LA SALUD. EDITORIAL LIMUSA, E.U.M.
9. DEPARTAMENT THE AGRICULTURA AND PUBLIC HEALTH ORDINANCE. (2003). VALIDITY OF FECAL COLIFORMS, TOTAL COLIFORMS, AND FECAL STREPTOCOCCI AS INDICES OF POLLUTION IN FROZEN FOODS. FOODS RES. 14: 434-498.
10. DESINFECCIÓN Y DESINFECTANTES Y SU EMPLEO EN MEDICINA VETERINARIA. (OCTUBRE, 1985). MEMORIAS DEL CURSO DE ACTUALIZACIÓN; F.M.V. y Z. U.N.A.M., MÉXICO, pp. 1-151.
11. DIRECTIVA 91/497/CEE del CONSEJO, por la que se fijan las normas sanitarias aplicables a la producción y puesta en el mercado de carnes frescas. D.O.C.E. 24/9/91.
12. DIRECTIVA 92/5/CEE del Consejo, de 10 de febrero de 1992, por la que se modifica y actualiza la DIRECTIVA 77/99/CEE relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios intracomunitarios de productos a base de carne. D.O.C.E. 2/3/92.
13. DIRECTIVA GENERAL DE SEGURIDAD DE LOS PRODUCTOS, 92/59/CEE.
14. DIRECTIVA 93/43/CEE del Consejo, de 14 de junio de 1993, relativa a la higiene de los productos alimenticios.

15. DOYLE, P. Michael y BEUCHAT R. Larry (2001). FOOD MICROBIOLOGY. EDITORIAL ASM PRESS, 2ª EDICIÓN, E.U.A. pp 1-71 y 139-435.
16. ENSMINGER, M. I. (1995). THE CONCISE ENCICLOPEDIA OF FOODS E NUTRITION. C.R.C. PRESS, 2ª EDICIÓN, E.U.A.
17. FRAZIER, W. (1985). MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS. EDITORIAL ACRIBIA, 3ª EDICIÓN, ESPAÑA.
18. FEHLHABER, Karsten y JANETSCHKE, Paul. (1995). HIGIENE VETERINARIA DE LOS ALIMENTOS. EDITORIAL ACRIBIA, 1ª EDICIÓN, ESPAÑA.
19. FENNEMA, R. Owen. (2000). QUÍMICA DE LOS ALIMENTOS. EDITORIAL ACRIBIA, 2ª EDICIÓN, ESPAÑA.
20. FERNÁNDEZ, Julio Benito. (1981). LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN EN LA INDUSTRIA CÁRNICA. CITECA., CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y TECNOLOGÍA DE CARNES DEL SISTEMA INTI, BUENOS AIRES, ARGENTINA, pp. 7-47.
21. FORSYTHE, S. J. y HAYES, P. R. (1998). FOOD HYGIENE, MICROBIOLOGY AND HACCP. ASPEN PUBLICATION, 3ª EDICIÓN, E.U.A.
22. GIRARD, J. P. (1991). TECNOLOGÍA DE LA CARNE Y DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS. EDITORIAL ACRIBIA, 1ª EDICIÓN, ESPAÑA.
23. GRACEY, Joseph (1999). MEAT HIGIENE. SAUNDERS, 1ª EDICIÓN, LONDRES, INGLATERRA.
24. GUÍA DE APLICACIÓN DEL SISTEMA DE ANÁLISIS DE RIESGOS Y CONTROL DE PUNTOS CRÍTICOS EN LA INDUSTRIA CÁRNICA. EUROCARNE (1995), 5:117-120 SUPLEMENTO.
25. GÜNTER, Vollmer et. al. (1990). ELEMENTOS DE BROMATOLOGÍA DESCRIPTIVA. EDITORIAL ACRIBIA, 2ª EDICIÓN, ESPAÑA.
26. GUTHRIE, Rufus (1988). FOOD SANITATION. AVI-BOOK, 3ª EDICIÓN, E.U.A.
27. HANS, J. S. (1981). INTRODUCCIÓN A LA HIGIENE DE LOS ALIMENTOS. EDITORIAL ACRIBIA, 1ª EDICIÓN, ESPAÑA.
28. HARRIGAN, W. F. Y McCANCE, Margaret (1980). MÉTODOS EN MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS Y PRODUCTOS LÁCTEOS. EDITORIAL ACADEMIA LEÓN, 3ª EDICIÓN, ESPAÑA.
29. HAYES. (1993). MICROBIOLOGÍA E HIGIENE DE LOS ALIMENTOS. EDITORIAL ACRIBIA, 1ª EDICIÓN, ESPAÑA.
30. IAÑEZ, E. (1998). CURSO DE MICROBIOLOGÍA GENERAL: TEMA: ACCIÓN DE LOS AGENTES QUÍMICOS SOBRE LAS BACTERIAS. http://www.ugr.es/~eiañez/microbiologia/19_micro.htm.España.
31. ICMSF (1980). ECOLOGÍA MICROBIANA DE LOS ALIMENTOS. EDITORIAL ACRIBIA, VOLUMEN 1 y 2, ESPAÑA.

32. IMPLANTACIÓN DEL SISTEMA HACCP EN LA INDUSTRIA CÁRNICA (1996), SERVICIO CENTRAL DE PUBLICACIONES DEL GOBIERNO VASCO, 1ª EDICIÓN, ESPAÑA.
33. ISENBERG. H. (1998). PATHOGENICITY AND VIRULENCE. ANOTHER VIEW. CLINICAL MICROBIOLOGY. EUA.
34. JAY, M. James (1992). MICROBIOLOGÍA MODERNA DE LOS ALIMENTOS. EDITORIAL ACRIBIA, 3ª EDICIÓN, ESPAÑA, pp 1-62, 115-204 y 485-523.
35. JENSEN, Marcus y WRIGHT, Donald N. (1987). INTRODUCCIÓN A LA MICROBIOLOGÍA MÉDICA. PRENTICE-HALL HISPANOAMERICANA, S.A., MÉXICO, pp.122-123.
36. KENARD, E. AND McCLESKEY R. (2003). STUDIES ON THE BACTERIOLOGICAL QUALITY OF FROZEN MEATS AND STUDIES ON THE COLIFORM BACTERIA AT LOW TEMPERATURES. *APPL. MICROBIOL.* 7:327-367.
37. LAWRIE, A. R. (1998). CIENCIA DE LA CARNE. EDITORIAL ACRIBIA, 3ª EDICIÓN, ESPAÑA.
38. LIBBY, James (1981). HIGIENE DE LA CARNE. COMPAÑÍA EDITORIAL CONTINENTAL S.A., E.U.M.
39. LITSKY, W. (1993). A COMPARISON OF THE MOST PROBABLE NUMBERS OF COLIFORM BACTERIA AND ENTEROCOCCI IN RAW SEWAGE. *SCAND. SUPPL.* 136 48: 1-133.
40. LOKEN, K. (1995). THE HACCP FOOD SAFETY MANUAL. WILEY, 1ª EDICIÓN, E.U.A.
41. MORA MEDINA, Patricia (1990). MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA DESINFECCIÓN CORRIENTE TERMINAL Y PREVENTIVA APLICABLE EN EL CENTRO DE PRODUCCIÓN PECUARIA. TESIS DE LICENCIATURA, F.E.S.C. U.N.A.M., MÉXICO.
42. MORTIMORE, Sara y WALLACE Carol (1994). HACCP, ENFOQUE PRÁCTICO. EDITORIAL ACRIBIA, 1ª EDICIÓN, ESPAÑA.
43. NATIONAL ADVISORY COMITÉ ON THE MICROBIOLOGICAL CRITERIA FOR FOODS. USDA/FDA. (1990). CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS PROPUESTOS PARA COLIFORMES/ *E.coli*. *AMER. J. PUB. HLTH* 54: 609-714. E.U.A.
44. PEABODY, F. R. (1993). MICROBIAL INDEXES OF FOOD QUALITY. THE COLIFORM GROUP. EDITORIAL ACADEMIC PRESS, 3ª EDICIÓN, E.U.A. pp 73-118.
45. PRÄNDL, Oskar y FISHER, Albert (1994). TECNOLOGÍA E HIGIENE DE LA CARNE. EDITORIAL ACRIBIA, 1ª EDICIÓN, ESPAÑA.
46. P.R.O.A.S.A. (1986). CUARENTENA ANIMAL. CUARENTENAS INTERIORES. VOL.3, PROGRAMA DE ADIESTRAMIENTO EN SALUD ANIMAL PARA AMÉRICA LATINA, OPS/OMS, MÉXICO, pp. 795-830.

47. REAL DECRETO 1904/1993, 29 de octubre, por el que se establecen las condiciones sanitarias de producción y comercialización de productos cárnicos y de otros determinados productos de origen animal. GOBIERNO ESPAÑOL
48. REAL DECRETO 2207/1995, 28 de diciembre, se establecen las normas de higiene relativas a los productos alimenticios. Se dicta al amparo de lo dispuesto en el Artículo 149.1.16ª de la Constitución Española y de acuerdo con lo establecido en el Artículo 40.2 de la ley 14/1986, de 25 de abril, de la Ley General de Sanidad.
49. REAL DECRETO 3484, de 29 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas. GOBIERNO ESPAÑOL.
50. REVISTA SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN. VOL.1, NO.1. ENERO-MARZO 2000. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN, MONTERREY, N.L, MÉXICO.
51. RHONE, MERIEUX (1984). DESINFECTANTE SANI-SQUAD. CIRCULAR TÉCNICA No.7, No. de Catálogo 7126, 7127, 7128, MÉXICO.
52. SÁNCHEZ, T. Juan Francisco. (2004). EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA EFICACIA DE UN DESINFECTANTE USADO EN UNA MESA DE DESPIECE DE UNA PLANTA EMPACADORA DE CARNES FRÍAS, DE LA CIUDAD DE MÉXICO, POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO. TESIS DE LICENCIATURA, FESCUAUTILÁN, UNAM, MÉXICO.
53. SÁNCHEZ, R. Y CASTREJÓN, C. (2000). ANÁLISIS DEL SISTEMA HACCP DE UN ESTABLECIMIENTO MINORISTA DE CORTES COMERCIALES DE CARNE DE CERDO EN LA CIUDAD DE NAVARRA, ESPAÑA. REVISTA DE SALUD PÚBLICA DEL GOBIERNO ESPAÑOL, VOL. 4. No. 3 OCTUBRE-DICIEMBRE 2000. GOBIERNO ESPAÑOL, DEPARTAMENTO DE SANIDAD DE NAVARRA, ESPAÑA.
54. SCHEFLER, W. (1981). BIOESTADÍSTICA. FONDO EDUCATIVO INTERAMERICANO, 1ª EDICIÓN, MÉXICO.
55. SECRETARÍA DE SALUD (1984). LEY GENERAL DE SALUD. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN, MÉXICO, D.F.
56. SECRETARÍA DE SALUD (1994). NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-008-200-1994, BIENES Y SERVICIOS. ESPECIFICACIONES ZOOSANITARIAS PARA LA CONSTRUCCIÓN Y EQUIPAMIENTO DE ESTABLECIMIENTOS PARA EL SACRIFICIO DE ANIMALES Y DEDICADOS A LA INDUSTRIALIZACIÓN DE PRODUCTOS CÁRNICOS. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN, MÉXICO.
57. SECRETARÍA DE SALUD (1994). NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-092-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA LA CUENTA DE BACTERIAS AEROBIAS EN PLACA. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN, MÉXICO, D.F.
58. SECRETARÍA DE SALUD (1995). NORMA OFICIAL MEXICANA PROY-NOM-093-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. PRACTICAS DE HIGIENE Y SANIDAD EN LA PREPARACIÓN DE ALIMENTOS QUE SE OFRECEN EN ESTABLECIMIENTOS FIJOS. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN, MÉXICO, D.F.

59. SECRETARÍA DE SALUD (1995). NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-109-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA, MANEJO Y TRANSPORTE DE MUESTRAS DE ALIMENTOS PARA SU ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN, MÉXICO, D.F.
60. SECRETARÍA DE SALUD (1995). NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-110-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. PREPARACIÓN Y DILUCIÓN DE MUESTRAS DE ALIMENTOS PARA SU ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN, MÉXICO, D.F.
61. SECRETARÍA DE SALUD (1995). NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-113-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA LA CUENTA DE MICROORGANISMOS COLIFORMES TOTALES EN PLACA. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN, MÉXICO, D.F.
62. SECRETARÍA DE SALUD (1994). MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA EL EXAMEN DE SUPERFICIES Y UTENSILIOS. LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA, MÉXICO, D.F.
63. SHEELEY. (1991). MICROBES IN ACTION (A LABORATORY MANUAL OF MICROBIOLOGY). EDITORIAL M. H. FREEMAN AND COMPANY, 4ª EDICIÓN, E.U.A.
64. STEVENSSON, E. Kenneth (1993). ESTABLISHING HAZARD ANALYSIS CRITICAL CONTROL POINT PROGRAMS. THE FOOD PROCESSORS INSTITUTE, 1ª EDICIÓN, E.U.A.
65. SUMANO LÓPEZ H. y OCAMPO CAMBEROS L. (1997). FARMACOLOGÍA VETERINARIA. MACGRAW-HILL INTERAMERICANA, 2ª EDICIÓN, MÉXICO, D.F.